

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

Rezumat

**EFECTELE PROPOFOLULUI ASUPRA BALANȚEI REDOX
LA PACIENȚII CHIRURGICALI,
ÎN PERIOADA PERIOPERATORIE**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
PROF. UNIV. DR. MARIA VRABETE**

**STUDENT-DOCTORAND:
DR. ȘOȘEA NELU IRINEL**

CRAIOVA 2012

Cuprins

I. Stadiul Cunoașterii

1. Interacțiunea dintre stresul chirurgical și stresul oxidativ, element de bază pentru selectarea terapiei complete, postoperator.

1.1. Caracteristicile stresului chirurgical.....pag. 6

1.2. Perioada preoperatorie.....pag 6

1.3. Perioada intraoperatorie.....pag 8

1.4. Perioada postoperatorie.....pag 9

2. Stresul oxidativ- definire patofiziologică și clinică.

2.1. Pre- și postcondiționarea.....pag 12

2.2. Sursele stresului oxidativ.....pag 15

2.3. Antioxidanții.....pag 17

2.4. Evoluția stres oxidativ- injurie, agresiune oxidativă la nivel celular....pag 20

3. Propofolul- anesteziacul care influențează balanța redox.....pag 28

II. Contribuții Proprii

Introducere.....pag 33

Premisă și Obiective.....pag 35

Material și metodă.....pag 35

Modelul 1.....pag 37

Modelul 2.....pag 59

Modelul 3.....pag 79

III. Concluzii Finalepag101

IV. Bibliografie.....pag 103

Abrevieri

AA— acidul arahidonic
AGL— acizi grași liberi
AMP— adenzin monofosfat
AO— antioxidanți
ATP— adenzin trifosfat
BAP— putere antioxidantă biologică
BL— baseline
CE— celule endoteliale
CL— chemiluminiscența
CMRO— consumul metabolic cerebral de oxigen
CPP— presiune de perfuzie cerebrală
d-Roms— derivați reactivi ai oxigenului
GABA— acid gama amino butiric
GC— cromatografie in gaz
GSH— glutation redus
GSSG— glutation oxidat
HOX— acizi hipohalogenai
I/R— ischemie-reperfuzie
MS— spectometrie de masă
NADPH— nicotin adenine dinucleotide fosfat
NMDA— N-metil D- aspartat
NSAID— antiinflamatorii nesteroidiene
PIC— presiune intracraniană
PMN— polimorfonuclear
RLO— radicali liberi de oxigen
ROS— specii reactive de oxigen
SOD— superoxid dismutaza
TG— timidin glicol
T- temperatura

I. Stadiul Cunoașterii

1. Interacțiunea dintre stresul chirurgical și stresul oxidativ, element de bază pentru selectarea terapiei complete, postoperator.

1.1. Caracteristicile stresului chirurgical.

În viziunea lui Waldron EE (1985), actul chirurgical se definește ca o “violență benignă” (termen adecvat pentru a sublinia crearea unei plăgi, chiar când scopul este favorabil, al evitării unei imbolnăviri).[1]

Organismul nu face diferența între injuria traumatică programată, în scop benefic și aceea spontană, percepând doar existența unui stres fizic intens.

1.2. Perioada preoperatorie.

În mod virtual, toate bolile care necesită intervenție chirurgicală, incluzând și injuria traumatică, obligă la tratamentul oxidativ al țesuturilor. [2], [3].

Rolul precoce al oxidanților se remarcă în cadrul răspunsului inflamator și constă în distrugerea țesuturilor afectate sau invadate de agenți infecțioși.[10] [6].

1.3. Perioada peroperatorie (intraoperatorie).

Dintre medicamentele administrate intraoperator, unele dintre ele sunt potențial oxidante și altele stimulează răspunsurile inflamatorii și imune (în special pentru aparatul respirator, direct expus la anestezicele inhalatorii). Preocuparea anesteziștilor este aceea de a minimiza efectele oxidante ale substanțelor administrate și de selectare a acelor care să aibă un efect protector împotriva Sox.[4]

Când fluxul sanguin este refăcut în zonele ischemiate, se produce injuria de reperfuție- injury occurs, în care nivelul crescut de O₂ determină alterările oxidative, dar și extragerea toxinelor din țesuturi, mobilizate în circulația generală. Moleculele oxidante produc lipoperoxidarea membranelor celulare. Atacul oxidant determină stimularea reacțiilor inflamatorii și eliberarea citokinelor, care declanșează evoluția spre injuria oxidantă amplificată de către celulele inflamatorii, chemate în focar. [56] [7] [8] Deși reacția inflamatorie este necesară și prezice vindecarea fără defect, totuși

exagerarea răspunsului inflamator contribuie ca stressor local și sistemic, împiedicând evoluția favorabilă. [9].

1.4. Perioada postoperatorie, de vindecare.

Cele mai importante mecanisme, recunoscute ca fiind favorizante vindecării plăgilor sunt cele care vizează relația dintre refacerea (creșterea) țesuturilor, reducerea inflamației și înlăturarea infecției. Reacția inflamatorie moderată este extrem de importantă, datorită eliberării citokinelor și a altor mediatori ai inflamației, care sunt necesari în stimularea producerii și eliberării factorilor de creștere pentru endoteliul vascular, vital pentru asigurarea aprovizionării cu sânge către noile țesuturi. Aportul suplimentar de O₂ este important pentru terapia postoperatorie. Totuși, O₂ în exces poate crește formarea SRO tisulari, de aceea asocierea judicioasă dintre aportul de O₂ și aportul de suplimente nutriționale este esențială pentru vindecarea plăgilor. [10]

2. Stresul oxidativ- definire patofiziologică și clinică.

2.1. Pre- și postcondiționarea.

Reducerea fluxului de O₂ înaintea reperfuziei normoxice se numește **postcondiționare** și protejează împotriva fenomenului ischemie-reperfuzie (I/R), ca urmare a prevenirii apariției la nivelul mitocondriei a peroxizilor și a depleției de glutation. S-a conchis că injuria de reperfuzie se datorește eliberării radicalilor liberi de O₂ de la nivelul țesutului ischemic supus deoxigenării. Alterările observate pot fi reversibile sau ireversibile, în funcție de severitatea și durata perioadei ischemice. **Precondiționarea ischemică (PCI)** a fost introdusă ca formă de realizare, preventivă a cardioprotecției împotriva injuriei de ischemie-reperfuzie. Prin această metodă s-a observat reducerea incidenței aritmiilor postischemice și refacerea funcției cardiace cu reducerea dimensiunii infarctului, după o ischemie globală.

2.2. Sursele stressului oxidativ (S.ox)

- a. Sursele endogene, intracelulare
- b. Sursele endogene, extracelulare, plasmatic.
- c. Sursele exogene

2.3. Antioxidanții (AO)

Clasificarea antioxidantilor care au efecte terapeutice:

- 1 AO naturali, fiziologici, prezenți în corp
2. AO farmacologici (sintetici)

2.4. Evoluția stres oxidativ-injurie, agresiune oxidativă, la nivel celular.

Reducerea fluxului sanguin (FS) în țesuturile periferice, depășește instalarea stresului oxidativ și generează injuria ischemică.

În timpul reperfuziei și re-oxigenării, creșterea semnificativă a câtorva specii de radicali liberi degradează membranele celulare și capilare. S-a postulat că O_2^- , OH și radicalii liberi lipidici se pot forma în urma acțiunii XO și/sau eliberării lor din neutrofilele, care sunt activate de către leucotriene.

Re-oxigenarea reface nivelul de ATP, făcând posibilă recaptarea de calciu de către mitocondrie, ceea ce sporește suprasarcina calcică și distrugerea mitocondriei.

3. Propofolul- anestezic care influențează balanța redox

Propofolul este cel mai folosit anestezic intravenos astăzi.

Propofolul este în primul rând un hipnotic. Mecanismul de acțiune nu este pe deplin înțeles, totuși dovezile sugerează că o parte importantă a acțiunii hipnotice este mediată de acidul gama-aminobutiric.

Ca formulă chimică, propofolul este diizopropilfenol, deci e format dintr-un inel fenolic la care se leaga în pozițiile 2 și 6 două grupări izopropil, rezultând o substanță cu liposolubilitate ridicată și hidrosolubilitate redusă. Acesta este motivul pentru care formularea propofolului se face în prezent sub forma de emulsie de ulei în apă, cu ulei de soia (10%) , fosfatidă de ou purificată (lecitină din ou) și glicerol.

Propofolul posedă efecte antioxidante care se datorează pe de o parte formulei sale chimice similare vit E, dar și activității sale de scavenger de radicali liberi. Propofolul inhibă fagocitoza și diminuează creșterea mediatorilor pro-inflamatori declanșată de intervenția chirurgicală sau de alți factori.

II. Contribuții Personale

Introducere.

Incizia și tehnicile chirurgicale de clampare/declampare a vaselor sanguine (hemostaza) induc dezechilibrul balanței redox, datorită creșterii produșilor oxidanți, care determină instalarea stresului oxidativ, la pacienții operați. Dacă excesul oxidativ produs de creșterea producției și reactivității ROS, depășește valoarea compensării lor, de către antioxidanții endogeni, se produce imbalanța redox, cu evoluție spre instalarea stresului oxidativ, a injuriei și chiar agresiunii oxidative, caz, în care produșii oxidanți, toxici, difuzează în circulație [11]

Procesul de menținere a balanței redox, presupune producerea și consumul, în cantități echivalente atât a oxidanților cât și a antioxidanților. În cazul excesului oxidant, antioxidanții se consumă permițând creșterea sarcinilor oxidante, fenomen care caracterizează manifestarea stresului oxidativ.

Anestezia folosește substanțe care acționează în ambele sensuri (oxidant-antioxidant) efectul antioxidant, fiind realizat prin acțiunea de scavengeri de ROS. Potențarea capacității antioxidante a sângelui cu ajutorul unor antioxidanți exogeni, printre care se află și unele substanțe anestezice, poate fi benefică evoluției postoperatorii a pacientului, la care se estimează că sarcinile oxidante ar fi putut să crească, în perioada intraoperatorie.

Premisa.

Evidențierea momentului instalării stresului oxidativ, asociat stresului chirurgical la pacienții operați, cu ajutorul a doi parametrii biochimici orientativi: nivelul hidroperoxizilor organici în sânge și capacitatea reductoare a fierului plasmatic.

Obiective:

- Caracterizarea modificărilor umorale, datorate stresului oxidativ în perioada intervenției chirurgicale,
- Estimare corectă a valorilor obținute, asigurându-le statistic, cu teste de înaltă performanță.

-Evidențierea efectelor antioxidante ale propofolului la pacienții, la care se folosește, ca tehnică chirurgicală producerea procesului de ischemie/reperfuzie.

Material si Metoda

Lotul total luat in studiu a cuprins trei categorii de pacienți chirurgicali, la care s-au practicat doua tipuri de intervenții chirurgicale, la care am urmarit, efectele substanțelor anestezice, asupra balanței redox. In acest fel am efectuat trei studii, separate la trei modele de intervenții chirurgicale si anestezii.

Masurarea radicalilor liberi

Am folosit metoda de măsurare a ROS prin chemiluminiscenta (CL). Această metodă poate monitoriza formarea *metaboliților reactivi de oxigen* inclusiv a superoxidului ($O_2^{\cdot-}$), peroxidului de hydrogen, (H_2O_2), OH, și HOCl.

Cromatografia în gaz (GC) și spectrometria de masă (MS) am folosit-o pentru determinarea *peroxizilor lipidici* (aldehide, izoprostani, peroxizi de colesterol / esteri de colesterol); peroxizii sunt extrași, reduși la alcoolii, separați prin GC si identificați prin MS.

Am determinat MDA ca marker al peroxidarii lipidelor.

Modelul 1

Ipoteza de lucru:

Evaluarea proprietăților antioxidante ale propofolului într-un model chirurgical de ischemie reperfuzie.

Ca scop secundar este validarea modelului ischemie-reperfuzie pentru un alt studiu cu anestezie generală.

Utilizarea garoului- banda elastică frecvent utilizată în ortopedie, chirurgie vasculară și reparatorie a extremităților pentru avantajul de a oferi un câmp chirurgical fără sângerare.

Pe parcursul perioadei ischemice, radicalii de oxigen sunt produși în țesuturile neirigate. Desfacerea garoului, după perioada de hipo (non)irigare, se eliberează specii reactive de oxigen în fluxul de reperfuzie.

Metoda

Am selectat 34 pacienți de la Spitalul Clinic CF Craiova, propuși pentru intervenție chirurgicală ortopedică: artroscopie diagnostică și terapeutică, în cadrul căreia se folosește banda elastică (presiune pneumatică).

În spitalul nostru artroscopia diagnostică și terapeutică se efectuează în aceste condiții. Am împărțit pacienții în două grupuri.

Grupul D. Am realizat sedarea cu 10 mg diazepam, după care s-a efectuat anestezia subarahnoidiană cu 12,5 mg bupivacaină hiperbară 0,5%.

Grupul P. Am asigurat sedarea cu propofol 0,5 mg/kg, urmată de anestezia subarahnoidiană cu 12,5 mg bupivacaină hiperbară 0,5% și am continuat cu infuzie continuă de propofol la un ritm de 2mg/kg/h.

Am prelevat sânge pentru patru determinări: înainte de începerea anesteziei (T0), dar după terminarea infuziei preoperatorii a soluției Ringer, la un minut (T1) înainte de eliberarea compresiei pneumatice, (1BTR), și la 5 și 30 min (T2 și respectiv T3) după eliberarea compresiei (ATR), pentru măsurarea ROS în plasmă.

Rezultate

Măsurătorile au relevat că nu au fost diferențe semnificativ statistice între grupuri în ceea ce privește valorile ROS înainte de începutul anesteziei în punctul T0.

Descriptive	Grup D	Grup P
n	17	17
Mean	6312.47	6214.18
Median	6345.00	6140.00
Standard Deviation	244.14	290.86
Standard Error	59.21	70.54

Tabel 1 Analiza statistică descriptivă-sumar- valori ROS- Momentul T0 în cele două grupuri

Deasemenea nu au fost diferențe statistic semnificative în punctul T1, adică cu un minut înainte de eliberarea compresiunii (1BTR) între grupuri. (4398 numărătoare pe 10 s în grupul diazepam, 3735 numărătoare pe 10 s în grupul propofol).

Aplicând testele de comparație între grupuri nu s-au evidențiat diferențe semnificative în aceste momente ale studiului.

Totuși în ambele grupuri valorile ROS au fost ușor mai mici față de valorile considerate de referință (baseline).

La 5 minute după eliberarea compresiunii (5 ATR) T2, în grupul propofol, concentrația plasmatică a ROS (6617 numărătoare pe 10 s) rămâne scăzută în jurul valorii baseline (6214 numărătoare pe 10 s).

În grupul diazepam a fost observată o diferență semnificativă 12773 numărătoare pe 10 s, comparativ cu baseline (6312 numărătoare pe 10 s).

La același moment T2 și între grupuri a fost o diferență semnificativă.

La 30 minute (T3) după eliberarea compresiunii (30 ATR) s-au detectat diferențe semnificative statistic între nivelul ROS între cele două grupuri, fiind un nivel crescut în grupul D, comparativ cu grupul P, grupul D 15960 numărătoare pe 10s, comparativ cu grupul P 5383 numărătoare pe 10 s.

În grupul D, deasemenea au fost diferențe semnificative în cadrul grupului față de BL în acest punct (T3) de la 6312 numărătoare pe 10s la BL, la 15960 numărătoare pe 10s la 30 min ATR).

Comparativ cele două trenduri arată ca în figura 1.

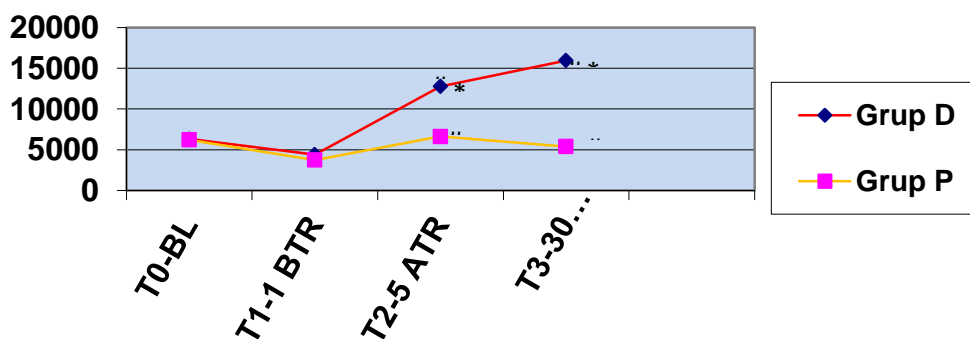


Figura 1 Reprezentarea grafică a valorilor medii a ROS pe parcursul studiului comparative (*- $p < 0.05$ diferențe față de BL (Grup D); #- $p < 0.05$ diferențe între grupuri)

Discuții si concluzii

Cu toate că musculatura scheletică este destul de rezistentă la leziuni ischemice, mai multe studii au arătat că radicalii liberi de oxigen provoacă leziuni musculare în timpul reperfuziei.[12]

Radicalii liberi de oxigen sunt produși în timpul intervenției chirurgicale ortopedice efectuate cu aplicarea unui garou ischemic.[13] [14]

Studiul nostru a arătat că propofolul (Grupul P) nu a produs diferențe semnificative la 30 minute după reperfuzie față de valoarea considerată baseline de la începutul anesteziei.

În contrast, în grupul diazepamului, în aceeași perioadă, am observat o creștere semnificativă a nivelurilor de ROS, deci se pare că și din acest punct de vedere propofolul este o alegere mai bună pentru sedare la pacienții ce au primit anestezie regională pentru intervenții chirurgicale ortopedice care necesită o aplicare garou ischemică.

Am găsit, de asemenea, că, concentrația de ROS în plasmă au scăzut nesemnificativ în grupul D înainte de reperfuzie (BTR), comparativ cu linia de bază, care ar fi fost rezultatul efectelor sedării, eliberării de stresul din sala de operație.

În Grupul P am observat o scădere ceva mai proeminentă a concentrațiilor plasmatice de ROS, 1 BTR, rămânând însă fără semnificație statistică.

Acest lucru se poate datora ambelor efecte, atât a propofolului care reduce stresul oxidativ acționând ca și captator de radicali liberi, cât și anesteziei regionale, care reduce hormonii inductori de stres, cum ar fi adrenalina, noradrenalina și cortizolul. [17]

Deci, în studiul nostru propofolul pare a fi mai protector împotriva stresului oxidativ în caz de ischemie-reperfuzie periferică.

Acest studiu demonstrează că sedarea cu propofol sub anestezie regională produce o mai bună apărare antioxidantă decât sedarea cu diazepam împotriva injuriei ischemice urmată de reperfuzie datorată aplicării tourniquet-ului în chirurgia ortopedică.

Modelul 2

Pentru studierea producerii ROS, in acelaș model consacrat de ischemie-reperfuzie, studiem influența a doua regimuri anestezice, de anestezie generală, asupra statusului oxidativ, unul din regimuri fiind bazat pe propofol.

Metoda

Am investigat 34 pacienți de la Spitalul Clinic CF Craiova, care au necesitat artroscopie la nivelul genunchiului, tehnică în care se folosește tourniquet-ul. Pacienții au fost împărțiți in doua grupuri: grupul sevofluran (Grupul S) și grupul propofol (grupul P), fiecare având câte 17 pacienți.

Inducția anestezică. Grupul S: tiopental 4mg/kg si fentanyl 4mcg/kg; Grupul P: propofol si rocuronium administrat pentru facilitarea inserției măstii laringiene.

Menținerea anesteziei. Grupul S. sevofluranul inhalator (3-4%); Grupul P: propofolul administrat cu un ritm de 10mg/kg/h redus , la 8 mg/kg/h, si la 6mg/kg/h la 10 minute interval, in concordanță cu conceptele actuale de total intravenous anestezia (TIVA) sau/și balanced anesthesia.

Am prelevat probe din sângele venos, pentru determinarea nivelului plasmatic al malondialdehidei, in cinci perioade ale actului chirurgical:

- T0- inainte de inducția anesteziei generale, pentru obținerea valorii martor, de referinta- baseline (BL)
- T1- la 1 minut inainte de aplicarea tourniquet-ului
- T2- la 1 min inainte de eliberarea compresiunii
- T3- la 5 minute după eliberarea tourniquet-ului
- T4- la 30 minute după eliberarea tourniquet-ului

Rezultate

Nu au fost diferențe semnificative între grupuri în ceea ce privește valorile MDA înaintea inducției.

Descriptive	Grup P	Grup S
n	17	17
Mean	2.87	3.07
Median	2.87	3.12
Standard Deviation	0.29	0.44
Standard Error	0.07	0.11

Tabel 2 Analiza descriptivă sumară, variabila- concentrația MDA, in cele două grupuri, moment T0.

Totuși în ambele grupuri valorile MDA au avut valori mai mici decât valoarea considerată BL, dar fără semnificație statistică. (T1 vs T0)

La 5 minute după inițierea reperfuziei (T3) în grupul propofol concentrația de MDA scade, comparativ cu concentrația MDA înainte de inițierea ischemiei. (Tabel 3)

Descriptive	T3	T0
Mean	2.38	2.87
Median	2.36	2.87
Standard Deviation	0.95	0.29
Standard Error	0.23	0.07

Tabel 3 Analiza descriptivă sumară a concentrației de MDA in grupul P in momentele T3 si T0

În grupul sevofluran în acelaș moment s-a observat o usoară creștere (3.42 $\mu\text{mol/litre}$ vs 3.07 $\mu\text{mol/litre}$). (T3 vs T0)

Între cele două grupuri la acest moment (T3) diferențele au fost semnificative.

Reprezentarea mediilor valorilor concentrației MDA pentru ambele grupuri in toate cele 5 momente este vizualizat in figura 2.

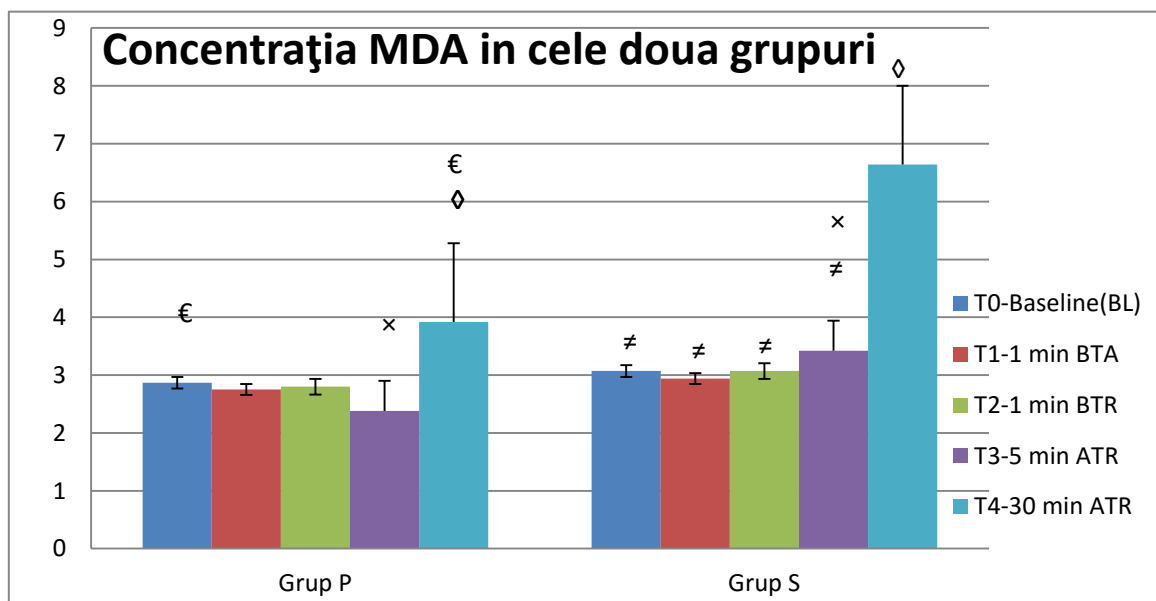


Figura 2 Reprezentarea mediilor valorilor concentrației MDA pentru ambele grupuri in toate cele 5 momente. Concentratia de malondialdehide (MDA) în plasmă (μmol/l). Datele sunt exprimate ca media± SD.

≠ - p<0.05 BL, 1 min BTA, 1 min BTR, 5 min ATR vs 30 min ATR

◇ - p<0.05 Group P vs Group S, 30 min ATR

× - p<0.05 Group P vs Group S 5 min ATR

€ - p<0.05 BL vs 30 min ATR

În grupul P cea mai mare scădere a MDA a fost măsurata la momentul 5 min ATR (2.38±0.95 μmol/l)- (T3) comparativ cu 1 min BTR (2.8±1.45 μmol/l)- (T2) și 30 min ATR (3.92±0.61 μmol/l)- (T4).

La 30 minute de la reperfuzie s-au observat diferențe semnificative între cele două grupuri, creșterea MDA în grupul S a fost mai mare (3.92μmol/litre la grupul propofol și 6.64 μmol/litre în grupul sevofluran).

În cadrul grupului creșterea nivelelor de MDA au avut deasemenea semnificatie statistică (de la 2.87 la 3.92 μmol/litre în grupul propofol și de la 3.07 la 6.64 μmol/litre în grupul sevofluran).

Rezultatele asigurate statistic au evidențiat faptul că: nu au fost diferențe semnificative între grupuri în legătură cu valorile MDA înainte de inducția anesteziei, dar la ambele grupuri valorile au fost mai mici față de valoarea martor, BL, însă, fără semnificație statistică. (T1 vs T0).

Scăderea MDA a fost evidentă în grupul P la momentul 5 min ATR.- T3 (2.38 micromol/l) comparativ cu T0 (2.87 micromol/l), T2- 1 min BTR (2.8 micromol/l) și T4- 30 min ATR (3.92 micromol/l).

La 30 minute de reperfuzie s-au observat diferențe semnificative între cele două grupuri, creșterea MDA în grupul S fiind mai mare (3.92 micromol/l vs 6.64 micromol/l).

Discuții și concluzii

În studiul nostru s-a observat că propofolul produce scădere semnificativă a atacului oxidativ la 30 minute după reperfuzie. În contrast în grupul sevofluran, tot în acel moment s-a observat o creștere a nivelurilor de MDA secundar atacului oxidativ, drept urmare propofolul pare a fi o alegere bună în cazul acestui tip de chirurgie a membrului.

Noi am observat că, concentrația plasmatică de MDA a scăzut nesemnificativ și în grupul S, înainte de reperfuzie (BTR), comparativ cu BL, și aceasta ar putea să fi fost rezultatul efectelor sedative și de eliberare de stres din sala de operație- efectul anesteziei generale cu volatili (grupul S).

Concentrația plasmatică a MDA în Grupul S, la 30 min ATR, a fost semnificativ mai mare în comparație cu grupul P la același punct de timp.

În același grup P am observat scăderea cea mai proeminentă a concentrațiilor plasmatice ale MDA, la 5 min ATR. Această reducere poate fi explicată prin faptul că țesuturile ce au fost sub ischemie, au fost saturate cu propofol înainte de inițierea ischemiei.

În studiul nostru, propofolul pare a fi mai protectiv împotriva stresului oxidativ secundar procesului de ischemie-reperfuzie periferică.

Acest studiu demonstrează că TIVA cu propofol oferă o apărare antioxidantă mai bună, decât anestezia inhalatorie pe pivot inhalator cu sevofluran, împotriva injuriei de reperfuzie, legată de eliberarea tourniquet-ului la intervențiile ortopedice pe membrul inferior. Este nevoie de mai multe studii pentru clarificarea acestui efect, dar și pentru clarificarea efectelor sevofluranului asupra stresului oxidativ în tesuturile periferice.

Modelul 3

Am selectat alt model chirurgical, pentru evidențierea efectelor substanțelor anestezice asupra balanței redox și anume o intervenție chirurgicală frecventă în chirurgia abdominală.

Motivația.

Evidențierea instalării stresului oxidativ în timpul intervenției chirurgicale abdominale.

Obiective:

- Caracterizarea modificărilor umorale, datorate stresului oxidativ în perioada intervenției chirurgicale asociată cu laparotomia, pentru colectomie segmentară-sigmoidectomie (intervenție gastro-intestinală comună).
- Investigarea efectelor antioxidante ale propofolului la pacienții supuși intervenției chirurgicale.

Metoda.

Am repartizat lotul selectat în două grupuri a 21 pacienți:

- Grupul S: actul chirurgical realizat sub anestezie cu sevofluran
- Grupul P: am utilizat propofolul ca anestezie esențial

Anestezia a fost indusă cu 8% sevofluran (grupul S), sau 1.5-2.5 mg/kg propofol (grupul P), cu 0,003 mg / kg de fentanil și 0,6 mg/kg de rocuronium. Anestezie topică

a laringelui s-a efectuat cu lidocaina 4%. Anestezia a fost menținută cu 2% -4% sevofluran (grupul S), sau 5-8 mg/kg/h propofol (grupul P), în prezenta de 0,001 mg / kg/ h fentanil si 0,5 rocuronium mg/kg/h.

De la fiecare pacient am prelevat câte doi mililitri de sânge în trei timpi diferiți, în desfășurarea actului anestezico-chirurgical:

- înainte de inducerea anesteziei (T0)
- la începutul intervenției chirurgicale (T1)
- la îndepărtarea colonului (T2)
- la sfârșitul intervenției chirurgicale (T3)
- transferul in unitatea de îngrijire postanestezică (T4)

Am determinat nivelul celor două elemente definitorii ale balanței redox. hidroperoxizii organici si capacitatea reductoare a fierului plasmatică.

Rezultate

21 de pacienți din grupul S si 21 de pacienți din grupul P, au fost incluși în studiu (tabelul 4).

	Grup S	Grup P
Numar	21	21
Vârsta (ani)	65±7.2	62±8.1
Greutate (kg)	59±8	58±7.3
Durata intervenției (min)	216±54.6	224±63.1
Diureza (ml)	382±120.9	403±142.3
Cristaloide (ml)	2897±622.5	2874±644.3

Tabelul 4 Caracteristicile pacienților

Nivelul hidroxiperoxizilor circulanți în sânge, măsurați prin testul d-Roms, nu au suferit modificari în timpul intervenției chirurgicale sau în terapie intensivă la grupul S.

Valorile sanguine de hidroxiperoxid măsurate prin testul d-ROMS în timpul intervenției cu anestezie sevofluran sunt prezentate in tabelul 5.

Descriptive	T0	T1	T2	T3	T4
Mean	401.24	413.14	393.19	389.86	408.86
Median	401.00	412.00	400.00	399.00	422.00
Standard Deviation	80.97	75.05	88.41	79.66	69.70
Standard Error	17.67	16.38	19.29	17.38	15.21

Tabelul 5 Analiza descriptivă sumară a valorile d-Roms colectate grup S

Analiza comparativă in cadrul grupului S, arată că nu au fost diferențe semnificative in nici un moment al studiului.

În grupul P nivelurile de hidroxiperoxizii au fost semnificativ mai mici la sfârșitul intervenției chirurgicale, in comparație cu valorile preanestezice (T4 vs T0) (296 ± 89.56 vs 384 ± 91.45 UCarr).

Valorile sanguine de hidroxiperoxid măsurate prin testul de d-ROMS în timpul intervenției cu anestezie propofol sunt prezentate in tabelul 6.

Descriptive	T0	T1	T2	T3	T4
Mean	383.71	380.43	361.10	295.86	388.24
Median	383.00	377.00	373.00	254.00	396.00
Standard Deviation	91.45	69.52	64.09	89.56	95.24
Standard Error	19.96	15.17	13.99	19.54	20.78

Tabel 6 Analiza descriptivă sumară a valorile d-Roms colectate grup P

Analiza statistică comparativă in cadrul grupului s-a realizat cu testul ANOVA, iar evidențierea între care din momentele cercetate sunt diferite semnificative, prin

comparare două câte două s-a folosit testul T student pereche, Friedman Test și Wilcoxon Signed Rank Test.

S-au evidențiat diferențe semnificative între valorile hidroperoxidului măsurate la sfârșitul intervenției chirurgicale (T3) la grupul P comparativ cu valorile preoperatorii (T0).

Valorile determinate în momentul T3 în grupul P au fost, de asemenea, semnificativ mai mici în comparație cu preanestezia și sfârșitul intervenției pentru grupurile S. (figura 3)

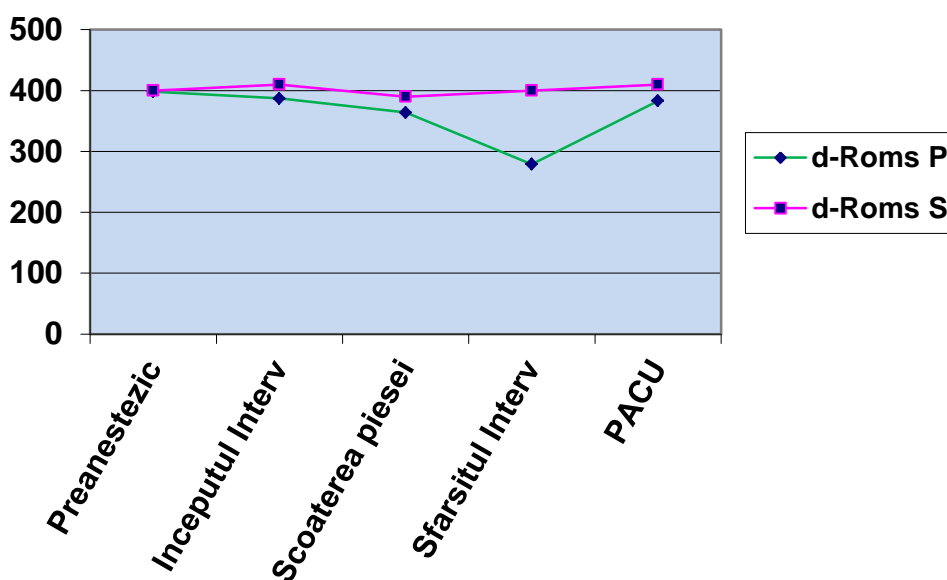


Figura 3 Nivelurile sanguine de hidroperoxid măsurate prin testul de d-Roms în timpul intervenției în cele două grupuri

Capacitatea reductoare a fierului plasmatic (PFRA) nu s-a modificat în timpul intervenției chirurgicale pentru grupul P.

Analiza descriptivă sumară a parametrilor statistici pentru grupul P, variabila capacitate reductoare a fierului plasmatic, analiză efectuată automat de programul statistic EXSTAT este prezentată în tabelul 7.

Descriptive	T0	T1	T2	T3	T4
Mean	210.67	204.19	188.71	200.76	204.48
Median	225.00	219.00	197.00	187.00	208.00
Standard Deviation	58.12	46.78	63.81	60.53	50.71
Standard Error	12.68	10.21	13.92	13.21	11.07

Tabelul 7 Analiza descriptivă sumară a parametrilor statistici pentru capacitatea reductoare a fierului plasmatic grup P.

La grupul S, valoarea capacității reductoare a fierului plasmatic a scăzut în mod semnificativ de la 219.81 ± 40.05 - valoarea din preanestezie pentru acest grup la 82.57 ± 37.37 mmol / L la sfârșitul intervenției chirurgicale. (T3 vs T0) (tabel 8)

Descriptive	T0	T1	T2	T3	T4
Mean	219.81	191.19	155.81	82.57	219.62
Median	236.00	196.00	163.00	89.00	233.00
Standard Deviation	40.05	67.39	64.00	37.37	52.79
Standard Error	8.74	14.71	13.97	8.15	11.52

Tabel 8 Analiza descriptivă sumară a parametrilor statistici pentru capacitatea reductoare a fierului plasmatic grup S

Analiza statistică a evidențiat diferențe semnificative în grupul S (T3 vs T0). Capacitatea reductoare a fierului plasmatic (PFRA) în timpul intervenției chirurgicale pentru grupul S și P face mai ușor observabilă diferența dintre grupuri. (v figura 4)

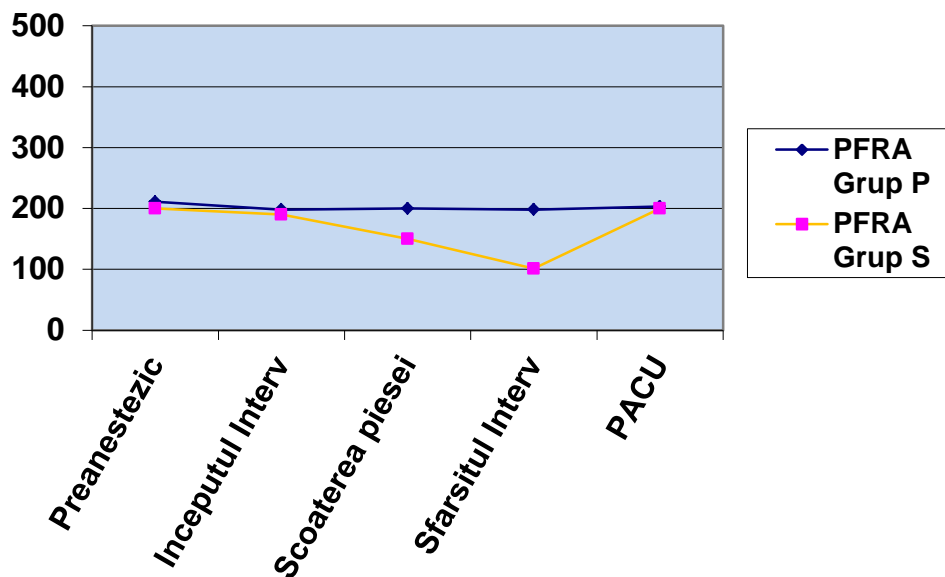


Figura 4 Capacitatea reductoare a fierului plasmatic (PFRA) în timpul intervenției chirurgicale pentru grupul S și P.

Nivelurile de hidrogenperoxid și capacitatea reductoare a fierului plasmatic a revenit la valorile lor preanestezice în Pacu în cele două grupuri.

CONCLUZII

În colectomia segmentară- sigmoidectomie sub anestezie cu sevofluran, capacitatea reductoare a fierului plasmatic a scăzut în timpul intervenției chirurgicale, indicând o scădere a potențialului antioxidant. Cu toate acestea, nivelul sanguin de hidrogenperoxid nu s-a schimbat, ceea ce indică faptul că prejudiciul oxidativ al componentei biologice a fost de foarte mică amploare. Aceste rezultate

contradictorii sunt interpretate în sensul că o anumită cantitate de ROS au fost generate, dar cele mai multe au fost rapid eliminate sau detoxificate de acțiunea antioxidantilor înainte de afectarea componentei biologice din jur. Acest lucru a dus la o scădere temporară a potențialului antioxidant.

Rezultatele noastre indică faptul că o creștere a stresului oxidativ la pacienți în timpul sigmoidectomiei este comuna. Cu toate acestea, toxicitatea oxidativa este tranzitorie și nu este atât de virulenta.

Este destul de interesant faptul că anestezia cu propofol nu numai ca menține capacitatea reductoare a fierului plasmatic, dar, de asemenea, a scăzut nivelul hidroxidului în timpul grupul P. Deoarece propofol este o moleculă mică amphipathică, se distribuie cu ușurință în medii diferite, și are o afinitate bună atât pentru ROS lipofile cat si hidrofile. Prin urmare, se poate elimina orice tip de ROS în fazele precoce, eventual înainte de a începe reacțiile de propagare. [1516]

Deși importanța de a controla intraoperator stresului oxidativ rămâne neclar, rezultatele actuale ar putea sa ne ajute pentru a dezvolta metode mai bune pentru a îmbunătăți ratele de recuperare post-operatorie.

DISCUTII

Am măsurat două variabile, prin care se poate evalua stresul oxidativ produs în cadrul actului anestezico-chirurgical: hidroxidul din sânge si capacitatea antioxidantă a plasmei, la pacientii supuși intervențiilor chirurgicale, de intensitate medie, cu scopul de a evidenția calitățile antioxidante a doua substante anestezice: sevofluran (din clasa inhalatorii) si propofolul (din clasa intravenoase).

Datele recente, din literatura de cercetare a stresului oxidativ, apreciază ca mecanismele moleculare ale inducerii stresului oxidativ de către actul chirurgical sunt în legătură cu activarea neutrofilelor si/sau disfuncția mitocondriilor, acestea fiind sursele majore de genarare a ROS in vivo..[17] Din punct de vedere hemodinamic,

intraoperator, se produc fenomene de ischemie/reperfuzie prin clamparea si declamparea vaselor de sânge. [18]

Anestezia cu sevofluran se asociază cu scaderea capacității antioxidante a plasmei, datorită scaderii potențialului antioxidant al acesteia, în timp ce nivelul hidroperoxizilor rămâne nemodificat, fapt care subliniază efectul minor al oxidării componentelor biologice. Această stare biochimică s-ar datora cantității de ROS, rapid degradați și/sau eliminați, detoxifierea fiind asigurată de către antioxidanții endogeni (mecanism compensator, imediat, de protecție). Propofolul pare a bloca, anticipat, contactul oxidant cu componentele biologice, de aceea toxicitatea oxidativă este imperceptibilă, fiind tranzitorie și fără alterarea componentelor celulare.

Creșterea concentrației ROS ca urmare a dezvoltării reacțiilor de propagare și reactivitate, determina deseori, un fenomen intens studiat, actualmente, anume: transformarea antioxidantului în oxidant și reversarea oxidanților în antioxidanți. Datorită acestui mecanism, luarea unei atitudini terapeutice de administrare a antioxidanților, este dificilă, având, în vedere, ideea de a “nu face rau” intensificând toxicitatea biologică, prin administrarea unui antioxidant, care va fi rapid transformat, în oxidant.

Dacă scăderea nivelului de hidroperoxizii odată cu administrarea propofolului în cadrul intervențiilor, chirurgicale, în care stresul chirurgical este minor, este evidentă, aceasta este greu de observat în cazul stresului chirurgical mare.

Evoluția capacității antioxidante a plasmei marchează o scădere discretă imediat după administrarea de propofol și o creștere către finalul intervenției chirurgicale, comparativ cu nivelul său la T0. (preanestezic).

Modificările valorilor sesizate, la nivel plasmatic (a capacității antioxidante) nu au fost semnificative sub aspect statistic, dar le-am consemnat, pentru a fi reluate în eventuale studii, viitoare.

Ca antioxidant, propofolul ni s-a parut a fi superior sevofluranului (anestezicul inhalator).

Valorile MDA având semnificația degradării membranelor celulare, prin lipoperoxidare sub acțiunea sarcinilor oxidative, au subliniat rolul celor două substanțe anestezice, în parte, referitor la influențarea balanței redox, astfel, în cazul: propofolului atacul

oxidativ, la 30 minute după reperfuzie nu se modifică, spre deosebire de sevofluran, în prezența căruia creșterea nivelului MDA, este dovada lipsei de blocare a atacului oxidativ.

Rezultatele obținute de diferiți autori sunt contradictorii, de aceea studiul clinic al homeostaziei redox este extrem de important, impunându-se aprofundarea cercetării la nivel intracelular, pentru a se rezolva problema raportului interior (endogen)-exterior (exogen) și realizarea proporțiilor optime de oxidanți –antioxidanți, în terapia cu antioxidanți.

Numeroase studii consideră că sevofluranul și alte anestezice halogenate au efecte protective asupra miocardului. În prezent sevofluranul este considerat ca fiind una dintre substanțele anestezice, valoroase în inducerea preconditionării miocardului, căruia îi induce creșterea rezistenței, la condițiile de hipoxie.

Comparativ cu sevofluranul, propofolul nu are efect de protector pentru miocard, dar este un bun apărător împotriva producerii ROS, în cadrul procesului de ischemie-reperfuzie, periferică.

III. Concluzii Finale

1. În anestezia cu propofol tabloul biochimic al balanței redox sugerează intervenția unui mecanism de acțiune rapid și prompt a antioxidanților endogeni, odată cu incizia chirurgicală.
2. Propofolul difuzează în sectoarele hidrice ale organismului, exercitând acțiunea de scavenger, după atragerea ROS lipofili și hidrofili și participă la eliminarea lor, în fazele precoce ale intervenției chirurgicale, blocând reacțiile de propagare ale efectului oxidant.
3. Corectarea preventivă a tendințelor de instalare a stresului oxidativ, pare a fi asigurată în anestezia cu propofol administrat, chiar la începerea intervenției.

4. Aplicarea metodelor de control ale stresului oxidativ din momentul inceperii intervenției chirurgicale, ar putea contribui, la menținerea homeostaziei, prin desfășurarea eficientă a respirației mitocondriale.
5. Metodele curente de investigație a relației redox intra/extracelular, sunt puține și folosite doar în scopul cercetării, totuși doi parametri; dozarea ROS și capacitatea antioxidantă a plasmei sunt parametri orientativi, ușor de explorat, interpretat și folosit.
6. Analiza statistică a rezultatelor obținute, au relevat că unele sunt la limita semnificației statistice, iar altele nu au avut caracter semnificativ, astfel modificările sesizate pot fi considerate ca observații sau constatări ce ar putea fi studiate, în detaliu, în viitor.
7. Studiul stresului oxidativ rămâne un obiectiv esențial al cercetării, care necesită cunoașterea până la nivel de gene, a elementelor, implicate în reglarea-dereglarea balanței redox și exprimarea ei cu ajutorul parametrilor biochimici și clinici.
8. Încercarea noastră de a studia o infimă parte din desfășurarea raportului oxidant/capacitate antioxidantă a plasmei, a folosit rezultatele cercetărilor actuale, despre ROS, pe care le-am aplicat în practica anestezico-chirurgicală.
9. Factor fundamental pentru vindecarea plăgilor chirurgicale este menținerea raportului oxidant/antioxidanți, la un nivel, corespunzător respirației celulare. și nu administrarea, oricând a antioxidantilor.
10. Promovarea agresivă a administrării antioxidantilor în legătură cu alimentația sănătoasă sau vindecarea oricărei boli, nu poate fi negată de către studiile științifice, dar oferă rezultate contradictorii.
11. Dacă rezultatele noastre sunt puțin convingătoare, curajul de a încerca transferul cunoștințelor teoretice actuale, în practica anestezico-chirurgicală și popularizarea rezultatelor obținute poate fi utilă și utilizabilă, indemnând la verificări.
12. În cazurile, în care este posibilă efectuarea determinărilor biochimice propuse, de către noi, aplicarea lor, ar putea servi la selectarea unei terapii adecvate, în funcție de subiect, patologie.

13. Propofolul influențează favorabil unii parametri ai statusului oxidativ, dar influența lui, asupra evoluției globale postoperatorii, necesită studii mai amănunțite și pe loturi mult mai mari.

IV. Bibliografie Selectiva

[1] Waldron EE. Scientist or humanist: Two views of the military surgeon in literature. *J Medical Humanities*. 1985 Sep;6(2):64–73.

[2] DeWeese TL, Hruszkewycz AM, Marnett LJ. Oxidative stress in chemoprevention trials; *Urology*. 2001 Apr;57(4 Suppl 1):137-40.

[3] Vrăbete M. E. Reacții nespecifice ale sistemului biologic uman la stresori și traumă. Elemente de patofiziologie sistematică pentru medici rezidenți cu specializarea Chirurgie plastică. Ed. SITECH Craiova.

[4] Straub RH, Song IH, Gold R, , Burmester GR, Buttgereit F. New glucocorticoids on the horizon: repress, don't activate!; *J Rheumatol*. 2005 Jul;32(7):1199-1207. Review.

[5] Michalik L, Auwerx J, Berger JP, Chatterjee VK, Glass CK, Gonzalez FJ, Grimaldi PA, Kadowaki T, Lazar MA, O'Rahilly S, Palmer CN, Plutzky J, Reddy JK, Spiegelman BM, Staels B, Wahli W: International Union of Pharmacology. LXI. Peroxisome proliferator-activated receptors. *Pharmacol Rev*. 2006 Dec;58(4):726-41. Review.

[6] Potts MB, Koh SE, Whetstone WD, Walker BA, Yoneyama T, Claus CP, Manvelyan HM, Noble-Haeusslein LJ: Traumatic injury to the immature brain:

inflammation, oxidative injury, and iron-mediated damage as potential therapeutic targets; *NeuroRx*. 2006 Apr;3(2):143-53. Review.

[7] Ceriello A.: Oxidative stress and diabetes-associated complications; *Endocr Pract*. 2006 Jan-Feb;12 Suppl 1:60-2. Review.

[8] De la Fuente M, Hernanz A, Vallejo MC: The immune system in the oxidative stress conditions of aging and hypertension: favorable effects of antioxidants and physical exercise; *Antioxid Redox Signal*. 2005 Sep-Oct;7(9-10):1356-66. Review.

[9] Stark G: Functional consequences of oxidative membrane damage; *J Membr Biol*. 2005 May;205(1):1-16. Review.

[10] Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, Zhou H, Ross L, Croll SD, Glazer N, Holash J, McDonald DM, Yancopoulos GD.: Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage; *Nat Med*. 2000 Apr;6(4):460-3.

[11] Miyake M1, Miki M, Yasuda H, Ogihara T, Mino M. Vitamin E and the peroxidizability of erythrocyte membranes in neonates *Free Radic Res Commun*. 1991;15(1):41-50.

[12] Concannon M. J., Kester C. G., Welsh C. F., Puckett C. L., Patterns of free radical production after tourniquet ischemia, implications for the hand surgeon, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 89, 846-52, 1992.

[13] Aldemir O., Celebi H., Cevik C., Duzgun E., The effects of propofol or halothane on free radical production after tourniquet induced ischaemia-reperfusion injury during knee arthroplasty, *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 45, 1221-5, 2001.

[14] Mathy-Hartert M, Deby-Dupont G, Hans P, Deby C, Lamy M. Protective activity of propofol, Diprivan and intralipid against active oxygen species. *Mediators Inflamm* 1998; 7(5): 327–33.

[15] Tsuchiya M, Asada A, Maeda K, Ueda Y, Sato EF, Shindo M, Inoue M. Propofol versus midazolam regarding their antioxidant activities. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Jan;163(1):26-31.

[16] Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, et al. Antioxidant protection of propofol and its recycling in erythrocyte membranes. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:54–60

[17] Kira Y, Inoue M1, Sato EF, Nishikawa M, Park AM, Imada I, Utsumi K. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Curr Med Chem*. 2003 Dec;10(23):2495-505.

[18] Yilmaz S, Ates E, Polat C, Koken T, Tokyol C, Akbulut G, Gokce O. Ischemic preconditioning decreases laparoscopy-induced oxidative stress in small intestine. *Hepatogastroenterology*. 2003 Jul-Aug;50(52):979-82