



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Α' ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, ΚΕΝΤΡΟ ΠΟΝΟΥ ΚΑΙ  
ΠΑΡΗΓΟΡΙΚΗΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ**

**«ΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ»**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΚΑΣΣΙΑΝΗ ΘΕΟΔΩΡΑΚΗ**

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΟΥ  
ΕΚΠΙΝΕΟΜΕΝΟΥ ΝΟ ΚΑΙ ΤΩΝ ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ  
ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΟΥ ΥΠΟΒΑΛΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΘΥΡΕΘΕΙΔΕΚΤΟΜΗ ΜΕ ΔΥΟ  
ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑΣ.**

**ΑΡΤΕΜΙΣ ΒΕΚΡΑΚΟΥ**

**ΙΑΤΡΟΣ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2023**



### **Θέμα διδακτορικής Διατριβής**

Διερεύνηση της μεταβολής των επιπέδων του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου και των ηωσινοφίλων του αίματος σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θυρεοειδεκτομή με δυο διαφορετικές μεθόδους διατήρησης της αναισθησίας.

### **Εξέλιξη Διδακτορικής Διατριβής**

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής: 19/12/2013

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής από Γ.Σ.Ε.Σ Ιατρικής σχολής: 15/04/2014

Ημερομηνία κατάθεσης για τελική παράταση: 22/03/2023

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης για ορισμό επταμελούς εξεταστικής επιτροπής: 22/09/2023

Ημερομηνία υποστήριξης διδακτορικής διατριβής: 16/11/2023

### **Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής**

Κ. Θεοδωράκη, Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (επιβλέπουσα)

Ε.Αργύρα. Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ι. Βασιλείου, Καθηγητής Χειρουργικής, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

**Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

1. Κασσιανή Θεοδωράκη, Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
2. Εριφύλη Αργύρα, Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
3. Ιωάννης Βασιλείου, Καθηγητής Χειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
4. Αθανασία Τσαρουχά, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
5. Χρυσούλα Στάϊκου, Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
6. Σερένα Βαλσάμη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
7. Μαρίνα Ρεκατσίνα, Επίκουρη Καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα

Νόμος 5543/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2

Αφιερώνεται στους ασθενείς μου,  
από τους πιο μεγάλους στους πιο μικρούς,  
όσους συνάντησα και όσους ακόμη δεν έχω γνωρίσει,  
για όσα με διδάσκουν για την ζωή και τα συναισθήματα,  
όπως μιλούν,  
όπως κοιμούνται,  
όπως ξυπνούν.



## Ευχαριστίες

Η εκπόνηση διδακτορικής διατριβής αποτελεί μια διεργασία μακρά, κοπιαστική, συχνά επίπονη που ταυτόχρονα όμως προσφέρει μια μεγάλη πνευματική, επιστημονική και συναισθηματική ανταμοιβή. Στο προσωπικό μου μονοπάτι για την ολοκλήρωσή της είχα οδηγούς και συνοδοιπόρους που η κοινή μας πορεία με διαμόρφωσε με ποικίλους τρόπους.

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα και δασκάλα μου, Άννυ Θεοδωράκη, καθηγήτρια Αναισθησιολογίας, της οποίας η ήρεμη δύναμη, η σταθερότητα και η πίστη της στην προσπάθειά μου αποτέλεσαν τα θεμέλια για την ολοκλήρωσή της. Η συμβολή της στην διαμόρφωση του ερευνητικού πρωτοκόλλου, στην, παραδοσιακά δύστροπη, στατιστική ανάλυση των μετρήσεων και στην συγγραφή και δημοσίευση της ξενόγλωσσης δημοσίευσης ήταν ανεκτίμητης αξίας.

Πέραν της επιβλέπουσας καθηγήτριας, θα ήθελα να ευχαριστήσω και να εκφράσω τον σεβασμό μου στον καθηγητή Χειρουργικής Ιωάννη Βασιλείου χωρίς την εμπιστοσύνη και την στήριξη του οποίου δεν θα μπορούσε να υλοποιηθεί η μελέτη αυτή. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια Αναισθησιολογίας Εριφύλη Αργύρα, για τις διορατικές της προτάσεις αλλά κυρίως επειδή αποτελεί για εμένα πρότυπο ανθρώπου και αναισθησιολόγου, η οποία μου εμφύσησε αξίες της τέχνης της αναισθησιολογίας που με συνοδεύουν στην καθημερινή μου κλινική πράξη.

Η μελέτη αυτή δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί χωρίς τις αιματολογικές μετρήσεις που πραγματοποίησε πάντοτε πρόθυμα και με εξαιρετικό κέφι η αναπληρώτρια καθηγήτρια Αιματολογίας, Σερένα Βαλσάμη.

Σημαντική συμβολή είχαν οι συνάδελφοι αναισθησιολόγοι και αγαπημένες φίλες Παναγιώτα Παπαχαράλαμπος και Έλενα Λογοθέτη στην πραγματοποίηση των μετρήσεων.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ, που δεν είναι αρκετό, στην οικογένεια καταγωγής μου, στην αγαπημένη μου σύντροφο Βασιλική και στον αδερφικό, παιδικό μου φίλο Παναγιώτη για την αγάπη, την υποστήριξη και την απέραντη υπομονή που έδειξαν στην προσπάθειά μου, ειδικά τις στιγμές των δυσκολιών και του άγχους, αλλά και για την χαρά και την περηφάνια τους κατά την ολοκλήρωση.





## Πίνακας Περιεχομένων

Πίνακας Περιεχομένων	10
Κατάλογος εικόνων	12
Παράρτημα	13
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	16
I. ΝΟ	16
1. Ιστορία του ΝΟ	16
2. Σύνοψη ΝΟ	18
3. Φυσιολογικές δράσεις του ΝΟ στον αεραγωγό	24
4. Παθοφυσιολογικές δράσεις του ΝΟ στον αεραγωγό	26
5. Η μέτρηση του εκπνεόμενου ΝΟ ως ένας μη επεμβατικός βιοδείκτης	27
6. ΝΟ και Προποφύλη	29
7. ΝΟ και Σεβοφλουράνιο	31
II. ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ	34
1. Ιστορία	34
2. Ωρίμανση	36
3. Χημειοταξία	38
4. Λειτουργία	38
5. Πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα και ΝΟ	40
6. Πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα και Προποφύλη	42
7. Πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα και Σεβοφλουράνιο	44
III. ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΑ	46
1. Ιστορία	46
2. Ωρίμανση	48
3. Χημειοταξία	48
4. Λειτουργία	49
5. Ηωσινόφιλα και ΝΟ	50
6. Ηωσινόφιλα και Προποφύλη	51
7. Ηωσινόφιλα και σεβοφλουράνιο	51
IV. ΜΗ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ	52
1. Προποφύλη: μη αναισθητικές δράσεις	52
2. Σεβοφλουράνιο: μη αναισθητικές δράσεις	57
2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	62
I. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ	62
II. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ	62
1. Πληθυσμός Μελέτης	62
2. Σχεδιασμός Μελέτης και Αναισθησιολογική Διαχείριση Ασθενών	63
3. Καταληκτικά σημεία μελέτης	69
4. Στατιστική Ανάλυση	70
III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	72
IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	80

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	88
3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	89

## Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1: Οι βραβευθέντες με το Nobel Ιατρικής το 1998 για την ταυτοποίηση του NO ως ενδοθηλιακού παράγοντα χάλασης (endothelial derived factor - EDRF) (ξεκινώντας από κάτω αριστερά και δεξιόστροφα): Ferid Murad, Robert F. Furchgott και Louis J. Ignarro. _____	17
Εικόνα 2: Οι σημαντικότερες λειτουργίες των τριών ισομορφών της συνθάσης του NO (από Forstermann and Cessa), [9] _____	19
Εικόνα 3: Δομή και καταλυτικός μηχανισμός μίας λειτουργικής συνθάσης του NO. (A) τα μονομερή της NOS έχουν την δυνατότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων από το NADPH στο FAD και FMN και έχουν περιορισμένη δυνατότητα να ανάγουν το μοριακό οξυγόνο σε ιόν υπεροξειδίου (B) με την παρουσία της αίμης η συνθάση σχηματίζει ένα λειτουργικό διμερές _____	21
Εικόνα 4: (A) δομή Προποφόλης, (B) δομή Τοκοφερόλης (βιταμίνη E). Εμφανής η ομοιότητα στην δομή των δύο ουσιών λόγω της ύπαρξης του φαινολικού δακτυλίου [68]. _____	30
Εικόνα 5: Δομή του υποδοχέα γ-αμινοβουτυρικού οξέως (GABA <sub>A</sub> ) και οι θέσεις σύνδεσης διαφόρων αγωνιστών μεταξύ των οποίων και η προποφόλη _____	30
Εικόνα 6: Δομή αναισθητικού παράγοντα σεβοφλουρανίου (evers pharmacology) _____	32
Εικόνα 7: Δράσεις των αναισθητικών παραγόντων στους διαφορετικούς υποδοχείς, VA: volatile anesthetics (EVERS) _____	32
Εικόνα 8: Ο Paul Ehrlich (1854 – 1915) το 1878. [72] _____	35
Εικόνα 9: Ο κύκλος ζωής των ουδετεροφίλων: περίπου 10 <sup>11</sup> πολυμορφοπύρρηνα ωριμάζουν στον μυελό των οστών καθημερινά. Υπό την επίδραση των κυτταροκινών απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Στα σημεία φλεγμονής τα πολυμορφοπύρρηνα εξαγγειώνονται στον διάμεσο χώρο και με τις δράσεις τους αποτελούν την πρώτη γραμμή της μη ειδικής ανοσίας [78]. _____	37
Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση των σημαντικότερων δράσεων των ουδετεροφίλων. Από αριστερά προς τα δεξιά: εξωκυττάρια παγίδες ουδετεροφίλων, αποκοκκίωση με απελευθέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, φαγοκυττάρωση [78] _____	39
Εικόνα 11: Εωσίνη. (αρ): η χημική δομή της ουσίας, (δε): η βαφή γνώρισε σύντομα μετά την ανακάλυψή της μεγάλη επιτυχία ως βαφή υφασμάτων [99]. _____	47
Εικόνα 12: Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών λειτουργιών που επιτελούν τα ηωσινοφίλα. Η ωρίμανση των ηωσινοφίλων πραγματοποιείται στον μυελό των οστών. Στην συνέχεια υπό την χημειοτακτική δράση διαφόρων κυτταροκινών τα ηωσινοφίλα μεταναστεύουν σε ιστούς (a) συμβάλλοντας στην διατήρηση της ανοσιακής ομοιόστασης, (b) της λειτουργικότητας των ιστών ή (c) προκαλώντας βλάβες μέσω της διήθησης τους στα πλαίσια φλεγμονώδους απάντησης [100]. _____	49
Εικόνα 13: Ο φορητός αναλυτής NO, NObreath® πρώτης γενιάς της εταιρείας Bedfont® Scientific Ltd, οποίος χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των μετρήσεων της μελέτης _____	64
Εικόνα 14: τροποποιημένη κλίμακα Aldrete's (κλίμακα μεταναισθητικής ανάνηψης: PAR-score) από Osmosis from Elsevier [138] _____	67
Εικόνα 15: αριθμητική κλίμακα αξιολόγησης πόνου (Numeric rating scale – NRS) _____	68
Εικόνα 16: Διάγραμμα Ροής της Μελέτης με βάση το CONSolidated Standards Of Reporting Trials (CONSORT) _____	73
Εικόνα 17: Διακύμανση εκπνεόμενου NO στις ομάδες της προποφόλης και σεβοφλουρανίου,* p < 0.05 συγκριτικά με την μέτρηση αναφοράς (T0) _____	75
Εικόνα 18: Θηκογράμματα (box plots) του αριθμού των ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα στην ομάδα της προποφόλης (αριστερά) και του σεβοφλουρανίου (δεξιά) προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά (χρονικά σημεία T0 και T1). Η διατήρηση της αναισθησίας με προποφόλη οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση του αριθμού των ηωσινοφίλων (p < 0.001) ενώ η χρήση του σεβοφλουρανίου δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση (p = 0.746). Τα θηκογράμματα περιγράφουν την μέση τιμή και το εύρος μεταξύ των τεταρτημορίων (IQR) και τα μουστάκια περιγράφουν το 10 <sup>ο</sup> και 90 <sup>ο</sup> εκατοστημόριο. * p < 0.05 συγκριτικά με προεγχειρητική μέτρηση. _____	76
Εικόνα 19: Θηκογράμματα (box plots) του αριθμού των πολυμορφοπύρρηνων στο περιφερικό αίμα στην ομάδα της προποφόλης (αριστερά) και του σεβοφλουρανίου (δεξιά) προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά (χρονικά σημεία T0 και T1). Η διατήρηση της αναισθησίας τόσο με προποφόλη όσο και με σεβοφλουράνιο οδήγησε σε μία στατιστικά _____	

σημαντική αύξηση του αριθμού των πολυμορφοπυρήνων ( $p < 0.001$  αντίστοιχα). Τα θηκογράμματα περιγράφουν την μέση τιμή και το εύρος μεταξύ των τεταρτημορίων (IQR) και τα μουστάκια περιγράφουν το 10<sup>ο</sup> και 90<sup>ο</sup> εκατοστημόριο. \*  $p < 0.05$  συγκριτικά με την προεγχειρητική μέτρηση των πολυμορφοπυρήνων. — 77

## Παράρτημα

Παράρτημα 1: φύλλο ενημερωμένης συγκατάθεσης ασθενών για την συμμετοχή στην ερευνητική μελέτη.....	104
Παράρτημα 2: φύλλο σύντομου ιστορικού ασθενών, καταγραφής πρωτεουσών μετρήσεων, καταγραφής επιπλοκών .....	105
Παράρτημα 3: φύλλο καταγραφής δευτερευουσών μετρήσεων διεγχειρητικά. ....	106

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Nitric oxide (NO) is a free radical in gas state, which plays an important role in a variety of processes relevant to respiratory physiology. The generation of NO follows both enzymatic and non-enzymatic pathways. NO enzymatic production is catalyzed by three distinct isoforms of NO synthase: (i) neuronal NOS-1 (nNOS), mainly expressed in central and peripheral neurons, (ii) inducible NOS-2 (iNOS), expressed by many cell types as response to cytokines and other agents, and (iii) endothelial NOS-3 (eNOS), mostly expressed by endothelial cells.

Non-enzymatic pathways, which are not clearly understood, produce NO through the reduction of NO<sub>3</sub> (nitrate) to NO<sub>2</sub> (nitrite). An imbalance between iNOS and its constitutive isoforms (nNOS and eNOS) has been implicated in the pathophysiology of many cardiopulmonary diseases, since it can lead to excessive NO synthesis.

While physiological levels of NO possess anti-inflammatory properties, when increased due to the aforementioned upregulation of iNOS, NO becomes a proinflammatory mediator. In fact, high concentrations of NO can be transformed into peroxynitrite radicals in the presence of oxygen-derived free radicals and play a significant role in the cellular damage associated with overproduction of NO.

Airways of patients with bronchial hyperreactivity may respond in an exaggerated way to a variety of stimuli, while airway instrumentation in such patients may lead to life-threatening bronchospasm, adding to the burden of morbidity this population may suffer in case they undergo general anesthesia for a surgical or diagnostic procedure.

Fractional exhaled NO (FeNO) has been used in the diagnosis of asthma, especially of the eosinophilic phenotype, and has also proved useful in guiding treatment of asthmatic individuals. Additionally, non-asthmatic patients experiencing bronchospasm intraoperatively or postoperatively display higher levels of exhaled NO, a fact suggesting that the upregulation of the production of NO may play a role in airway hyperreactivity.

Increased levels of FeNO have also been found to correlate with sputum eosinophilia and eosinophilia in bronchoalveolar lavage fluid. Furthermore, an increase in exhaled NO concentration has been used as an early marker of lung inflammation and injury in models of sepsis or acute lung injury induced by toxins. Therefore, exhaled NO can be considered an efficient

method for the prediction of airway hyperresponsiveness perioperatively, even in patients without known respiratory disease .

Additionally, it may be considered as an invaluable non-invasive biomarker reflecting early airway injury and inflammation.

Propofol, an intravenous anesthetic agent, can modify NO production by inhibiting the inducible production of NO in lipopolysaccharide-stimulated macrophages [15,16].

It has also been shown to exert protective effects in acute lung injury in experimental models. There is also evidence that some intravenous anesthetics can influence chemotaxis of eosinophils in vitro.

Similarly, volatile anesthetics have been shown to attenuate the expression of inflammatory mediators and to alleviate bronchial hyperresponsiveness. Sevoflurane-borne protection could also be mediated via the suppression of the iNOS/NO pathway, as decreased levels of NO metabolites have been demonstrated in plasma or lung perfusate of sevoflurane-pretreated rat models.

The variation of exhaled NO and eosinophils in surgical patients undergoing anesthesia has not been studied before. We hypothesized that there is a different effect of intravenous and inhalational techniques on the potential for airway hyperresponsiveness perioperatively, as this can be assessed by the measurement of exhaled NO and eosinophil blood count.

If this is the case, it could also affect the selection of anesthetic maintenance techniques for patients with known hyperreactive airways. Therefore, the aim of the present study was to investigate the differential impact of two general anesthesia maintenance techniques on the exhaled NO and eosinophil blood count of patients without respiratory disease or airway hyperreactivity.

## 1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### I. NO

#### 1. Ιστορία του NO

Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) είναι ένα ασυνήθιστο σηματοδοτικό μόριο το οποίο συμμετέχει σε ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες στα θηλαστικά, όπως η αγγειοδιαστολή, η χάλαση των λείων μυϊκών ινών, η νευροδιαβίβαση και η ανοσιακή και φλεγμονώδης απάντηση.

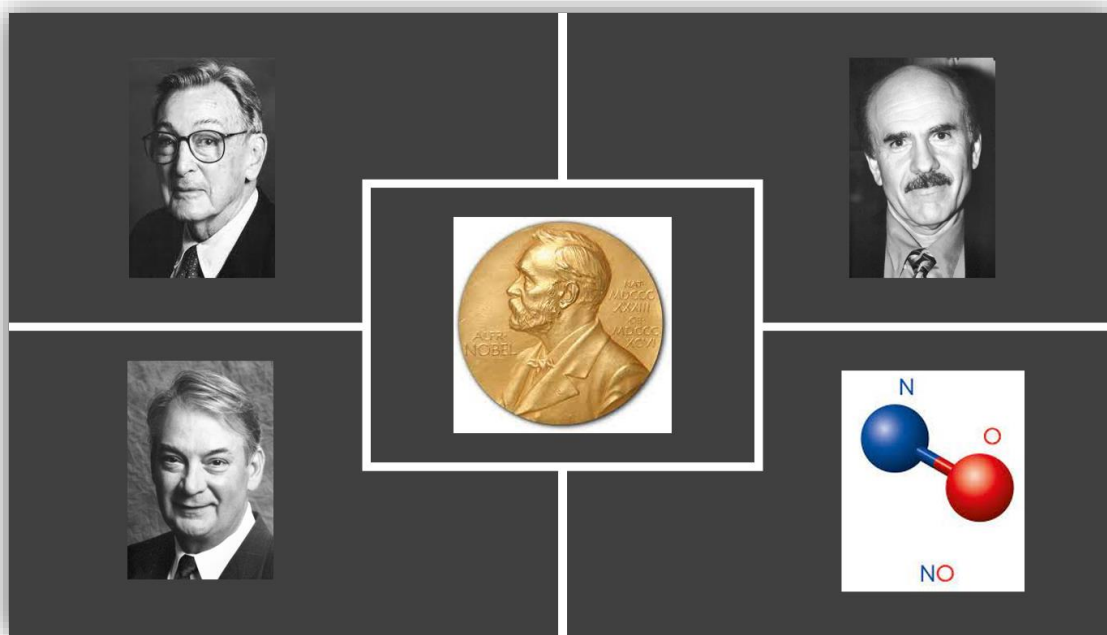
Η επιστημονική του ιστορία είναι μακρά και ενδιαφέρουσα, καθώς μελετήθηκε για πρώτη φορά το 1772 από τον χημικό και ιερωμένο Joseph Priestley, ως ένα άχρωμο, τοξικό αέριο. Έκτοτε προσεγγίσθηκε με διάφορους τρόπους από την επιστημονική κοινότητα: ως τοξικός αέριος ρύπος, ελεύθερη ρίζα, στοιχείο εκρηκτικών ενώσεων, ενδοθηλιακός παράγοντας χάλασης των αγγείων, ρυθμιστής καρδιαγγειακής ομοιόστασης και, μεταξύ άλλων, ως βιοδείκτης φλεγμονωδών καταστάσεων του αναπνευστικού.

Λίγο περισσότερο από 100 χρόνια πριν απονεμηθεί το βραβείο Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής το 1998 στους Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro και Ferid Murad [1] για την ανακάλυψη δράσης του NO ως σηματοδοτικό μόριο στο καρδιαγγειακό σύστημα, ταυτοποιώντας έτσι τον EDRF (endothelial derived factor) (Εικόνα 1), ο ίδιος ο Alfred Nobel [2], συνδύασε την ουσία αυτή με το πέτρωμα διατομίτη, παρασκευάζοντας έτσι τον δυναμίτη, με τον οποίο δημιούργησε την τεράστια περιουσία από την οποία και όρισε να δημιουργηθεί ο θεσμός των βραβείων.

Είναι ωστόσο αρκετά ειρωνικό το γεγονός ότι όταν το 1895 ο ίδιος εμφάνισε στηθάγχη, αρνήθηκε την λήψη νιτρογλυκερίνης ως αγωγή για την αντιμετώπισή της. Η δράση αυτή της νιτρογλυκερίνης είχε ήδη διαπιστωθεί σε εργάτες που έπασχαν από στηθάγχη και δούλευαν στα εργοστάσια του Nobel, καθώς η συμπτωματολογία τους βελτιωνόταν τις καθημερινές και επιδειωνόταν την Κυριακή.

Η ανακάλυψη της λειτουργίας του NO ως σηματοδοτικό μόριο σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων, το κατέστησε ως ένα από τα πιο μελετημένα μόρια της επιστημονικής κοινότητας. Μία σύντομη αναζήτηση στο pub med με λέξη κλειδί το «NO» παρέχει πάνω από 189.000 άρθρα.





Εικόνα 1: Οι βραβευθέντες με το Nobel Ιατρικής το 1998 για την ταυτοποίηση του NO ως ενδοθηλιακού παράγοντα χάλασης (endothelial derived factor - EDRF) (ξεκινώντας από κάτω αριστερά και δεξιόστροφα): Ferid Murad, Robert F. Furchgott και Louis J. Ignarro.

## 2. Σύνθεση NO

Στα θηλαστικά το NO παράγεται από 3 διαφορετικές ισομορφές του ενζύμου συνθάση του NO. Τα ισόένζυμα αυτά είναι τα εξής: η νευρωνική συνθάση του NO (n-NOS) τύπου 1, η επαγόμενη συνθάση του NO (i-NOS) τύπου 2 και η ενδοθηλιακή συνθάση του NO (e-NOS) τύπου 3 (Εικόνα 2).

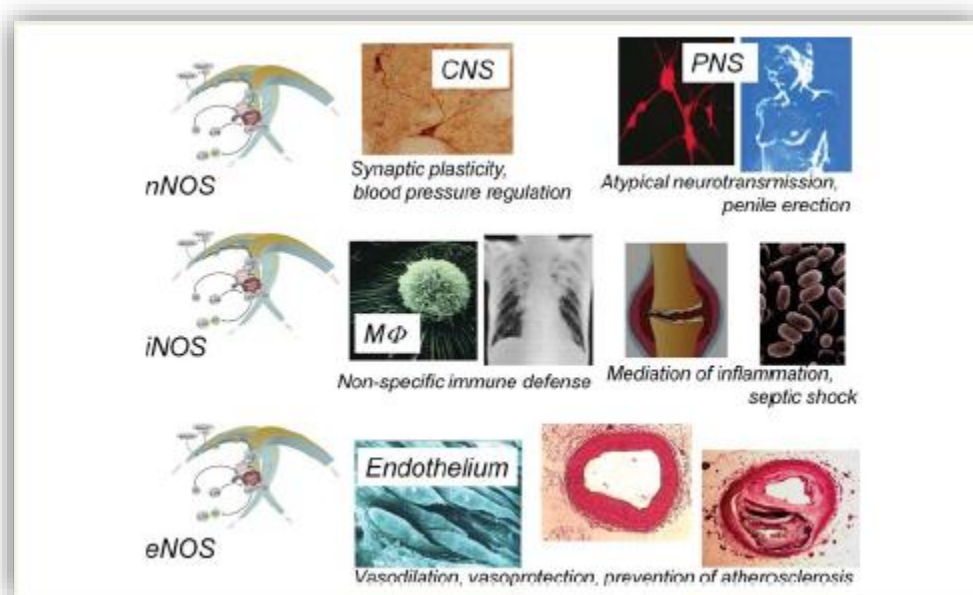
Όλες οι ισομορφές έχουν την δομή ομοδιμερούς, αποτελούμενες από δύο μονομερή, καθένα από τα οποία φέρει ένα καρβοξυτελικό άκρο που λειτουργεί σαν αναγωγάση και ένα αμινοτελικό άκρο που λειτουργεί σαν οξειδάση. Τα μονομερή αυτά συνδέονται μέσω μίας περιοχής η οποία αναγνωρίζει και δεσμεύει την καλμοδοουλίνη (CaM) (Εικόνα 3).

Όλες οι ισομορφές χρησιμοποιούν την L-αργινίνη ως υπόστρωμα και μοριακό οξυγόνο και αναχθέν νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NAD) ως συν-υποστρώματα. Το φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (FAD), το φλαβινο-αμινο-νουκλεοτίδιο (FMN) και η τετραϋδροβιοπτερίνη (BH<sub>4</sub>) λειτουργούν ως συμπαραγόντες για όλα τα ισόένζυμα.

Μία λειτουργική συνθάση μεταφέρει ηλεκτρόνια από το NADPH, μέσω των φλαβινών (FAD και FMN) που βρίσκονται στην καρβοξυτελική περιοχή (με λειτουργία αναγωγάσης), στην αίμη που βρίσκεται στην αμινοτελική περιοχή (με λειτουργία οξειδάσης). Στην τελευταία συνδέονται οι απαραίτητοι συμπαραγόντες του ενζύμου (BH<sub>4</sub>, μοριακό O<sub>2</sub>) [3] καθώς και το υπόστρωμα αυτού (L-αργινίνη) [4]. Στην θέση της αίμης, τα ηλεκτρόνια ενεργοποιούν το μόριο του O<sub>2</sub>, το οποίο με την σειρά του οδηγεί στην οξείδωση της L-αργινίνης και την παραγωγή L-κιτροουλίνης και NO, σε μία αντίδραση που πραγματοποιείται σε δύο διαδοχικές αντιδράσεις.

Όπως προαναφέρθηκε, όλες οι ισομορφές της συνθάσης του NO δεσμεύουν την καλμοδοουλίνη (CaM). Όσον αφορά τις ισομορφές nNOS και eNOS, η σύνδεση αυτή πραγματοποιείται με την αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> (200 – 400 nM). Με την αύξηση της συγγένειας της CaM με την περιοχή σύνδεσής της, διευκολύνεται η ροή ηλεκτρονίων από το NADPH στην περιοχή της αίμης, όπου πραγματοποιείται η σύνθεση του NO. Στην ισομορφή της iNOS, η CaM δεσμεύεται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup> (< 40 nM), εξαιτίας της διαφορετικής αλληλουχίας αμινοξέων στην περιοχή πρόσδεσης αυτής [5], [6].

Η έκφραση των τριών ισομορφών του ενζύμου δεν είναι τόσο διακριτή όσο παλαιότερα πιστευόταν και έτσι είναι δυνατόν να υπάρχουν και τα τρία ισοένζυμα στον ίδιο ιστό, καθώς επίσης να επάγεται ή να αναστέλλεται η λειτουργία τους σε διαφορετικό βαθμό [7]. Το παραγόμενο από αυτές NO θα δράσει σε κάποια από τις πρωτεΐνες και ένζυμα στόχους. Η συνηθέστερη σηματοδοτική οδός που ενεργοποιεί το NO είναι αυτή της διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης που παράγει το κυκλικό GMP (c-GMP) [8].



Εικόνα 2: Οι σημαντικότερες λειτουργίες των τριών ισομορφών της συνθάσης του NO (από Forstermann and Cessa), [9]

i. Νευρωνική συνθάση NO (n-NOS) τύπου 1 – ρύθμιση αυτής

Η νευρωνική συνθάση NO (n-NOS) ή συνθάση του NO τύπου 1 παραδοσιακά θεωρείτο πως εκφραζόταν μόνο σε συγκεκριμένους νευρώνες του εγκεφάλου. Η εισαγωγή της χρήση μεθόδων ιστοχημείας όμως, αποκάλυψε την έκφραση της στον νωτιαίο μυελό, στα γάγγλια του συμπαθητικού, στα επινεφρίδια, στα κύτταρα της πυκνής κηλίδας, στα νησίδια του παγκρέατος, στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων καθώς και στους σκελετικούς μύες [10], [11]. Η ενζυμική δράση της n-NOS ρυθμίζεται κυρίως από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του  $Ca^{2+}$  και της καλμοδουλίνης [12]. Η λειτουργία της n-NOS, όπως και της e-NOS, επάγεται από τις αυξημένες συγκεντρώσεις του  $Ca^{2+}$  και παράγουν μικρές ποσότητες NO, της τάξεως των nanomoles, για μικρά χρονικά διαστήματα από δευτερόλεπτα έως λεπτά [7].

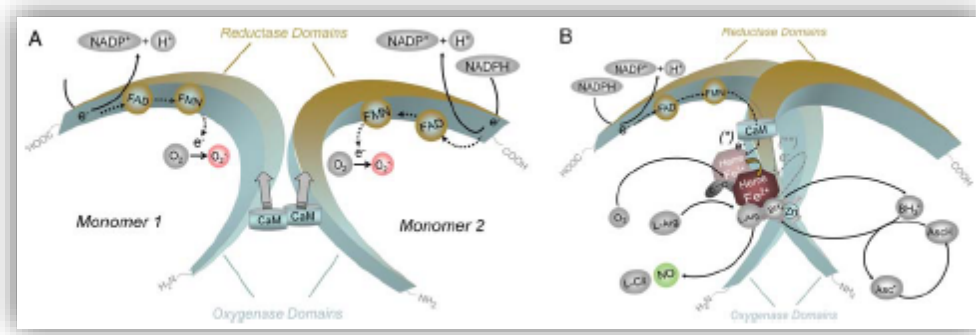
Η ρύθμιση της λειτουργικότητας της n-NOS επιτυγχάνεται με τους εξής μηχανισμούς:

1. διμεροποίηση του ενζύμου [13] και φωσφορυλίωση αυτού [14]
2. ύπαρξη πρωτεϊνών, όπως η καλμοδουλίνη (CaM) που λειτουργεί ως συμπαράγοντας και ευοδώνει την λειτουργικότητά της [15], ή όπως η πρωτεΐνη PIN που αναστέλλει την λειτουργικότητά της [16].

Η n-NOS φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση λειτουργιών του νευρικού ιστού όπως η μάθηση, η μνήμη, η δημιουργία και η νευρογένεση [17]. Πειραματικά μοντέλα αναστολής της λειτουργίας της n-NOS φαίνεται να προκαλούν αμνησία και διαταραχές μάθησης.

Στην περιφέρεια, οι λείες μυϊκές ίνες νερώνονται από νευρώνες στους οποίους εκφράζεται η n-NOS και συντίθεται NO (nitric oxide). Το NO ενεργοποιεί την γουανυλκυκλάση, η οποία παράγει κυκλικό GMP (c-GMP) το οποίο μειώνει τον τόνο των λείων μυϊκών ινών διαφόρων ιστών, συμπεριλαμβανομένων των αγγείων.

Η διαταραχή στην σηματοδότηση από το NO φαίνεται πως συμβάλλει σε διάφορες νευροεκφυλιστικές διαδικασίες, όπως η πολλαπλή σκλήρυνση, η νόσος του Parkinson, η νόσος του Alzheimer [18]. Επίσης, διαταραχές του τόνου των λείων μυϊκών ινών του γαστρεντερικού συστήματος όπως στην γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (ΓΟΠ), φαίνεται να συσχετίζονται με διαταραχές στην λειτουργικότητα της n-NOS [19].



Εικόνα 3: Δομή και καταλυτικός μηχανισμός μίας λειτουργικής συνθάσης του NO. (Α) τα μονομερή της NOS έχουν την δυνατότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων από το NADPH στο FAD και FMN και έχουν περιορισμένη δυνατότητα να ανάγουν το μοριακό οξυγόνο σε ιόν υπεροξειδίου (Β) με την παρουσία της αίμης η συνθάση σχηματίζει ένα λειτουργικό διμερές.

## ii. Επαγόμενη συνθάση NO (i-NOS) τύπου 2 – ρύθμιση αυτής

Η επαγόμενη συνθάση του NO (i-NOS) ή συνθάση του NO τύπου 2, όπως υποδηλώνει και το όνομά της, συνήθως δεν εκφράζεται σταθερά στα κύτταρα. Η έκφρασή της επάγεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες ή και λιποπολυσακχαρίδες. Αν και η αρχική της εντόπιση ήταν στα μακροφάγα, η έκφραση του ενζύμου πρακτικά μπορεί να πραγματοποιηθεί σε οποιοδήποτε κύτταρο αρκεί αυτό να εκτεθεί στον κατάλληλο παράγοντα [10]. Έπειτα από την έκφραση της, η i-NOS είναι διαρκώς ενεργή και πρακτικά δεν επηρεάζεται από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση  $Ca^{2+}$ , καθώς απαιτεί εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Πιο συγκεκριμένα είναι λειτουργική σε συγκεντρώσεις της τάξεως των 40 nM σε αντίθεση με τις n-NOS και e-NOS που είναι λειτουργικές σε εκατονταπλάσιες συγκεντρώσεις της τάξεως των 400 nM [6]. Επίσης, η i-NOS παραμένει λειτουργική για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, από λεπτά έως ώρες, σε σύγκριση με τις άλλες δύο isoμορφές. Τέλος, η ποσότητα του παραγόμενου NO είναι σημαντικά μεγαλύτερη, της τάξεως των millimoles.

Η ρύθμιση της λειτουργικότητας της i-NOS επιτυγχάνεται από τρεις βασικούς παράγοντες:

1. την διαθεσιμότητα του υποστρώματος (L-αργινίνη) και συμπαραγόντων [20],
2. την ύπαρξη πρωτεϊνών, όπως η καλρίνη [21], που αναστέλλουν ή ευοδώνουν, όπως η Rac2 [22], την λειτουργικότητά της,
3. την αύξηση της συγκέντρωσης του NO [23].

Η βασική φυσιολογική λειτουργία της i-NOS είναι η καταστροφή των εξωγενών παθογόνων μέσω της παραγωγής του NO που λειτουργεί ως αναστολέας ενζύμων που περιέχουν σίδηρο στο ενεργό τους κέντρο, ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας, παράγοντας νιτροζυλίωσης της κυστεΐνης [24] και προκαλώντας οξειδωτική βλάβη στο DNA μέσω οξειδωτικής απαμίνωσης [25]. Ο συνδυασμός αυτός των δράσεων του οδηγεί στην κυτταροστατική και κυτταροτοξική δράση του NO σε παθογόνους μικροοργανισμούς και καρκινικά κύτταρα.

Η υπερβολική έκφραση i-NOS ή η απορρύθμιση αυτής, η οποία οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή NO, συναντάται σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις, υποδηλώνοντας πιθανή συμμετοχή του NO στην παθοφυσιολογία αυτών. Τέτοιες καταστάσεις είναι το σηπτικό σοκ [26] και το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας [27], λοιμώξεις από διάφορα παθογόνα όπως ο HIV [28] και το μυκοβακτήριο της φυματίωσης [29], κακοήθεις όγκοι του πνεύμονα, ουροδόχου κύστεως και άλλων οργάνων [30] και πιθανά ο χρόνιος νευροπαθητικός πόνος [31].

### iii. Ενδοθηλιακή συνθάση NO (e-NOS) τύπου 3 – ρύθμιση αυτής

Η ενδοθηλιακή συνθάση του NO (e-NOS) ή συνθάση του NO τύπου 3 εντοπίστηκε αρχικά στα κύτταρα του ενδοθηλίου, εντόπιση από την οποία και έλαβε το όνομά της. Στην συνέχεια όμως η έκφραση της διαπιστώθηκε και στα κύτταρα αρκετών άλλων ιστών, όπως του μυοκαρδίου, τα αιμοπετάλια, νευρώνες του εγκεφάλου καθώς και στους συγκυτιοτροφοβλάστες του πλακούντα [9].

Όπως και για την n-NOS, έτσι και για την e-NOS, η ύπαρξη της καλμοδουλίνης και η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του  $Ca^{2+}$  αποτελούν σημαντικούς παράγοντες ρύθμισης της λειτουργικότητας του ενζύμου. Αρκετές ακόμη πρωτεΐνες επιδρούν στην λειτουργικότητα αυτής, όπως η πρωτεΐνη θερμικού σοκ (hsp90) [32] η οποία δρα ευοδωτικά ή η καβεολίνη-1 [33] που δρα ανασταλτικά.

Η e-NOS φαίνεται να αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της ομοιόστασης του καρδιαγγειακού και οι βασικές της φυσιολογικές λειτουργίες είναι οι εξής:

1. αγγειοδιαστολή και αναστολή της συσσώρευσης και συγκόλλησης των αιμοπεταλίων [8], [34].

2. αναστολή της συγκόλλησης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και της αγγειακής φλεγμονής [35],
3. ενεργοποίηση της αγγειογένεσης.

### 3. Φυσιολογικές δράσεις του NO στον αεραγωγό

Το NO μετά την σύνθεση του διαχέεται ταχέως και μπορεί να διέλθει μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και να αλληλοεπιδράσει με ποικίλες ενδοκυττάριας μοριακές θέσεις ενώ ταυτόχρονα είναι εξαιρετικά ασταθές και με πολύ μικρό χρόνο ημίσειας ζωής, γεγονός που καθιστά περιττή την ύπαρξη μηχανισμών αποδόμησης του.

Έτσι, το ενδογενές NO παρουσιάζει μια πληθώρα δράσεων στον αεραγωγό που εμπλέκονται τόσο με τις φυσιολογικές λειτουργίες που επιτελούνται σε αυτόν, όσο και στην εμφάνιση και εξέλιξη παθολογικών καταστάσεων αυτού.

Όσον αφορά τον τόνο των λείων μυϊκών ινών του αεραγωγού, το NO προκαλεί χάλαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων μέσω των εξής μηχανισμών δράσης:

- i. ενεργοποίησης της γουανυλκυκλάσης και παραγωγής cGMP, μηχανισμός που σχετίζεται με την αποφυγή σύσπασης στους μεγαλύτερους αεραγωγούς [36]
- ii. ενεργοποίησης της μεταβολικής οδού μετατροπής των θειολών σε νιτρο-θειόλες (RS-NO). Οι ουσίες αυτές έχουν σημαντικά μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής από το NO και διαθέτουν ισχυρή βρογχοδιασταλτική δράση και φυσιολογικά βρίσκονται σε τέτοιες συγκεντρώσεις που ελέγχουν τον τόνο των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων. Το σοβαρό άσθμα φαίνεται να σχετίζεται με χαμηλές συγκεντρώσεις αυτών των ουσιών στον πνεύμονα, λόγω ταχύτερης αποδόμησης τους, οι οποίες οδηγούν στην εγκατάσταση ανθεκτικού βρογχόσπασμου [37]
- iii. συμμετοχής στο μη αδρενεργικό μη χολινεργικό σύστημα (NANC) το οποίο επάγει σύσπαση (excitatory – eNANC) ή χάλαση (inhibitory – iNANC) των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων [38] . Συγκεκριμένα, το NO λειτουργεί ως νευροδιαβιβαστής στο iNANC, και η επαγόμενη χάλαση φαίνεται να διαταράσσεται στο αλλεργικό άσθμα, όπου παρατηρείται και τροποποιημένη έκφραση της nNOS [39] .

Αρκετές μελέτες όμως έχουν καταδείξει τον ρόλο του NO ως ρυθμιστή της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας [40]. Η βρογχική υπεραντιδραστικότητα μεταξύ άλλων, αποτελεί την βασική εκδήλωση του άσθματος και ορίζεται ως η μείωση του ουδού για την επαγωγή της σύσπασης των αεραγωγών και η αύξηση του βαθμού στένωσης αυτών, ως απόκριση σε ένα βρογχοσυσπαστικό ερέθισμα. Διαφορετικές ομάδες ερευνητών, μετά από πειραματικές μελέτες,



έχουν δείξει πως κατόπιν έκθεσης σε εισπνεόμενα αλλεργιογόνα ο επαγόμενος βρογχόσπασμος ενισχύεται από αναστολείς της συνθάσης του NO, υποδεικνύοντας πως το NO πιθανά δρά προστατευτικά σε πρώιμες ασθματικές αντιδράσεις.

Είναι επίσης γνωστό πως η βρογχική υπεραντιδραστικότητα πυροδοτείται από ιογενείς λοιμώξεις του αναπνευστικού, όμως σε πειραματικά μοντέλα φάνηκε πως καταστέλλεται μετά την χορήγηση χαμηλών δόσεων εισπνεόμενης L-αργινίνης, υποδηλώνοντας πως πιθανά οφείλεται σε ανεπαρκή ενδογενή απελευθέρωση NO, καθώς αυτή αποτελεί το υπόστρωμα για την σύνθεσή του [41].

Ο αγγειακός τόνος της πνευμονικής κυκλοφορίας εξαρτάται από το ενδογενές αλλά και το εξωγενώς χορηγούμενο NO, το οποίο φαίνεται να αντισταθμίζει την υποξική πνευμονική αγγειοσύσπαση [42], ενώ σε καταστάσεις χρόνιας υποξαιμίας φαίνεται πως η απελευθέρωση του NO είναι σημαντικά μειωμένη [43].

Το ενδογενές NO φαίνεται πως διαθέτει διεγερτική επίδραση στην παραγωγή βλέννης από τους υποβλεννογόνιους αδένες του αναπνευστικού [44], ενώ οι κυτταροκίνες που επάγουν την i-NOS (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) φαίνεται πως βελτιώνουν και την κινητικότητα του κροσσωτού επιθηλίου, έναν από τους βασικούς μηχανισμούς άμυνας του ξενιστή, υποδηλώνοντας πως η παραγωγή του NO αποτελεί μέρος της άμυνας του αναπνευστικού απέναντι στα διάφορα παθογόνα [45].

#### 4. Παθοφυσιολογικές δράσεις του NO στον αεραγωγό

Η μακροχρόνια και αυξημένη σύνθεση του NO μπορεί να έχει καταστροφικά αποτελέσματα στην φυσιολογία του αεραγωγού και είναι πιθανό πως επάγεται όσο και συμβάλλει στην ηωσινοφιλική διήθηση αυτού, η οποία παρατηρείται σε ορισμένους τύπους άσθματος. Επιπρόσθετα, πειραματικά δεδομένα υποδηλώνουν πως το NO πιθανά να συμμετέχει και στους μη ειδικούς μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και την σηματοδότηση μεταξύ μακροφάγων και T-κυττάρων [46].

Οι Gabazza et al [47] πραγματοποίησαν μία εξαιρετικά ενδιαφέρουσα μελέτη στην οποία υπέβαλαν μία ομάδα ασθματικών ασθενών και μία ομάδα ελέγχου σε επαγωγή πτύελων και σε υψηλής ανάλυσης αξονική τομογραφία θώρακος. Στα πτύελα μετρήθηκε ο αριθμός των ηωσινοφίλων και η συγκέντρωση νιτρωδών σε αυτά, τα οποία φάνηκε πως ήταν σημαντικά αυξημένα στην ομάδα των ασθματικών ασθενών συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Από το σύνολο των αξονικών τομογραφιών φάνηκε επίσης πως το πάχος των αεραγωγών παρουσίαζε σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα νιτρωδών στα πτύελα, και ήταν αυξημένο στους ασθενείς με τα υψηλότερα επίπεδα. Τα αποτελέσματα αυτά, σύμφωνα με τους ερευνητές, οδηγούν σε μία ισχυρή ένδειξη πως η ύπαρξη αυξημένων συγκεντρώσεων NO στον αεραγωγό συμμετέχει στο βρογχικό remodeling που παρατηρείται στο άσθμα. Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων το NO που πιθανά οδηγεί σε αυτό και έχουν προταθεί από αρκετές ερευνητικές ομάδες [48]–[50] περιλαμβάνουν την αύξηση στην πνευμονική αιματική ροή και την αγγειακή διαπερατότητα, οδηγώντας στην διίδρωση πλάσματος και το χρόνια οίδημα του αεραγωγού.

## 5. Η μέτρηση του εκπνεόμενου NO ως ένας μη επεμβατικός βιοδείκτης

Το εκπνεόμενο NO μετράται αξιόπιστα με την χρήση μεθόδων χημειοφωταύγειας [51] ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του '90 και η διαπίστωση πως είναι αυξημένο σε ασθματικούς ασθενείς συγκριτικά με τις υγιείς ομάδες ελέγχου, είναι πολύ πρώιμη [52] και ειδικότερα σε ατοπικούς ασθενείς [53].

Τα αυξημένα επίπεδα εκπνεόμενου NO, τα οποία προέρχονται κυρίως από τους κατώτερους αεραγωγούς, συσχετίζονται με την ηωσινοφιλική διήθηση του αεραγωγού [54] και την αυξημένη έκφραση της iNOS. Επίσης φαίνεται πως συσχετίζονται με τις εξάρσεις της νόσου και πιθανά την βαρύτητα αυτής.

Άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως η ρινίτιδα και οι βρογχεκτασίες σχετίζονται επίσης με υψηλά επίπεδα NO, σε αντίθεση με την κυστική ίνωση και την πνευμονική υπέρταση στην οποία είναι χαμηλά. Τέλος, όσον αφορά την χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα καθώς σε κάποιες μελέτες καταγράφονται υψηλά [55] ενώ σε άλλες χαμηλότερα [56] επίπεδα.

Η συσχέτιση του εκπνεόμενου NO με άλλους δείκτες της φλεγμονής του αεραγωγού έχει επίσης απασχολήσει την βιβλιογραφία και φαίνεται πως σε ασθματικούς ασθενείς οι τιμές του εκπνεόμενου NO συσχετίζονται με τον αριθμό των ηωσινοφίλων στα πτύελα [57] καθώς και στο αίμα [58] αναλόγως της βαρύτητας της νόσου.

Τέλος, το εκπνεόμενο NO χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης των ασθενών με άσθμα στην αγωγή με κορτικοστεροειδή [59] και αντιλευκοτριένια [60] καθώς και την έγκαιρη διάγνωση ή πρόβλεψη πιθανών υποτροπών με την μείωση ή διακοπή των κορτικοστεροειδών [61]. Η παρακολούθηση της απόκρισης των ασθενών με άσθμα στην θεραπευτική αγωγή κατέστη σημαντικά ευκολότερη με την κυκλοφορία στην αγορά φορητών αναλυτών του εκπνεόμενου NO (FeNO), όπως για παράδειγμα ο NObreath (Bedfont, UK), οι οποίοι ήταν εξίσου αξιόπιστοι [62] με τους κλασικούς σταθερούς αναλυτές, όπως NIOX (Aerocrine, Sweden), πολύ ευκολότεροι στην χρήση και χαμηλότερου κόστους.

Το εκπνεόμενο NO έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές μελέτες ως προγνωστικός παράγοντας μετεγχειρητικών επιπλοκών από το αναπνευστικό, ασθενών τόσο χωρίς όσο και με παθολογία

αναπνευστικού. Η αναδρομική μελέτη των Saraiva – Romanholo et al [63] με καταγραφή 863 περιπτώσεων βρογχόσπασμου σε σύνολο 146,358 ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργικές επεμβάσεις κατέδειξε πως μη ασθματικοί ασθενείς που παρουσίασαν βρογχόσπασμο διεγχειρητικά, είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις εκπνεόμενου NO σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό.

Η ιαπωνική ερευνητική ομάδα των Okamoto et al σε μία προοπτική μελέτη ασθενών που υποβλήθηκαν σε θωρακοχειρουργικές επεμβάσεις, εντόπισε σημαντική συσχέτιση των προεγχειρητικών συγκεντρώσεων του εκπνεόμενου NO με μετεγχειρητικές επιπλοκές που έγκριζαν θεραπευτικής παρέμβασης [64].

Τέλος, η noxious study [65] πρότεινε την μέτρηση του FeNO προεγχειρητικά σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική νόσο, καθώς φαίνεται να συσχετίζεται ισχυρά με την προγνωστική ικανότητα μετεγχειρητικών επιπλοκών, σε αυτή την ομάδα ασθενών.

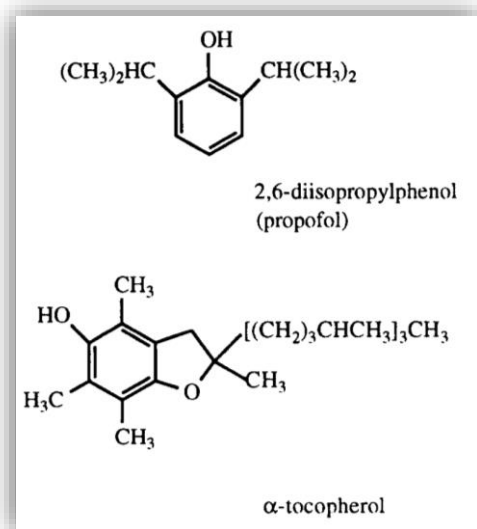
## 6. NO και Προποφόλη

Η σχέση του εκπνεόμενου NO με τον αναισθητικό παράγοντα προποφόλη έχει επίσης προβληματίσει διάφορες ερευνητικές ομάδες.

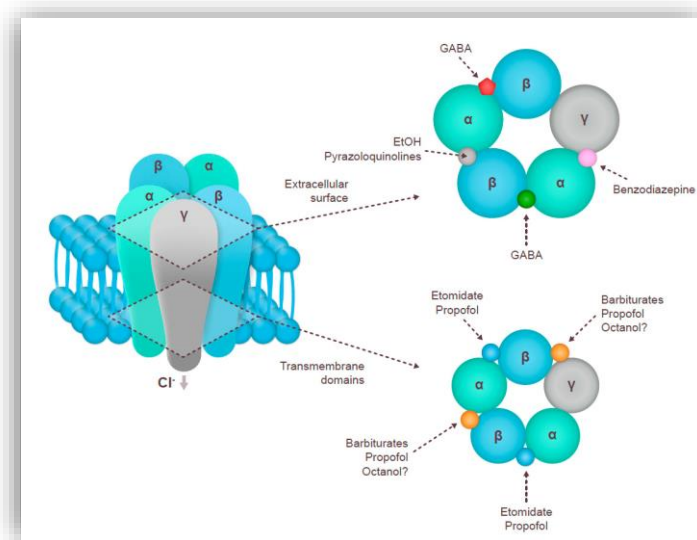
Η προποφόλη είναι ένας ενδοφλέβιος αναισθητικός παράγοντας, που βρίσκεται σε κυκλοφορία από το 1989, της οποίας ο κύριος μηχανισμός δράσης είναι η ενεργοποίηση των γαμμα-αμινοβουτυρικών υποδοχέων τύπου A στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (αλλοστερικός αγωνιστής) (Εικόνα 5). Η δομή της προποφόλης παρουσιάζει έναν φαινολικό δακτύλιο που προσομοιάζει με αυτόν της α-τοκοφερόλης (βιταμίνη E) (Εικόνα 4) και προσδίδει στην προποφόλη αντιοξειδωτικές ιδιότητες που έχουν καταδειχθεί τόσο σε *in vitro* όσο και σε *in vivo* πειράματα, αναστέλλοντας την υπεροξειδωση των λιπιδίων και δεσμεύοντας τον περοξυνιτρίτη [66]. Οι ιδιότητες αυτές φαίνεται να αυξάνουν την δυνατότητα διαχείρισης του οξειδωτικού στρες από τον οργανισμό.

Μια ακόμη ερευνητική ομάδα [67] πραγματοποίησε μία σειρά *in vitro* πειραμάτων σε αίμα που ελήφθη αρχικά από μία ομάδα υγιών εθελοντών και στην συνέχεια από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση και τους χορηγήθηκε προποφόλη τόσο για την εισαγωγή όσο και την διατήρηση στην αναισθησία ή από την ομάδα ελέγχου στους οποίους δεν είχε χορηγηθεί προποφόλη.

Στα αποτελέσματα της μελέτης περιγράφουν πως η χορήγηση προποφόλης μειώνει την δραστηριότητα της i-NOS και επάγει αυτή της c-NOS. Έτσι, πρότειναν πως με αυτό τον μηχανισμό κατά τη χορήγηση προποφόλης, επάγονται οι φυσιολογικές δράσεις του NO (αγγειοδιαστολή, βρογχοδιαστολή) ενώ δεν ευοδώνονται οι βλαπτικές δράσεις αυτού (οξειδωτικό στρες, αγγειοσύσπαση, βρογχόσπασμος).



Εικόνα 4: (Α) δομή Προποφόλης, (Β) δομή Τοκοφερόλης (βιταμίνη Ε). Εμφανής η ομοιότητα στην δομή των δύο ουσιών λόγω της ύπαρξης του φαινολικού δακτυλίου [68].



Εικόνα 5: Δομή του υποδοχέα γ-αμινοβουτυρικού οξέως (GABA<sub>A</sub>) και οι θέσεις σύνδεσης διαφόρων αγωνιστών μεταξύ των οποίων και η προποφόλη

## 7. NO και Σεβοφλουράνιο

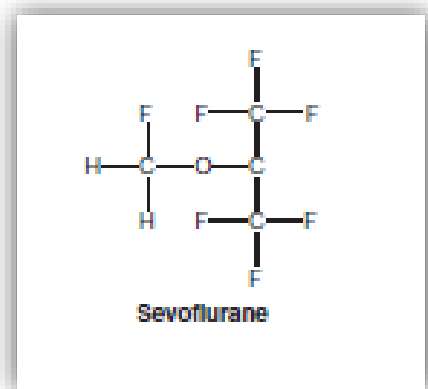
Η αναζήτηση στην διεθνή βιβλιογραφία μελετών που αφορούν στην σχέση του εκπνεόμενου NO και του σεβοφλουρανίου αποδίδει πτωχά αποτελέσματα. Το σεβοφλουράνιο είναι ένας από τους νεώτερους εισπνεόμενους αναισθητικούς παράγοντες που ανήκει στην ομάδα των αλογονωμένων αιθέρων και βρίσκεται σε κυκλοφορία από το 1990 στην Ιαπωνία (Εικόνα 6). Χρησιμοποιείται τόσο για την εισαγωγή όσο και για την διατήρηση της αναισθησίας στον ενήλικο και παιδιατρικό πληθυσμό.

Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του σεβοφλουρανίου δεν είναι καθορισμένος και φαίνεται πως είναι το αποτέλεσμα της σύνδεσης αυτού σε μία πληθώρα υποδοχέων: ενεργοποίηση των μετασυναπτικών ανασταλτικών υποδοχέων GABA και γλυκίνης, αναστολή διεγερτικής δράσης συναπτικών NMDA, νικοτινικών, σεροτονινεργικών υποδοχέων και υποδοχέων γλουταμικού (Εικόνα 7).

Αρκετές πειραματικές μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση της χορήγησης του σεβοφλουρανίου στο NO και την i-NOS τόσο σε μοντέλα σήψης [69] όσο και σε μοντέλα οξείας πνευμονικής βλάβης σχετιζόμενα είτε με χειρουργικές επεμβάσεις [70] είτε ενδοτοξιναιμία [71]. Από τις μελέτες αυτές φαίνεται πως το σεβοφλουράνιο καταστέλλει την παραγωγή και την απελευθέρωση του NO δρώντας έτσι προστατευτικά στις βλάβες ισχαιμίας – επαναιμάτωσης.

Νεώτερες μελέτες [70] επιβεβαιώνουν πως το σεβοφλουράνιο πιθανά μειώνει την τοπική φλεγμονώδη απάντηση σε περιοχές ισχαιμίας – επαναιμάτωσης.

Σύμφωνα με την μελέτη των Yuan et al [70] τόσο η προποφόλη όσο και το σεβοφλουράνιο φαίνεται να μοιράζονται ένα κοινό μονοπάτι όσον αφορά την δράση τους στην φλεγμονώδη απάντηση ασθενών που υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις με αερισμό ενός πνεύμονα, το οποίο σχετίζεται με τις επαγόμενες από αυτούς τους παράγοντες κυτταροκίνες, το οποίο αναλύεται κατωτέρω.



Εικόνα 6: Δομή αναισθητικού παράγοντα σεβοφλουρανίου (evers pharmacology)

	GABA <sub>A</sub> R	GlyR	K <sub>2p</sub>	NMDAR	nAchR	Presynaptic
Propofol	●	●	○	○	○	○
Etomidate	●	●	○	○	○	○
Barbiturates	●	●	○	○	○	○
Neurosteroids	●	●	○	○	○	○
VAs	●	●	●	○	●	○
Ketamine	○	○	○	●	○	○
N <sub>2</sub> O	○	○	●	●	○	○
Xenon	○	○	●	○	○	○

Activation	Inhibition	Weak Inhibition	No Effect
●	●	○	○

Εικόνα 7: Δράσεις των αναισθητικών παραγόντων στους διαφορετικούς υποδοχείς, VA: volatile anesthetics (EVERS)





## II. ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΑ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

### 1. Ιστορία

Η μικροσκοπική εξερεύνηση του κόσμου ξεκίνησε το 1590 με την εφεύρεση του μικροσκοπίου από τους Ολλανδούς πατέρα και γιο Hans και Zacharias Janssen και το 1658 για πρώτη φορά περιγράφονται τα ερυθρά αιμοσφαίρια του αίματος από τον Jan Swammerdam (1637-1680). Όμως, η πρώτη περιγραφή των λευκών αιμοσφαιρίων προέρχεται από δύο Γάλλους, τον Joseph Lieutaud (1703-1780) ο οποίος παρατήρησε τα «λευκά σφαιρίδια» σε νεκροτομικά παρασκευάσματα και τον Jean-Baptiste de Senac (1693-1770), ο οποίος περιέγραψε τα «λευκά σφαιρίδια του πύου». Αρκετοί ερευνητές από την κεντρική Ευρώπη μελέτησαν και συσχέτισαν τα λευκά αιμοσφαίρια με νόσους όπως την λευχαιμία καθώς και με λοιμώδεις και σηπτικές καταστάσεις, περιγράφοντας την ύπαρξη κοκκίων στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων αυτών και εικάζοντας τις λειτουργίες τους.

Η τομή όμως στην ιστορία των λευκοκυττάρων πραγματοποιήθηκε από τον Paul Ehrlich (1854 – 1915) (Εικόνα 8), Γερμανό πρωτοπόρο ερευνητή στην ανοσολογία, την αιματολογία και την ογκολογία, ο οποίος ταυτοποίησε με τη χρήση διαφορετικών τεχνικών παρασκευής και χρώσεων, τις τρεις κατηγορίες των λευκών αιμοσφαιρίων: τα λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα κοκκιοκύτταρα δηλαδή τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα, τα ουδετερόφιλα. Για να πραγματοποιήσει την μελέτη των κυττάρων του αίματος, χρειάστηκε να ανακαλύψει νέες μεθόδους παρασκευής των δειγμάτων, όπως τη θέρμανση και ξήρανση αυτών, σταθεροποίησης και χρώσης τους, επιτρέποντας στην συνέχεια την ενδελεχή μικροσκοπική μελέτη τους.

Μετά την αρχική εκτενή μελέτη και περιγραφή των ηωσινοφίλων, ο Ehrlich αφοσιώθηκε και πειραματίστηκε με την δημιουργία διαφορετικών χρώσεων, όξινων, αλκαλικών και ουδέτερων, ώστε να επιτύχει την χρώση των κοκκίων των πολυμορφοπύρηνων ουδετεροφίλων, στόχο τον οποίο και πραγματοποίησε. Οδηγήθηκε μάλιστα στο ρηξικέλευθο συμπέρασμα πως τα κοκκία των ουδετεροφίλων δεν αποτελούν άθροισμα λίπους ή πρωτεΐνης καθώς επίσης και σε μία αρκετά ακριβή περιγραφή της διαδικασίας ωρίμανσής τους «από μία προδρομική μονοπυρηνική μορφή λευκοκυττάρων». [72]



**Über die specifischen Granulationen des Blutes\***  
**P. EHRLICH**

Εικόνα 8: Ο Paul Ehrlich (1854 – 1915) το 1878. [72]

## 2. Ωρίμανση

Η κοκκιοκυτταρική σειρά, δηλαδή τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα λευκοκύτταρα, ωριμάζουν στον μυελό των οστών από πρόδρομα αποικιογόνα κύτταρα, τους μυελοβλάστες, όπως σωστά είχε θεωρήσει ο Ehrlich. Την επαγωγή της ωρίμανσης των ουδετερόφιλων πραγματοποιούν ο διεγερτικός παράγων των αποικιών των κοκκιοκυττάρων (G-CSF) και ιντερλευκίνες όπως η IL-3. Καθημερινά παράγονται  $10^{11}$  πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, αριθμός τεράστιος που αντιστοιχεί περίπου στο 1% του συνόλου των εμπύρηνων κυττάρων, γεγονός που φανερώνει την σημασία του συγκεκριμένου κυτταρικού πληθυσμού για την επιβίωση του οργανισμού [73],[74].

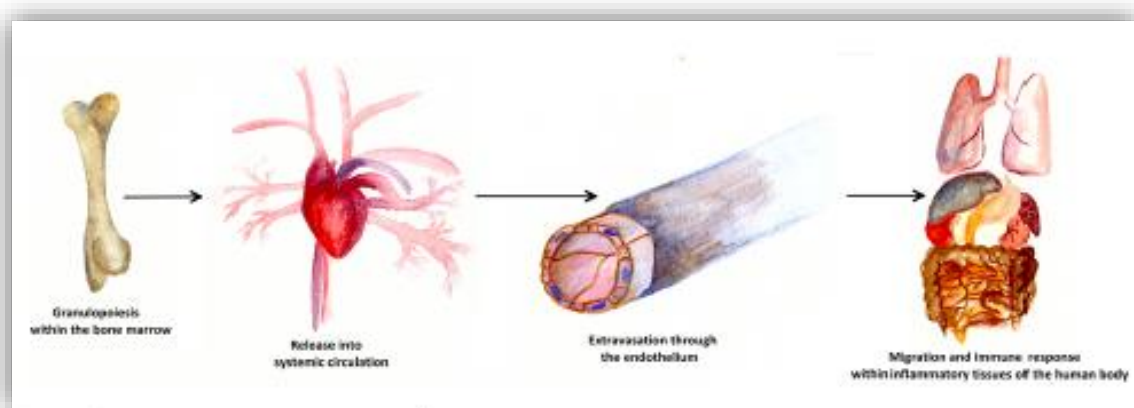
Στην συνέχεια πραγματοποιείται η απελευθέρωση τους από τον μυελό με την επίδραση μεσολαβητών όπως διάφορες χημειοκίνες (macrophage inflammatory protein 2, MIP-2, CXCL1) και οι διεγερτικοί παράγοντες GM-CSF και G-CSF [73] (Εικόνα 9).

Αφού τα ουδετερόφιλα ωριμάσουν και ολοκληρωθεί η διαδικασία της κοκκίωσης στον μυελό των οστών, βρίσκονται σε συνολικά τρία διαμερίσματα – δεξαμενές. Η πρώτη δεξαμενή είναι αυτή των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων στο περιφερικό αίμα σε ετοιμότητα για τον εντοπισμό χημειοκινών σε σημεία φλεγμονής ή άσηπτης ιστικής βλάβης. Στο ενδαγγειακό διαμέρισμα η επιβίωση τους υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν υπερβαίνει τις 24 ώρες [75].

Η δεύτερη δεξαμενή βρίσκεται στον μυελό, όπου διατηρείται ένας αριθμός ουδετερόφιλων σε ετοιμότητα να απελευθερωθεί και παρουσιάζει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, υπό την επίδραση συγκεκριμένων μεσολαβητών, μεταξύ των οποίων και η IL-6 [76].

Η τρίτη δεξαμενή αποτελείται από τα πολυμορφοπύρρηνα τα οποία βρίσκονται χαλαρά συνδεδεμένα στο ενδοθήλιο των φλεβικών αγγείων και ειδικότερα του σπλήνα, του ήπατος, του μυελού και, όπως νεώτερα δεδομένα δείχνουν, των πνευμόνων [73].

Κάποια εξαιρετικά πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα ωστόσο πιθανολογούν την ύπαρξη μίας ακόμη δεξαμενής ουδετερόφιλων και στον διάμεσο ιστό των ανωτέρω αναφερόμενων οργάνων [73], [77].



Εικόνα 9: Ο κύκλος ζωής των ουδετεροφίλων: περίπου  $10^{11}$  πολυμορφοπύρηνα ωριμάζουν στον μυελό των οστών καθημερινά. Υπό την επίδραση των κυτταροκινών απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Στα σημεία φλεγμονής τα πολυμορφοπύρηνα εξαγγειώνονται στον διάμεσο χώρο και με τις δράσεις τους αποτελούν την πρώτη γραμμή της μη ειδικής ανοσίας [78].

### 3. Χημειοταξία

Τα ώριμα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα διαθέτουν την ικανότητα να εντοπίζουν την κλίση συγκέντρωσης των διαφόρων χημειοκινών, που απελευθερώνονται από περιοχές ιστικής βλάβης, και να κατευθύνονται προς το σημείο που η συγκέντρωση αυτών είναι υψηλότερη. Η διαδικασία αυτή περιγράφεται ως χημειοταξία και αφορά και σε άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς όπως τα ηωσινόφιλα και τα λεμφοκύτταρα [79], [80] και πυροδοτείται από την παρουσία τόσο ενδογενών χημειοκινών όσο και εξωγενών μορίων που απελευθερώνονται από βακτήρια.

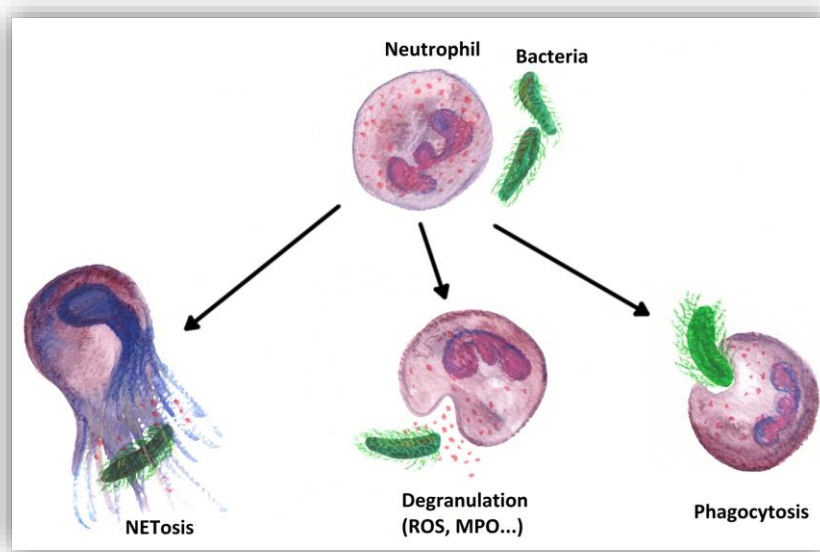
### 4. Λειτουργία

Αφού τα πολυμορφοπύρρηνα φθάσουν στα σημεία όπου θα δράσουν, θέτουν σε εφαρμογή τους διαφορετικούς μηχανισμούς άμυνας που διαθέτουν. Αρχικά πραγματοποιούν μία εξειδικευμένη μορφή ενδοκυττάρωσης, την φαγοκυττάρωση [81]. Επιπρόσθετα αυτής χρησιμοποιούν δύο ακόμη μηχανισμούς άμυνας, έναν «εξαρτώμενο από το οξυγόνο» και έναν «ανεξάρτητο από το οξυγόνο» (Εικόνα 10). Ο πρώτος περιλαμβάνει την δημιουργία ενεργών ριζών οξυγόνου που με την σειρά τους οδηγούν στον σχηματισμό ισχυρών οξέων ( $H_2O_2$ ,  $OH\cdot$ ,  $HOCl$ ) που καταστρέφουν τα βακτήρια [82]. Ο «ανεξάρτητος από το οξυγόνο» μηχανισμός άμυνας των ουδετερόφιλων αποτελείται από την αποκοκκίωση των παρατηρούμενων κοκκίων τους και την απελευθέρωση λυτικών ενζύμων, μεταξύ των οποίων και η μυελοϋπεροξειδάση (MPO), και βακτηριοκτόνων πεπτιδίων [83].

Ωστόσο, νεώτερα ερευνητικά δεδομένα περιγράφουν ακόμη έναν μηχανισμό άμυνας, εκείνον των εξωκυττάρων παγίδων των πολυμορφοπύρρηνων ουδετερόφιλων (neutrophil extracellular trap, NET) [84]. Μετά την ολοκλήρωση της αποκοκκίωσης, τα ουδετερόφιλα απελευθερώνουν τον πυρήνα τους, ο οποίος έχει δομή που θυμίζει δίχτυ και φέρει ιστόνες και κατιονικές πρωτεΐνες στην επιφάνειά του, περικλείοντας, ακινητοποιώντας και καταστρέφοντας τελικά μύκητες και βακτήρια, στον τόπο δράσης τους.

Ταυτόχρονα όμως, το σύνολο αυτών των εξαιρετικά δραστικών μηχανισμών άμυνας έχει την δυνατότητα να προκαλέσει και σοβαρή ιστική βλάβη σε υγιείς ιστούς, κατά την εξέλιξη μιας φλεγμονώδους διεργασίας. Τέτοια παραδείγματα απορρυθμίστη της ανοσιακής απάντησης είναι το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, στεφανιαία σύνδρομα και η σήψη [85]. Επίσης, τα πολυμορφοπύρρηνα συμμετέχουν, μέσω μίας απορρυθμισμένης φλεγμονώδους απάντησης, στην

παθοφυσιολογία αρκετών αυτοάνοσων νοσημάτων, μεταξύ των οποίων και ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, η ρευματοειδής αρθρίτις, η περιοδοντίτιδα και άλλα [86], [87],[88].



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση των σημαντικότερων δράσεων των ουδετεροφίλων. Από αριστερά προς τα δεξιά: εξωκυττάριας παγίδες ουδετεροφίλων, αποκοκκίωση με απελευθέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, φαγοκυττάρωση [78]

## 5. Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και NO

Η έκφραση και λειτουργία της iNOS από τους διάφορους κυτταρικούς πληθυσμούς, αποτελεί βασικό ρυθμιστή τόσο της χημειοταξίας όσο και των αμυντικών μηχανισμών των πολυμορφοπυρήνων.

Το NO που απελευθερώνεται από τους ιστούς που υφίστανται εισβολή παθογόνων ή άσηπτη βλάβη τροποποιεί τον τόνο των αγγείων οδηγώντας σε αυξημένη διάμετρο αυτών. Επίσης, το NO φαίνεται πως αυξάνει την παραμορφωτική ικανότητα των ουδετερόφιλων, διευκολύνοντας την διόδο και άφιξή τους στις περιοχές βλάβης, ενώ ταυτόχρονα προστατεύει από την άθροισή τους σε ιστούς με αγγείωση εξαιρετικά μικρής διαμέτρου. Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη των Kabayasi et al έδειξε πως η διέγερση επίμυων, χωρίς συνθετική ικανότητα iNOS, με βακτηριακή λιποπολυσακχαρίδη οδήγησε σε μειωμένη παραμορφωτική ικανότητα των πολυμορφοπυρήνων και άθροισή τους στα πνευμονικά τριχοειδή [89]. Αυτή η διαπίστωση της διαταραγμένης λειτουργίας της iNOS εξηγεί εν μέρει και τον ουσιώδη ρόλο που παίζουν τα πολυμορφοπύρρηνα στο σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας.

Το NO φαίνεται ακόμη πως επάγει την σύνθεση κυτταρονημάτων, προεκτάσεων της κυτταρικής μεμβράνης από τα πολυμορφοπύρρηνα, τα οποία διευκολύνουν την προσκόλληση τους στα παθογόνα και στην συνέχεια φαγοκυττάρωση αυτών [90], διευκολύνοντας έτσι την άμυνα του ξενιστή.

Με τον ίδιο τρόπο όμως, όταν διαταραχθεί η λειτουργικότητα της iNOS και εκφράζεται σε ιστούς με παθολογικό τρόπο, όπως σε αυτοάνοσα νοσήματα, τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα που συγκεντρώνονται στους ιστούς αυτούς κινητοποιούν τους αμυντικούς μηχανισμούς έναντι των κυττάρων του ξενιστή, οδηγώντας σε φλεγμονώδεις νόσους όπως η ρευματοειδής αρθρίτις [91].

Το NO όμως εκτός από ρυθμιστής και χημειοτακτικός παράγοντας των πολυμορφοπυρήνων ουδετερόφιλων, παράγεται και από τα ίδια. Αυτό συμβαίνει τόσο με έναν σταθερό, βασικό ρυθμό από την nNOS που έχει φανεί πως εκφράζεται σε αυτά όσο και με έναν υψηλό ρυθμό σε καταστάσεις φλεγμονής από την iNOS [92] [93]. Ωστόσο ο ακριβής του ρόλος στους αμυντικούς μηχανισμούς των πολυμορφοπυρήνων ουδετερόφιλων δεν έχει αποσαφηνιστεί.



Τέλος, το NO φαίνεται να δρα προστατευτικά από πιθανή βλάβη από τα ουδετερόφιλα, καθώς εμποδίζει την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο των αγγείων, όπου θα είχαν καταστροφική δράση. Ακόμη μετά την έκθεσή τους για ικανό χρονικό διάστημα σε αυτό, πυροδοτεί τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο τους [90].

## 6. Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και Προποφόλη

Στην διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει ένας ικανός αριθμός κλινικών και πειραματικών μελετών που διερεύνησαν την επίδραση της προποφόλης στην χημειοταξία και την λειτουργικότητα των πολυμορφοπύρρηνων ουδετεροφίλων, συχνά με αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Η μελέτη των Gonzalez-Correa διερεύνησε την επίδραση της προποφόλης στην σύνθεση του NO από τα πολυμορφοπύρρηνα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τους, η προποφόλη επάγει την σύνθεση του NO από την nNOS, την βασική δηλαδή συνθάση του NO για τα ουδετερόφιλα, ακόμη και μετά από μία bolus δόση εισαγωγής στην αναισθησία σε ποσοστό 57-83%. Ταυτόχρονα όμως φαίνεται να αναστέλλει την σύνθεση του από την iNOS σε ποσοστό 49-53%. Έτσι οι ερευνητές καταλήγουν στο συμπέρασμα πως η προποφόλη πιθανά να ευοδώνει τις φυσιολογικές δράσεις του NO, όπως την αγγειοδιαστολή, την αναστολή της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων, ενώ ταυτόχρονα να προστατεύει από τις βλαπτικές του δράσεις, όπως την συγκόλληση των αιμοπεταλίων, την χημειοταξία των ουδετεροφίλων, την αγγειοσύσπαση [67].

Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία και με πειραματικές μελέτες, όπως αυτή των Chen et al σε επίμυες που χορηγήθηκε ολεϊκό οξύ με στόχο την πρόκληση οξείας πνευμονικής βλάβης [94]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης φάνηκε πως η προποφόλη εμπόδιζε την αυξημένη έκφραση της iNOS από την διέγερση με ολεϊκό οξύ.

Σχετικά με την φαγοκυτταρική ικανότητα των ουδετεροφίλων και το κατά πόσο αυτή επηρεάζεται από την χορήγηση προποφόλης, τα αποτελέσματα από διάφορες έρευνες είναι αντιφατικά καθώς σε κάποιες *in vitro* και *in vivo* μελέτες αυτή φαίνεται μειωμένη [95] ενώ σε άλλες όχι. Η ομάδα των Erol et al μελέτησε την φαγοκυτταρική ικανότητα των ουδετεροφίλων στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ασθενών που υποβλήθηκαν σε τυμπανοπλαστική χωρίς παθολογία του αναπνευστικού [96]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά τους η φαγοκυτταρική ικανότητα παρέμεινε αμετάβλητη ενώ παρουσίασε αύξηση η ικανότητα τους για παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου, αποτέλεσμα σε συμφωνία και με άλλες μελέτες [67].

Μία εξαιρετικά πρόσφατη *ex vivo* μελέτη από τους Bredhauter et al έρχεται να συγκεντρώσει το σύνολο των ερωτημάτων σχετικά με την δράση της προποφόλης στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα. Οι ερευνητές συγκέντρωσαν δείγμα αίματος από 34 υγιείς εθελοντές, το οποίο επεξεργάστηκαν κατάλληλα και στην συνέχεια εξέθεσαν τα πολυμορφοπύρρηνα σε διαφορετικές

συγκεντρώσεις προποφύλης και μελέτησαν την χημειοτακτική ικανότητα, την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου και την ικανότητα δημιουργίας εξωκυτταρίων παγίδων με ή χωρίς την έκθεση σε λιποπολυσακχαρίδη [97]. Η προποφύλη φαίνεται να μειώνει την δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου από τα ουδετερόφιλα, όταν αυτά εκτίθενται σε λιποπολυσακχαρίδη, πιθανά συνδεδεμένη με τους GABAa υποδοχείς επιφανείας που έχει φανεί πως διαθέτουν τα πολυμορφοπύρρηνα. Η ικανότητα δημιουργίας εξωκυτταρίων παγίδων παρουσιάζει και αυτή μία ήπια μείωση μετά την έκθεση σε προποφύλη και λιποπολυσακχαρίδη. Συνολικά οι ερευνητική ομάδα καταλήγει στο συμπέρασμα πως η προποφύλη αμβλύνει την αυξημένη δραστηριότητα των ουδετεροφίλων μετά την έκθεση σε λιποπολυσακχαρίδη, πιθανολογώντας πως υπάρχουν θετικές επιδράσεις της προποφύλης στην συστηματική φλεγμονώδη απάντηση σηπτικών ασθενών.

Συνολικά, σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, θα μπορούσε να θεωρηθεί πως, ενώ η προποφύλη επάγει την δραστηριότητα των ουδετεροφίλων όταν αυτά δεν είναι ενεργοποιημένα, όταν αυτά ενεργοποιηθούν, φαίνεται να αμβλύνει την χημειοταξία και την δραστηριότητα τους, βελτιώνοντας έτσι μία πιθανά απορυθμισμένη φλεγμονώδη απάντηση.

## 7. Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα και Σεβοφλουράνιο

Το σεβοφλουράνιο έχει μελετηθεί αρκετά στην βιβλιογραφία σχετικά με την προστατευτική του δράση σε βλάβες ισχαιμίας επαναιμάτωσης και σε πειραματικά μοντέλα με αρκετά αντικρουόμενα αποτελέσματα από διάφορες ομάδες. Επίσης έχουν πραγματοποιηθεί και κάποιες μελέτες σχετικά με την επίδρασή του στα πολυμορφοπύρρηνα τόσο όταν χορηγείται μεμονωμένα όσο και σε σύγκριση με άλλους αναισθητικούς παράγοντες.

Η μελέτη των Minguet et al διερεύνησε *in vitro* την επίδραση του σεβοφλουρανίου στην απελευθέρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου, μυελοϋπεροξειδάση και ελαστάση από ουδετερόφιλα προερχόμενα από αίμα υγιών εθελοντών, τα οποία εκτέθηκαν σε διαφορετικούς παράγοντες ενεργοποίησης, όπως η λιποπολυσακχαρίδη [98]. Τα αποτελέσματά τους θυμίζουν αρκετά τις προαναφερθείσες μελέτες της προποφόλης: το σεβοφλουράνιο επάγει την αποκοκκίωση των ουδετεροφίλων και την απελευθέρωση ενεργών ριζών οξυγόνου όταν αυτά δεν είναι ενεργοποιημένα. Μετά την έκθεση τους σε λιποπολυσακχαρίδη και TNF- $\alpha$ , το σεβοφλουράνιο φάνηκε να αναστέλλει την αποκοκκίωση των ουδετεροφίλων, μειώνοντας τα επίπεδα μυελοϋπεροξειδάσης και ελαστάσης. Η δράση του δεν φάνηκε να μεταβάλλεται ουσιαστικά σχετικά με τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Επίσης, το σεβοφλουράνιο δεν είχε επίδραση στην επιβίωση των ουδετεροφίλων.

Η αναφερόμενη αύξηση της απελευθέρωσης ελεύθερων ριζών οξυγόνου τίθεται σε μία διαφορετική βάση από ακόμη μία μελέτη, στην οποία φάνηκε πως το σεβοφλουράνιο αυξάνει τα επίπεδα ιόντων υπεροξειδίου και NO εντός των ουδετεροφίλων. Οι ερευνητές θεώρησαν πως το σεβοφλουράνιο αυξάνει το οξειδωτικό στρες που υφίστανται τα πολυμορφοπύρρηνα και πιθανά επιδρά και στην επιβίωσή τους.

Τέλος, στην προαναφερθείσα μελέτη των Erol et al, το σεβοφλουράνιο φάνηκε να μην μεταβάλλει την απελευθέρωση ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τα ουδετερόφιλα του βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος. Η προέλευση των ουδετεροφίλων πιθανά να εξηγεί σύμφωνα με τους ερευνητές τα διαφορετικά αποτελέσματα συγκριτικά με μελέτες που είχαν πραγματοποιηθεί σε ουδετερόφιλα του αίματος [96].



### III. ΗΩΣΙΝΟΦΙΛΙΑ

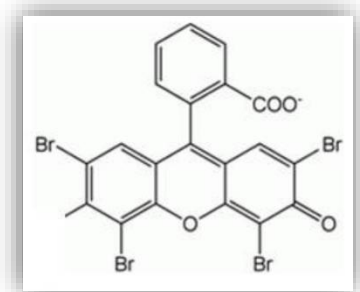
#### 1. Ιστορία

Η ιστορία των ηωσινοφίλων ξεκινάει αρκετά νωρίτερα από το 1870, όταν ο Paul Ehrlich αναφέρεται πρώτη φορά σε αυτά στην μελέτη του «Contribution to Knowledge of Granulated Connective Tissue Cells and of Eosinophil Leukocytes» την οποία παρουσίασε στην Εταιρεία Φυσιολογίας του Βερολίνου το 1879.

Ερευνητές όπως ο Julius Vogel ( 1814 – 1880) είχαν ήδη παρατηρήσει και περιγράψει λεπτομερώς την ύπαρξη κοκκιοκυττάρωσης σε αυτά, τη λύση των κοκκίων και την επακόλουθη απελευθέρωση των δραστικών ουσιών που αυτά εμπεριείχαν, την αμοιβαδοειδή κίνηση και μετανάστευση τους στους διάφορους ιστούς με την δημιουργία ψευδοποδίων.

Σε αυτή την ατμόσφαιρα πρωτοποριακής έρευνας, βαθιάς αρχαιοελληνικής παιδείας και ρομαντισμού που επικρατούσε στην Γερμανική Συνομοσπονδία του 19<sup>ου</sup> αιώνα, ο πρώτος χημικός Heinrich Caro (1834 – 1910) και μετέπειτα βραβευμένος με Nobel χημείας (1907), ονόμασε την φθορίζουσα κόκκινη βαφή, την οποία ανακάλυψε το 1874, Εωσίνη (Εικόνα 11). Για το όνομα αυτό αποτέλεσε έμπνευση η τιτάνα Ηώ καθώς και η αγαπημένη φίλη της νεότητάς του Anna Peters, της οποίας το υποκοριστικό ήταν ροδοδάχτυλη Ηώ.

Ο Paul Ehrlich εκτός από την ευρηματική ονοματοδοσία και περιγραφή των ηωσινοφίλων, πραγματοποίησε εξαιρετικά ουσιώδεις παρατηρήσεις όπως τον αυξημένο αριθμό αυτών στον μυελό των οστών πιθανολογώντας πως εκεί πραγματοποιείται ο σχηματισμός και η ωρίμανση τους. Επίσης πρότεινε ως μηχανισμό γένεσης του φαινομένου της ηωσινοφιλίας στο αίμα, την ύπαρξη κάποιας ουσίας ή κάποιας κατάστασης που επάγει την απελευθέρωση τους από τον μυελό στο περιφερικό αίμα και τα όργανα στόχους. Με μεγάλη ευστοχία περιέγραψε ως καταστάσεις που επάγουν την ηωσινοφιλία κάποιες από αυτές που γνωρίζουμε πολύ καλά και σήμερα: άσθμα, παρασιτώσεις, νεοπλασματικές νόσοι και χορήγηση συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών [99].



Εικόνα 11: Εωσίνη. (αρ): η χημική δομή της ουσίας, (δε): η βαφή γνώρισε σύντομα μετά την ανακάλυψή της μεγάλη επιτυχία ως βαφή υφασμάτων [99].

## 2. Ωρίμανση

Τα ηωσινόφιλα αποτελούν το 6% των κυττάρων του μυελού των οστών και 1-6% των λευκοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Απόλυτες τιμές ηωσινοφίλων > 450 – 500 κύτταρα/ $\mu$ L ορίζουν την ηωσινοφιλία ενώ τιμές >1500 κύτταρα/ $\mu$ L την υπερηωσινοφιλία.

Η ωρίμανση των ηωσινοφίλων στον μυελό των οστών πραγματοποιείται σε διάστημα μιας εβδομάδας περίπου υπό την επίδραση των IL3, GM-CSF και IL5 στις προγονικές μορφές. Επιπρόσθετα η IL-5 αποτελεί κυτταροκίνη κλειδί για την παραμονή και επιβίωση των ηωσινοφίλων στην κυκλοφορία και τους ιστούς, εμποδίζοντας την απόπτωσή τους και επάγοντας την ενεργοποίησή τους [100]. Εξαιρετικής σημασίας είναι και ο ρόλος της κυτταροκίνης HMGB1 (high mobility group box 1), μίας πρωτεΐνης με ρόλο αλαρμίνης, η οποία παράγεται μεταξύ άλλων και από το αναπνευστικό επιθήλιο και επάγει την σύνθεση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, οι οποίες οδηγούν στην διήθηση των αεραγωγών με ηωσινόφιλα. Αντίστοιχη δράση στον κυτταρικό πληθυσμό των ηωσινοφίλων παρουσιάζει και η κυτταροκίνη TNF-a.

## 3. Χημειοταξία

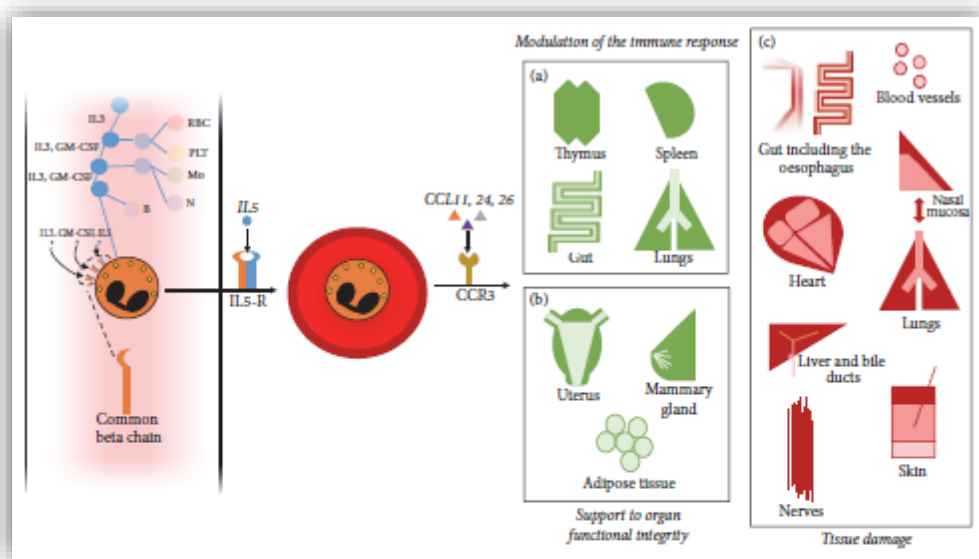
Υπό φυσιολογικές συνθήκες τα ηωσινόφιλα εντοπίζονται σε διάφορους ιστούς, συμμετέχοντας στους ομοιοστατικούς μηχανισμούς αυτών, όπως τα πρωτογενή και δευτερογενή λεμφικά όργανα, τις πλάκες του Peyer στο έντερο, τον λιπώδη ιστό, το μαζικό αδένια, την μήτρα [101].

Σε συγκεκριμένες παθολογικές καταστάσεις, τα ηωσινόφιλα μπορεί να μεταναστεύσουν σε άλλους ιστούς, όπως την καρδιά, τον οισοφάγο, τα χοληφόρα, τα περιφερικά νεύρα, το δέρμα αλλά και τον ανώτερο και κατώτερο αεραγωγό [102] υπό την δράση συγκεκριμένων χημειοτακτικών παραγόντων.



## 4. Λειτουργία

Πιο συγκεκριμένα, αναφορικά με την διήθηση του αναπνευστικού, φαίνεται πως η ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων μετά από ένα λοιμώδες, περιβαλλοντικό, ορμονικό ή φαρμακευτικό ερέθισμα οδηγεί σε μία παρατεταμένη και σταθερή έκκριση IL-5, η οποία με την σειρά της οδηγεί σε βρογχική υπεραντιδραστικότητα και remodeling του αναπνευστικού (Εικόνα 12). Είναι εντυπωσιακό πως η χειρουργική απομάκρυνση ιστών πλούσιων σε ηωσινόφιλα από το ανώτερο αναπνευστικό, όπως οι ρινικοί πολύποδες, οδηγεί σε μείωση του εκπνεόμενου NO από το κατώτερο αναπνευστικό σε ασθενείς με άσθμα [103].



Εικόνα 12: Σχηματική απεικόνιση των διαφορετικών λειτουργιών που επιτελούν τα ηωσινόφιλα. Η ωρίμανση των ηωσινοφίλων πραγματοποιείται στον μυελό των οστών. Στην συνέχεια υπό την χημειοτακτική δράση διαφόρων κυτταροκινών τα ηωσινόφιλα μεταναστεύουν σε ιστούς (a) συμβάλλοντας στην διατήρηση της ανοσιακής ομοιόστασης, (b) της λειτουργικότητας των ιστών ή (c) προκαλώντας βλάβες μέσω της διήθησης τους στα πλαίσια φλεγμονώδους απάντησης [100].

## 5. Ηωσινόφιλα και NO

Όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, ήδη από την δεκαετία του '90, παρατηρήθηκε πως η ύπαρξη υψηλών τιμών του εκπνεόμενου NO σε ασθενείς με άσθμα συσχετίζεται με την ηωσινοφιλική διήθηση του αεραγωγού.

Πράγματι, κατά την ενεργοποίηση της Th2 κυτταρικής ανοσίας, οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-5 και IL-10 οδηγούν τόσο στην επαγωγή της i-NOS στον αεραγωγό όσο και στην χημειοταξία των ηωσινοφίλων στον ιστό αυτό. Οδηγούν έτσι στον συγκεκριμένο φαινότυπο ασθματικών και ατοπικών ασθενών με αυξημένο FeNO, σε αυξημένα ηωσινόφιλα πτυέλων και αυξημένα ηωσινόφιλα περιφερικού αίματος.

Οι MacPherson et al [104] πραγματοποίησαν μία σημαντική μελέτη, κατά την οποία προσπάθησαν να ταυτοποιήσουν τον μηχανισμό με τον οποίο τα ηωσινόφιλα προκαλούν την ιστική βλάβη σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα. Στα αποτελέσματά τους παρουσίασαν πως η ενεργοποίηση των ηωσινοφίλων συσχετίζεται με το περιβάλλον στο οποίο πραγματοποιείται, όπως για παράδειγμα η παρουσία και ο ρυθμός σύνθεσης του NO. Επίσης προτείνουν πως και το ίδιο το NO, εκτός από ισχυρό χημειοτακτικός παράγοντας, αποτελεί ταυτόχρονα και υπόστρωμα για την ηωσινοφιλική υπεροξειδάση και την δημιουργία ελευθέρων ριζών αζώτου.

## 6. Ηωσινόφιλα και Προποφύλη

Η προποφύλη θεωρείται ότι ανήκει μεταξύ των φαρμακευτικών ουσιών που επηρεάζουν την χημειοταξία των ηωσινοφίλων του αίματος [105]. Μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε πειραματικό μοντέλο αλλεργικού άσθματος έδειξε πως η χρήση προποφύλης μειώνει την συγκέντρωσή των ηωσινοφίλων στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα [106]. Η δράση αυτή πιθανώς εξηγείται από τις δράσεις της προποφύλης επί των κυτταροκινών.

Πιο συγκεκριμένα η προποφύλη φαίνεται να μειώνει τα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών μεταξύ των οποίων και οι προαναφερθείσες IL-5 και IL-6, χημειοτακτικοί παράγοντες των ηωσινοφίλων ενώ αυξάνει τα επίπεδα της αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης IL-10 [89].

## 7. Ηωσινόφιλα και σεβοφλουράνιο

Μέχρι πρόσφατα η βιβλιογραφία σχετικά με την δράση του σεβοφλουρανίου στον κυτταρικό πληθυσμό των ηωσινοφίλων ήταν εξαιρετικά πτωχή. Τα τελευταία χρόνια όμως υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον για τις ανοσοτροποποιητικές δράσεις των αναισθητικών παραγόντων γενικότερα, οδηγώντας σε περισσότερες μελέτες αναφορικά με αυτές.

Η κυτταροκίνη HMGB1 ανήκει στην οικογένεια των αλαρμίνων, οικογένεια πρωτεϊνών οι οποίες απελευθερώνονται κατόπιν ιστικής βλάβης και δρουν ως σηματοδοτικά μόρια τα οποία επάγουν την σύνθεση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, την χημειοταξία και την ενεργοποίηση κυττάρων του ανοσοποιητικού, μεταξύ των οποίων και τα ηωσινόφιλα.

Ακόμη, η δράση της οδηγεί σε αύξηση τόσο της επιβίωσης των ηωσινοφίλων όσο και της συγκέντρωσής τους σε διηθήσεις του πνεύμονα. Σε μία πρόσφατη μελέτη των Shen et al [107] σε πειραματικό μοντέλο επαγόμενης φλεγμονής του αεραγωγού, η επαναλαμβανόμενη χρήση σεβοφλουρανίου φάνηκε να περιορίζει την έκφραση της HMGB1 στον πνεύμονα αλλά και της TNF- $\alpha$ , πιθανώς ως απότοκος της μειωμένης έκφρασης της HMGB1, οδηγώντας μεταξύ άλλων σε μειωμένη διήθηση του αναπνευστικού από τα ηωσινόφιλα.

#### IV. ΜΗ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΑΙΣΘΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Οι διάφοροι αναισθητικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πράξη παρουσιάζουν και αρκετές μη αναισθητικές δράσεις οι οποίες μπορεί να περιπλέκουν ή να διευκολύνουν την κλινική πρακτική

##### 1. Προποφύλη: μη αναισθητικές δράσεις

Η προποφύλη παρουσιάζει έναν σημαντικό αριθμό μη αναισθητικών δράσεων. Αρκετές μελέτες έχουν καταδείξει την αντιεμετική της δράση η οποία είναι τόσο άμεση, πιθανά μέσω της σύνδεσής της με τους D2 ντοπαμινεργικούς υποδοχείς, όσο και έμμεση μέσω της σύνδεσής της στους 5HT3 σεροτονινεργικούς υποδοχείς [108]. Επίσης, παρουσιάζει αναλγητική δράση συνδεδεμένη με τους υποδοχείς GABA και γλυκίνης στον νωτιαίο μυελό, υποδοχείς οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην μετάδοση των αλγεϊκών ερεθισμάτων [109].

Εξαιρετικής σημασίας όμως και ειδικά για την τρέχουσα έρευνα είναι οι δράσεις της προποφύλης στο ανοσοποιητικό, το αιμοποιητικό καθώς και στο μονοπάτι της σύνθεσης του NO αλλά και στο οξειδωτικό stress.

Σχετικά με το ανοσοποιητικό, η χορήγηση προποφύλης σε βαρέως πάσχοντες [110] φαίνεται να επάγει την σύνθεση των κυτταροκινών IL-1β, IL6, TNFα και να οδηγεί σε αύξηση των μετρούμενων επιπέδων της IFNγ ενώ ταυτόχρονα μειώνει τα επίπεδα των IL2 και IL10. Οι αναφερόμενες ιντερλευκίνες διαδραματίζουν διαφορετικό ρόλο στην ανοσιακή απάντηση. Πιο συγκεκριμένα οι κυτταροκίνες IL-1β, IL-2, IL-6, TNFα, IFNγ είναι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, υπεύθυνες για τον πυρετό, την υπόταση, την απελευθέρωση προσταγλανδινών και την ενίσχυση της αντιγονοπαρουσιαστικής ικανότητας των μακροφάγων ενώ η IL-10 έχει αντιφλεγμονώδη δράση δρώντας ανασταλτικά στην αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των μακροφάγων, αναστέλλοντας την IL6 και την IFNγ. Έτσι φαίνεται πως η δράση της προποφύλης στην ανοσιακή απάντηση βαρέως πασχόντων είναι μεικτού χαρακτήρα.

Μία νεώτερη μελέτη [89] διενεργήθηκε σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θωρακοχειρουργικές επεμβάσεις με χρήση αερισμού ενός πνεύμονα. Σε αυτή μετρήθηκαν κυτταροκίνες που απελευθερώθηκαν από το επιθήλιο τόσο του αεριζόμενου όσο και του μη αεριζόμενου πνεύμονα σε δύο ομάδες ασθενών όπου στην μία χορηγήθηκε προποφύλη και στην άλλη σεβοφλουράνιο. Η

ομάδα της προποφόλης δεν παρουσίασε κάποια μεταβολή στην μέτρηση της IL-6 πριν και μετά την εφαρμογή αερισμού ενός πνεύμονα, ενώ η IL-10 αυξήθηκε. Οι Wakabayasi et al κατέληξαν πως αυτή η αύξηση πιθανά να φανερώνει μία καταστολή της ανοσιακής απάντησης που οφείλεται στο χειρουργικό stress και την εφαρμογή αερισμού ενός πνεύμονα.

Σε μία πρόσφατη μελέτη ανασκόπησης από τους Yuan et al του 2021 αναλύθηκαν 8 μελέτες με συνολικό αριθμό 488 ασθενών που υποβλήθηκαν σε επεμβάσεις με αερισμό ενός πνεύμονα και χορηγήθηκε προποφόλη ή σεβοφλουράνιο ως αναισθητικός παράγοντας [70]. Η φλεγμονώδης απάντηση μεταξύ των δύο ομάδων, όπως αξιολογήθηκε με την μέτρηση IL-6 και TNFa φαίνεται να μην παρουσιάζει ουσιώδη διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

Οι Chen et al [94] σε πειραματική μελέτη σε επίμυες χορήγησαν ολεϊκό οξύ για την πρόκληση οξείας πνευμονικής βλάβης και μελέτησαν την επίδραση της προποφόλης όταν αυτή χορηγήθηκε πρό ή μετά την έγχυση αυτού. Η προεπεξεργασία με προποφόλη φάνηκε να μειώνει σημαντικά τις κυτταροκίνες TNFa, IL-1β, IL-6, IL-10 οι οποίες αυξάνονταν ως απάντηση στην χορήγηση ολεϊκού, υποδηλώνοντας έτσι τον προστατευτικό ρόλο της προποφόλης στην φλεγμονώδη απάντηση.

Ακόμη μία πειραματική μελέτη σε μύες με ασθματικού τύπου άσθμα [106] διερεύνησε την επίδραση της προποφόλης στις κυτταροκίνες του βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (BALF), όταν αυτή χορηγείτο μετά την ευαισθητοποίηση των πειραματόζωων σε συγκεκριμένο αλλεργιογόνο. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η προποφόλη μείωσε σημαντικά τις τιμές των IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 και TNFa στο BALF καθώς επίσης και την φλεγμονώδη απάντηση του αεραγωγού με μειωμένο αριθμό φλεγμονωδών κυττάρων και παραγωγή βλέννης.

Συμπερασματικά, υπάρχουν πειραματικά και κλινικά δεδομένα για την πιθανή προστατευτική δράση της προποφόλης έναντι της φλεγμονώδους απάντησης που επάγεται από διάφορους εκλυτικούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων και χειρουργικές ή αναισθησιολογικές πρακτικές.

Η ανοσοτροποποιητική και αντιοξειδωτική δράση της προποφόλης διαπιστώνεται και στην επίδραση της στην παραγωγή του NO και την λειτουργικότητα της i-NOS. Η ομάδα των Chen et al στην προαναφερθείσα μελέτη με χορήγηση ολεϊκού οξέως για την πρόκληση οξείας πνευμονικής βλάβης διαπίστωσε πως οδηγούσε σε αύξηση της έκφρασης της iNOS κυρίως και λιγότερο της eNOS [94]. Η προποφόλη φάνηκε να μην έχει σημαντική επίδραση στην έκφραση

της i-NOS και e-NOS στους επίμυες που δεν είχε χορηγηθεί ολεϊκό οξύ, όμως στην ομάδα που χορηγήθηκε ολεϊκό οξύ η προποφόλη οδήγησε σε σημαντική μείωση της έκφρασης των ενζύμων αυτών, ειδικά όταν έγινε προχορήγηση αυτής. Το ίδιο αποτέλεσμα είχε και στο μετρούμενο εκπνεόμενο NO καθώς και στους μεταβολίτες του NO, υποστηρίζοντας έτσι την αντιοξειδωτική της δράση.

Αντίστοιχα αποτελέσματα είχε και μία πειραματική μελέτη του 2003 κατά την οποία εξέθεσαν μακροφάγα ενεργοποιημένα από διαφορετικές συγκεντρώσεις λιποπολυσακχαρίδης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις προποφόλης και στην συνέχεια μέτρησαν την έκφραση της iNOS [111]. Η προποφόλη φάνηκε να μην έχει κάποια επίδραση στην έκφραση της iNOS σε μη ενεργοποιημένα μακροφάγα. Η ομάδα συγχορήγησης λιποπολυσακχαρίδης και προποφόλης παρουσίασε μειωμένη έκφραση iNOS, συγκριτικά με την ομάδα στην οποία χορηγήθηκε αποκλειστικά λιποπολυσακχαρίδη. Σύμφωνα με τους ερευνητές, τα αποτελέσματα αυτά συνηγορούν υπέρ της αντιοξειδωτικής και ανοσοτροποποιητικής δράσης της προποφόλης, δράσεις που είχαν προταθεί και από άλλες ερευνητικές ομάδες [112].

Δύο ακόμη πειραματικές έρευνες σε μακροφάγα μυών, στις οποίες η προποφόλη φάνηκε να μειώνει τόσο την έκφραση της iNOS, πιθανά σε προμεταφραστικό επίπεδο μέσω toll-like υποδοχέων τύπου 2 [113], όσο και την πιθανότητα κυτταρικού θανάτου επαγόμενου από NO [114] ενισχύουν την θεωρία περί της αντιοξειδωτικής δράσης της προποφόλης.

Συνολικά, φαίνεται πως η προποφόλη παρουσιάζει προστατευτική δράση μετά από την ενεργοποίηση των μακροφάγων από διαφορετικούς φλεγμονώδεις παράγοντες, πιθανά μειώνοντας την έκφραση της iNOS αλλά και απομακρύνοντας ελεύθερες ρίζες.

Από τα τέλη της δεκαετίας του '90 υπάρχει μία πειραματική μελέτη σχετικά με την επίδραση των αναισθητικών παραγόντων στην χημειοταξία των ηωσινοφίλων in vitro [105], η οποία έδειξε πως η προποφόλη είχε μικρή επίδραση σε αυτήν. Δύο νεώτερες κλινικές μελέτες φαίνεται πως επιβεβαιώνουν αυτά τα αποτελέσματα. Η μελέτη των Berger et al συνέκρινε την δράση της προποφόλης με αυτή του ισοφλουρανίου σε μετρούμενες κυτταροκίνες του εγκεφαλονωτιαίου υγρού σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε νευροχειρουργικές επεμβάσεις [115]. Μεταξύ των μετρούμενων κυτταροκινών ήταν και η εοταξίνη, η οποία αποτελεί εξαιρετικά ισχυρό παράγοντα χημειοταξίας των ηωσινοφίλων. Σε αυτή την μελέτη τα επίπεδα της εοταξίνης δεν φάνηκε να

διαφέρουν σημαντικά από τις προεγχειρητικές στις μετεγχειρητικές τιμές στην ομάδα της προποφόλης.

Ανάλογα αποτελέσματα σχετικά με την εοταξίνη έφερε και η μελέτη των Kallioinen et al στην οποία μετρήθηκε μεταξύ άλλων κυτταροκινών και η εοταξίνη σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε αναισθησία με δεξμεδετομιδίνη ή προποφόλη αποκλειστικά, χωρίς την διενέργεια κάποιας παρέμβασης [116]. Η εοταξίνη στην ομάδα της προποφόλης φαίνεται να μην παρουσίασε κάποια στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδά της. Ωστόσο πειραματικά δεδομένα από μοντέλα ηωσινοφιλικού άσθματος σε επίμυες, όπως αναφέρθηκε ανωτέρω, δείχνουν μειωμένη ηωσινοφιλική διήθηση του αεραγωγού μετά την χορήγηση προποφόλης σε ευαισθητοποιημένα άτομα [106].

Μεταξύ των μη αναισθητικών δράσεων της προποφόλης, μεγάλης σημασίας είναι η επίδραση που εμφανίζει στην μηχανική των πνευμόνων. Αρχικά, έχει φανεί τόσο από πειραματικές όσο και από κλινικές μελέτες πως η προποφόλη μειώνει τις αντιστάσεις του αεραγωγού τόσο φυσιολογικών όσο και ασθματικών υποκειμένων.

Πιο συγκεκριμένα η χορήγηση προποφόλης σε ασθενείς χωρίς παθολογία του αναπνευστικού φάνηκε να υπερέχει της θειοπεντάλης στην επίπτωση βρογχόσπασμου σχετιζόμενου με την εισαγωγή στην αναισθησία και την διασωλήνωση [117] ενώ σε μη ασθματικούς καπνιστές που υποβλήθηκαν σε γενική αναισθησία συσχετίστηκε με μειωμένες αντιστάσεις του αναπνευστικού συγκριτικά με την ετομιδάτη και την θειοπεντάλη.

Επιπρόσθετα, πειραματικά δεδομένα οδηγούν στην παρατήρηση πως η προποφόλη σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις οδηγεί σε χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αεραγωγού και ειδικότερα των μεγαλύτερων, κεντρικότερων αεραγωγών [118]. Η δράση αυτή επιβεβαιώθηκε και αρκετά πρώιμα κατά την χρήση της σε περιπτώσεις ασθματικών ασθενών με σοβαρό άσθμα οι οποίοι υπεβλήθησαν σε χειρουργικές επεμβάσεις και παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη επίπτωση βρογχόσπασμου διεγχειρητικά και μετεγχειρητικά.

Πως εξηγείται όμως αυτή η άμεση δράση που οδηγεί στην χάλαση των λείων μυϊκών ινών του αεραγωγού; Πιθανά η προποφόλη να οδηγεί σε μείωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, αναστέλλοντας την απελευθέρωση του από το σαρκοπλασματικό δίκτυο καθώς και την είσοδο

του ενδοκυτταρίως μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, πιθανώς μειώνοντας την παραγωγή ινοσιτόλης (IP3) η οποία επάγει την εισροή ασβεστίου ενδοπλασματικά [119].

Η ρύθμιση του τόνου, της διαμέτρου και των αντιστάσεων των αεραγωγών ρυθμίζεται επιπρόσθετα από το συμπαθητικό, το παρασυμπαθητικό και το μη αδρενεργικό, μη χολινεργικό νευρικό (NANC) σύστημα. Πειραματικά δεδομένα σε κυνοειδή αναφέρουν πως η προποφόλη μειώνει τόσο τον βασικό τόνο του αεραγωγού με τρόπο παρόμοιο με την ατροπίνη αλλά ταυτόχρονα μειώνει την επαγόμενη από την ισταμίνη σύσπαση των βρόγχων, πιθανά μέσω μείωσης του τόνου του παρασυμπαθητικού. Επιπρόσθετα, πειραματικά δεδομένα από την ομάδα των Gleason et al οδηγούν στο συμπέρασμα πως η προποφόλη έχει επίδραση και στο NANC σύστημα καθώς σε κλινικές συγκεντρώσεις αναστέλλει την δράση της ταχυκινίνης A, νευροδιαβιβαστική ουσία του NANC, η οποία προκαλεί σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων [120].

Τέλος, είναι πιθανό πως η αλλοστερική δράση της προποφόλης στους GABA<sub>A</sub> υποδοχείς που βρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες των βρόγχων να επάγει και αυτή με την σειρά της χάλαση αυτών, επιπρόσθετα με την δράση της στην ίδια ομάδα υποδοχέων στο στέλεχος [121].

Συνολικά, η προποφόλη φαίνεται πως δρα πολυεπίπεδα ενισχύοντας κυρίως την χάλαση των λείων μυϊκών ινών των βρόγχων, οδηγώντας σε μείωση των αντιστάσεων και βελτιώνοντας τόσο την εισπνευστική όσο και την εκπνευστική ροή κατά τον μηχανικό αερισμό ασθενών χωρίς παθολογία του αναπνευστικού αλλά και καπνιστών ή ασθενών με άσθμα και βρογχική υπεραντιδραστικότητα.



## 2. Σεβοφλουράνιο: μη αναισθητικές δράσεις

Ήδη από τα τέλη της δεκαετίας του '90 και ενώ το σεβοφλουράνιο βρισκόταν σε κυκλοφορία στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ λιγότερο από μία δεκαετία, πραγματοποιήθηκαν οι πρώτες μελέτες που παρουσίαζαν την πιθανή προστατευτική δράση του έναντι της φλεγμονώδους απάντησης οφειλόμενης στο σύνδρομο ισχαιμίας και επαναιμάτωσης, αρχικά του μυοκαρδίου και στην συνέχεια του ήπατος [122].

Η ομάδα των Xu et al το 2016, πραγματοποίησε μία πειραματική μελέτη σε επίμυες οι οποίοι υποβλήθηκαν σε ηπατική ισχαιμία και επαναιμάτωση και ενώ τους χορηγούνταν σε συνεχή χορήγηση προποφόλη, σεβοφλουράνιο ή κανένας από τους δύο παράγοντες [123]. Στην συνέχεια οι ερευνητές με την χρήση των μεθόδων ELISA και QRT-PCR πραγματοποίησαν ποσοτική μέτρηση και μέτρηση της έκφρασης των κυτταροκινών TNF-a, IL-1, IL-6, IL-10 στο ηπατικό παρέγχυμα. Η ομάδα του σεβοφλουρανίου παρουσίασε σημαντικά αυξημένα επίπεδα της αντιφλεγμονώδους IL-10 σε σύγκριση με την ομάδα που δεν έλαβε κανέναν από τους δύο παράγοντες. Ακόμη παρουσίασε μείωση της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1, IL-6 και σημαντικά μεγαλύτερη του TNF-a συγκριτικά με την ομάδα της προποφόλης. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν ενδεικτικά της προστατευτικής δράσης του σεβοφλουρανίου έναντι της φλεγμονώδους απάντησης οφειλόμενη σε ισχαιμία.

Νωρίτερα αναφέρθηκε η μελέτη των Wakabayasi et al [89] η οποία αφορούσε σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε οισοφαγεκτομή με κύριο αναισθητικό παράγοντα προποφόλη ή σεβοφλουράνιο και μετρήθηκαν τα επίπεδα των κυτταροκινών IL-6, IL-8, IL-10 στο επιθηλιακό υγρό και των δύο πνευμόνων πριν, κατά και μετά την εφαρμογή αερισμού ενός πνεύμονα. Στα κύρια αποτελέσματα της μελέτης, φαίνεται πως η ομάδα του σεβοφλουρανίου παρουσίασε αυξημένη παραγωγή IL-6 και IL-10 και μειωμένη παραγωγή IL-8 σε σύγκριση με την ομάδα της προποφόλης μετά την εφαρμογή αερισμού ενός πνεύμονα, ενώ νωρίτερα δεν παρουσιάζεται ουσιώδης διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

Μία μελέτη ανασκόπησης του 2021 από τους Zhang et al [70] παρουσιάζει μία συνολικότερη εικόνα της επίδρασης του σεβοφλουρανίου σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αερισμό ενός πνεύμονα. Τα συμπεράσματα της ανασκόπησης είναι πως το σεβοφλουράνιο φαίνεται να μειώνει σημαντικά τα επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτταροκινών IL-6 και IL-8 στον μη αεριζόμενο

πνεύμονα. Στον αεριζόμενο πνεύμονα παρατηρείται επίσης εικόνα μείωσης των IL-6, IL-8 και TNF-a χωρίς όμως να είναι στατιστικά σημαντική.

Συμπερασματικά, πειραματικά και κλινικά δεδομένα οδηγούν στο συμπέρασμα πως το σεβοφλουράνιο πιθανά παρουσιάζει προστατευτική δράση από την φλεγμονώδη απάντηση που πυροδοτείται από το χειρουργικό stress, βλάβες ισχαιμίας – επαναιμάτωσης και διαταραχών αερισμού – αιμάτωσης.

Σε συνάφεια με τις ανωτέρω μελέτες, η ερευνητική ομάδα του Bedirli μελέτησε σε επίμυες την πιθανή προστατευτική δράση του σεβοφλουρανίου ή του ισοφλουρανίου έναντι της πνευμονικής βλάβης στα πλαίσια σηπτικής καταπληξίας [69]. Μεταξύ των υπόλοιπων καταληκτικών σημείων της μελέτης ήταν και η μέτρηση των κυτταροκινών IL-6, IL-1β, TNFa και του NO ως επαγωγείς της κυτταρικής φλεγμονώδους απάντησης. Τα μετρούμενα επίπεδα όλων ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα στην ομάδα του σεβοφλουρανίου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου μετά την επαγωγή της σηπτικής καταπληξίας. Μετρήθηκε επίσης η TAC (total antioxidant capacity) η οποία ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένη στην ομάδα του σεβοφλουρανίου συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, η οποία σε συνδυασμό με την μειωμένη παραγωγή NO, οδηγούν στο συμπέρασμα πως το σεβοφλουράνιο αμβλύνει την φλεγμονώδη απάντηση, την οξειδωση των λιπιδίων και το οξειδωτικό stress συνολικά κατά την σηπτική καταπληξία.

Η χορήγηση του σεβοφλουρανίου έχει μελετηθεί σχετικά με την επίδρασή της και στην αλλεργική φλεγμονή του αεραγωγού σε πειραματικά μοντέλα.

Σε μία μελέτη του 2014 σε επίμυες οι οποίοι είχαν ευαισθητοποιηθεί με τη χορήγηση ωολευκωματίνης (OVA) η χορήγηση σεβοφλουρανίου φάνηκε να αναστέλλει την έκφραση της HMGB1 από το πνευμονικό παρέγχυμα οδηγώντας σε μειωμένη κυτταρική διήθηση του αεραγωγού, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου [107]. Η HMGB1 (high mobility group box 1) απελευθερώνεται από ανοσοεπαρκή κύτταρα και συνδεδεμένη με διαφορετικούς υποδοχείς επάγει την έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών (IL-1, TNFa) και την χημειοταξία των ηωσινοφίλων, συμβάλλοντας στην ηωσινοφιλική διήθηση. Ακόμη έχει φανεί πως παρατείνει την επιβίωση των ηωσινοφίλων [124]. Έτσι, η επαναλαμβανόμενη χορήγηση σεβοφλουρανίου φάνηκε να μειώνει τον αριθμό των διηθημάτων μειώνοντας έτσι την αλλεργική φλεγμονή του αεραγωγού.

Η ίδια ερευνητική ομάδα σε επόμενη πειραματική μελέτη της με όμοιο πληθυσμό πειραματόζωων, διέγερση αλλεργικής απάντησης με χορήγηση OVA και χορήγηση σεβοφλουρανίου, είχε εξαιρετικά ενδιαφέροντα αποτελέσματα [125]. Το σεβοφλουράνιο οδήγησε σε μία σημαντική μείωση της κυτταρικής διήθησης του αεραγωγού με πλέον σημαντικότερη μείωση αυτή των κυτταρικών πληθυσμών των ηωσινοφίλων και των λεμφοκυττάρων. Επίσης, η χορήγησή του οδήγησε στην μειωμένη σύνθεση των προφλεγμονωδών κυττάρων της Th2 κυτταρικής απάντησης (IL-4, IL-13), η οποία οδηγεί στην IgE επαγόμενη ανοσιακή απάντηση που συμμετέχει και στην εκδήλωση του βρογχικού άσθματος μεταξύ άλλων κλινικών οντοτήτων.

Αποτελέσματα που συνάδουν με τα ανωτέρω είχε και η προαναφερόμενη μελέτη των Bedirli et al [69], οι οποίοι διεπίστωσαν πως η ομάδα των πειραματόζωων στην οποία είχε χορηγηθεί σεβοφλουράνιο παρουσίαζε σημαντικά μειωμένα επίπεδα μυελοϋπεροξειδάσης στο πνευμονικό παρέγχυμα. Η μυελοϋπεροξειδάση είναι ένα λυσοσωματικό ένζυμο το οποίο απελευθερώνεται από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και θεωρείται δείκτης ιστικής διήθησης. Ακόμη οι ερευνητές διαπίστωσαν πως η χορήγηση σεβοφλουρανίου μείωσε σημαντικά τα μετρούμενα επίπεδα μαλονδιαλδεύδης (MDA) [126]. Η μαλονδιαλδεύδη αποτελεί τελικό προϊόν της οξείδωσης των λιπαρών οξέων και παρουσιάζει τοξική δράση στα κύτταρα και επάγει την κυτταρική απόπτωση στον πνεύμονα ασθενών με οξεία πνευμονική βλάβη [127]. Έτσι, τα ανωτέρω αποτελέσματα αποτελούν έμμεσους δείκτες της προστατευτικής δράσης του σεβοφλουρανίου στο πνευμονικό παρέγχυμα από την κυτταρική διήθηση και την απελευθέρωση κυτταροτοξικών ουσιών σε αυτό.

Ακόμη μία εξαιρετικής κλινικής σημασίας μη αναισθητική δράση του σεβοφλουρανίου είναι αυτή στην μηχανική των πνευμόνων και τον τόνο του αεραγωγού.

Το 2006 πραγματοποιήθηκε μία πειραματική μελέτη από μία ιαπωνική ομάδα, η οποία διερεύνησε την διαφορετική επίδραση του σεβοφλουρανίου σε ινδικά χοιρίδια τα οποία είχαν εκτεθεί είτε σε παθητικό κάπνισμα είτε σε ωολευκωματίνη, δημιουργώντας έτσι συνθήκες βρογχικής υπεραντιδραστικότητας [128]. Στα αποτελέσματά τους περιγράφουν την επίδραση του σεβοφλουρανίου στις συνολικές πνευμονικές αντιστάσεις, την δυναμική ευενδοτότητα, το ενδοκυττάριο ασβέστιο σε συνδυασμό με την μυϊκή τάση, την δραστηριότητα των διαύλων ασβεστίου καθώς και το ενδοκυττάριο cAMP. Σύμφωνα με αυτά το σεβοφλουράνιο τόσο στην ομάδα ελέγχου όσο και στις άλλες δύο ομάδες φαίνεται να εμποδίζει σημαντικά την αύξηση των

συνολικών αντιστάσεων του αεραγωγού και να αυξάνει την ευενδοτότητα, με την δράση αυτή να είναι πιο έντονη στο μοντέλο της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας συγκριτικά με αυτή του παθητικού καπνίσματος. Το σεβοφλουράνιο αναστέλει την σύσπαση των λείων μυϊκών ινών του τραχειοβρογχικού δέντρου μειώνοντας την συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου και αυξάνοντας αυτή του cAMP.

Συναφή αποτελέσματα προκύπτουν και από άλλες πειραματικές μελέτες όπως αυτές των Rocco et al [129] σε μύες με μοντέλο χρόνιου άσθματος, όπου φάνηκε πως το σεβοφλουράνιο μειώνει την οδηγό πίεση που είναι απαραίτητη για να υπερνικηθούν οι αντιστάσεις των αεραγωγών, η κυψελιδική ανομοιογένεια καθώς και η στατική ευενδοτότητα συγκριτικά με την πεντοθάλη, που θεωρείται από τους ερευνητές χωρίς ουσιώδη επίδραση στο αναπνευστικό.

Μελετώντας περαιτέρω την βιβλιογραφία ανευρίσκοντα αρκετές περιγραφές κλινικών περιστατικών όπου το σεβοφλουράνιο χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση status asthmaticus απειλητικού για την ζωή, τόσο σε ενήλικες όσο και σε παιδιατρικούς ασθενείς [130], [131], συνεργικά με τις υπόλοιπες παρεμβάσεις με εξαιρετικά ευνοϊκά αποτελέσματα.

Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες πειραματικές μελέτες όπως των Habre et al [132] καθώς και των Correa et al [133] οι οποίες έχουν διαφορετικά αποτελέσματα σε σχέση με τις προαναφερθείσες. Και οι δύο ομάδες ερευνητών καταλήγουν πως σε χοιρίδια και επίμυες αντίστοιχα, χωρίς όμως παθολογία αναπνευστικού, το σεβοφλουράνιο αυξάνει τις παρεγχυματικές, ινωδοελαστικές, αντιστάσεις τόσο κλινικά όσο και ιστολογικά με ανεύρεση ανομοιογένειας του παρεγχύματος με περιοχές τόσο σύγκλεισης των κυψελίδων όσο και υπερδιάτασης αυτών.

Συνολικά το σεβοφλουράνιο φαίνεται να διαθέτει βρογχοδιασταλτικές ιδιότητες ειδικά σε έδαφος χρόνιου άσθματος όπου το αναπνευστικό έχει υποστεί remodeling ενώ οι ιδιότητες αυτές πιθανά υπολείπονται στους ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια σε έδαφος καπνίσματος και στους ασθενείς χωρίς παθολογία αναπνευστικού.



## **2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **I. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ**

Η διακύμανση του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου και των ηωσινοφίλων δεν έχει μελετηθεί ξανά σε χειρουργικούς ασθενείς. Η υπόθεση της μελέτης ήταν πως η ενδοφλέβια και η εισπνευστική αναισθησία παρουσιάζουν διαφορετική επίδραση στην πιθανότητα περιεγχειρητικής βρογχικής υπεραντιδραστικότητας, όπως αυτή μπορεί να εκτιμηθεί μέσω της μέτρησης του εκπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου και των ηωσινοφίλων του αίματος. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό να διερευνηθεί η διαφορετική επίδραση δύο μεθόδων διατήρησης γενικής αναισθησίας στο εκπνεόμενο ΝΟ και τα ηωσινόφιλα του αίματος, σε ασθενείς χωρίς υποκείμενη νόσο του αναπνευστικού ή γνωστή βρογχική υπεραντιδραστικότητα που υποβλήθηκαν σε θυρεοειδεκτομή.

### **II. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **1. Πληθυσμός Μελέτης**

Η παρούσα προοπτική, μονή – τυφλή, τυχαιοποιημένη, κλινική μελέτη πραγματοποιήθηκε μεταξύ Μαΐου 2014 και Απριλίου του 2018 στο Αρεταίειο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο. Το πρωτόκολλο της μελέτης καταχωρήθηκε στην βάση [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) με αριθμό NCT02065635. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι [134] για την ασφάλεια του ασθενούς και ο σχεδιασμός της έγινε με βάση την δήλωση CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Clinical Trials)[135]. Το ερευνητικό πρωτόκολλο έλαβε έγκριση από την επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Νοσοκομείου (B-19/19-12-2013).

Από τους υποψήφιους ασθενείς που είχαν προγραμματιστεί για ολική θυρεοειδεκτομή στο χρονικό διάστημα αυτό, συνολικά 60 ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στην μελέτη. Τα κριτήρια ήταν: ηλικία 18 – 75 έτη, όλα τα φύλα, φυσική κατάσταση κατά ASA (American Society of Anesthesiologists) I-III, ολική θυρεοειδεκτομή. Με στόχο την μεγαλύτερη ομοιογένεια των χειρουργικών χειρισμών, όλοι οι ασθενείς χειρουργήθηκαν από τον ίδιο πεπειραμένο χειρουργό. Τα κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη ήταν: άρνηση ή αδυναμία για την χορήγηση της συγκατάθεσης του ασθενούς λόγω γλωσσικών εμποδίων ή γνωσιακής διαταραχής, κάπνισμα,

ιστορικό ατοπίας, αλλεργίας, βρογχική υπεραντιδραστικότητα ή άλλη αναπνευστική νόσος (άσθμα, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια), αντένδειξη για την χορήγηση παρακεταμόλης, παρεκοξίμπης ή τραμαδόλης και φαρμακευτική αγωγή με νιτρώδη. Η χορήγηση της συγκατάθεσης κατόπιν ενημέρωσης πραγματοποιούταν κατά την προαναισθητική επίσκεψη.

Οι ασθενείς κατανέμονταν τυχαία μέσω μίας λίστας τυχαιοποιημένων αριθμών, οι οποίοι αποκτήθηκαν μέσω του [www.randomizer.org](http://www.randomizer.org), σε μία από τις δύο ομάδες της μελέτης. Οι ομάδες διέφεραν ως προς την τεχνική διατήρησης της αναισθησίας: στην μία ομάδα η διατήρηση της αναισθησίας επιτυγχανόταν με χορήγηση εισπνεόμενου αναισθητικού παράγοντα (ομάδα σεβοφλουρανίου) ενώ στην άλλη ομάδα της επιτυγχανόταν με συνεχή ενδοφλέβια χορήγηση προποφόλης 1% (ομάδα προποφόλης).

## **2. Σχεδιασμός Μελέτης και Αναισθησιολογική Διαχείριση Ασθενών**

Την ημέρα της επέμβασης οι ασθενείς υποβάλλονταν σε μέτρηση του FeNO. Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με φορητό αναλυτή NO, τον NObreath® πρώτης γενιάς της εταιρείας Bedfont® Scientific Ltd (Εικόνα 13), κατά την διάρκεια της προαναισθητικής επίσκεψης (χρονικό σημείο T<sub>0</sub>). Οι ασθενείς είχαν αποφύγει την χρήση καφέ τις τελευταίες 12 ώρες [136]. Η μέτρηση του NO έπρεπε να πραγματοποιηθεί με εκπνευστική ροή 50 ml/sec και η μονάδα μέτρησης ήταν ppb (parts per billion). Αν ο ασθενής εξέπνεε εκτός των ορίων η μέτρηση θεωρείτο αποτυχημένη και γινόταν νέα προσπάθεια. Για τον υπολογισμό της τιμής του FeNO ακολουθήσαμε τις οδηγίες της American Thoracic Society, όπου συστήνεται η πραγματοποίηση 2 διαδοχικών μετρήσεων σε κάθε ασθενή και ο υπολογισμός της μέσης τιμής αυτών [137]. Οι μετρήσεις με τον συγκεκριμένο φορητό αναλυτή NO έχει αποδειχθεί πως είναι αξιόπιστες σε σύγκριση με αυτές που πραγματοποιούνται με σταθερούς αναλυτές NO [62].



Εικόνα 13: Ο φορητός αναλυτής NO, NObreath® πρώτης γενιάς της εταιρείας Bedfont® Scientific Ltd, οποίος χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των μετρήσεων της μελέτης

Κατά την άφιξη στην χειρουργική αίθουσα τοποθετούνταν: βασικό monitoring αναισθησίας (ΗΚΓ 5 απαγωγών, παλμική οξυμετρία, μη επεμβατική μέτρηση αρτηριακής πίεσης), νευροδιεγέρτης περιφερικών νεύρων (ωλενίου) και αισθητήρας μέτρησης του διαφασικού δείκτη ηλεκτρικής δραστηριότητας του εγκεφάλου (Bispectral Index Monitor, BIS).

Στην συνέχεια τοποθετούνταν και σταθεροποιούνταν περιφερικός φλεβικός καθετήρας από τον οποίο πραγματοποιείτο και η λήψη του πρώτου δείγματος αίματος για την μέτρηση των ηωσινόφιλων και πολυμορφοπύρηνων κυττάρων αίματος.

Σε όλους τους ασθενείς χορηγείτο προνάρκωση με μιδαζολάμη 0.02 mg/kg ενδοφλεβίως καθώς επίσης και μετοκλοπραμίδη 10 mg και ρανιτιδίνη 50 mg ενδοφλεβίως πριν την εισαγωγή στην αναισθησία. Η εισαγωγή στην αναισθησία πραγματοποιείτο με τον ίδιο συνδυασμό φαρμάκων και στις δύο ομάδες ασθενών: φεντανύλη 2 mcg/kg, προποφόλη 2.5 mg/kg και ροκουρόνιο 0.8 mg/kg. Όταν η τιμή του BIS ήταν κάτω από 50 και ο λόγος Train of Four ήταν 0, πραγματοποιείτο άμεση λαρυγγοσκόπηση και ο αεραγωγός διασφαλιζόταν με την τοποθέτηση εύκαμπτου ενδοτραχειακού σωλήνα με cuff, κατάλληλης εσωτερικής διαμέτρου.



Στην συνέχεια εφαρμοζόταν παρακολούθηση της μερικής πίεσης του τελοεκπνευστικού CO<sub>2</sub> (καπνογραφία) και στην ομάδα του σεβοφλουρανίου καταγράφονταν επιπρόσθετα η ελάχιστη κυψελιδική συγκέντρωση του σεβοφλουρανίου (MAC).

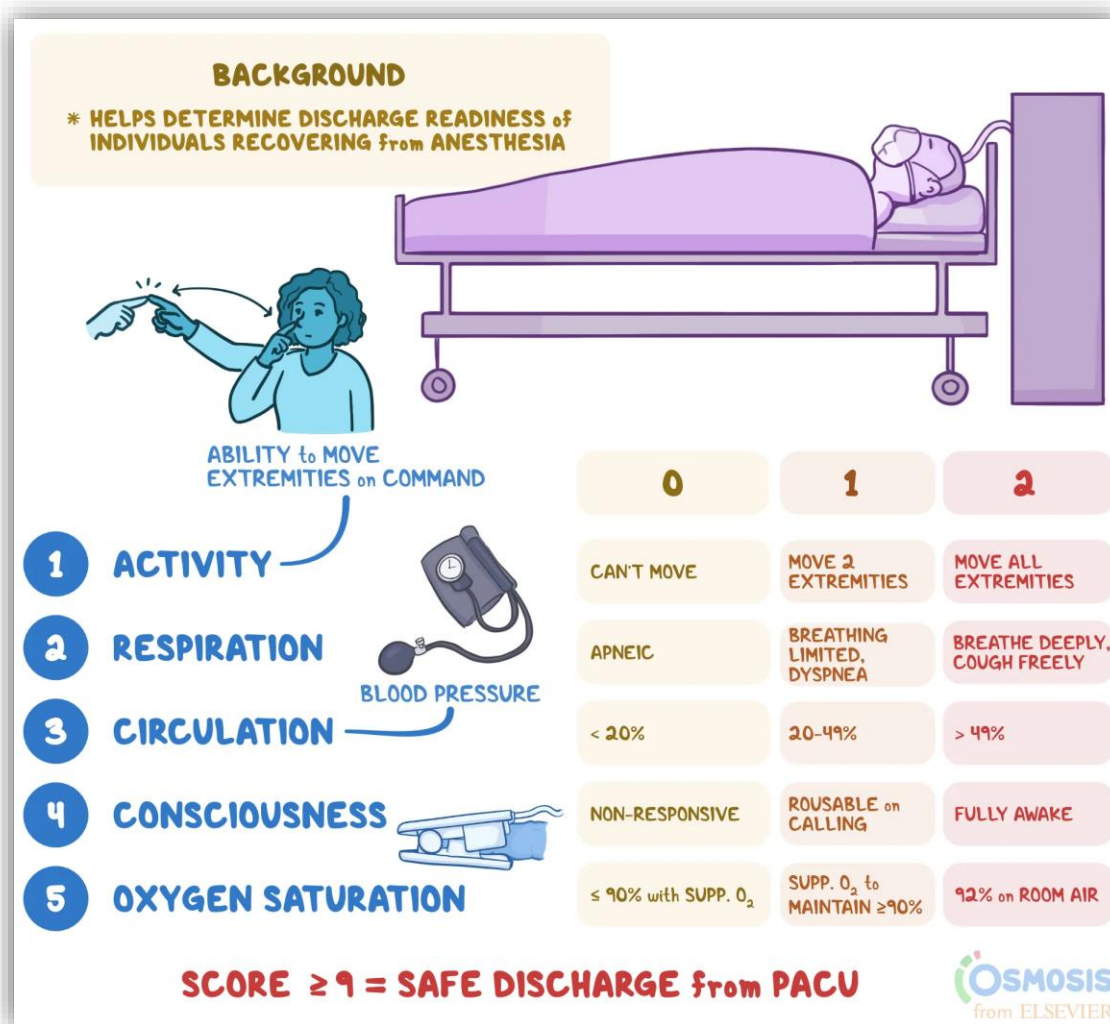
Σε όλους τους ασθενείς εφαρμοζόταν προστατευτικός μηχανικός αερισμός με FiO<sub>2</sub>: 0.4 σε μείγμα αέρα, αναπνεόμενος όγκος 6-8 ml/kg ιδανικού βάρους σώματος και θετική τελοεκπνευστική πίεση (PEEP) 5 cmH<sub>2</sub>O. Η μερική πίεση του τελοεκπνευστικού CO<sub>2</sub> διατηρούνταν μεταξύ 35 και 45 mmHg, ενώ ταυτόχρονα καταγράφονταν η μέγιστη εισπνευστική πίεση (P<sub>peak</sub>), η πίεση plateau (P<sub>pl</sub>) και η πνευμονική ευενδοτότητα (compliance).

Η διατήρηση της αναισθησίας επιτυγχάνετο είτε με την χορήγηση συνεχούς ενδοφλέβιας έγχυσης διαλύματος προποφόλης 1% (ομάδα προποφόλης) είτε με την χορήγηση εισπνεόμενου σεβοφλουρανίου (ομάδα σεβοφλουρανίου) με ροή τέτοια ώστε να επιτυγχάνονται τιμές BIS 40 – 50. Ο νευρομυϊκός αποκλεισμός διατηρούνταν με χορήγηση bolus δόσεων ροκουρονίου 0.3 mg/kg με στόχο την διατήρηση του TOF < 3. Ο συνδυασμός των αναλγητικών που χορηγείτο ενδοφλεβίως ήταν: φεντανύλη 3-5 mcg/kg/h, παρακεταμόλη 1g, παρεκοξίμη 40 mg και τραμαδόλη 1 mg/kg. Περίπου 30 λεπτά πριν την ανάνηψη του ασθενούς χορηγείτο ονδασετρόνη 4mg για την πρόληψη της μετεγχειρητικής ναυτίας και του εμέτου. Τα υγρά διατήρησης εγχέονταν με ρυθμό 1 ml/kg/h.

Κατά την διάρκεια της επέμβασης καταγράφονταν κάθε 10 λεπτά οι τιμές όλων των παραμέτρων παρακολούθησης των ασθενών: καρδιακή συχνότητα (bpm), συστολική αρτηριακή πίεση (ΣΑΠ σε mmHg), διαστολική αρτηριακή πίεση (ΔΑΠ σε mmHg), μέση αρτηριακή πίεση (ΜΑΠ σε mmHg), κορεσμός αρτηριακού αίματος με παλμική οξυμετρία (SpO<sub>2</sub> σε %), μερική πίεση τελοεκπνευστικού CO<sub>2</sub> (ETCO<sub>2</sub> σε mmHg), μέγιστη εισπνευστική πίεση (P<sub>peak</sub> σε cm H<sub>2</sub>O), πίεση plateau (P<sub>plateau</sub> σε cm H<sub>2</sub>O), πνευμονική ευενδοτότητα (compliance σε ml/ cm H<sub>2</sub>O), ελάχιστη κυψελιδική συγκέντρωση (MAC) και διφασικός δείκτης ηλεκτρικής δραστηριότητας εγκεφάλου (BIS).

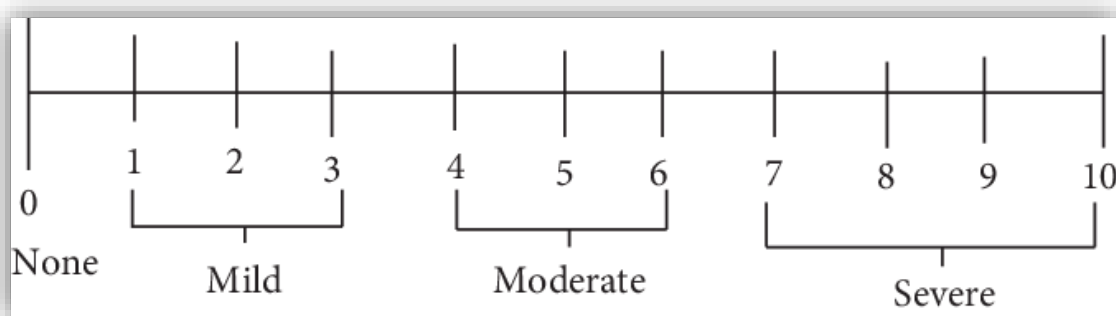
Με την ολοκλήρωση της χειρουργικής επέμβασης, η χορήγηση προποφόλης ή σεβοφλουρανίου διακοπτόταν, πραγματοποιούνταν αναστροφή του υπολειπόμενου νευρομυϊκού αποκλεισμού με χορήγηση sugammadex 2 mg/kg ενδοφλεβίως και οι ασθενείς αποσωληνώνονταν όταν παρουσίαζαν αυτόματη αναπνοή, λόγο  $T_4/ T_1 > 90\%$ , και εκτελούσαν λεκτικές εντολές.

Στην συνέχεια οι ασθενείς μεταφέρονταν στην Μονάδα Μεταναισθητικής Φροντίδας (ΜΜΑΦ) όπου πραγματοποιούταν η λήψη του δεύτερου δείγματος αίματος για την μέτρηση των ηωσινόφιλων και πολυμορφοπύρηνων κυττάρων αίματος. Όταν οι ασθενείς επιτύγχαναν βαθμό  $> 8$  στην τροποποιημένη κλίμακα Aldrete, πραγματοποιούταν η δεύτερη μέτρηση FeNO (χρονικό σημείο  $T_1$ ) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14: Τροποποιημένη κλίμακα Aldrete's (κλίμακα μεταναισθητικής ανάνηψης) από Osmosis from Elsevier [138]

Μόλις οι ασθενείς είχαν βαθμό > 9 στην τροποποιημένη κλίμακα Aldrete, ήταν ελεύθεροι μετεγχειρητικής ναυτίας και εμέτου και είχαν βαθμό < 3 στην αριθμητική κλίμακα αξιολόγησης πόνου (Numeric Rating Scale ) (Εικόνα 15), μεταφέρονταν από την ΜΜΑΦ στον θάλαμο νοσηλείας τους.



Εικόνα 15: αριθμητική κλίμακα αξιολόγησης πόνου (Numeric rating scale – NRS)

Κατά την νοσηλεία τους στην χειρουργική κλινική οι ασθενείς ελάμβαναν παρακεταμόλη 1g ενδοφλεβίως κάθε 8 ώρες, μία επιπλέον δόση παρεκοξίμπης 40 mg και τραμαδόλη 1 mg/kg ως αναλγητικό για τον οξύ πόνο.

Στις 24 ώρες από την αποσωλήνωση του ασθενούς πραγματοποιούταν η τρίτη μέτρηση του FeNO (χρονικό σημείο T<sub>2</sub>).

### 3. Καταληκτικά σημεία μελέτης

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η αξιολόγηση της μεταβολής, αν υπήρχε κάποια, στην τιμή FeNO από την προεγχειρητική μέτρηση ( $T_0$ ) στην άμεση μετεγχειρητική μέτρηση ( $T_1$ ) σε κάθε ομάδα.

Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία της μελέτης ήταν η μέτρηση του FeNO στις 24 ώρες μετά την αποσωλήνωση του ασθενούς ( $T_2$ ) σε κάθε ομάδα, η διακύμανση των ηωσινοφίλων και πολυμορφοπύρηνων άμεσα μετεγχειρητικά σε κάθε ομάδα και η διακύμανση της  $P_{\text{peak}}$ ,  $P_{\text{plateau}}$  και ευενδοτότητας σε κάθε ομάδα.

#### 4. Στατιστική Ανάλυση

Πριν την έναρξη της μελέτης πραγματοποιήσαμε μια πιλοτική μελέτη, με στόχο να εκτιμήσουμε το αναγκαίο μέγεθος για κάθε ομάδα, ώστε να ανιχνευθεί μία σημαντική διακύμανση μεταξύ της προεγχειρητικής και μετεγχειρητικής μέτρησης του FeNO. Παρουσιάστηκε μία μέση πτώση των 5.5 ppb στις μετρήσεις του FeNO στους ασθενείς της ομάδας της προποφόλης και μία μέση πτώση των 5.3 ppb στις μετρήσεις του FeNO στους ασθενείς της ομάδας του σεβοφλουρανίου από την προεγχειρητική στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο. Θεωρώντας κλινικά σημαντική μία μέση μεταβολή των 5.4 ppb από την προεγχειρητική στην μετεγχειρητική μέτρηση και υποθέτοντας μια τυπική απόκλιση (SD) των 10 ppb, υπολογίσαμε πως η κάθε ομάδα έπρεπε να αποτελείται από 29 ασθενείς, ώστε να ανιχνευθεί μία τέτοια μεταβολή μεταξύ των μετρήσεων με ισχύ 0.80 και επίπεδο σημαντικότητας (πιθανότητα σφάλματος τύπου I) 0.05. Στοχεύσαμε σε 30 ασθενείς σε κάθε ομάδα ώστε να υπάρχει περιθώριο για πιθανές απώλειες στην πορεία. Οι μελετούμενες μεταβλητές εξετάστηκαν ως προς την κανονικότητα των κατανομών με την διαδικασία Kolmogorov – Smirnov. Οι συγκρίσεις των αριθμητικών δεδομένων (numeric data) μεταξύ των δύο ομάδων πραγματοποιήθηκαν με το unpaired t-test ή το Mann – Whitney U-test για ανεξάρτητα δείγματα, ανάλογα με το αν οι μεταβλητές ακολουθούσαν ή όχι κανονική την κανονική κατανομή. Η δοκιμασία  $\chi^2$  ή η Fisher's exact test, χρησιμοποιήθηκαν αναλόγως για την σύγκριση των κατηγορικών δεδομένων. Η διακύμανση του FeNO μεταξύ της προεγχειρητικής και της μετεγχειρητικής περιόδου και στις δύο ομάδες αναλύθηκε με την μέθοδο ANOVA για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Η μεταβολή του αριθμού των ηωσινόφιλων και των πολυμορφοπύρηνων κυττάρων μεταξύ των ομάδων αναλύθηκε με την δοκιμασία Wilcoxon signed ranked test. Όσον αφορά τις συνεχείς μεταβλητές (καρδιακή συχνότητα, ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΜΑΠ, παλμική οξυμετρία, ETCO<sub>2</sub>, Ppeak, Ppl και ευενδοτότητα) έγινε ανάλυση και σύγκριση μεταξύ των ομάδων με μία two-step summary measures τεχνική [139]. Δεν πραγματοποιήθηκε σύγκριση σε κάθε χρονικό σημείο καταγραφής καθώς δεν θεωρήθηκε κατάλληλη γιατί οι χειρουργικοί χρόνοι μεταξύ των ασθενών διέφεραν. Αντιθέτως η περιοχή κάτω από την καμπύλη για τις τιμές που αντιστοιχούσαν σε κάθε χρονική στιγμή υπολογίστηκε για κάθε ασθενή, η οποία στην συνέχεια διαιρέθηκε με τον αριθμό των χρονικών σημείων καταγραφής ώστε να αποκτηθεί μια σταθμισμένη τιμή. Στην συνέχεια τα σταθμισμένα δεδομένα συγκρίθηκαν με intergroup ανάλυση, χρησιμοποιώντας αναλόγως τις δοκιμασίες unpaired t-test ή Mann – Whitney U-test. Τα

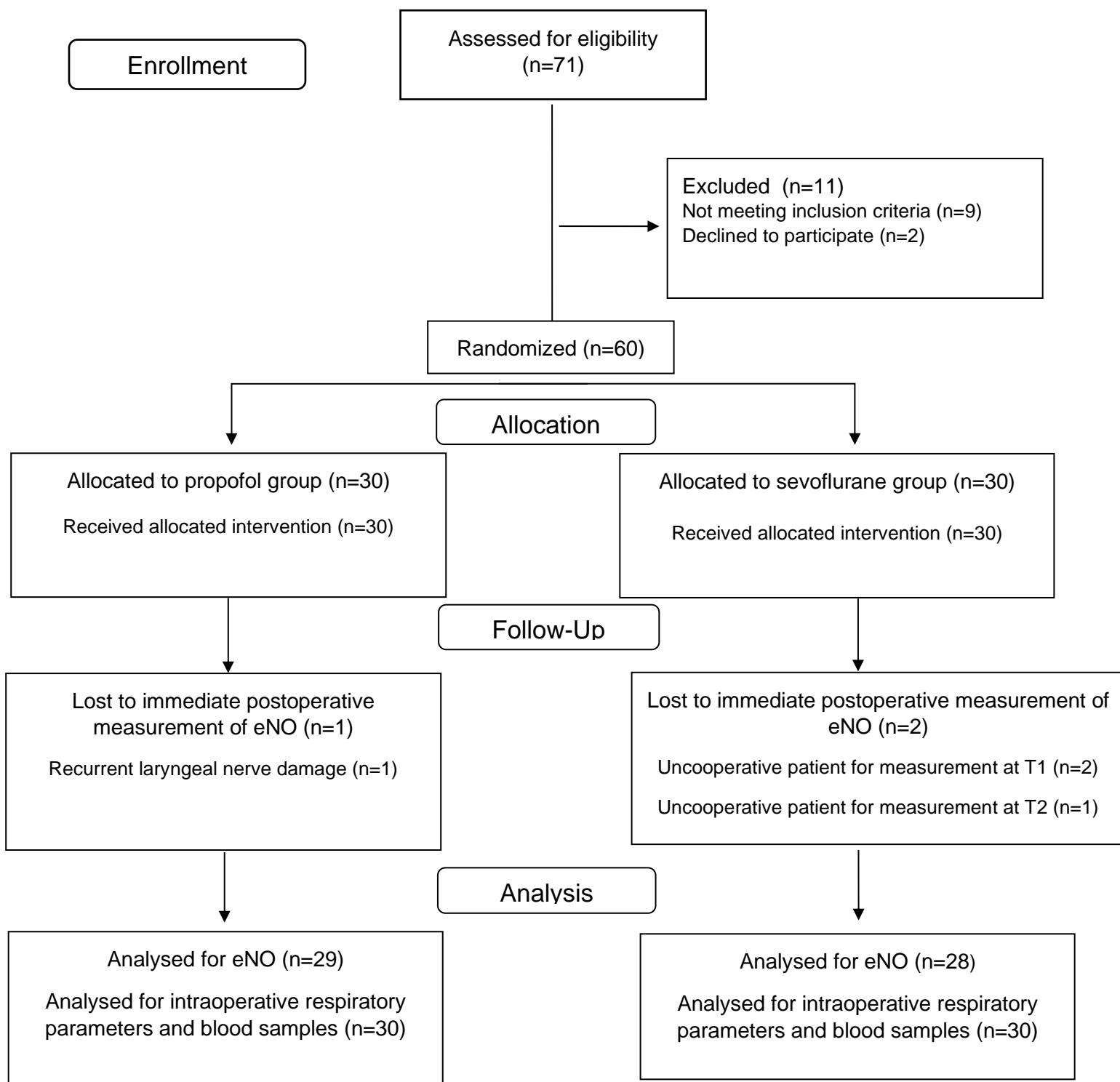
αποτελέσματα παρουσιάστηκαν είτε ως μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση είτε ως διάμεσος τιμή (25<sup>ο</sup> – 75<sup>ο</sup> εκατοστημόριο) αναλόγως της κανονικότητας των κατανομών όσον αφορά τις αριθμητικές μεταβλητές και ως αριθμός για τις κατηγορικές μεταβλητές. Στατιστικά σημαντικό θεωρήθηκε το παρατηρούμενο επίπεδο σημαντικότητας (p value) <0.05, για όλες τις στατιστικές αναλύσεις. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS® V21.0 for Windows (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY, USA: IBM Corp.).

### III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Εβδομήντα ένας (71) ασθενείς είχαν προγραμματιστεί για ολική θυρεοειδεκτομή με τον ίδιο χειρουργό, κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ Μαΐου του 2014 και Απριλίου του 2017. Εξήντα δύο (62) από αυτούς πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στην μελέτη και δύο (2) από αυτούς αρνήθηκαν να ενταχθούν σε αυτήν. Έτσι εντάχθηκαν εξήντα (60) ασθενείς. Μία εκ των ασθενών από την ομάδα της προποφόλης υπέστη επιπλοκή κάκωσης παλίνδρομου λαρυγγικού, η οποία την εμπόδιζε από την πραγματοποίηση της μέτρησης του FeNO μετεγχειρητικά. Δύο ασθενείς από την ομάδα του σεβοφλουρανίου είχαν αδυναμία συνεργασίας για την πραγματοποίηση της μέτρησης του FeNO την χρονική στιγμή T1 (και οι δύο) και την χρονική στιγμή T2 (ο ένας εκ των δύο). Το διάγραμμα ροής της μελέτης, το οποίο περιλαμβάνει τον αριθμό των ασθενών που εντάχθηκαν, την κατανομή τους και την ανάλυση, παρουσιάζεται στην Εικόνα 16. Τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών, η διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης και της αναισθησίας καθώς και οι βασικές μετρήσεις των αιμοδυναμικών παραμέτρων ήταν χωρίς ιδιαίτερες διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων (Πίνακας 1).



## CONSORT 2010 Flow Diagram

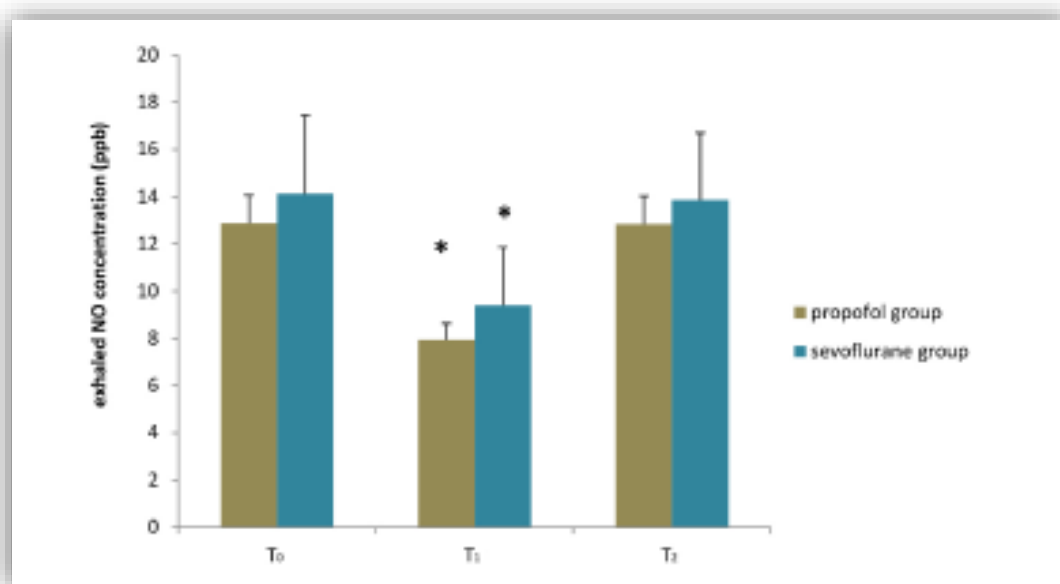


Εικόνα 16: Διάγραμμα Ροής της Μελέτης με βάση το CONSolidated Standards Of Reporting Trials (CONSORT)

Μεταβλητές	Ομάδα προποφύλης (n = 30)	Ομάδα σεβοφλουρανίου (n = 30)	Παρατηρούμενο επίπεδο σημαντικότητας μεταξύ των ομάδων p-value
Φύλο (Α/Θ)	5/25	4/26	1.000
ASA (I/II/III)	28/2/0	25/5/0	0.424
Ηλικία (έτη), μέση τιμή ±SD	48.8±12.0	49.3±12.2	0.88
Βάρος (kg), μέση τιμή ±SD	70.2 ± 13.9	76.1 ± 13.1	0.097
Ύψος (cm), μέση τιμή ±SD	164.7 ± 5.4	164.8 ± 5.9	0.910
Κάπνισμα (μη καπνιστής/ πρώην καπνιστής/ καπνιστής)	30/0/0	26/4/0	0.117
Χειρουργική ένδειξη ( όζος θυρεοειδούς/ υπερθυρεοειδισμός/ καταδύομενη βρογχοκήλη/ καρκίνος θυρεοειδούς)	8/6/11/5	12/1/9/8	0.153
Διάρκεια χειρουργικής επέμβασης (min), μέση τιμή [IQR]	95.0 [75.0 – 105.0]	90.0 [70.0 – 105.0]	0.542
Διάρκεια αναισθησίας επέμβασης (min), μέση τιμή [IQR]	110.0 [90.0 – 130.0]	110.0 [100.0 – 120.0]	0.591
Βασική μέτρηση συστολικής αρτηριακής πίεσης (mmHg), μέση τιμή ±SD	135.2 ± 21.1	137.1 ± 19.5	0.714
Βασική μέτρηση διαστολικής αρτηριακής πίεσης (mmHg), μέση τιμή ±SD	77.6 ± 8.1	74.2 ± 8.1	0.111
Βασική μέτρηση μέσης αρτηριακής πίεσης (mmHg), μέση τιμή ±SD	96.2 ± 11.3	93.7 ± 12.1	0.413
Καρδιακή συχνότητα (bpm), μέση τιμή ±SD	76.0 ± 8.7	78.6 ± 9.7	0.268

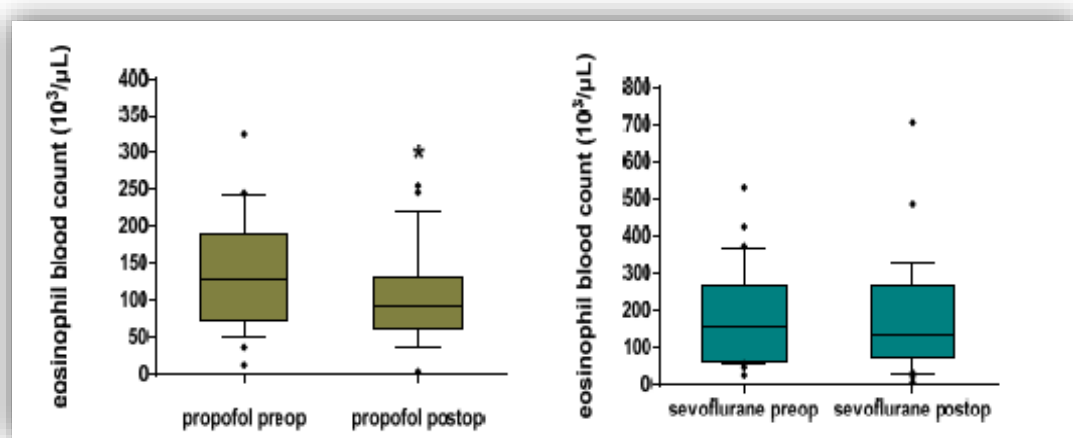
Πίνακας 1: Δημογραφικά στοιχεία ασθενών, διάρκεια χειρουργικής επέμβασης και αναισθησίας και τιμές βασικών μετρήσεων αιμοδυναμικών παραμέτρων.

Τόσο η ομάδα της προποφόλης όσο και η ομάδα του σεβοφλουρανίου παρουσίασαν μειωμένες τιμές εκπνεόμενου NO μετεγχειρητικά (T1) σε σύγκριση με τις τιμές αναφοράς ( $7.93 \pm 0.70$  vs  $12.86 \pm 1.19$  ppb,  $p < 0.001$  στην ομάδα της προποφόλης και  $9.39 \pm 2.45$  vs  $14.13 \pm 3.31$  ppb,  $p < 0.001$  στην ομάδα του σεβοφλουρανίου). Στις 24 ώρες μετεγχειρητικά (T2), οι τιμές του εκπνεόμενου NO δεν διέφεραν σημαντικά από τις μετρήσεις αναφοράς και για τις δύο ομάδες ( $12.83 \pm 1.20$  vs  $12.86 \pm 1.19$  ppb,  $p = 0.964$  για την ομάδα της προποφόλης και  $13.85 \pm 2.85$  vs  $14.13 \pm 3.31$  ppb,  $p = 0.535$  για την ομάδα του σεβοφλουρανίου) (Εικόνα 17).



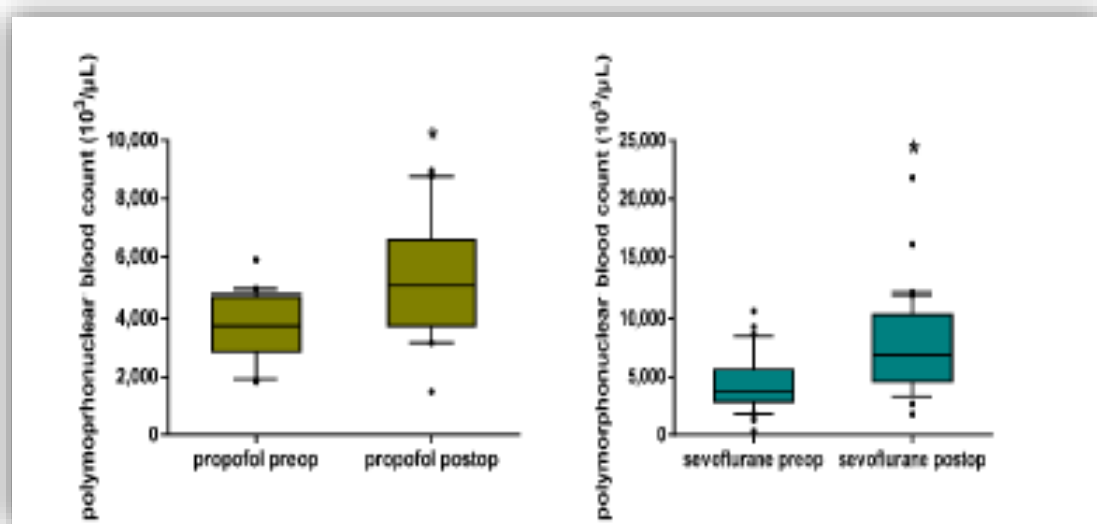
Εικόνα 17: Διακύμανση εκπνεόμενου NO στις ομάδες της προποφόλης και σεβοφλουρανίου,\*  $p < 0.05$  συγκριτικά με την μέτρηση αναφοράς (T<sub>0</sub>)

Όσον αφορά στο περιφερικό αίμα, η ομάδα της προποφόλης παρουσίασε σημαντική μείωση στον αριθμό του ηωσινοφίλων μετεγχειρητικά σε σύγκριση με τις τιμές αναφοράς (93 [63.7 – 129.7] vs 128 [76.7 – 267]  $10^3/\mu\text{L}$ ,  $p < 0.001$ ). Στην ομάδα του σεβοφλουρανίου δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στον αριθμό των ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα μετεγχειρητικά σε σύγκριση με τις τιμές αναφοράς (136 [75.0 – 267.0] vs 157 [62 – 267]  $10^3/\mu\text{L}$ ,  $p = 0.746$ ) (Εικόνα 18).



Εικόνα 18: Θηκογράμματα (box plots) του αριθμού των ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα στην ομάδα της προποφόλης (αριστερά) και του σεβοφλουρανίου (δεξιά) προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά (χρονικά σημεία T0 και T1). Η διατήρηση της αναισθησίας με προποφόλη οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση του αριθμού των ηωσινοφίλων ( $p < 0.001$ ) ενώ η χρήση του σεβοφλουρανίου δεν οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση ( $p = 0.746$ ). Τα θηκογράμματα περιγράφουν την μέση τιμή και το εύρος μεταξύ των τεταρτημορίων (IQR) και τα μουστάκια περιγράφουν το 10<sup>ο</sup> και 90<sup>ο</sup> εκατοστημόριο. \*  $p < 0.05$  συγκριτικά με προεγχειρητική μέτρηση.

Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε μία σημαντική αύξηση στον αριθμό των πολυμορφοπύρηνων στο περιφερικό αίμα συγκριτικά με τις τιμές αναφοράς, τόσο στην ομάδα της προποφόλης όσο και στην ομάδα του σεβοφλουρανίου (5023.0 [3740.2 – 6465.2] vs 3743.0 [2940.2 – 4707.2]  $10^3/\mu\text{L}$ ,  $p < 0.001$  για την ομάδα της προποφόλης και 6863.0 [4665.5 – 10314.5] vs 3705.0 [2842.0 – 5656.0]  $10^3/\mu\text{L}$ ,  $p < 0.001$  για την ομάδα του σεβοφλουρανίου (Εικόνα 19).



Εικόνα 19: Θηκογράμματα (box plots) του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων στο περιφερικό αίμα στην ομάδα της προποφόλης (αριστερά) και του σεβοφλουρανίου (δεξιά) προεγχειρητικά και μετεγχειρητικά (χρονικά σημεία T0 και T1). Η διατήρηση της αναισθησίας τόσο με προποφόλη όσο και με σεβοφλουράνιο οδήγησε σε μία στατιστικά σημαντική αύξηση του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων ( $p < 0.001$  αντίστοιχα). Τα θηκογράμματα περιγράφουν την μέση τιμή και το εύρος μεταξύ των τεταρτημορίων (IQR) και τα μουστάκια περιγράφουν το  $10^6$  και  $90^6$  εκατοστημόριο. \*  $p < 0.05$  συγκριτικά με την προεγχειρητική μέτρηση των πολυμορφοπύρηνων.

Η ομάδα της προποφόλης παρουσίασε χαμηλότερες μετρήσεις P<sub>reak</sub> και P<sub>rl</sub> στην πορεία του χρόνου σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου ( $16.6 \pm 4.3$  vs  $18.8 \pm 3.4$  cm H<sub>2</sub>O,  $p = 0.032$  και  $14.6 \pm 4.2$  vs  $16.6 \pm 3.4$  cm H<sub>2</sub>O,  $p = 0.054$ , αντίστοιχα) και υψηλότερες τιμές ευενδοτότητας στην πορεία του χρόνου ( $42.4 [35.0 - 52.9]$  vs  $33.0 [30.0 - 41.5]$  ml/ cm H<sub>2</sub>O,  $p = 0.027$ ).

Επιπρόσθετα, η ομάδα της προποφόλης παρουσίασε χαμηλότερες τιμές καρδιακής συχνότητας (HR) στην πορεία του χρόνου σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου ( $71.6 \pm 7.7$  vs  $76.6 \pm 8.3$  bpm,  $p = 0.019$ ) και υψηλότερες τιμές διαστολικής (DBP) και μέσης (MBP) αρτηριακής πίεσης σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου στην πορεία του χρόνου ( $76.8 \pm 8.9$  vs  $68.4 \pm 8.8$  mm Hg,  $p < 0.001$  και  $93.2 \pm 10.1$  vs  $86.2 \pm 9.2$  mm Hg,  $p = 0.007$ , αντιστοίχως).

Τέλος, η ομάδα της προποφόλης παρουσίασε χαμηλότερες τιμές BIS στην πορεία του χρόνου σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου ( $45.2 \pm 3.8$  vs  $47.2 \pm 2.6$ ,  $p = 0.019$ ). Δεν καταγράφηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων σχετικά με τις τιμές των εξής παραμέτρων: συστολική (SBP) αρτηριακή πίεση, τελοεκπνευστικό CO<sub>2</sub> (ETCO<sub>2</sub>), παλμική οξυμετρία (SpO<sub>2</sub>) (Πίνακας 2).

Μεταβλητές	Ομάδα προποφύλης (n = 30)	Ομάδα σεβοφλουρανίου (n = 30)	Παρατηρούμενο επίπεδο σημαντικότητας μεταξύ των ομάδων p-value
Τυποποιημένες τιμές ΣΑΠ στην πορεία του χρόνου (mmHg), μέση τιμή ± SD	123.4 ± 14.3	119.6 ± 11.2	0.260
Τυποποιημένες τιμές ΔΑΠ στην πορεία του χρόνου (mmHg), μέση τιμή ± SD	76.8 ± 8.9	68.4 ± 8.8*	<b>0.001</b>
Τυποποιημένες τιμές ΜΑΠ στην πορεία του χρόνου (mmHg), μέση τιμή ± SD	93.2 ± 10.1	86.2 ± 9.2*	<b>0.007</b>
Τυποποιημένες τιμές καρδιακής συχνότητας στην πορεία του χρόνου (bpm), μέση τιμή ± SD	71.6 ± 7.7	76.6 ± 8.3*	<b>0.019</b>
Τυποποιημένες τιμές BIS στην πορεία του χρόνου, μέση τιμή ± SD	45.2 ± 3.8	47.2 ± 2.6*	<b>0.019</b>
Τυποποιημένες τιμές οξυμετρίας στην πορεία του χρόνου (%), μέση τιμή ± SD	98.7 ± 0.5	98.6 ± 0.6	0.301
Τυποποιημένες τιμές ETCO <sub>2</sub> στην πορεία του χρόνου (mmHg), μέση τιμή ± SD	36.4 ± 2.9	36.5 ± 3.8	0.925
Τυποποιημένες τιμές P <sub>reak</sub> στην πορεία του χρόνου (cmH <sub>2</sub> O), μέση τιμή ± SD	16.6 ± 4.3	18.8 ± 3.4*	<b>0.032</b>
Τυποποιημένες τιμές P <sub>rl</sub> στην πορεία του χρόνου (cmH <sub>2</sub> O), μέση τιμή ± SD	14.6 ± 4.2	16.6 ± 3.4	0.054
Τυποποιημένες τιμές ευενδοτότητας στην πορεία του χρόνου (ml/cmH <sub>2</sub> O), μέση τιμή [IQR]	42.4 [35 – 52.9]	33 [30 – 41.5]*	<b>0.027</b>

Πίνακας 2: τυποποιημένες τιμές των συνεχών μεταβλητών και σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων. \*σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.

Συντομογραφίες: SD: τυπική απόκλιση, ΣΑΠ: συστολική αρτηριακή πίεση, ΔΑΠ: διαστολική αρτηριακή πίεση, ΜΑΠ: μέση αρτηριακή πίεση, BIS: διφασματικός δείκτης.

#### IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Βάσει των αποτελεσμάτων της τυχαιοποιημένης μελέτης που πραγματοποιήσαμε, η διατήρηση της αναισθησίας τόσο με την συνεχή χορήγηση προποφόλης όσο και με την συνεχή χορήγηση σεβοφλουρανίου οδήγησε σε μία σημαντική μείωση των επιπέδων του FeNO στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο σε ενήλικες ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θυρεοειδεκτομή. Αυτή η μείωση συνοδευόταν από μείωση του αριθμού των εωσινόφιλων στο περιφερικό αίμα μετεγχειρητικά σε σύγκριση με την μέτρηση τους προεγχειρητικά, η οποία όμως ήταν στατιστικά σημαντική μόνο στην ομάδα της προποφόλης. Τέλος, οι μηχανικές ιδιότητες του πνεύμονα φαίνεται πως διατηρούνται καλύτερα στην ομάδα της προποφόλης σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου, διατηρώντας μεγαλύτερη ευενδοτότητα και χαμηλότερες τιμές P<sub>break</sub> και P<sub>plateau</sub> στην πορεία του χρόνου σε αυτήν.

Κατά την αναζήτηση συναφών μελετών στην βιβλιογραφία δεν εντοπίστηκε κάποια μελέτη που να συγκρίνει δύο τύπους διατήρησης της αναισθησίας σε σχέση με την επίδρασή τους στο FeNO σε ανθρώπους, γεγονός το οποίο μας προέτρεψε στην πραγματοποίηση αυτού του ερευνητικού πρωτοκόλλου.

Για την διενέργεια της μελέτης επιλέξαμε αποκλειστικά ασθενείς που υποβάλλονταν σε θυρεοειδεκτομή, επέμβαση την οποία πραγματοποιούσε ο ίδιος πεπειραμένος χειρουργός για δύο λόγους: πρώτον, κατά την θυρεοειδεκτομή δεν πραγματοποιούνται χειρισμοί στο κοιλιακό τοίχωμα και έτσι η μετεγχειρητική μέτρηση του FeNO θα ήταν ανώδυνη· δεύτερον, η διενέργεια από τον ίδιο χειρουργό θα εξασφάλιζε την συνάφεια μεταξύ των ασθενών σχετικά με τον τύπο της επέμβασης, τους χειρισμούς που θα πραγματοποιούνταν και συνολικά το χειρουργικό στρες.

Από τις αρχές της δεκαετίας του '90, περίοδος κατά την οποία το NO ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά στην εκπνοή όλων των ανθρώπων, οι δράσεις του τόσο στον αεραγωγό όσο και στο πνευμονικό παρέγχυμα μελετώνται διαρκώς, καθώς καταδεικνύουν τον πολύπλευρο ρόλο του ως βρογχοδιασταλτικού και αγγειοδιασταλτικού παράγοντα, νευροδιαβιβαστή και διαβιβαστή της φλεγμονώδους απάντησης [51].

Κατά τα πρώιμα χρόνια της μελέτης του εκπνεόμενου NO οι αναλυτές χημειοφωταύγειας ήταν αυτοί που χρησιμοποιούνταν για την ανίχνευση του [51]. Ήδη από τότε είχε παρατηρηθεί πως η ποσότητα του FeNO ήταν μεγαλύτερη στους ασθματικούς ασθενείς και μειωνόταν αποκρινόμενη



στην χορήγηση θεραπείας με κορτικοστεροειδή [52], [140]. Σήμερα η χρήση των αναλυτών χημειοφωταύγειας περιορίζεται για εργαστηριακές αναλύσεις, κυρίως λόγω του μεγαλύτερου όγκου και βάρους τους, και στην κλινική πράξη έχουν αντικατασταθεί από ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για την ανίχνευση και την αξιόπιστη μέτρηση του εκπνεόμενου NO (FeNO) [141]. Η συσκευή NObreath (Bedfont® Scientific Ltd., Maidstone, UK), την οποία χρησιμοποιήσαμε στην μελέτη μας, είναι φορητή, ελαφριά (~400gr), εξοπλισμένη με έναν ηλεκτροχημικό αισθητήρα, ο οποίος διαθέτει εύρος μέτρησης του FeNO από 5 έως 500ppb [142].

Αν και η μέτρηση του FeNO δεν φαίνεται να έχει την ισχύ ώστε να επιβεβαιώσει ή να αποκλείσει την διάγνωση του άσθματος, καθώς μπορεί να είναι αυξημένο και σε μη ασθματικές καταστάσεις ή μη αυξημένο σε συγκεκριμένους φαινότυπους του άσθματος, παραμένει ένα εξαιρετικά χρήσιμο εργαλείο για την παρακολούθηση της υπεραντιδραστικότητας και της φλεγμονής του αεραγωγού [137], [143], [144]. Ειδικότερα, όταν τα επίπεδα του FeNO αξιολογούνται σε συνδυασμό με την μέτρηση των ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα, αποκτούν σημαντική ειδικότητα και ευαισθησία στην πρόβλεψη της ηωσινοφιλίας του αεραγωγού στο άσθμα [145]. Επιπρόσθετα, η μέτρηση του FeNO συνδυαζόμενη με άλλα εργαλεία αξιολόγησης κινδύνου κατά την προαναισθητική εκτίμηση ασθενών με νόσους του αναπνευστικού, είναι πιθανό να κάνει πιο προβλέψιμη την πιθανότητα εμφάνισης περιεγχειρητικών και μετεγχειρητικών επιπλοκών [65].

Η σημαντική μείωση του εκπνεόμενου NO μετεγχειρητικά στην ομάδα της προποφόλης, που παρατηρήθηκε στην μελέτη μας, βρίσκεται σε συμφωνία με άλλες μελέτες στην διεθνή βιβλιογραφία, με την πλειοψηφία όμως αυτών να πραγματοποιούν μετρήσεις του NO στην συστηματική κυκλοφορία.

Η προποφόλη είναι ένας ασφαλής και αποτελεσματικός αναισθητικός παράγοντας για ενδοφλέβια χορήγηση ο οποίος χρησιμοποιείται τακτικά για την εισαγωγή και διατήρηση της αναισθησίας καθώς και για την καταστολή ασθενών στις ΜΕΘ και παρουσιάζει έναν αριθμό μη αναισθητικών δράσεων που σχετίζονται με την παραγωγή και τις δράσεις του NO. Παρουσιάζει δυνατότητες αντιοξειδωτικής δράσης καθώς απομακρύνει άμεσα ανιόντα υπεροξειδίου, υπεροξείδιο του υδρογόνου, βάσεις υδροξυλίου και προστατεύει ποικιλία ιστών από οξειδωτικές βλάβες [112]. Οι αντιοξειδωτικές δράσεις της είναι πιθανό να οφείλονται στην φαινολική ομάδα της χημικής της δομής, η οποία προσομοιάζει στην δομή της τοκοφερόλης [68]. Ακόμη η προποφόλη φαίνεται να προστατεύει τα μακροφάγα από κυτταρικό θάνατο επαγόμενο από το NO [114].

Μελέτες έχουν δείξει πως η προποφόλη προάγει την δράση της (cNOS) βασικής συνθάσης του NO, ενώ αντιθέτως, αναστέλλει την επαγόμενη παραγωγή του NO in vitro στο ολικό αίμα τόσο υγιών εθελοντών όσο και χειρουργικών ασθενών [67]. Επίσης, έχει φανεί πως η προποφόλη εμφανίζει απευθείας ανασταλτική δράση στην έκφραση της επαγόμενης συνθάσης του NO (iNOS) στα μακροφάγα που έχουν ενεργοποιηθεί από λιποπολυσακχαρίδες, μειώνοντας έτσι την παραγωγή του NO από τα μακροφάγα [111], [146]. Με βάση τα ανωτέρω αποτελέσματα, είναι πιθανόν η προποφόλη να τροποποιεί την περίσσεια παραγωγής του NO και να μειώνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Όλες αυτές οι αντιοξειδωτικές και ανοσοτροποποιητικές δράσεις της προποφόλης πιθανά συμβάλλουν στην μείωση του οξειδωτικού στρές και της φλεγμονώδους απάντησης στους χειρουργικούς ασθενείς [67].

Επομένως, σύμφωνα με τα προαναφερθέντα ευρήματα, η μείωση των επιπέδων του FeNO στην ομάδα της προποφόλης θα μπορούσε να αποδοθεί είτε στην άμεση επίδραση της προποφόλης στην σύνθεση του NO από την ισομορφή iNOS είτε στην αναστολή της απελευθέρωσης μεσολαβητών της φλεγμονής από το πνευμονικό παρέγχυμα. Στην πραγματικότητα, μία τέτοια μείωση των επιπέδων των μεσολαβητών της φλεγμονής εξαιτίας της προποφόλης έχει αποδειχθεί σε in vivo πειραματικά μοντέλα, τα οποία επίσης κατέδειξαν την προστατευτική δράση της προποφόλης στην οξεία πνευμονική βλάβη, επαγόμενη από ενδοτοξίνη [147], [148]. Σε μία μελέτη των Chu et al., η προποφόλη οδήγησε σε περιορισμό της αύξησης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, λόγω βλάβης επαγόμενης από ενδοτοξίνη, αποτρέποντας την σχάση του ενδοθηλίου από την διαφυγή ύδατος και πρωτεϊνών, διατηρώντας έτσι την ακεραιότητά του [147]. Στην ίδια μελέτη, η προποφόλη οδήγησε σε σημαντική μείωση του εκπνεόμενου NO και της συγκέντρωσης πρωτεϊνών στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, με αποτελέσματα εμφανέστερα σε μεγαλύτερες δόσεις αυτής. Οι συγγραφείς διατύπωσαν την υπόθεση πως η προστατευτική δράση της προποφόλης στην οξεία επαγόμενη από ενδοτοξίνη πνευμονική βλάβη μπορεί να διαμεσολαβείται από την μείωση στην σύνθεση του NO.

Σε μια μελέτη του Gao et al., η πρώιμη χορήγηση προποφόλης σε αρουραίους που υπέστησαν οξεία πνευμονική βλάβη επαγόμενη από ενδοτοξίνη οδήγησε σε μειωμένες συγκεντρώσεις νιτροδών στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και οδήγησε σε μείωση της έκφρασης της iNOS στο πνευμονικό παρέγχυμα [148]. Σε μία άλλη μελέτη, η προποφόλη φάνηκε να αντιστρέφει την ενδοθηλιακή βλάβη που προκλήθηκε από την έγχυση ολεϊκού οξέος καθώς και την ακόλουθη φλεγμονή και βλάβη του πνευμονικού παρεγχύματος σε αρουραίους σε εγρήγορση [94]. Οι

συγγραφείς πρότειναν πως η παραγωγή NO εμπλεκόταν στην πνευμονική βλάβη από ολεϊκό οξύ, καθώς, στην δική τους μελέτη, καταγράφηκε αύξηση στο εκπνεόμενο NO και στην σύνθεση της iNOS στους αρουραίους που δεν χορηγήθηκε προποφόλη, και ταυτόχρονα αυτές οι αλλαγές ανεστράφησαν στα πειραματόζωα που χορηγήθηκε προποφόλη. Θα μπορούσε λοιπόν να υποθεθεί πως ένας παρόμοιος παθοφυσιολογικός μηχανισμός καταστολής της οδού iNOS – NO στο πνευμονικό παρέγχυμα θα μπορούσε να οδηγεί στην μείωση των επιπέδων του FeNO από την προποφόλη, μειώνοντας έτσι την πιθανότητα φλεγμονώδους διαταραχής στον αεραγωγό.

Στην μελέτη μας επίσης παρατηρήθηκε μία σημαντική μείωση στο εκπνεόμενο NO στην ομάδα του σεβοφλουρανίου. Το αποτέλεσμα αυτό είναι συμβατό και με παλαιότερες πειραματικές μελέτες που διερευνούσαν την επίδραση του σεβοφλουρανίου σε πειραματικά μοντέλα οξείας πνευμονικής βλάβης. Σε ένα πειραματικό μοντέλο επίμυων, η προετοιμασία των πειραματόζωων με χορήγηση σεβοφλουρανίου φάνηκε να αμβλύνει την επαγόμενη από την σήψη φλεγμονώδη απάντηση μέσω της μειωμένης έκκρισης χημειοτακτικών κυτταροκινών και μετριάζοντας της οξειδωση των λιπιδίων και το οξειδωτικό stress [69].

Παλαιότερες μελέτες έχουν ήδη δείξει πως η επαγωγή της έκφρασης της iNOS και συνεπακόλουθα η αυξημένη παραγωγή του NO εμπλέκονται στην παθογένεση της οξείας πνευμονικής βλάβης σε θηλαστικά με ενδοτοξιναιμία [149], [150], [151].

Στην προαναφερθείσα μελέτη των Bedirli et al, τα επίπεδα του NO στο πλάσμα ήταν σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ωθώντας τους συγγραφείς στο να αποδώσουν την μειωμένη έκφραση των προφλεγμονωδών μεσολαβητών, στην ομάδα του σεβοφλουρανίου, στην αναστολή της ενδοκυττάριας μετάδοσης σημάτων που σχετίζεται με το NO [69].

Επιπρόσθετα, σε ένα πειραματικό μοντέλο πνευμόνων επίμυων, οι οποίοι αρδεύονταν με ρυθμιστικό διάλυμα, φάνηκε πως η προετοιμασία των οργάνων με σεβοφλουράνιο προστάτευε τον πνεύμονα έναντι της βλάβης από ισχαιμία – επαναιμάτωση, μειώνοντας την αγγειακή διαπερατότητα και την παραγωγή μεταβολιτών του NO [152]. Αυτή η μείωση πιθανά υποδεικνύει πως η προστατευτική δράση του σεβοφλουρανίου έναντι της βλάβης από ισχαιμία – επαναιμάτωση μεσολαβείται από την μειωμένη απελευθέρωση του NO.

Τόσο το σεβοφλουράνιο όσο και το ισοφλουράνιο είναι πιθανό να μοιράζονται κοινά μονοπάτια, τα οποία αμβλύνουν την οξεία πνευμονική βλάβη και πιθανά αμφότερα εμπλέκουν το NO. Σε ένα πειραματικό μοντέλο με οξεία πνευμονική βλάβη επαγόμενη από ενδοτοξίνη σε επίμυες, η

προχορήγηση ισοφλουρανίου οδήγησε σε μειωμένη άθροιση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, μειωμένα επίπεδα νιτρωδών και σημαντικά μειωμένη έκφραση του γονιδίου της iNOS στο πνευμονικό παρέγχυμα [153].

Συμπερασματικά, είναι πιθανό πως η παρατηρούμενη προστατευτική δράση των πτητικών αναισθητικών έναντι της φλεγμονώδους απάντησης μπορεί να μεσολαβείται αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του μονοπατιού iNOS/NO. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, φαίνεται πως το σεβοφλουράνιο καταστέλλει την παραγωγή του NO από τον πνεύμονα του ανθρώπου με έναν τρόπο που ομοιάζει με αυτόν της προποφόλης, μειώνοντας έτσι την δυνατότητα για φλεγμονή.

Ο αριθμός των πολυμορφοπύρηνων του αίματος ήταν αυξημένος μετεγχειρητικά και στις δύο ομάδες, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας. Θεωρούμε ότι αυτή η απόκριση είναι πιθανό να οφείλεται στην χειρουργική επέμβαση. Είναι ήδη γνωστό πως η ανοσιακή απάντηση μετά την αναισθησία και χειρουργική επέμβαση χαρακτηρίζεται από ουδετεροφιλία και μάλιστα ο ρόλος της χειρουργικής επέμβασης είναι σημαντικότερος από αυτόν της αναισθησίας για αυτή την απάντηση [110].

Ωστόσο, καταγράψαμε μία σημαντική μείωση στον αριθμό των ηωσινοφίλων του αίματος μετεγχειρητικά μόνο στην ομάδα της προποφόλης. Τα ηωσινόφιλα, μετά την απελευθέρωση τους στην κυκλοφορία, μετατοπίζονται στους υποβλεννογόνιους ιστούς, αποτελώντας έτσι κομμάτι της ανοσιακής απάντησης στην επιφάνεια τους σώματος, παράγοντα κυτταροκίνες που αφορούν στην οξεία και χρόνια φλεγμονώδη απάντηση. Αυτή η σημαντική μείωση των ηωσινοφίλων στην ομάδα της προποφόλης είναι συμβατή με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών. Ειδικότερα, σε μία μελέτη που εξέταζε την δράση διαφόρων αναισθητικών παραγόντων στην χημειοταξία των ηωσινοφίλων *in vitro*, παρά το ότι η αναστολή της χημειοταξίας καταγράφηκε μόνο για την θειοπεντάλη και την ετομιδάτη, οι συγγραφείς κατέληγαν πως μία παρόμοια δράση της προποφόλης δεν μπορούσε να αποκλειστεί αλλά ούτε και να αποδειχθεί, λόγω της χαμηλής ισχύος της μελέτης [105]. Πράγματι, σε μία άλλη μελέτη που διερευνούσε ένα πειραματικό μοντέλο αλλεργικού άσθματος σε ποντικούς, η προποφόλη μείωσε σημαντικά τόσο τον αριθμό των ηωσινοφίλων όσο και τα επίπεδα των προφλεγμονωδών μεσολαβητών στο βρογχοκυψελιδικό

έκπλυμα, αμβλύνοντας την διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα και την παραγωγή βλέννης σε ιστολογικά παρασκευάσματα [106].

Η διαφορετική αυτή απάντηση των ηωσινοφίλων μεταξύ της αναισθησίας με προποφόλη και με σεβοφλουράνιο, είναι πιθανό να οφείλεται στην διαφορετική δράση που παρουσιάζει ο κάθε παράγοντας στην ιντερλευκίνη 10 (IL-10), της οποίας ο ρόλος στην φλεγμονώδη απάντηση του αεραγωγού είναι εξαιρετικής σημασίας. Η IL-10 έχει αποδειχθεί πως είναι ένας ισχυρός αναστολέας στην συγκέντρωση των ηωσινοφίλων στους βλεννογόνους, συμβάλλοντας με αυτό τον τρόπο στην προστασία ή ακόμη και στην λύση της φλεγμονής των αεραγωγών σε καταστάσεις όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια [154], [155], [156]. Στην πραγματικότητα, η χορήγηση προποφόλης έχει συσχετιστεί με χαμηλότερες τιμές IL-6 η οποία είναι προφλεγμονώδης κυτταροκίνη και αυξημένα επίπεδα παραγωγής της αντιφλεγμονώδους IL-10, σε σύγκριση με την χορήγηση σεβοφλουρανίου, δημιουργώντας έτσι πιθανώς ένα πιο επιθυμητό αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα συγκρινόμενη με την χορήγηση εισπνεόμενης αναισθησίας [157]. Αυτό το αποτέλεσμα γίνεται περισσότερο εμφανές σε επεμβάσεις που απαιτούν αερισμό ενός πνεύμονα, παράγοντα που υποβάλλει σε μεγάλο στρες την λειτουργία και την ομοιοστάση του πνευμονικού παρεγχύματος, οδηγώντας στην αυξημένη έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών τόσο στην συστηματική όσο και στην πνευμονική κυκλοφορία καθώς και στο αναπνευστικό επιθήλιο [89], [158]. Πράγματι, αρκετές μελέτες φαίνεται να αποδεικνύουν πως η αναισθησία με προποφόλη καταστέλλει αποτελεσματικότερα την περιεγχειρητική φλεγμονώδη απάντηση συγκρινόμενη με εισπνεόμενες τεχνικές σε επεμβάσεις που απαιτούν αερισμό ενός πνεύμονα [89], [158], [159].

Ένα ακόμη εύρημα της μελέτης μας ήταν η καλύτερη διατήρηση των μηχανικών ιδιοτήτων του πνεύμονα στην ομάδα της προποφόλης, καταγράφοντας καλύτερη διατήρηση της ευενδοτότητας και χαμηλότερες τιμές P<sub>peak</sub> και P<sub>pl</sub> στην πορεία του χρόνου σε σύγκριση με την ομάδα του σεβοφλουρανίου. Το σεβοφλουράνιο για πολλά χρόνια θεωρείτο ο εισπνεόμενος παράγοντας εκλογής για την διατήρηση της αναισθησίας σε ασθματικούς ασθενείς λόγω της επιθυμητής βρογχοδιασταλτικής του δράσης [160]. Ωστόσο, όταν η χρήση του μελετήθηκε σε ασθματικά παιδιά τα αποτελέσματα ήταν αντικρουόμενα [161], καθώς η προποφόλη φάνηκε επίσης να είναι ασφαλής σε ασθματικούς ασθενείς, μειώνοντας τις αντιστάσεις των αεραγωγών σε ασθενείς με εγκατεστημένη βρογχική υπεραντιδραστικότητα [162], [163]. Ως εκ τούτου, είναι πιθανόν η

βελτίωση της ευενδοτότητας, που οφείλεται στην βρογχοδιαστολή από τα εισπνεόμενα αναισθητικά, να έχει υπερεκτιμηθεί. Πράγματι, πειραματικά μοντέλα σε ζώα, έχουν δείξει ότι τα εισπνεόμενα αναισθητικά είτε αναστέλλουν την παραγωγή επιφανειοδραστικού παράγοντα από τα ενδοθηλιακά κύτταρα τύπου II είτε μειώνουν την δραστικότητα του, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την ευενδοτότητα του πνεύμονα [164]. Τα ευρήματά μας σχετικά με τη διατήρηση καλύτερων μηχανικών ιδιοτήτων του πνεύμονα βρίσκονται σε συμφωνία και με μία πειραματική μελέτη όπου η διατήρηση της αναισθησίας με την χρήση σεβοφλουρανίου οδήγησε σε σημαντικά υψηλότερη P<sub>peak</sub> σε σύγκριση με την χρήση προποφόλης σε ένα χοίρειο μοντέλο λαπαροσκόπησης [165]. Η προστατευτική δράση της προποφόλης απέναντι στην βρογχοσπασση και τη μειωμένη ευενδοτότητα είναι πιθανό να διαμεσολαβείται μέσω της πυροδότησης ενός αντιχολινεργικού μηχανισμού κατά την διάρκεια του μηχανικού αερισμού και έχει ως αποτέλεσμα την απευθείας χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αεραγωγών, γεγονός που καταδεικνύεται σε *in vitro*, πειραματικές μελέτες και μελέτες σε ασθενείς [119], [118], [117]. Στην πραγματικότητα, η αναισθησία με χορήγηση προποφόλης έχει φανεί πως μειώνει τις αντιστάσεις των αεραγωγών ακόμη και όταν δεν προϋπήρχε βρογχοσπασση και συσχετίστηκε με διάταση των κεντρικών αεραγωγών που παρατηρήθηκε σε ιστολογικά παρασκευάσματα από πειραματική μελέτη με αρουραίους [118]. Ο μηχανισμός που οδηγεί στην βρογχοδιασταλτική δράση της προποφόλης δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί, είναι όμως πιθανόν να σχετίζεται με την αναστολή των διαύλων ασβεστίου [166]. Επιπρόσθετα, η προποφόλη έχει φανεί πως προκαλεί μια δοσοεξαρτώμενη χάλαση των μυών του θωρακικού τοιχώματος, η οποία βελτιώνει περαιτέρω τις αντιστάσεις του θωρακικού τοιχώματος [167], [168], [169]. Είναι πιθανό μία ισχυρότερη μυοχαλαρωτική και βρογχοδιασταλτική δράση της προποφόλης σε σύγκριση με το σεβοφλουράνιο να οδήγησε στις χαμηλότερες P<sub>peak</sub> που παρατηρήθηκαν στην μελέτη μας.

Ωστόσο η μελέτη που διενεργήσαμε υφίσταται κάποιους περιορισμούς. Πρώτον, πραγματοποιήσαμε μέτρηση των ηωσινοφίλων του αίματος και όχι των πτυέλων στους ασθενείς μας. Τα ηωσινόφιλα πτυέλων θεωρούνταν επί μακρόν ως ο πιο αξιόπιστος δείκτης της ηωσινοφιλικής φλεγμονής του αεραγωγού. Ωστόσο, αποτελέσματα νεότερων μελετών προτείνουν πως τα ηωσινόφιλα αίματος είναι εξίσου αξιόπιστα τόσο για την πρόγνωση ηωσινοφιλικής διήθησης του αεραγωγού όσο και ηωσινοφιλίας στα πτύελα [58]. Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως η μέτρηση των ηωσινοφίλων του αίματος είναι μία εύκολα πραγματοποιήσιμη εξέταση, σε

σύγκριση με την πρόκληση πτυέλων, ιδιαίτερα στην άμεση μετεγχειρητική περίοδο, καθώς η τελευταία όχι μόνο αυξάνει τον αιμορραγικό κίνδυνο των ασθενών λόγω του προκαλούμενου βήχα αλλά προκαλεί και την δυσφορία των ασθενών.

Δεύτερον, μπορούμε να πραγματοποιούμε μόνο υποθέσεις σχετικά με την προαναφερθείσα διαφορετική απελευθέρωση προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών μεταξύ των δύο διαφορετικών τεχνικών διατήρησης της αναισθησίας και την πιθανή διαφορετική τους επίδραση στην φλεγμονή του αεραγωγού, καθώς αυτές δεν μετρήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Ένας περαιτέρω περιορισμός προκύπτει από το γεγονός ότι δεν εκτιμήσαμε μετεγχειρητικά την αναπνευστική λειτουργία των ασθενών μας, μέσω σπυρομέτρησης, ώστε να επιβεβαιώσουμε αν οι προαναφερθείσες δράσεις των δύο αναισθητικών παραγόντων στην μηχανική του πνεύμονα διατηρήθηκαν και κατά την μετεγχειρητική περίοδο.

Τέλος, εντάξαμε ασθενείς χωρίς υποκείμενη αναπνευστική νόσο ή γνωστή βρογχική υπεραντιδραστικότητα, έτσι τα αποτελέσματα της μελέτης μας μένει να αποδειχθεί αν έχουν εφαρμογή σε τέτοιους ασθενείς.

## V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, με τον συγκεκριμένο σχεδιασμό μελέτης, η διατήρηση της αναισθησίας κατά την διάρκεια θυρεοειδεκτομής τόσο με την χρήση προποφόλης όσο και σεβοφλουρανίου, φαίνεται να μειώνει μετεγχειρητικά τα επίπεδα του FeNO, και η χρήση της προποφόλης φαίνεται επιπρόσθετα να μειώνει τον αριθμό ηωσινοφίλων του αίματος μετεγχειρητικά και να παρέχει καλύτερη διατήρηση των μηχανικών ιδιοτήτων του πνεύμονα καθ' όλη την διάρκεια της επέμβασης συγκριτικά με τη χρήση σεβοφλουρανίου. Η ευκολία με την οποία πραγματοποιείται η μέτρηση του FeNO με μία φορητή συσκευή, όπως το NO breath, τόσο για τον αναισθησιολόγο όσο και για τον ασθενή, σε συνδυασμό με το χαμηλό κόστος θα μπορούσε να την αναδείξει σε ένα χρήσιμο εργαλείο στην προαναισθητική εκτίμηση των ασθενών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας, φαίνεται πως η εφαρμογή ενδοφλέβιας διατήρησης της αναισθησίας είναι πιθανό να υπερέχει σε σχέση με την καταστολή της περιεγχειρητική φλεγμονώδους απάντησης του αναπνευστικού, συγκρινόμενη με την χρήση εισπνεόμενης αναισθησίας. Εάν τα ευρήματα αυτά θα επιβεβαιωθούν σε ασθενείς με συννοσηρότητες του αναπνευστικού ή άσθμα ή άλλες μορφές φλεγμονής και υπεραντιδραστικότητας του αεραγωγού μένει να διαλευκανθεί από μελλοντικές μελέτες που θα στοχεύουν σε αυτές τις ομάδες ασθενών.



### 3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] R. SoRelle, “Nobel Prize Awarded to Scientists for Nitric Oxide Discoveries,” *Circulation*, vol. 98, no. 22, pp. 2365–2366, Dec. 1998, doi: 10.1161/01.CIR.98.22.2365.
- [2] A. B. Levine, D. Punihaoie, and T. B. Levine, “Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications,” *Cardiology*, vol. 122, no. 1, pp. 55–68, 2012, doi: 10.1159/000338150.
- [3] W. K. Alderton, C. E. Cooper, and R. G. Knowles, “Nitric oxide synthases : structure, function and inhibition,” 2001.
- [4] B. R. Crane *et al.*, “Structure of Nitric Oxide Synthase Oxygenase Dimer with Pterin and Substrate,” *Science*, vol. 279, no. 5359, pp. 2121–2126, Mar. 1998, doi: 10.1126/science.279.5359.2121.
- [5] H. J. Cho *et al.*, “Calmodulln Is a Subunit of Nitric Oxide Synthase from Macrophages”.
- [6] B. Hemmens and B. Mayer, “Enzymology of Nitric Oxide Synthases”.
- [7] B. C. Kone, T. Kunczewicz, W. Zhang, and Z.-Y. Yu, “Protein interactions with nitric oxide synthases: controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide,” *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.*, vol. 285, no. 2, pp. F178–F190, Aug. 2003, doi: 10.1152/ajprenal.00048.2003.
- [8] R. M. Rapoport and F. Murad, “Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP.,” *Circ. Res.*, vol. 52, no. 3, pp. 352–357, Mar. 1983, doi: 10.1161/01.RES.52.3.352.
- [9] U. Förstermann and W. C. Sessa, “Nitric oxide synthases: regulation and function,” *Eur. Heart J.*, vol. 33, no. 7, pp. 829–837, Apr. 2012, doi: 10.1093/eurheartj/ehr304.
- [10] U. Förstermann *et al.*, “Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions.,” *Hypertension*, vol. 23, no. 6\_pt\_2, pp. 1121–1131, Jun. 1994, doi: 10.1161/01.HYP.23.6.1121.
- [11] M. Nakane, H. H. H. W. Schmidt, J. S. Pollock, U. Förstermann, and F. Murad, “Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle,” *FEBS Lett.*, vol. 316, no. 2, pp. 175–180, Jan. 1993, doi: 10.1016/0014-5793(93)81210-Q.
- [12] L. Zhou and D.-Y. Zhu, “Neuronal nitric oxide synthase: Structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications,” *Nitric Oxide*, vol. 20, no. 4, pp. 223–230, Jun. 2009, doi: 10.1016/j.niox.2009.03.001.
- [13] “Jaffrey, S. R., & Snyder, S. H. (1996). PIN: an associated protein inhibitor of neuronal nitric oxide synthase. *Science* (New York, N.Y.), 274(5288), 774–777. [https://doi.org/10.1126/science.274.5288.774.](https://doi.org/10.1126/science.274.5288.774)”

- [14] “El-Mlili, N., Rodrigo, R., Naghizadeh, B., Cauli, O., & Felipo, V. (2008). Chronic hyperammonemia reduces the activity of neuronal nitric oxide synthase in cerebellum by altering its localization and increasing its phosphorylation by calcium-calmodulin kinase II. *Journal of neurochemistry*, 106(3), 1440–1449. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05495.x>.”
- [15] H. Matsuda and T. Iyanagi, “Calmodulin activates intramolecular electron transfer between the two flavins of neuronal nitric oxide synthase flavin domain,” *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, vol. 1473, no. 2, pp. 345–355, Dec. 1999, doi: 10.1016/S0304-4165(99)00193-2.
- [16] “Rodríguez-Crespo, I., Straub, W., Gavilanes, F., & Ortiz de Montellano, P. R. (1998). Binding of dynein light chain (PIN) to neuronal nitric oxide synthase in the absence of inhibition. *Archives of biochemistry and biophysics*, 359(2), 297–304. <https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0928>.”
- [17] “Izumi, Y., & Zorumski, C. F. (1993). Nitric oxide and long-term synaptic depression in the rat hippocampus. *Neuroreport*, 4(9), 1131–1134.”
- [18] “Steinert, J. R., Chernova, T., & Forsythe, I. D. (2010). Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 16(4), 435–452. <https://doi.org/10.1177/1073858410366481>.”
- [19] “Lefebvre R. A. (2002). Pharmacological characterization of the nitrergic innervation of the stomach. *Verhandelingen - Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België*, 64(3), 151–166.”
- [20] “Hey, C., Boucher, J. L., Vadon-Le Goff, S., Ketterer, G., Wessler, I., & Racké, K. (1997). Inhibition of arginase in rat and rabbit alveolar macrophages by N omega-hydroxy-D,L-iodospicine, effects on L-arginine utilization by nitric oxide synthase. *British journal of pharmacology*, 121(3), 395–400. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701143>.”
- [21] “Youn, H., Ji, I., Ji, H. P., Markesbery, W. R., & Ji, T. H. (2007). Under-expression of Kalirin-7 Increases iNOS activity in cultured cells and correlates to elevated iNOS activity in Alzheimer’s disease hippocampus. *Journal of Alzheimer’s disease: JAD*, 12(3), 271–281. <https://doi.org/10.3233/jad-2007-12309>.”
- [22] “Jyoti, A., Singh, A. K., Dubey, M., Kumar, S., Saluja, R., Keshari, R. S., Verma, A., Chandra, T., Kumar, A., Bajpai, V. K., Barthwal, M. K., & Dikshit, M. (2014). Interaction of inducible nitric oxide synthase with rac2 regulates reactive oxygen and nitrogen species generation in the human neutrophil phagosomes: implication in microbial killing. *Antioxidants & redox signaling*, 20(3), 417–431. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4970>.”
- [23] “Smith, B. C., Fernhoff, N. B., & Marletta, M. A. (2012). Mechanism and kinetics of inducible nitric oxide synthase auto-S-nitrosation and inactivation. *Biochemistry*, 51(5), 1028–1040. <https://doi.org/10.1021/bi201818c>.”
- [24] “Fernhoff, N. B., Derbyshire, E. R., & Marletta, M. A. (2009). A nitric oxide/cysteine interaction mediates the activation of soluble guanylate cyclase. *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America, 106(51), 21602–21607. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911083106>.”

[25] “Burney, S., Caulfield, J. L., Niles, J. C., Wishnok, J. S., & Tannenbaum, S. R. (1999). The chemistry of DNA damage from nitric oxide and peroxynitrite. *Mutation research*, 424(1-2), 37–49. [https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(99\)00006-8](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(99)00006-8).”

[26] “Titheradge M. A. (1999). Nitric oxide in septic shock. *Biochimica et biophysica acta*, 1411(2-3), 437–455. [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00031-6](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00031-6).”

[27] “Kobayashi, Y., Ikeda, K., Shinozuka, K., Nara, Y., Yamori, Y., & Hattori, K. (1991). L-nitroarginine increases blood pressure in the rat. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 18(6), 397–399. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1991.tb01470.x>.”

[28] “Adamson DC, McArthur JC, Dawson TM, Dawson VL. Rate and severity of HIV-associated dementia (HAD): correlations with Gp41 and iNOS. *Mol Med*. 1999 Feb;5(2):98-109. PMID: 10203575; PMCID: PMC2230416.”

[29] “Persichini, T., Mancino, G., Cappelli, G., Colizzi, V., & Lauro, G. M. (1997). Mycobacterium tuberculosis enhances iNOS mRNA expression and HIV replication in human astrocytoma cells. *Neuroreport*, 8(8), 1897–1901. <https://doi.org/10.1097/00001756-199705260-00021>.”

[30] “Vannini, F., Kashfi, K., & Nath, N. (2015). The dual role of iNOS in cancer. *Redox biology*, 6, 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.009>.”

[31] S. T. Meller, C. Dykstra, D. Grzybycki, S. Murphy, and G. F. Gebhart, “The possible role of glia in nociceptive processing and hyperalgesia in the spinal cord of the rat,” *Neuropharmacology*, vol. 33, no. 11, pp. 1471–1478, Nov. 1994, doi: 10.1016/0028-3908(94)90051-5.

[32] “García-Cardeña, G., Fan, R., Shah, V., Sorrentino, R., Cirino, G., Papapetropoulos, A., & Sessa, W. C. (1998). Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature*, 392(6678), 821–824. <https://doi.org/10.1038/33934>.”

[33] “Drab, M., Verkade, P., Elger, M., Kasper, M., Lohn, M., Lauterbach, B., Menne, J., Lindschau, C., Mende, F., Luft, F. C., Schedl, A., Haller, H., & Kurzchalia, T. V. (2001). Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* (New York, N.Y.), 293(5539), 2449–2452. <https://doi.org/10.1126/science.1062688>.”

[34] “Alheid, U., Frölich, J. C., & Förstermann, U. (1987). Endothelium-derived relaxing factor from cultured human endothelial cells inhibits aggregation of human platelets. *Thrombosis research*, 47(5), 561–571. [https://doi.org/10.1016/0049-3848\(87\)90361-6](https://doi.org/10.1016/0049-3848(87)90361-6).”

[35] “Zeiber, A. M., Fisslthaler, B., Schray-Utz, B., & Busse, R. (1995). Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circulation research*, 76(6), 980–986. <https://doi.org/10.1161/01.res.76.6.980>.”

- [36] “Gruetter, C. A., Childers, C. E., Bosserman, M. K., Lemke, S. M., Ball, J. G., & Valentovic, M. A. (1989). Comparison of relaxation induced by glyceryl trinitrate, isosorbide dinitrate, and sodium nitroprusside in bovine airways. *The American review of respiratory disease*, 139(5), 1192–1197. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/139.5.1192>.”
- [37] “Gaston B, Reilly J, Drazen JM, Fackler J, Ramdev P, Arnette D, Mullins ME, Sugarbaker DJ, Chee C, Singel DJ, Loscalzo J, Stamler JS. Endogenous nitrogen oxides and bronchodilator S-nitrosothiols in human airways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993 Dec 1;90(23):10957-61. doi: 10.1073/pnas.90.23.10957. PMID: 8248198; PMCID: PMC47900.”
- [38] “Bredt, D. S., Hwang, P. M., & Snyder, S. H. (1990). Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*, 347(6295), 768–770. <https://doi.org/10.1038/347768a0>.”
- [39] “Miura, M., Yamauchi, H., Ichinose, M., Ohuchi, Y., Kageyama, N., Tomaki, M., Endoh, N., & Shirato, K. (1997). Impairment of neural nitric oxide-mediated relaxation after antigen exposure in guinea pig airways in vitro. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 156(1), 217–222. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.1.9606040>.”
- [40] F. L. M. Ricciardolo, “Multiple roles of nitric oxide in the airways,” *Thorax*, vol. 58, no. 2, pp. 175–182, Feb. 2003, doi: 10.1136/thorax.58.2.175.
- [41] “Folkerts, G., van der Linde, H. J., & Nijkamp, F. P. (1995). Virus-induced airway hyperresponsiveness in guinea pigs is related to a deficiency in nitric oxide. *The Journal of clinical investigation*, 95(1), 26–30. <https://doi.org/10.1172/JCI117649>.”
- [42] “Ignarro L. J. (1989). Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circulation research*, 65(1), 1–21. <https://doi.org/10.1161/01.res.65.1.1>.”
- [43] “Adnot, S., Raffestin, B., Eddahibi, S., Braquet, P., & Chabrier, P. E. (1991). Loss of endothelium-dependent relaxant activity in the pulmonary circulation of rats exposed to chronic hypoxia. *The Journal of clinical investigation*, 87(1), 155–162. <https://doi.org/10.1172/JCI114965>.”
- [44] “Nagaki, M., Shimura, M. N., Irokawa, T., Sasaki, T., & Shirato, K. (1995). Nitric oxide regulation of glycoconjugate secretion from feline and human airways in vitro. *Respiration physiology*, 102(1), 89–95. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(95\)00042-c](https://doi.org/10.1016/0034-5687(95)00042-c).”
- [45] “Jain, B., Rubinstein, I., Robbins, R. A., & Sisson, J. H. (1995). TNF-alpha and IL-1 beta upregulate nitric oxide-dependent ciliary motility in bovine airway epithelium. *The American journal of physiology*, 268(6 Pt 1), L911–L917. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1995.268.6.L911>.”
- [46] “Barnes, P. J., & Liew, F. Y. (1995). Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunology today*, 16(3), 128–130. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(95\)80128-6](https://doi.org/10.1016/0167-5699(95)80128-6).”

- [47] E. C. GABAZZA *et al.*, “Role of nitric oxide in airway remodelling,” *Clin. Sci.*, vol. 98, no. 3, pp. 291–294, Feb. 2000, doi: 10.1042/cs0980291.
- [48] R. L. Warner *et al.*, “Lung sources and cytokine requirements for in vivo expression of inducible nitric oxide synthase,” *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 12, no. 6, pp. 649–661, Jun. 1995, doi: 10.1165/ajrcmb.12.6.7539274.
- [49] H. P. Kuo, S. Liu, and P. J. Barnes, “The effect of endogenous nitric oxide on neurogenic plasma exudation in guinea-pig airways,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 221, no. 2–3, pp. 385–388, Oct. 1992, doi: 10.1016/0014-2999(92)90728-m.
- [50] G. T. De Sanctis *et al.*, “Contribution of nitric oxide synthases 1, 2, and 3 to airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of asthma,” *J. Exp. Med.*, vol. 189, no. 10, pp. 1621–1630, Dec. 1999, doi: 10.1084/jem.189.10.1621.
- [51] L. E. Gustafsson, A. M. Leone, M. G. Persson, N. P. Wiklund, and S. Moncada, “Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 181, no. 2, pp. 852–857, Dec. 1991, doi: 10.1016/0006-291x(91)91268-h.
- [52] K. Alving, E. Weitzberg, and J. M. Lundberg, “Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics,” *Eur. Respir. J.*, vol. 6, no. 9, pp. 1368–1370, Oct. 1993.
- [53] “Gratziou, C., Lignos, M., Dassiou, M., & Roussos, C. (1999). Influence of atopy on exhaled nitric oxide in patients with stable asthma and rhinitis. *The European respiratory journal*, 14(4), 897–901. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.1999.14d28.x>.”
- [54] A. Jatakanon, S. Lim, S. A. Kharitonov, K. F. Chung, and P. J. Barnes, “Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma,” *Thorax*, vol. 53, no. 2, pp. 91–95, Feb. 1998, doi: 10.1136/thx.53.2.91.
- [55] “Clini, E., Bianchi, L., Pagani, M., & Ambrosino, N. (1998). Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax*, 53(10), 881–883. <https://doi.org/10.1136/thx.53.10.881>.”
- [56] “Rutgers, S. R., van der Mark, T. W., Coers, W., Moshage, H., Timens, W., Kauffman, H. F., Koëter, G. H., & Postma, D. S. (1999). Markers of nitric oxide metabolism in sputum and exhaled air are not increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 54(7), 576–580. <https://doi.org/10.1136/thx.54.7.576>.”
- [57] M. A. Berry, D. E. Shaw, R. H. Green, C. E. Brightling, A. J. Wardlaw, and I. D. Pavord, “The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma,” *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 35, no. 9, pp. 1175–1179, Sep. 2005, doi: 10.1111/j.1365-2222.2005.02314.x.
- [58] X.-Y. Zhang *et al.*, “Full blood count parameters for the detection of asthma inflammatory phenotypes,” *Clin. Exp. Allergy J. Br. Soc. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 44, no. 9, pp. 1137–1145, Sep. 2014, doi: 10.1111/cea.12345.

- [59] A. D. Smith, J. O. Cowan, K. P. Brassett, G. P. Herbison, and D. R. Taylor, "Use of Exhaled Nitric Oxide Measurements to Guide Treatment in Chronic Asthma," *N. Engl. J. Med.*, vol. 352, no. 21, pp. 2163–2173, Feb. 2005, doi: 10.1056/NEJMoa043596.
- [60] "Bratton, D. L., Lanz, M. J., Miyazawa, N., White, C. W., & Silkoff, P. E. (1999). Exhaled nitric oxide before and after montelukast sodium therapy in school-age children with chronic asthma: a preliminary study. *Pediatric pulmonology*, 28(6), 402–407. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-0496\(199912\)28:6<402::aid-ppul3>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-0496(199912)28:6<402::aid-ppul3>3.0.co;2-v)."
- [61] "Kharitonov, S. A., Yates, D. H., Chung, K. F., & Barnes, P. J. (1996). Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *The European respiratory journal*, 9(2), 196–201. <https://doi.org/10.1183/09031936.96.09020196>."
- [62] R. Pisi, M. Aiello, P. Tzani, E. Marangio, D. Olivieri, and A. Chetta, "Measurement of fractional exhaled nitric oxide by a new portable device: comparison with the standard technique," *J. Asthma Off. J. Assoc. Care Asthma*, vol. 47, no. 7, pp. 805–809, Sep. 2010, doi: 10.3109/02770903.2010.485667.
- [63] B. M. Saraiva-Romanholo, F. S. Machado, F. M. Almeida, M. do P. T. Nunes, M. A. Martins, and J. E. Vieira, "Non-asthmatic patients show increased exhaled nitric oxide concentrations," *Clinics*, vol. 64, no. 1, pp. 5–10, Jan. 2009, doi: 10.1590/S1807-59322009000100002.
- [64] K. Okamoto, K. Hayashi, R. Kaku, Y. Kawaguchi, Y. Oshio, and J. Hanaoka, "Impact of fractional exhaled nitric oxide on the outcomes of lung resection surgery: a prospective study," *J. Thorac. Dis.*, vol. 12, no. 5, pp. 2663–2671, May 2020, doi: 10.21037/jtd.2020.03.18.
- [65] H. Logotheti *et al.*, "The role of exhaled nitric oxide in patients with chronic obstructive pulmonary disease undergoing laparotomy surgery - The noxious study," *Nitric Oxide Biol. Chem.*, vol. 61, pp. 62–68, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.niox.2016.10.005.
- [66] "Mathy-Hartert, M., Mouithys-Mickalad, A., Kohnen, S., Deby-Dupont, G., Lamy, M., & Hans, P. (2000). Effects of propofol on endothelial cells subjected to a peroxynitrite donor (SIN-1). *Anaesthesia*, 55(11), 1066–1071. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2044.2000.01606.x>."
- [67] J. A. González-Correa, E. Cruz-Andreotti, M. M. Arrebola, J. A. López-Villodres, M. Jódar, and J. P. De La Cruz, "Effects of propofol on the leukocyte nitric oxide pathway: in vitro and ex vivo studies in surgical patients," *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, vol. 376, no. 5, pp. 331–339, Jan. 2008, doi: 10.1007/s00210-007-0220-4.
- [68] L. Aarts, R. van der Hee, I. Dekker, J. de Jong, H. Langemeijer, and A. Bast, "The widely used anesthetic agent propofol can replace alpha-tocopherol as an antioxidant," *FEBS Lett.*, vol. 357, no. 1, pp. 83–85, Jan. 1995, doi: 10.1016/0014-5793(94)01337-z.
- [69] N. Bedirli *et al.*, "Volatile anesthetic preconditioning attenuated sepsis induced lung inflammation," *J. Surg. Res.*, vol. 178, no. 1, pp. e17-23, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.jss.2011.12.037.

- [70] J.-L. Yuan *et al.*, “The Effects of Sevoflurane vs. Propofol for Inflammatory Responses in Patients Undergoing Lung Resection: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials,” *Front. Surg.*, vol. 8, p. 692734, Jul. 2021, doi: 10.3389/fsurg.2021.692734.
- [71] F. Liu, W. Li, J. Pauluhn, H. Trübel, and C. Wang, “Rat models of acute lung injury: exhaled nitric oxide as a sensitive, noninvasive real-time biomarker of prognosis and efficacy of intervention,” *Toxicology*, vol. 310, pp. 104–114, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.tox.2013.05.016.
- [72] A. B. Kay, “Paul Ehrlich and the Early History of Granulocytes,” *Microbiol. Spectr.*, vol. 4, no. 4, p. 4.4.62, Aug. 2016, doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0032-2016.
- [73] C. Summers, S. M. Rankin, A. M. Condliffe, N. Singh, A. M. Peters, and E. R. Chilvers, “Neutrophil kinetics in health and disease,” *Trends Immunol.*, vol. 31, no. 8, pp. 318–324, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.it.2010.05.006.
- [74] R. Sender, S. Fuchs, and R. Milo, “Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body,” *PLOS Biol.*, vol. 14, no. 8, p. e1002533, Jul. 2016, doi: 10.1371/journal.pbio.1002533.
- [75] J. M. McCracken and L.-A. H. Allen, “Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease,” *J. Cell Death*, vol. 7, pp. 15–23, 2014, doi: 10.4137/JCD.S11038.
- [76] L. Raffaghello *et al.*, “Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche,” *Stem Cells Dayt. Ohio*, vol. 26, no. 1, pp. 151–162, Jan. 2008, doi: 10.1634/stemcells.2007-0416.
- [77] E. Kolaczowska and P. Kubes, “Neutrophil recruitment and function in health and inflammation,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 13, no. 3, pp. 159–175, Mar. 2013, doi: 10.1038/nri3399.
- [78] R. F. Kraus and M. A. Gruber, “Neutrophils—From Bone Marrow to First-Line Defense of the Innate Immune System,” *Front. Immunol.*, vol. 12, 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.767175.
- [79] B. Petri and M.-J. Sanz, “Neutrophil chemotaxis,” *Cell Tissue Res.*, vol. 371, no. 3, pp. 425–436, Mar. 2018, doi: 10.1007/s00441-017-2776-8.
- [80] P. V. Moghe, R. D. Nelson, and R. T. Tranquillo, “Cytokine-stimulated chemotaxis of human neutrophils in a 3-D conjoined fibrin gel assay,” *J. Immunol. Methods*, vol. 180, no. 2, pp. 193–211, Mar. 1995, doi: 10.1016/0022-1759(94)00314-m.
- [81] J. J. Lim, S. Grinstein, and Z. Roth, “Diversity and Versatility of Phagocytosis: Roles in Innate Immunity, Tissue Remodeling, and Homeostasis,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 7, 2017, Accessed: Jul. 29, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00191>
- [82] J. El-Benna, M. Hurtado-Nedelec, V. Marzaioli, J.-C. Marie, M.-A. Gougerot-Pocidallo, and P. M.-C. Dang, “Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation,” *Immunol. Rev.*, vol. 273, no. 1, pp. 180–193, Sep. 2016, doi: 10.1111/imr.12447.

- [83] T.-S. Teng, A.-L. Ji, X.-Y. Ji, and Y.-Z. Li, “Neutrophils and Immunity: From Bactericidal Action to Being Conquered,” *J. Immunol. Res.*, vol. 2017, p. 9671604, 2017, doi: 10.1155/2017/9671604.
- [84] V. Brinkmann *et al.*, “Neutrophil extracellular traps kill bacteria,” *Science*, vol. 303, no. 5663, pp. 1532–1535, Mar. 2004, doi: 10.1126/science.1092385.
- [85] X.-F. Shen, K. Cao, J.-P. Jiang, W.-X. Guan, and J.-F. Du, “Neutrophil dysregulation during sepsis: an overview and update,” *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 21, no. 9, pp. 1687–1697, Sep. 2017, doi: 10.1111/jcmm.13112.
- [86] S. Gupta and M. J. Kaplan, “The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases,” *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 12, no. 7, pp. 402–413, Jul. 2016, doi: 10.1038/nrneph.2016.71.
- [87] B. W. Bardoel, E. F. Kenny, G. Sollberger, and A. Zychlinsky, “The balancing act of neutrophils,” *Cell Host Microbe*, vol. 15, no. 5, pp. 526–536, Dec. 2014, doi: 10.1016/j.chom.2014.04.011.
- [88] N. Fine, N. Tasevski, C. A. McCulloch, H. C. Tenenbaum, and M. Glogauer, “The Neutrophil: Constant Defender and First Responder,” *Front. Immunol.*, vol. 11, p. 571085, Sep. 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.571085.
- [89] S. Wakabayashi *et al.*, “Effects of anesthesia with sevoflurane and propofol on the cytokine/chemokine production at the airway epithelium during esophagectomy,” *Int. J. Mol. Med.*, vol. 34, no. 1, pp. 137–144, Jul. 2014, doi: 10.3892/ijmm.2014.1762.
- [90] S. I. Galkina, E. A. Golenkina, G. M. Viryasova, Y. M. Romanova, and G. F. Sud’ina, “Nitric Oxide in Life and Death of Neutrophils,” *Curr. Med. Chem.*, vol. 26, no. 31, pp. 5764–5780, 2019, doi: 10.2174/0929867326666181213093152.
- [91] B. T. Wipke and P. M. Allen, “Essential role of neutrophils in the initiation and progression of a murine model of rheumatoid arthritis,” *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 167, no. 3, pp. 1601–1608, Aug. 2001, doi: 10.4049/jimmunol.167.3.1601.
- [92] R. Saini and S. Singh, “Inducible nitric oxide synthase: An asset to neutrophils,” *J. Leukoc. Biol.*, vol. 105, no. 1, pp. 49–61, Dec. 2018, doi: 10.1002/JLB.4RU0418-161R.
- [93] H. Kobayashi *et al.*, “Nitric oxide released from iNOS in polymorphonuclear leukocytes makes them deformable in an autocrine manner,” *Nitric Oxide*, vol. 7, no. 3, pp. 221–227, Nov. 2002, doi: 10.1016/S1089-8603(02)00109-X.
- [94] H. I. Chen, N.-K. Hsieh, S. J. Kao, and C.-F. Su, “Protective effects of propofol on acute lung injury induced by oleic acid in conscious rats,” *Crit. Care Med.*, vol. 36, no. 4, pp. 1214–1221, Apr. 2008, doi: 10.1097/CCM.0b013e31816a0607.
- [95] W. Krumholz, J. Endrass, and G. Hempelmann, “Inhibition of phagocytosis and killing of bacteria by anaesthetic agents in vitro,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 75, no. 1, pp. 66–70, Jul. 1995, doi: 10.1093/bja/75.1.66.



- [96] A. Erol, R. Reisli, I. Reisli, R. Kara, and S. Otelcioglu, “Effects of desflurane, sevoflurane and propofol on phagocytosis and respiratory burst activity of human polymorphonuclear leucocytes in bronchoalveolar lavage;,” *Eur. J. Anaesthesiol.*, vol. 26, no. 2, pp. 150–154, Feb. 2009, doi: 10.1097/EJA.0b013e328319bfeb.
- [97] A. Bredthauer *et al.*, “Propofol Ameliorates Exaggerated Human Neutrophil Activation in a LPS Sepsis Model,” *J. Inflamm. Res.*, vol. 14, pp. 3849–3862, Aug. 2021, doi: 10.2147/JIR.S314192.
- [98] G. Minguet, T. Franck, J. Joris, and D. Serteyn, “Sevoflurane modulates the release of reactive oxygen species, myeloperoxidase, and elastase in human whole blood: Effects of different stimuli on neutrophil response to volatile anesthetic in vitro,” *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 30, no. 4, pp. 362–370, Dec. 2017, doi: 10.1177/0394632017739530.
- [99] A. B. Kay, “The early history of the eosinophil,” *Clin. Exp. Allergy*, vol. 45, no. 3, pp. 575–582, Mar. 2015, doi: 10.1111/cea.12480.
- [100] G. A. Ramirez *et al.*, “Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2018, pp. 1–28, 2018, doi: 10.1155/2018/9095275.
- [101] “N. L. Diny, N. R. Rose, and D. ˇ Cih´akov´a, ‘Eosinophils in autoimmune diseases,’ *Frontiers in Immunology*, vol. 8, article no. 484, 2017.”
- [102] “C. Bachert, J. Patou, and P. V. Cauwenberge, ‘The role of sinus disease in asthma,’ *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, vol. 6, no. 1, pp. 29–36, 2006.”
- [103] “M.-R. Yacoub, M. Trimarchi, G. Cremona *et al.*, ‘Are atopy and eosinophilic bronchial inflammation associated with relapsing forms of chronic rhinosinusitis with nasal polyps?’ *Clinical and Molecular Allergy*, vol. 13, no. 1, Article ID23, 2015.”
- [104] J. C. MacPherson *et al.*, “Eosinophils Are a Major Source of Nitric Oxide-Derived Oxidants in Severe Asthma: Characterization of Pathways Available to Eosinophils for Generating Reactive Nitrogen Species,” *J. Immunol.*, vol. 166, no. 9, pp. 5763–5772, May 2001, doi: 10.4049/jimmunol.166.9.5763.
- [105] W. Krumholz, O. Abdulle, J. Knecht, and G. Hempelmann, “Effects of i.v. anaesthetic agents on the chemotaxis of eosinophils in vitro,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 83, no. 2, pp. 333–335, Aug. 1999, doi: 10.1093/bja/83.2.333.
- [106] H.-Y. Li, J.-X. Meng, Z. Liu, X.-W. Liu, Y.-G. Huang, and J. Zhao, “Propofol Attenuates Airway Inflammation in a Mast Cell-Dependent Mouse Model of Allergic Asthma by Inhibiting the Toll-like Receptor 4/Reactive Oxygen Species/Nuclear Factor  $\kappa$ B Signaling Pathway,” *Inflammation*, vol. 41, no. 3, pp. 914–923, Mar. 2018, doi: 10.1007/s10753-018-0746-2.
- [107] “Shen, Q. Y., Fang, L., Wu, H. M., He, F., Ding, P. S., & Liu, R. Y. (2015). Repeated inhalation of sevoflurane inhibits airway inflammation in an OVA-induced mouse model of allergic airway inflammation. *Respirology* (Carlton, Vic.), 20(2), 258–263. <https://doi.org/10.1111/resp.12439>.”

- [108] A. Borgeat and H. R. Stirnemann, “[Anti-emetic effect of propofol],” *Anaesthetist*, vol. 47, no. 11, pp. 918–924, Nov. 1998, doi: 10.1007/s001010050643.
- [109] X.-P. Dong and T.-L. Xu, “The actions of propofol on gamma-aminobutyric acid-A and glycine receptors in acutely dissociated spinal dorsal horn neurons of the rat,” *Anesth. Analg.*, vol. 95, no. 4, pp. 907–914, table of contents, Oct. 2002, doi: 10.1097/00000539-200210000-00021.
- [110] S. A. Helmy, M. A. Wahby, and M. El-Nawaway, “The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production,” *Anaesthesia*, vol. 54, no. 8, pp. 733–738, Aug. 1999, doi: 10.1046/j.1365-2044.1999.00947.x.
- [111] R.-M. Chen *et al.*, “Propofol reduces nitric oxide biosynthesis in lipopolysaccharide-activated macrophages by downregulating the expression of inducible nitric oxide synthase,” *Arch. Toxicol.*, vol. 77, no. 7, pp. 418–423, Jul. 2003, doi: 10.1007/s00204-003-0453-z.
- [112] P. G. Murphy, D. S. Myers, M. J. Davies, N. R. Webster, and J. G. Jones, “The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol),” *Br. J. Anaesth.*, vol. 68, no. 6, pp. 613–618, Jun. 1992, doi: 10.1093/bja/68.6.613.
- [113] W.-T. Chiu, Y.-L. Lin, C.-W. Chou, and R.-M. Chen, “Propofol inhibits lipoteichoic acid-induced iNOS gene expression in macrophages possibly through downregulation of toll-like receptor 2-mediated activation of Raf-MEK1/2-ERK1/2-IKK-NFκB,” *Chem. Biol. Interact.*, vol. 181, no. 3, pp. 430–439, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.cbi.2009.06.011.
- [114] H. Chang, S.-Y. Tsai, Y. Chang, T.-L. Chen, and R.-M. Chen, “Therapeutic concentrations of propofol protects mouse macrophages from nitric oxide-induced cell death and apoptosis,” *Can. J. Anaesth. J. Can. Anesth.*, vol. 49, no. 5, pp. 477–480, Dec. 2002, doi: 10.1007/BF03017924.
- [115] M. Berger *et al.*, “The Effect of Propofol vs. Isoflurane Anesthesia on Postoperative Changes in Cerebrospinal Fluid Cytokine Levels: Results from a Randomized Trial,” *Front. Immunol.*, vol. 8, 2017, Accessed: Jul. 03, 2023. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.01528>
- [116] M. Kallioinen *et al.*, “The influence of dexmedetomidine and propofol on circulating cytokine levels in healthy subjects,” *BMC Anesthesiol.*, vol. 19, no. 1, p. 222, Dec. 2019, doi: 10.1186/s12871-019-0895-3.
- [117] W. O. Eames, G. A. Rooke, R. S. Wu, and M. J. Bishop, “Comparison of the effects of etomidate, propofol, and thiopental on respiratory resistance after tracheal intubation,” *Anesthesiology*, vol. 84, no. 6, pp. 1307–1311, Jun. 1996, doi: 10.1097/00000542-199606000-00005.
- [118] A. Peratoner *et al.*, “Effects of propofol on respiratory mechanic and lung histology in normal rats,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 92, no. 5, pp. 737–740, Dec. 2004, doi: 10.1093/bja/aeh128.
- [119] N. Ouedraogo, E. Roux, F. Forestier, M. Rossetti, J. P. Savineau, and R. Marthan, “Effects of intravenous anesthetics on normal and passively sensitized human isolated airway smooth

muscle,” *Anesthesiology*, vol. 88, no. 2, pp. 317–326, Feb. 1998, doi: 10.1097/0000542-199802000-00008.

[120] N. R. Gleason, G. Gallos, Y. Zhang, and C. W. Emala, “Propofol Preferentially Relaxes Neurokinin Receptor-2-induced Airway Smooth Muscle Contraction in Guinea Pig Trachea,” *Anesthesiology*, vol. 112, no. 6, pp. 1335–1344, Jun. 2010, doi: 10.1097/ALN.0b013e3181d3d7f6.

[121] G. Gallos *et al.*, “Endogenous  $\gamma$ -aminobutyric Acid Modulates Tonic Guinea Pig Airway Tone and Propofol-induced Airway Smooth Muscle Relaxation,” *Anesthesiology*, vol. 110, no. 4, pp. 748–758, Apr. 2009.

[122] B. Preckel, W. Schlack, T. Comfère, D. Obal, H. Barthel, and V. Thämer, “Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart in vivo,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 81, no. 6, pp. 905–912, Dec. 1998, doi: 10.1093/bja/81.6.905.

[123] Z. Xu *et al.*, “The Effects of Two Anesthetics, Propofol and Sevoflurane, on Liver Ischemia/Reperfusion Injury,” *Cell. Physiol. Biochem.*, vol. 38, no. 4, pp. 1631–1642, 2016, doi: 10.1159/000443103.

[124] T. Watanabe, K. Asai, H. Fujimoto, H. Tanaka, H. Kanazawa, and K. Hirata, “Increased levels of HMGB-1 and endogenous secretory RAGE in induced sputum from asthmatic patients,” *Respir. Med.*, vol. 105, no. 4, pp. 519–525, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.rmed.2010.10.016.

[125] L. Wang *et al.*, “Sevoflurane Inhibits the Th2 Response and NLRP3 Expression in Murine Allergic Airway Inflammation,” *J. Immunol. Res.*, vol. 2018, pp. 1–8, Sep. 2018, doi: 10.1155/2018/9021037.

[126] T. Funakoshi *et al.*, “Effect of re-expansion after short-period lung collapse on pulmonary capillary permeability and pro-inflammatory cytokine gene expression in isolated rabbit lungs,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 92, no. 4, pp. 558–563, Apr. 2004, doi: 10.1093/bja/ae101.

[127] C. N. Compton, A. P. Franko, M. T. Murray, L. N. Diebel, and S. A. Dulchavsky, “Signaling of apoptotic lung injury by lipid hydroperoxides,” *J. Trauma*, vol. 44, no. 5, pp. 783–788, Dec. 1998, doi: 10.1097/00005373-199805000-00007.

[128] S. Iwasaki, M. Yamakage, J.-I. Satoh, and A. Namiki, “Different Inhibitory Effects of Sevoflurane on Hyperreactive Airway Smooth Muscle Contractility in Ovalbumin-sensitized and Chronic Cigarette-smoking Guinea Pig Models,” *Anesthesiology*, vol. 105, no. 4, pp. 753–763, Oct. 2006, doi: 10.1097/0000542-200610000-00022.

[129] S. M. Burburan *et al.*, “Lung Mechanics and Histology During Sevoflurane Anesthesia in a Model of Chronic Allergic Asthma:,” *Anesth. Analg.*, vol. 104, no. 3, pp. 631–637, Mar. 2007, doi: 10.1213/01.ane.0000255073.96001.cb.

[130] B. Shutes, W. J. Frazier, and J. D. Tobias, “An Unusual Complication With the Administration of a Volatile Anesthetic Agent for Status Asthmaticus in the Pediatric Intensive

Care Unit: Case Report and Review of the Literature,” *J. Intensive Care Med.*, vol. 32, no. 6, pp. 400–404, Jul. 2017, doi: 10.1177/0885066617713169.

[131] D. Schutte, A. M. Zwitserloot, R. Houmes, M. de Hoog, J. M. Draaisma, and J. Lemson, “Sevoflurane therapy for life-threatening asthma in children,” *BJA Br. J. Anaesth.*, vol. 111, no. 6, pp. 967–970, Dec. 2013, doi: 10.1093/bja/aet257.

[132] W. Habre, J. H. Wildhaber, and P. D. Sly, “Prevention of Methacholine-induced Changes in Respiratory Mechanics in Piglets: A Comparison of Sevoflurane and Halothane,” *Anesthesiology*, vol. 87, no. 3, pp. 585–590, Sep. 1997, doi: 10.1097/00000542-199709000-00019.

[133] F. C. F. Correa *et al.*, “Respiratory mechanics and lung histology in normal rats anesthetized with sevoflurane,” *J. Appl. Physiol.*, vol. 91, no. 2, pp. 803–810, Aug. 2001, doi: 10.1152/jappl.2001.91.2.803.

[134] “World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects | Global Health | JAMA | JAMA Network.” <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1760318> (accessed May 15, 2022).

[135] K. F. Schulz, D. G. Altman, and D. Moher, “CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials,” *BMJ*, vol. 340, p. c332, Mar. 2010, doi: 10.1136/bmj.c332.

[136] “Recommendations for standardized procedures for the on-line and off-line measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 160, no. 6, pp. 2104–2117, Dec. 1999, doi: 10.1164/ajrccm.160.6.ats8-99.

[137] American Thoracic Society and European Respiratory Society, “ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 171, no. 8, pp. 912–930, Apr. 2005, doi: 10.1164/rccm.200406-710ST.

[138] “Modified Aldrete Score: What Is It, How It’s Calculated, and More | Osmosis.” <https://www.osmosis.org/answers/modified-aldrete-score> (accessed Aug. 15, 2023).

[139] J. N. Matthews, D. G. Altman, M. J. Campbell, and P. Royston, “Analysis of serial measurements in medical research,” *BMJ*, vol. 300, no. 6719, pp. 230–235, Jan. 1990, doi: 10.1136/bmj.300.6719.230.

[140] P. E. Silkoff, P. McClean, M. Spino, L. Erlich, A. S. Slutsky, and N. Zamel, “Dose-response relationship and reproducibility of the fall in exhaled nitric oxide after inhaled beclomethasone dipropionate therapy in asthma patients,” *Chest*, vol. 119, no. 5, pp. 1322–1328, Dec. 2001, doi: 10.1378/chest.119.5.1322.

- [141] M. Maniscalco, A. Bianco, G. Mazzearella, and A. Motta, "Recent Advances on Nitric Oxide in the Upper Airways," *Curr. Med. Chem.*, vol. 23, no. 24, pp. 2736–2745, 2016, doi: 10.2174/0929867323666160627115335.
- [142] S. E. Harnan *et al.*, "Measurement of exhaled nitric oxide concentration in asthma: a systematic review and economic evaluation of NIOX MINO, NIOX VERO and NObreath," *Health Technol. Assess. Winch. Engl.*, vol. 19, no. 82, pp. 1–330, Oct. 2015, doi: 10.3310/hta19820.
- [143] J. V. Fahy, "Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many," *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 15, no. 1, pp. 57–65, Jan. 2015, doi: 10.1038/nri3786.
- [144] S. A. Kharitonov and P. J. Barnes, "Clinical aspects of exhaled nitric oxide," *Eur. Respir. J.*, vol. 16, no. 4, pp. 781–792, Oct. 2000, doi: 10.1183/09031936.00.16478100.
- [145] T. Soma *et al.*, "Implication of fraction of exhaled nitric oxide and blood eosinophil count in severe asthma," *Allergol. Int. Off. J. Jpn. Soc. Allergol.*, vol. 67S, pp. S3–S11, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.alit.2018.04.003.
- [146] M.-C. Liu, P.-S. Tsai, C.-H. Yang, C.-H. Liu, C.-C. Chen, and C.-J. Huang, "Propofol significantly attenuates iNOS, CAT-2, and CAT-2B transcription in lipopolysaccharide-stimulated murine macrophages," *Acta Anaesthesiol. Taiwanica Off. J. Taiwan Soc. Anesthesiol.*, vol. 44, no. 2, pp. 73–81, Jun. 2006.
- [147] C.-H. Chu, D. David Liu, Y.-H. Hsu, K.-C. Lee, and H. I. Chen, "Propofol exerts protective effects on the acute lung injury induced by endotoxin in rats," *Pulm. Pharmacol. Ther.*, vol. 20, no. 5, pp. 503–512, 2007, doi: 10.1016/j.pupt.2006.03.006.
- [148] J. Gao, B. X. Zeng, L. J. Zhou, and S. Y. Yuan, "Protective effects of early treatment with propofol on endotoxin-induced acute lung injury in rats," *Br. J. Anaesth.*, vol. 92, no. 2, pp. 277–279, Feb. 2004, doi: 10.1093/bja/ae050.
- [149] R. P. Lee, D. Wang, S. J. Kao, and H. I. Chen, "The lung is the major site that produces nitric oxide to induce acute pulmonary oedema in endotoxin shock," *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, vol. 28, no. 4, pp. 315–320, Apr. 2001, doi: 10.1046/j.1440-1681.2001.03446.x.
- [150] D. Wang *et al.*, "Effects of nitric oxide synthase inhibitors on systemic hypotension, cytokines and inducible nitric oxide synthase expression and lung injury following endotoxin administration in rats," *J. Biomed. Sci.*, vol. 6, no. 1, pp. 28–35, Jan. 1999, doi: 10.1007/BF02256421.
- [151] J. L. Vincent, H. Zhang, C. Szabo, and J. C. Preiser, "Effects of nitric oxide in septic shock," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 161, no. 6, pp. 1781–1785, Jun. 2000, doi: 10.1164/ajrccm.161.6.9812004.
- [152] R. Liu, Y. Ishibe, and M. Ueda, "Isoflurane-sevoflurane administration before ischemia attenuates ischemia-reperfusion-induced injury in isolated rat lungs," *Anesthesiology*, vol. 92, no. 3, pp. 833–840, Mar. 2000, doi: 10.1097/00000542-200003000-00027.

- [153] Q. F. Li, Y. S. Zhu, H. Jiang, H. Xu, and Y. Sun, "Isoflurane preconditioning ameliorates endotoxin-induced acute lung injury and mortality in rats," *Anesth. Analg.*, vol. 109, no. 5, pp. 1591–1597, Nov. 2009, doi: 10.1213/ANE.0b013e3181baf506.
- [154] J. Zhang and C. Bai, "Elevated Serum Interleukin-8 Level as a Preferable Biomarker for Identifying Uncontrolled Asthma and Glucocorticosteroid Responsiveness," *Tanaffos*, vol. 16, no. 4, pp. 260–269, Jun. 2017.
- [155] Y. Ogawa, E. A. Duru, and B. T. Ameredes, "Role of IL-10 in the resolution of airway inflammation," *Curr. Mol. Med.*, vol. 8, no. 5, pp. 437–445, Aug. 2008, doi: 10.2174/156652408785160907.
- [156] E. B. Wilson and D. G. Brooks, "The role of IL-10 in regulating immunity to persistent viral infections," *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, vol. 350, pp. 39–65, 2011, doi: 10.1007/82\_2010\_96.
- [157] J. J. Ke, J. Zhan, X. B. Feng, Y. Wu, Y. Rao, and Y. L. Wang, "A comparison of the effect of total intravenous anaesthesia with propofol and remifentanyl and inhalational anaesthesia with isoflurane on the release of pro- and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing open cholecystectomy," *Anaesth. Intensive Care*, vol. 36, no. 1, pp. 74–78, Jan. 2008, doi: 10.1177/0310057X0803600113.
- [158] Y. Jin, X. Zhao, H. Li, Z. Wang, and D. Wang, "Effects of sevoflurane and propofol on the inflammatory response and pulmonary function of perioperative patients with one-lung ventilation," *Exp. Ther. Med.*, vol. 6, no. 3, pp. 781–785, Sep. 2013, doi: 10.3892/etm.2013.1194.
- [159] H.-T. Tian, X.-H. Duan, Y.-F. Yang, Y. Wang, Q.-L. Bai, and X. Zhang, "Effects of propofol or sevoflurane anesthesia on the perioperative inflammatory response, pulmonary function and cognitive function in patients receiving lung cancer resection," *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 21, no. 23, pp. 5515–5522, Dec. 2017, doi: 10.26355/eurrev\_201712\_13943.
- [160] S. D. Bayable, D. Y. Melesse, G. F. Lema, and S. A. Ahmed, "Perioperative management of patients with asthma during elective surgery: A systematic review," *Ann. Med. Surg.*, vol. 70, p. 102874, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.amsu.2021.102874.
- [161] W. Habre, I. Matsumoto, and P. D. Sly, "Propofol or halothane anaesthesia for children with asthma: effects on respiratory mechanics," *Br. J. Anaesth.*, vol. 77, no. 6, pp. 739–743, Dec. 1996, doi: 10.1093/bja/77.6.739.
- [162] R. Lauer, M. Vadi, and L. Mason, "Anaesthetic management of the child with co-existing pulmonary disease," *Br. J. Anaesth.*, vol. 109 Suppl 1, pp. i47–i59, Dec. 2012, doi: 10.1093/bja/aes392.
- [163] G. Conti *et al.*, "Propofol induces bronchodilation in mechanically ventilated chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients," *Acta Anaesthesiol. Scand.*, vol. 37, no. 1, pp. 105–109, Jan. 1993, doi: 10.1111/j.1399-6576.1993.tb03609.x.

- [164] S. Molliex *et al.*, “Effects of halothane on surfactant biosynthesis by rat alveolar type II cells in primary culture,” *Anesthesiology*, vol. 81, no. 3, pp. 668–676, Sep. 1994, doi: 10.1097/00000542-199409000-00021.
- [165] F. Puglisi *et al.*, “Comparison of hemodynamic and respiratory effects of propofol and sevoflurane during carbon dioxide pneumoperitoneum in a swine model,” *Chir. Ital.*, vol. 59, no. 1, pp. 105–111, Feb. 2007.
- [166] M. Yamakage, C. A. Hirshman, and T. L. Croxton, “Inhibitory effects of thiopental, ketamine, and propofol on voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels in porcine tracheal smooth muscle cells,” *Anesthesiology*, vol. 83, no. 6, pp. 1274–1282, Dec. 1995, doi: 10.1097/00000542-199512000-00018.
- [167] H. F. Ginz, F. Zorzato, P. A. Iaizzo, and A. Urwyler, “Effect of three anaesthetic techniques on isometric skeletal muscle strength,” *Br. J. Anaesth.*, vol. 92, no. 3, pp. 367–372, Mar. 2004, doi: 10.1093/bja/ae080.
- [168] M. Jonsson Fagerlund, J. Krupp, and M. A. Dabrowski, “Propofol and AZD3043 Inhibit Adult Muscle and Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes,” *Pharm. Basel Switz.*, vol. 9, no. 1, p. E8, Feb. 2016, doi: 10.3390/ph9010008.
- [169] G. Haeseler *et al.*, “Propofol blocks human skeletal muscle sodium channels in a voltage-dependent manner,” *Anesth. Analg.*, vol. 92, no. 5, pp. 1192–1198, Dec. 2001, doi: 10.1097/00000539-200105000-00021.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝΑΡΕΤΑΙΕΙΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ  
Α΄ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΕΙΟ  
ΠΘΝΟΥ ΚΑΙ ΠΑΡΗΓΟΡΗΤΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΘΗΝΑ  
ΒΑΔΑΛΟΥΚΑΔιεύθυνση: Βασιλίσσης Σοφίας 76  
Τηλ: 2107286323, 334, 169

## Συγκατάθεση ασθενούς

Ο/Η υπογεγραμμένος/η .....

μετά από ενημέρωσή μου από τον/την υπεύθυνο Αναισθησιολόγο δέχομαι να μετρηθεί το εκπνεόμενο ΝΟ και τα ηωσινόφιλα αίματος σε σχέση με την αναισθησία που θα χορηγηθεί (προποφόλη ή σεβοφλουράνιο).

Ημερομηνία

Ο/Η ασθενής

Η/Ο Υπεύθυνος  
Αναισθησιολόγος



Ημερομηνία:

Ομάδα Ασθενούς:

<b>Φύλο</b>	<b>Κάπνισμα</b>
<b>Ηλικία</b>	<b>Αλλεργία / ατοπία</b>
<b>Βάρος</b>	<b>Αλλεργική ρινίτιδα</b>
<b>Ύψος</b>	<b>Βρογχικό άσθμα</b>
<b>ASA</b>	<b>Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια</b>

<b>FeNO</b>	<b>ηωσινόφιλα αίματος</b>	<b>πολυμορφοπύρρηνα αίματος</b>
<b>προ εισαγωγής</b>		
<b>MMAΦ - aldrete score<math>\geq</math>8</b>		
<b>24h μετά την αποσωλήνωση</b>		

<b>Χρόνος Συμβάματος</b>	<b>Αντιμετώπιση</b>
<b>Λαρυγγόσπασμος</b>	
<b>Βρογχόσπασμος</b>	
<b>Αλλεργική αντίδραση</b>	

	HR	SAP	DAP	MAP	SaO <sub>2</sub>	ETCO <sub>2</sub>	BIS	MAC	C	P <sub>in</sub> / P <sub>pt</sub>
0'										
10'										
20'										
30'										
40'										
50'										
60'										
70'										
80'										
90'										
100'										
110'										
120'										
130'										
140'										
150'										
160'										
170'										
180'										
190'										
200'										

Παράρτημα 3: φύλλο καταγραφής δευτερευουσών μετρήσεων διεγχειρητικά.

