



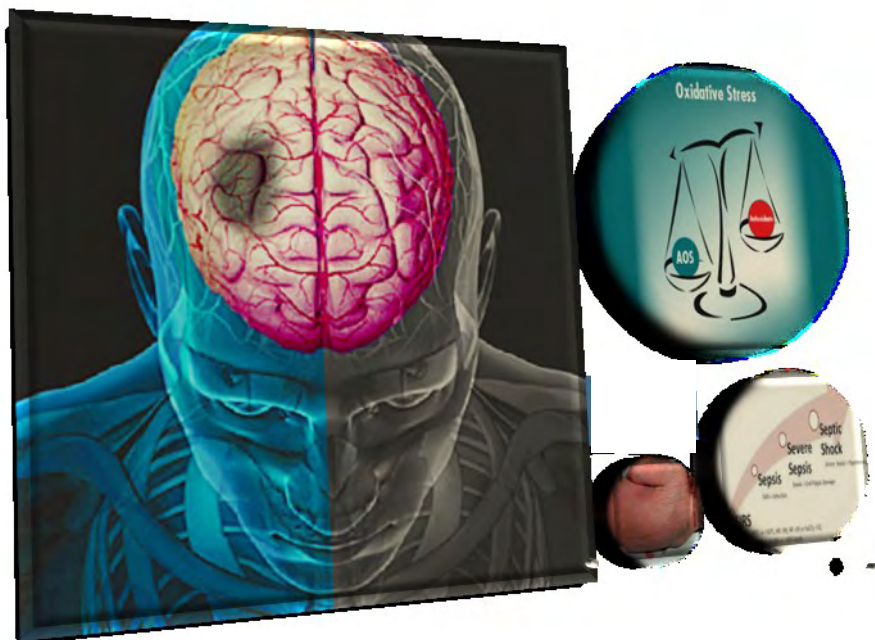
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ ΣΤΙΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ-
ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ-ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ**

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ
ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ**

ΚΟΥΚΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ



ΛΑΡΙΣΑ 2016

Προσδιορισμός δεικτών οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με εγκεφαλική βλάβη και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση.

Assessment of oxidative stress levels in patients with brain damage and systemic inflammatory response.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Στάγκος (επιβλέπων) : Λέκτορας Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Δημήτριος Κουρέτας : Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών - Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ζακυνθινός Επαμεινώνδας: Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Τομέας Παθολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτριο Στάγκο, Λέκτορα του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας για την ανάθεση της διπλωματικής μου εργασίας, όπου ασχολήθηκα με ένα ενδιαφέρον θέμα που μου προσέφερε νέες και πολύτιμες γνώσεις και για όλη την βοήθεια που μου προσέφερε κατά την διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας.

Θα ήθελα επίσης, να ευχαριστήσω τον κ. Δημήτριο Κουρέτα, Καθηγητή Φυσιολογίας Ζωικών οργανισμών και Τοξικολογίας του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, που μου έδωσε μια θέση στο εργαστήριο του.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου για το ιδιαίτερα φιλικό και συνεργατικό κλίμα που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο και ιδιαίτερα τον υποψήφιο διδάκτορα Νίκο Γκουτζουρέλα για τη πολύτιμη βοήθειά του.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα

Προσδιορισμός δεικτών οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με εγκεφαλική βλάβη και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση.....	2
ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	3
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ.....	7
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	8
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
ABSTRACT	10
1.Εισαγωγή.....	11
1.1.1 Ιστορική αναδρομή για τον όρο σήψη	11
1.1.2 Ο όρος σήψη	12
1.1.3 Παθοφυσιολογία.....	14
1.1.3.1 Παθοφυσιολογία έκλυσης φλεγμονώδους αντίδρασης	15
1.1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ασθένεια	25
1.1.4.1 Η Ηλικία.....	25
1.1.4.2 Το φύλο.....	26
1.1.4.3 Συνυπάρχουσες Παθήσεις.....	26
1.1.5 Διακυμάνσεις της θνησιμότητας και των διαφόρων τύπων σήψης	27
.....	27
.....	27
1.1.6 Θεραπεία.....	28
1.2 Οξειδωτικό Στρες.....	29
1.2.1 Ορισμός.....	29
1.2.2 Ιστορική αναδρομή.....	29
1.2.3 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου	30
1.2.4 Πώς παράγονται οι ελεύθερες ρίζες	32
1.2.5 Επιπτώσεις	33
1.2.6 Ασθένειες που σχετίζονται με ελεύθερες ρίζες	37
1.2.7 Αντιοξειδωτικά.....	37

1.3 Εγκεφαλική βλάβη	39
1.3.1 Τι μπορεί να προκαλέσει εγκεφαλικές βλάβες.....	39
1.3.2. Αντίδραση του σώματος στην εγκεφαλική βλάβη	40
1.4 Εγκεφαλικό επεισόδιο	41
1.4.1 Ορισμός.....	41
1.4.2 Τύποι εγκεφαλικού επεισοδίου	41
1.4.3 Αίτια	42
1.4.4 Συμπτώματα	44
1.4.5 Διάγνωση	45
1.4.6 Θεραπεία	45
1.5 Επιδημιολογία.....	45
1.6 Ιστορική αναδρομή	47
1.7 Συσχετισμός Συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης και εγκεφαλικού επεισοδίου	48
1.8 Το σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS) προβλέπει τη σοβαρότητα και την έκβαση του εγκεφαλικού επεισοδίου.	51
2. ΣΚΟΠΟΣ.....	55
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	56
3.1 Πρωτόκολλα δεικτών οξειδωτικού στρες.....	56
3.1.1 Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) στο πλάσμα.....	56
3.1.2 ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ (PC)	59
3.1.3 Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC) του πλάσματος	62
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	65
4.1.1 Επίπεδα TAC σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.....	65
4.1.1. Επίπεδα TAC σε φυσιολογικούς ασθενείς και σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.....	66
4.2.1 Επίπεδα TBARS σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.	66
4.2.2 Επίπεδα TBARS φυσιολογικών σε σύγκριση με ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.....	67
4.3.1 Επίπεδα Καρβονυλίων σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη..	68
4.3.2 Επίπεδα καρβονυλίων σε φυσιολογικά άτομα και ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.....	68
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	70
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	75

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1 ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΣΗΨΗ.....	13
ΕΙΚΟΝΑ 2 Η ΣΟΒΑΡΗ ΣΗΨΗ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΟΡΓΑΝΩΝ	14
ΕΙΚΟΝΑ 3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΑΙΜΟΣΤΑΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΠΑΝΤΗΣΗΣ.	16
ΕΙΚΟΝΑ 4 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΜΑΚΡΟΦΑΦΩΝ/ΜΟΚΥΤΤΛΑΡΩΝ ΚΑΙ ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΩΝ.....	17
ΕΙΚΟΝΑ 5 ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΡΡΑΚΤΟΕΙΔΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ. ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗ. (1)	17
ΕΙΚΟΝΑ 6 ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΡΡΑΚΤΟΕΙΔΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ. ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗ. (2)	18
ΕΙΚΟΝΑ 7 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ.	19
ΕΙΚΟΝΑ 8 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΟΔΟΥ NF-κΒ.	20
ΕΙΚΟΝΑ 9 ΔΡΑΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΑΚΡΟΦΑΓΩΝ.	21
ΕΙΚΟΝΑ 10 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ.	22
ΕΙΚΟΝΑ 11 ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ.	24
ΕΙΚΟΝΑ 12 ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ.	24
ΕΙΚΟΝΑ 13 Η ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ ΟΦΕΙΛΕΤΑΙ ΣΤΟ ΑΣΥΖΕΥΚΤΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΟ ΤΗΣ ΕΞΩΤΕΡΙΚΗΣ ΣΤΙΒΑΔΑΣ	31
ΕΙΚΟΝΑ 14 ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΕΛΥΘΕΡΗΣ ΡΙΖΑΣ.	31
ΕΙΚΟΝΑ 15 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....	32
ΕΙΚΟΝΑ 16 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	33
ΕΙΚΟΝΑ 17 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	34
ΕΙΚΟΝΑ 18 ΣΤΟΧΟΙ ROS,	35
ΕΙΚΟΝΑ 19 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.	36
ΕΙΚΟΝΑ 20 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	37
ΕΙΚΟΝΑ 21 ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ	38
ΕΙΚΟΝΑ 22 ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ ΚΑΙ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ.	42
ΕΙΚΟΝΑ 23 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ.	44
ΕΙΚΟΝΑ 24 Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ SIRS ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΤΙΓΜΗ ΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΒΛΕΠΕΙ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΚΒΑΣΗ 3-ΜΗΝΩΝ. (Α) 49 ΧΡΟΝΩΝ ΓΥΝΑΙΚΑ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΚΕΛΥΦΟΣ. ΕΙΧΕ ΟΛΑ ΤΑ 4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ SIRS ΚΑΙ ΣΟΒΑΡΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ. ΠΕΘΑΝΕ ΤΗΝ ΤΡΙΤΗ ΗΜΕΡΑ ΤΗΣ ΝΟΣΗΛΕΙΑΣ. (Β) 55 ΧΡΟΝΩΝ ΑΝΤΡΑΣ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΚΕΛΥΦΟΣ. ΜΕ 3 ΑΠΟ ΤΑ 3 ΚΡΙΤΗΡΙΑ SIRS ΕΠΕΖΗΣΕ ΑΛΛΑ ΕΙΧΕ ΜΙΑ ΚΑΚΗ ΕΚΒΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ. (Γ) 44 ΧΡΟΝΩΝ ΑΝΤΡΑΣ ΜΕ ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΣΤΟ ΔΕΞΙ ΚΕΛΥΦΟΣ. ΧΩΡΙΣ SIRS ΚΑΙ ΗΠΙΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ. ΕΙΧΕ ΚΑΛΗ ΕΚΒΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ.....	54
ΕΙΚΟΝΑ 25 Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ SIRS ΚΑΤΑ ΤΗ ΣΤΙΓΜΗ ΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΒΛΕΠΕΙ ΤΗ ΣΟΒΑΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΙΣΧΑΙΜΙΚΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ 3-ΜΗΝΩΝ ΕΚΒΑΣΗ (Α) 50 ΧΡΟΝΩΝ ΑΝΤΡΑΣ ΜΕ ΠΛΗΡΕΣ ΔΕΞΙ ΕΜΦΡΑΚΤΟ ΤΗΣ ΜΕΣΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑ, ΜΕ SIRS (3 ΑΠΟ 4 ΚΡΙΤΗΡΙΑ) ΚΑΙ ΣΟΒΑΡΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ. ΈΛΑΒΕ ΕΞΙΤΗΡΙΟ ΤΗΝ 25Η ΗΜΕΡΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΕΙΧΕ ΚΑΚΗ ΕΚΒΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ. (Β) 85 ΧΡΟΝΩΝ ΑΝΤΡΑΣ, ΜΕ ΕΜΦΡΑΚΤΟ ΣΤΗΣ ΔΕΞΙΑΣ ΟΠΙΣΘΙΑΣ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ ΑΡΤΗΡΙΑΣ, ΧΩΡΙΣ SIRS ΚΑΙ ΗΠΙΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ. ΈΛΑΒΕ ΕΞΙΤΗΡΙΟ ΤΗΝ ΤΕΤΑΡΤΗ ΗΜΕΡΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΙΣΑΓΩΓΗ. ΕΙΧΕ ΚΑΛΗ ΕΚΒΑΣΗ ΣΤΟΥΣ 3 ΜΗΝΕΣ.....	54

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1 Η ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΣΗΨΗΣ ΕΠΗΡΕΑΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥ ΑΣΘΕΝΗ.	26
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2 ΘΑΝΑΤΟΙ ΛΟΓΟ ΣΗΨΗΣ ΣΤΙΣ ΗΠΙΑ. ΕΥΓΕΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΙΑ ΤΟΥ ANGUS ET AL. CCM 2001 ...	27
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3 ΠΟΣΟΣΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΓΙΑ ΚΑΘΕ ΑΣΘΕΝΕΙΑ. ΕΥΓΕΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΙΑ MORENO ET AL. INT CARE MED 2008	27

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4 ΠΟΣΟΣΤΑ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ. ΕΥΓΕΝΙΚΗ ΧΟΡΗΓΙΑ MORENO ET AL. INT CARE MED 2008; KUMAR ET AL. CRIT CARE MED 2006	28
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5 ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΑC ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ.....	65
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΑC ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ.	66
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 7 ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΒΑRS ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ..	66
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 8 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΙΜΩΝ ΤΒΑRS ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ.	67
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 9 ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ.	68
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 10 ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΑΤΟΜΑ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS ΚΑΙ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΒΛΑΒΗ.	68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΡΑΔΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ SIRS, ΚΑΤΑ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ.	52
ΠΙΝΑΚΑΣ 2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΘΕΤΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑ SIRS.	52
ΠΙΝΑΚΑΣ 3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ SIRS ΚΑΙ ΕΚΒΑΣΗΣ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.	53
ΠΙΝΑΚΑΣ 4 ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΤΗΣ ΥΠΑΡΞΗΣ ΠΟΛΛΑΠΛΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΚΑΚΗΣ ΕΚΒΑΣΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΑΡΙΘΜΟ ΤΩΝ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ SIRS.	53
ΠΙΝΑΚΑΣ 5 ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΑC ± SEM	65

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ως **Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης (SIRS)** ορίζεται η αντίδραση του οργανισμού σε διάφορους λοιμώδεις παράγοντες, αλλά και μη λοιμώδεις όπως για παράδειγμα κάποιο τραύμα, έγκαυμα ή και παγκρεατίτιδα. Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο ή περισσότερων από τα εξής κριτήρια: Θερμοκρασία σώματος $> 38^{\circ} \text{C}$ ή $< 36^{\circ} \text{C}$, Καρδιακή Συχνότητα (ΚΣ) > 90 σφύξεις/min, Αναπνευστική συχνότητα : αναπνοές $> 20/\text{min}$, Λευκά αιμοσφαίρια > 12000 ή $< 4000/\text{mm}^3$ ή 10% άωρες μορφές. Ενώ ως **Σήψη (sepsis)** ορίζεται η ταυτόχρονη παρουσία λοίμωξης και SIRS (τουλάχιστον 2 κριτήρια SIRS).

Το **εγκεφαλικό επεισόδιο**, επίσης γνωστό και ως εγκεφαλικό αγγειακό επεισόδιο (CVA), αγγειοεγκεφαλική προσβολή (CVI), ή επίθεση του εγκεφάλου, είναι η βλάβη που προκαλείται όταν η παροχή του αίματος σε μία περιοχή του εγκεφάλου σταματήσει, οπότε τα κύτταρα που δεν παίρνουν οξυγόνο πεθαίνουν.

Το **οξειδωτικό στρες** αντιπροσωπεύει μια διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αδρανοποιεί τα τοξικά αυτά μόρια και να επισκευάζει τις βλάβες που προκαλούν.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να καταδείξει πώς το οξειδωτικό στρες μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου σε ασθενείς με εγκεφαλική βλάβη και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση, οι οποίοι βρίσκονται στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε καθημερινή αιμοληψία σε 23 ασθενείς, με συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και μετρήθηκαν η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (**TAC**), η υπεροξειδωση των λιπιδίων (**TBARS**) και η οξείδωση των πρωτεϊνών (**PROTEIN CARBONYLS**). Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων TAC την 3^η (κατά 13,17%), την 6^η (κατά 11,65%) και την 10^η (κατά 14,15%) ημέρα στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), ενώ την 30^η τα επίπεδα επανήλθαν στα αρχικά,. Στους υπόλοιπους δείκτες δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

ABSTRACT

As Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) is defined the body's response to various infectious agents, and non-infectious such as trauma, burn or pancreatitis. The aforementioned, is characterized by the presence of two or more of the following criteria: body temperature > 38 ° C or <36th C, Heart rate (HR) > 90 beats / min, Respiratory rate: breathing > 20 / min, White Blood Cells > 12000 or <4000 / mm³ or 10% pupae. On the other hand, sepsis is defined by the simultaneous presence of infection and SIRS (SIRS criteria at least 2).

In addition, a stroke, also known in the literature as cerebral vascular incident (CVA), cerebrovascular insult (CVI), or brain attack, is considered the damage caused when blood supply to a region of the brain is stopped, leading therefore to cells' death due to insufficient oxygenation.

Finally, as Oxidative stress is defined the imbalance between the production of ROS (Reactive Oxygen Species, ROS) and the capacity of a biological system to inactivate such toxic molecules and to repair the damage caused.

The purpose of the present study was to examine how oxidative stress levels vary in patients with brain damage and systemic inflammatory response in relation to time. For this purpose blood sampling was performed daily in 23 patients with systemic inflammatory response and three oxidative stress markers in plasma were determined; total antioxidant capacity of the plasma (TAC), lipid peroxidation (TBARS) and protein peroxidation (PROTEIN CARBONYLS). The results exhibited a statistically significant reduction of TAC levels in the 3rd (by 13.17%), 6th (by 11.65%) 10th (at 14.15%) day compared with the first day in ICU, while in the 30th day levels returned to baseline. On the contrary, none of the other two markers displayed a significant change in any time point after hospitalization.

1.Εισαγωγή

1.1.1 Ιστορική αναδρομή για τον όρο σήψη

Ο όρος σήψη προέρχεται από τον ιατρό Ιπποκράτη, ο οποίος ήταν πιθανώς ο πρώτος που κλήθηκε να περιγράψει το φαινόμενο του σηπτικού σοκ («παρουσία υψηλού πυρετού, αν το εξωτερικό μέρος είναι κρύο ωστόσο το εσωτερικό μέρος έχει αυξημένη θερμοκρασία, τότε είναι επικίνδυνο»). Ο φιλόσοφος Niccolò Machiavelli (1469-1527) περιέγραψε την δυσκολία στην διάγνωση και την θεραπεία της σήψης ως εξής: «όπως οι γιατροί λένε ότι συμβαίνει σε καταστάσεις έντονου πυρετού, ότι στην αρχή της ασθένειας είναι εύκολο να θεραπευτεί αλλά δύσκολο να διαγνωσθεί, ωστόσο με την πάροδο του χρόνου το γεγονός ότι δεν έγινε η διάγνωση και η θεραπεία στα αρχικά στάδια της σήψης έχει ως αποτέλεσμα να γίνεται η εύκολη διάγνωση της ασθένειας αλλά να είναι δύσκολη η θεραπεία». Το 1546, ο Ιταλός γιατρός Girolamo Fracastoro διατύπωσε την έννοια της μετάδοσης τονίζοντας ότι οι επιδημικές ασθένειες μεταδίδονται από άμεση ή έμμεση επαφή και εξ αποστάσεως μέσω του αέρα και ότι πιθανώς οι υπαίτιοι παράγοντες είναι ορατά σπόρια ή μικρόβια (Spink WW. 1978). Όταν εδραιώθηκε η χρήση μικροσκοπίων το 1683, ο Anthony van Leeuwenhoek ήταν ο πρώτος που δημοσίευσε απεικονίσεις βακτηρίων από δείγμα ανθρώπινων δοντιών. Το 1847, ο Ούγγρος ιατρός Ignaz Semmelweis, μετά την παρατήρηση αυξανόμενου επιλόχειου πυρετού σε εγκυμονούσες, καθιέρωσε την χρήση αντισηπτικού πριν την εξέταση των ασθενών. Το πλύσιμο των χεριών με ένα διάλυμα ασβεστίου μείωσε την θνησιμότητα των ασθενών με επιλόχειο πυρετό από 18% σε 3%. Αυτό το γεγονός πιθανόν αποτέλεσε την πρώτη κλινική δοκιμή σε μολυσματικές ασθένειες. Στο δεύτερο μισό του 19^{ου} αιώνα, η θεωρία περί μικροβίων επιβεβαιώθηκε από τους Robert Koch και Louis Pasteur και το 1879 ο Louis Pasteur ανακοίνωσε στην Γαλλική Ακαδημία ότι ο στρεπτόκοκκος προκαλεί επιλόχεια σηψαιμία. Επίσης, πρότεινε τρόπους για να αποτρέψει την είσοδο μικροοργανισμών στο ανθρώπινο σώμα, προτρέποντας έτσι τον Joseph Lister να αναπτύξει και να καθιερώσει αντισηπτικές μεθόδους σε χειρουργικές επεμβάσεις.

Τον προηγούμενο αιώνα γνωστοποιήθηκε ότι ο «Μαύρος Θάνατος», μία από τις πιο καταστροφικές πανδημίες στην ανθρώπινη ιστορία, προκλήθηκε από σηψαιμία εξαιτίας του βακτηρίου *Yersinia pestis* (το οποίο είναι υπεύθυνο για την ασθένεια πανώλη (Drancourt M et al.1998)). Το 1909, ο L. Jacob δημοσίευσε τις πρώτες 12 δημοσιεύσεις ασθενών με σήψη, που είχε προκληθεί από Gram αρνητικά βακτήρια *Escherichia Coli*, από τους οποίους το 50% είχε πεθάνει. Το 1914, ο Hugo Schottmuller έδωσε τον πρώτο επιστημονικό ορισμό της σήψης: «Η σήψη είναι μία κατάσταση που προκαλείται από την είσοδο μικροβίων από μία τοπική πηγή φλεγμονής στην κυκλοφορία του αίματος το οποίο οδηγεί σε διαδοχική μόλυνση σε απομακρυσμένα όργανα» (Schottmueller H. 1914). Ωστόσο, λιγότεροι από το ήμισυ των ασθενών που έχουν συμπτώματα σήψης έχουν θετικές καλλιέργειες αίματος ή άλλες υποδείξεις μικροβιακής λοίμωξης. Ο William Osler (1849-1919) ήταν ο πρώτος που αναγνώρισε τον σημαντικό ρόλο της απάντησης του ξενιστή στην σήψη: «Εξαιρουμένων μερικών

περιπτώσεων, οι ασθενείς πεθαίνουν λόγω της απάντησης του οργανισμού τους στην μόλυνση και όχι εξαιτίας της μόλυνσης”. Αυτή η αντίληψη ήταν ορόσημο για την κατανόηση του ρόλου της ανοσοαπάντησης του ξενιστή σε μία λοίμωξη (Konrad Reinhart et al. , 2012).

1.1.2 Ο όρος σήψη

Η σήψη ορίζεται ως συστηματική φλεγμονώδης απάντηση του οργανισμού που λαμβάνει μέρος κατά την διάρκεια σοβαρής λοίμωξης. Μπορεί να εξαπλωθεί σταδιακά στο σώμα και να οδηγήσει σε οργανική ανεπάρκεια και σε θάνατο αν δεν γίνει έγκαιρη διάγνωση και δεν χορηγηθεί θεραπεία (Lee P. Skrupky et al., 2011). Είναι μια από τις πιο συνήθεις αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στους ασθενείς που νοσηλεύονται στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Η σήψη είναι το συχνότερο νόσημα, πιο συχνή από τα εγκεφαλικά, τους καρκίνους, τις καρδιοπάθειες και το AIDS.

Η σήψη είναι η πιο κοινή αιτία πολλαπλής οργανικής ανεπάρκειας. Είναι ένα σύνδρομο που προέκυψε μέσα από τις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ), οι οποίες παρείχαν υπηρεσίες απαραίτητες για την ανθρώπινη ζωή, όπως υποστήριξη ζωτικών οργάνων, μηχανική υποστήριξη καθώς και αναπνευστική υποστήριξη. Πριν την εγκαθίδρυση των ΜΕΘ, το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών με οξεία σήψη και σηπτικό σοκ πέθαναν σε μικρό χρονικό διάστημα λόγω των ανεπανόρθωτων ζημιών που προκαλούσε το σοκ στον οργανισμό τους και στα ζωτικά τους όργανα. Το 1975, ένα άρθρο από τον A. Baue, με τίτλο *Multiple, Progressive or Sequential Systems Failure, a Syndrome of the 1970s*, περιγράφει ένα σύνδρομο κλινικής φύσεως το οποίο δεν ήταν μέχρι τότε γνωστό. Χρησιμοποιήθηκαν διάφοροι όροι για να περιγραφούν οι συνέπειες αυτού του εξελισσόμενου κλινικού συνδρόμου που οδηγούσαν στην αδικαιολόγητη ανεπάρκεια ανεξάρτητων οργανικών συστημάτων. Πρόσφατα, εδραιώθηκε η χρήση του όρου σύνδρομο πολλαπλής οργανικής ανεπάρκειας (multiple-organ dysfunction syndrome, MODS) (Marshall JC., 2000).

Το 1989, ο R.C Bone et al., οδηγούμενος από την ανάγκη να προσδιορίσει τον πληθυσμό των πραγματικών σηπτικών ασθενών έτσι ώστε να αξιολογηθεί ο ρόλος των κορτικοστεροειδών ως φαρμάκου (Bone RC et al., 1989) πρότεινε τον όρο **σηπτικό σοκ** για ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση με κλινικές και εργαστηριακές ενδείξεις σοβαρής λοίμωξης, ανεξάρτητα από τα αποτελέσματα καλλιέργειας αίματος και τις μικροβιακές ενδείξεις μόλυνσης. Ο όρος **σηπτικό σύνδρομο** ήταν έγκυρος όταν η συστηματική φλεγμονή ακολουθούνταν από τουλάχιστον 2 από τα εξής συμπτώματα:

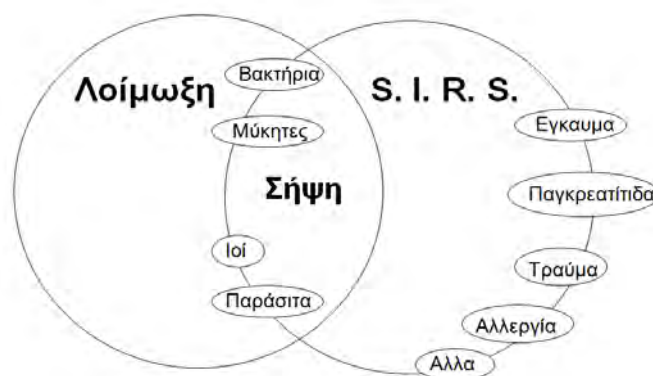
- υψηλό καρδιακό ρυθμό
- υψηλό ρυθμό αναπνοής
- χαμηλά επίπεδα αρτηριακής πίεσης
- έντονος πυρετός ή υποθερμία
- λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία.

Με βάση αυτά τα κριτήρια ορίστηκε αργότερα ο όρος «**σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους απάντησης**» (**systemic inflammatory response syndrome, SIRS**). Ο R.C Bone et al., απέδειξε ότι ο κλινικός φαινότυπος και τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν παρόμοια σε ομάδες ασθενών με αποδεδειγμένη μικροβιακή λοίμωξη και θετικές καλλιέργειες αίματος, καθώς και σε ομάδες ασθενών με κλινική υποψία παρουσίας σήψης ή σηπτικής λοίμωξης (Bone RC et al., 1992).

Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης (SIRS) : πρόκειται για την αντίδραση του οργανισμού σε διάφορους λοιμώδεις παράγοντες, αλλά και μη λοιμώδεις όπως για παράδειγμα κάποιο τραύμα, έγκαυμα ή και παγκρεατίτιδα. Το σύνδρομο αυτό χαρακτηρίζεται από την παρουσία δύο (2) ή περισσότερων από τα εξής κριτήρια (Kendra N et al., 2013) :

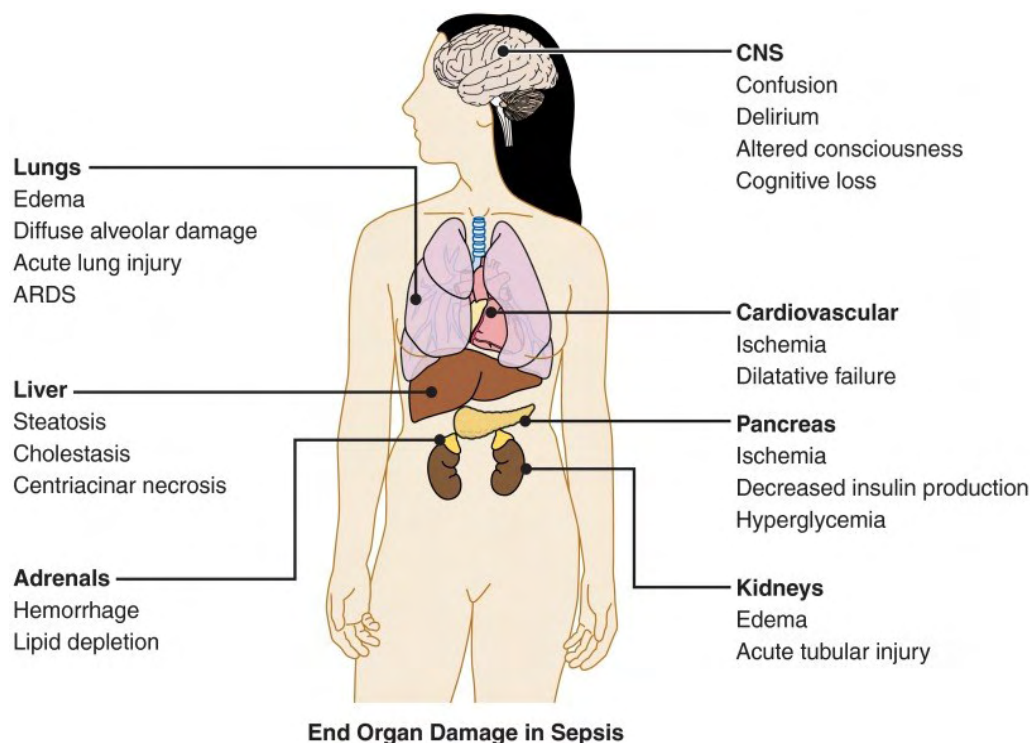
- Θερμοκρασία σώματος $> 38^{\circ} \text{C}$ ή $< 36^{\circ} \text{C}$
- Καρδιακή Συχνότητα (ΚΣ) > 90 σφύξεις/min
- Αναπνευστική συχνότητα : αναπνοές > 20 /min
- Λευκά αιμοσφαίρια > 12000 ή $< 4000/\text{mm}^3$ ή 10% άωρες μορφές

Σήψη (sepsis) ορίζεται η ταυτόχρονη παρουσία λοίμωξης και SIRS (τουλάχιστον 2 κριτήρια SIRS).



Εικόνα 1 Σχηματική απεικόνιση του όρου σήψη

Σοβαρή Σήψη (severe sepsis) ορίζεται η σήψη, που συνοδεύεται από δυσλειτουργία οργάνων, αρτηριακή υπόταση ή ιστική υποάρδευση. Κατά συνέπεια μπορεί να συνυπάρχουν διαταραχές του επιπέδου συνείδησης, γαλακτική οξέωση ή και ολιγουρία. Στην εικόνα που ακολουθεί τονίζονται οι επιπτώσεις της σοβαρής σήψης σε διάφορα οργανικά συστήματα (Kendra N. et al., 2013).



Εικόνα 2 Η σοβαρή σήψη προκαλεί δυσλειτουργία οργάνων

Σηπτικό σοκ (septic shock) ορίζεται η σοβαρή σήψη η οποία συνοδεύεται από αρτηριακή υπόταση ή από αναγκαία χορήγηση αγγειοσυσπαστικών φαρμάκων, παρά την επαρκή χορήγηση υγρών (Andrew Lever and Iain Mackenzie, 2007).

1.1.3 Παθοφυσιολογία

Η σήψη προκαλεί σημαντικές μεταβολές στο καρδιαγγειακό σύστημα με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ιστικής υποάρδευσης. Η ιστική υποάρδευση εάν δεν αντιμετωπιστεί κατάλληλα οδηγεί στην ανάπτυξη πολυοργανικής ανεπάρκειας και τελικά στο θάνατο. Οι κύριες καρδιαγγειακές μεταβολές, που παρατηρούνται στη σήψη, είναι η υποογκαιμία (εξαιτίας της αγγειοδιαστολής και της αυξημένης τριχοειδικής διαπερατότητας, που οδηγεί στην απώλεια υγρών στον τρίτο χώρο) και η καταστολή του μυοκαρδίου (σηπτική μυοκαρδιοπάθεια). Επιπρόσθετα, ιστική υποάρδευση είναι δυνατόν να υπάρχει ακόμα και όταν διατηρείται ικανοποιητική αρτηριακή πίεση (ΑΠ) και καρδιακή παροχή (ΚΠ), πιθανά λόγω διαταραχών στην κατανομή του αίματος σε επίπεδο περιοχικής κυκλοφορίας και σε διαταραχές της μικροκυκλοφορίας. Είναι φανερό ότι κύριος θεραπευτικός στόχος στην αντιμετώπιση

των ασθενών με σοβαρή σήψη και σηπτικό shock είναι η άρση της ιστικής υποάρδευσης. Η έγκαιρη και επιθετική αιμοδυναμική παρέμβαση έχει μεγάλη σημασία, καθώς είναι δυνατόν να περιορίσει τις βλάβες από την ιστική υποάρδευση και να τροποποιήσει τη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση (Jones A.E. and Puskarich M.A., 2009).

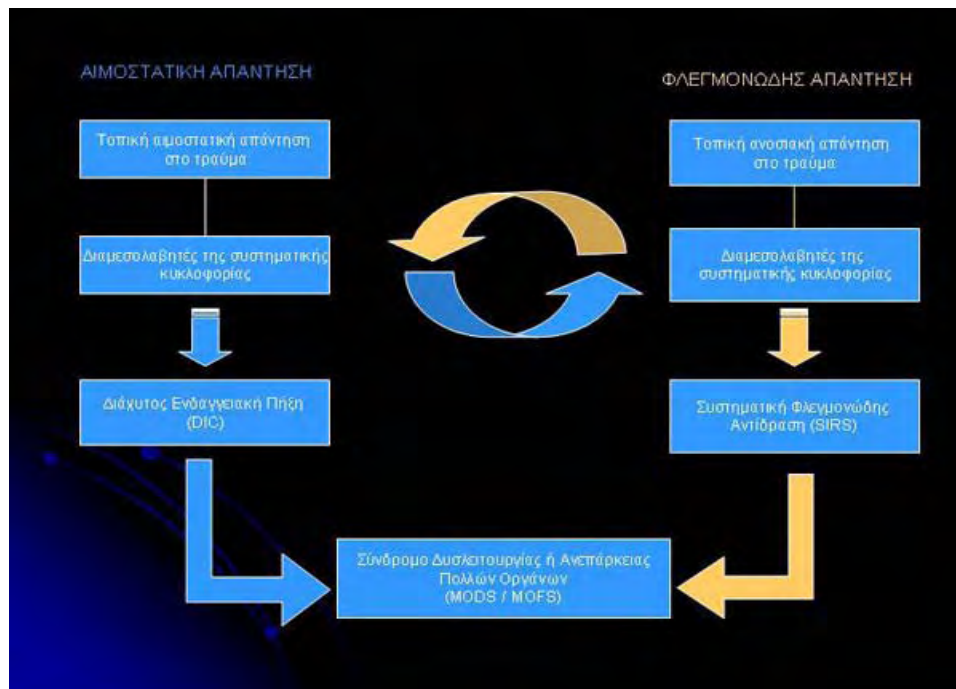
Οι φυσιολογικές ανοσολογικές αποκρίσεις έχουν ως στόχο την εξάλειψη παθογόνων παραγόντων και η παθοφυσιολογία της σήψης οφείλεται στην μη φυσιολογική ρύθμιση αυτών των φυσιολογικών αντιδράσεων. Σε ένα ιδανικό σενάριο, η πρώτη επαφή του παθογόνου με το σύστημα αντιμετώπισης της φλεγμονής θα έπρεπε να εξουδετερώσει το μικρόβιο. Η σηπτική απάντηση μπορεί να επιταχυνθεί λόγω της ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων. Η αυξορρυθμισμένη συνδιεγερτικών μορίων των λεμφοκυττάρων και η ταχεία απόπτωση των λεμφοκυττάρων, έχει ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της απόπτωσης των ουδετερόφιλων και την αυξημένη νέκρωση κυττάρων ή ιστών, γεγονότα που συμβάλλουν επίσης στην παθογένεση της σήψης (Deborah J. Stearns-Kurosawa et al., 2011). Η ισχυρή απόκριση του ξενιστή στην λοίμωξη περιλαμβάνει, επίσης, μία σειρά από γεγονότα όπως η έκλυση κυτοκινών ή χημειοκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων, το νιτρικό οξείδιο και οι ιντερλευκίνες. Οι λοιμώξεις στους πνεύμονες, στην κοιλιακή χώρα και στην ουρογεννητική οδό εμπλέκονται στη σήψη συχνότερα από ότι οι λοιμώξεις σε άλλες περιοχές του σώματος.

1.1.3.1 Παθοφυσιολογία έκλυσης φλεγμονώδους αντίδρασης

1. Η ενεργοποίηση του συστήματος των αλληλοδιάδοχων αντιδράσεων.

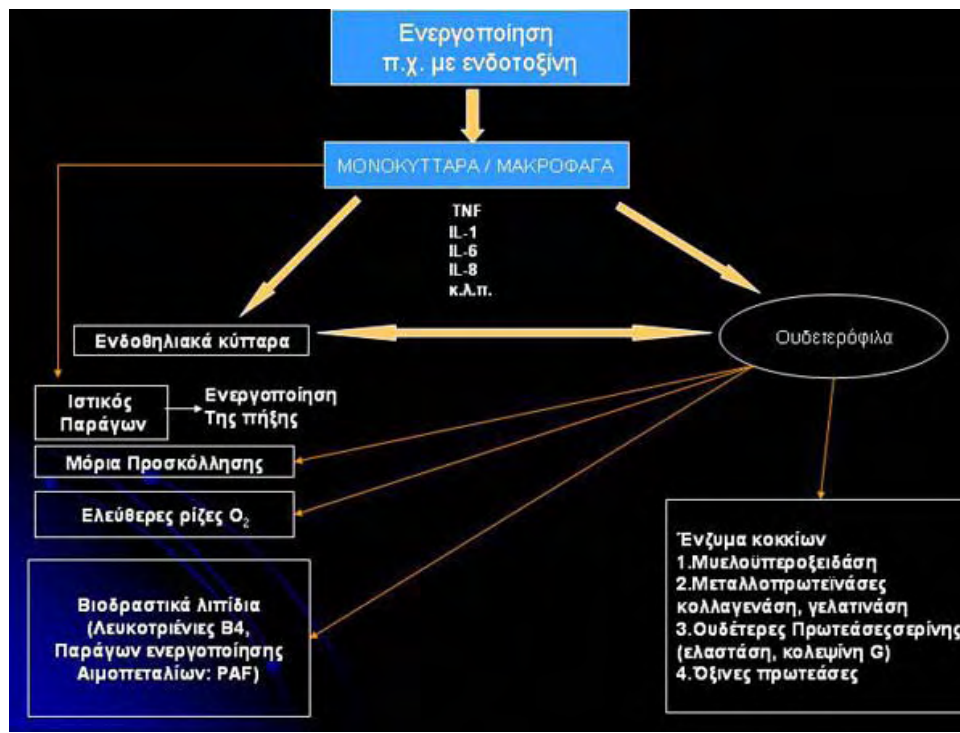
Η φλεγμονώδης διαδικασία που πυροδοτείται από μία απλή κάκωση, για παράδειγμα, καθώς και αυτή που προκαλείται από την είσοδο ενός παθογόνου μικροοργανισμού στο ανθρώπινο σώμα, συνήθως στερείται της δυναμικής εκείνης που μπορεί να προκαλέσει ενεργοποίηση των καταρρακτωδών μηχανισμών του ανοσοποιητικού συστήματος. Σε περιπτώσεις εκτεταμένης κάκωσης όμως, όπως και σε σοβαρές σηπτικές καταστάσεις, η ενεργοποίηση των διαφόρων συστημάτων των καταρρακτωδών αντιδράσεων, (όπως της πήξης, της ινωδολύσης και του συμπληρώματος), πέραν της ικανότητας αυτορρυθμίσσης των ενδογενών μηχανισμών αποκατάστασης που διαθέτει ο οργανισμός, είναι δυνατό να ευθύνεται για μια πληθώρα καταστάσεων που έχουν τελικό αποτέλεσμα την οργανική δυσλειτουργία. Η επίδραση της φλεγμονώδους διαδικασίας στους μηχανισμούς της αιμόστασης είναι συνεργιστική και αποσκοπεί στην θωράκιση του οργανισμού έναντι εισβολής των παθογόνων μικροοργανισμών, όσο και στην επίτευξη της αιμόστασης. Οι διαμεσολαβητές της συστηματικής κυκλοφορίας αλληλεπιδρούν από κοινού στους δύο καταρράκτες και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη της διαδικασίας αυτής. Πιο συγκεκριμένα, τα μονοκύτταρα του αίματος αποτελούν ένα σημαντικό συνδετικό κρίκο μεταξύ αυτών των δύο συστημάτων. Η ενεργοποίησή τους (π.χ. από ενδοτοξίνες) προκαλεί τη σύνθεση και απελευθέρωση εκτός όλων των άλλων, του

ιστικού παράγοντα, ο οποίος με την σειρά του επιταχύνει την ενεργοποίηση των μηχανισμών πήξης του αίματος. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3 Ενεργοποίηση αιμοστατικής και φλεγμονώδους απάντησης.

Παράλληλα αυξάνεται η παραγωγή και η απελευθέρωση από τα μακροφάγα του Ιστικού Παράγοντα Νέκρωσης (Tumor Necrosis Factor: TNF), της ιντερλευκίνης -1β (IL-1β) και άλλων διαμεσολαβητών. Ο TNF και η IL1β με την σειρά τους επάγουν το σχηματισμό του ιστικού παράγοντα στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων. Επιπλέον, ενεργοποιούν τα ουδετερόφιλα, τα οποία με τη σειρά τους παράγουν τοξικές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, ένζυμα, μόρια προσκόλλησης, βιοδραστικά λιπίδια, όπως τα λευκοτριένια B4, τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) και διάφορες πρωτεάσες. Εντός των αγγείων υπάρχει ένας αριθμός αντιαιμοπεταλιακών, αντιπηκτικών, ινωδολυτικών και αγγειοδιασταλτικών παραγόντων που περιορίζουν τον μηχανισμό ενεργοποίησης της αιμόστασης στην αρχική εντόπιση του παθογόνου παράγοντα (Εικόνα 4).



Εικόνα 4 Ενεργοποίηση μακροφάγων/μοκυτταρων και ουδετερόφιλων.

Κυρίαρχο ρόλο μεταξύ των αντιθρομβωτικών και ινοδολυτικών παραγόντων διαδραματίζει η αντιθρομβίνη. Η αντιθρομβίνη συμμετέχει στο σχηματισμό ενός συμπλόκου με τους ενεργοποιημένους παράγοντες του συστήματος της πήξης, αναστέλλοντας τις πρωτεάσες της σερίνης. Πιο συγκεκριμένα τα μόρια που σχηματίζουν το σύμπλοκο με την αντιθρομβίνη είναι η θρομβίνη, οι παράγοντες FVIIa, FIXa, FXa, FXIa και οι καλλικρεΐνες. (Εικόνα 5).

Ρυθμιστικοί παράγοντες των καταρρακτοειδών συστημάτων.
ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΙΝΗ

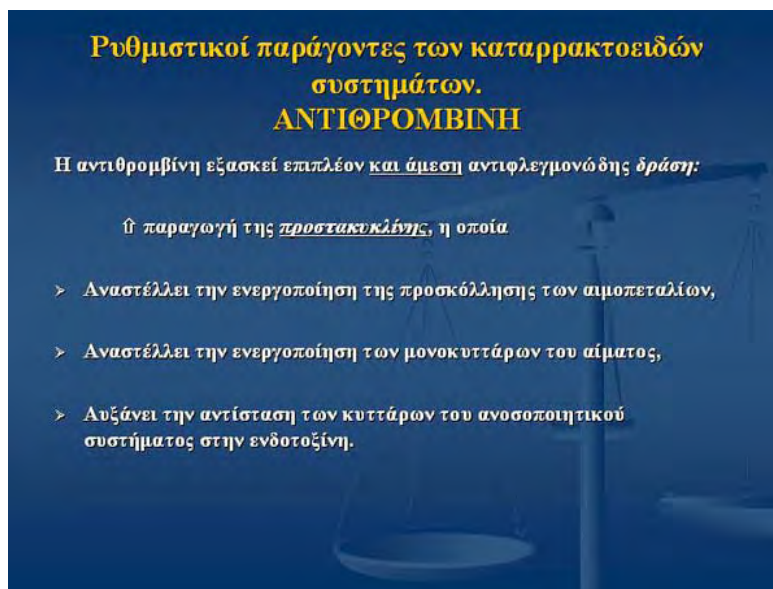
Συστηματικός αναστολέας της πήξης του αίματος.
Προκαλεί την αναστολή των πρωτεασών της σερίνης του συστήματος της πήξης:

- ✓ θρομβίνη
- ✓ FVIIa(παράγων 7)
- ✓ FIXa(παράγων 9)
- ✓ FXa (παράγων 10)
- ✓ FXIa (παράγων 11)
- ✓ καλλικρεΐνες

Αυτή η ανασταλτική επίδραση της αντιθρομβίνης στο σχηματισμό θρόμβων στη μικροκυκλοφορία μπορεί να θεωρηθεί μία *έμμεση* αντιφλεγμονώδη δράση.

Εικόνα 5 Ρυθμιστικοί παράγοντες των καταρρακτοειδών συστημάτων. Αντιθρομβίνη. (1)

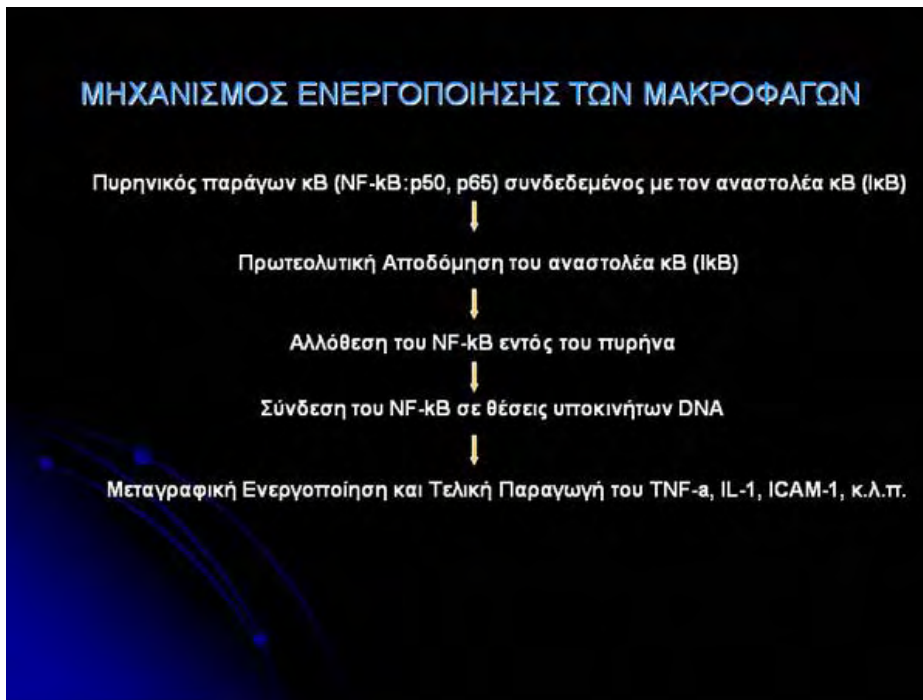
Σημαντική ιδιότητα της αντιθρομβίνης είναι η αναστολή της προστακυκλίνης, εμποδίζοντας έτσι τόσο την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, όσο και την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων. Αν η λειτουργική δράση της αντιθρομβίνης αποδειχθεί ανεπαρκής, αναπτύσσεται διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (Disseminated Intravascular Coagulation: DIC) η οποία θεωρείται σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη του MODS, όπως θα αναπτυχθεί παρακάτω. (Εικόνα 6).



Εικόνα 6 Ρυθμιστικοί παράγοντες των καταρρακτοειδών συστημάτων. Αντιθρομβίνη. (2)

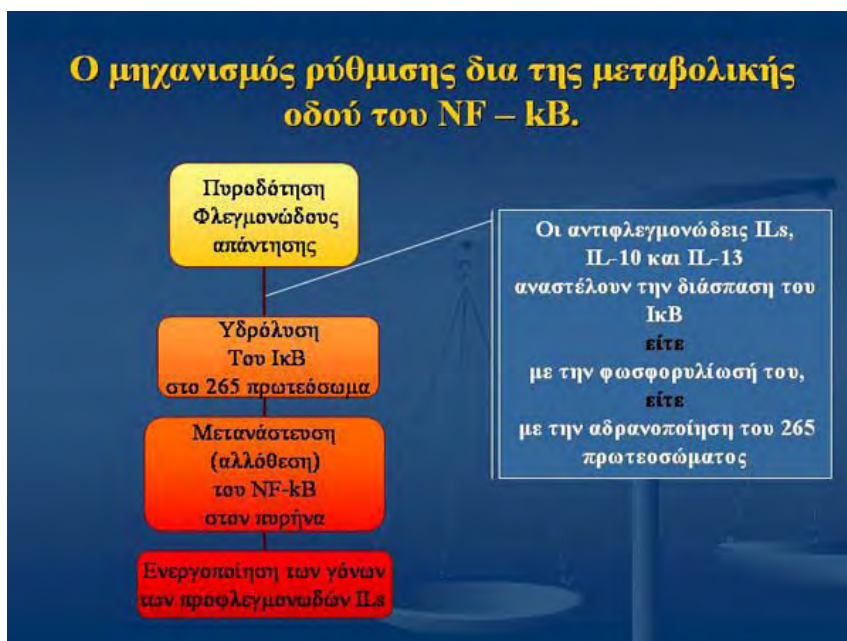
2. Η ενεργοποίηση των μακροφάγων.

Για να επιτευχθεί αρχικά, η ενεργοποίηση και έπειτα η παραγωγή μακροφάγων απαραίτητη είναι η παρουσία των φλεγμονωδών κυτταροκινών. Αυτές παράγονται από τα κύτταρα κάτω από την επίδραση διαφόρων παραγόντων, όπως μικροβιακών ή μη. Για την έναρξη όμως της παραγωγής τους μέσω της διαδικασίας της μεταγραφής και κατόπιν της μετάφρασης είναι απαραίτητη η προσκόλληση στο DNA του μακροφάγου, ενός ειδικού πυρηνικού παράγοντα του Nf-kB. Ο πυρηνικός αυτός παράγοντας με τη σειρά του πυροδοτεί την διαδικασία της παραγωγής αγγελιοφόρου mRNA (μεταγραφή) που κωδικοποιεί τις φλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Ο πυρηνικός παράγοντας Nf-kB αποτελείται από δύο 2 υπομονάδες, την p-50 και την p-65. Φυσιολογικά ο παράγοντας αυτός βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του μακροφάγου δεσμευμένος στον αναστολέα kB (Inhibitor kB: IκB), ο οποίος συνδέεται προς το σύμπλοκο NF- kB και αποτρέπει την είσοδό του στον πυρήνα (αλλόθεση) και την επακόλουθη σύνδεση με το DNA παράγοντα. (Εικόνα 7).



Εικόνα 7 Μηχανισμός ενεργοποίησης των μακροφάγων.

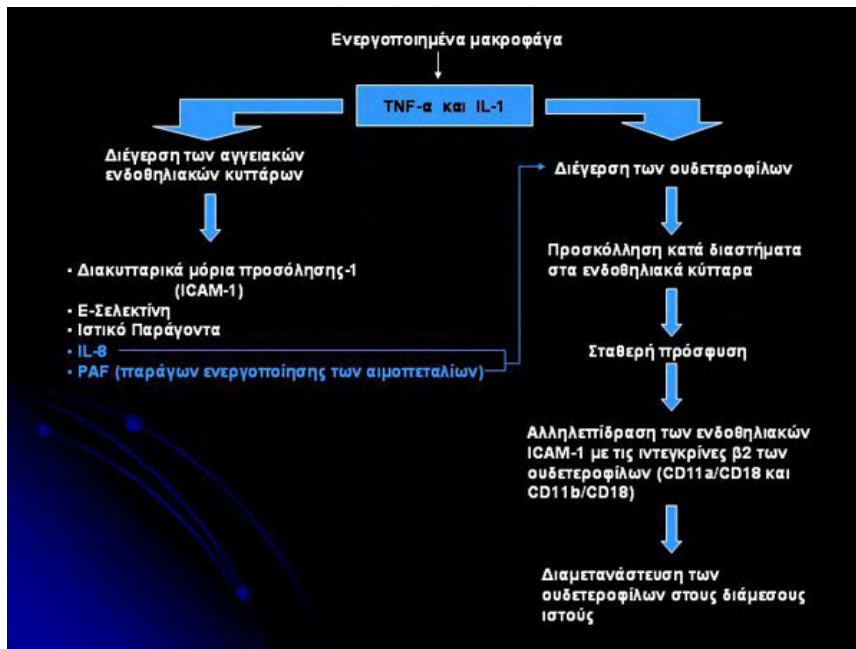
Με την έναρξη της διαδικασίας της φλεγμονής, τα μακροφάγα που βρίσκονται στην περιοχή του εκλυτικού αιτίου, ενεργοποιούνται και ο IκB του μακροφάγου υπόκειται σε φωσφορυλίωση. Το πρωτεόσωμα 26S του μακροφάγου τότε προκαλεί την διάσπαση του συμπλόκου και ο απελευθερωμένος πλέον παράγοντας NF-κB μπορεί μετά να μεταφερθεί στον πυρήνα, στις σειρές του υποκινητή του DNA και να προκαλέσει μεταγραφική υπερρύθμιση για τον TNF-α, την IL-1, τα διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης-1 (ICAM-1) και άλλους διαμεσολαβητές της φλεγμονώδους διαδικασίας. Μέσω του προαναφερόμενου μηχανισμού της δράσης των φλεγμονωδών μεσολαβητών προκαλείται σε σηπτικές καταστάσεις υπερβολικά βλαπτική επίδραση στους ιστούς που έχουν προσβληθεί. Η διαδικασία όμως αυτή, υπό φυσιολογικές συνθήκες βρίσκεται κάτω από τον ρυθμιστικό έλεγχο των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών. Συγκεκριμένα, οι αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες IL-10 και IL-13 αναστέλουν την υδρόλυση του κB παράγοντα στο κυτταρόπλασμα εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την μετακίνησή του στον πυρήνα του μακροφάγου και την πυροδότηση της παραγωγής προφλεγμονωδών μεσολαβητών. Η διαδικασία αυτή αποτελεί σημαντικότερο στάδιο στον περιορισμό της ισχύος της δράσης της φλεγμονής. (Εικόνα 8).



Εικόνα 8 Μηχανισμός ρύθμισης μέσω της οδού NF-κB.

3. Η ενεργοποίηση και η συνάθροιση των ουδετερόφιλων.

Η ισχαιμία, η παρουσία βακτηριδίων ή βακτηριδιακών πολυσακχαριτών, η εναπόθεση ανοσιακών συμπλεγμάτων, είναι καταστάσεις που πυροδοτούν την ενεργοποίηση των καταρρακτοειδών αντιδράσεων του συμπληρώματος της πήξης, της ινωδόλυσης, καθώς επίσης και την ενεργοποίηση των ιστικών μακροφάγων. Για τη μελέτη όλων αυτών των φλεγμονωδών αντιδράσεων χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο, το πειραματικό μοντέλο πρόκλησης κυψελίτιδας σε πνεύμονες ποντικών. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν τις κυτταροκίνες πρώιμης απάντησης TNF-α και την IL-1. Η κύρια λειτουργία αυτών των κυτταροκινών είναι να διεγείρουν τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα προκειμένου να εκφράσουν τα διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης - 1 (Intercellular Adhesion Molecular-1 : ICAM-1), την E-σελεκτίνη και τον ιστικό παράγοντα. Οι κυτταροκίνες αποτελούν, επίσης, σημαντικό παράγοντα ενεργοποιητή των ουδετερόφιλων. (Εικόνα 9)



Εικόνα 9 Δράση ενεργοποιημένων μακροφάγων.

Τα ουδετερόφιλα, κατ' αρχάς προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σταθερή αυτή πρόσφυση των ουδετερόφιλων είναι δυνατόν να οδηγήσει σε μετανάστευσή τους στους διάμεσους ιστούς. Επιπλέον, η σταθερή πρόσφυση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο, συνεπάγεται αλληλεπιδράσεις των ενδοθηλιακών ICAM-1, με τις ιντεγκρίνες β2 από τα ουδετερόφιλα (CD11a/CD18 και CD11b/CD18). Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν, επιπλέον, την IL-8 και τον παράγοντα που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια (Platelet Activated Factor: PAF). Οι παράγοντες αυτοί είναι ισχυροί διεγέρτες των ουδεροφίλων. Όταν λοιπόν, τα ουδετερόφιλα προσκολληθούν στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο, «προ-ενεργοποιούνται», ώστε όταν φθάσουν σε μια άλλη περιοχή που βρίσκεται ένας διεγέρτης-αγωνιστής, για παράδειγμα, ο TNF-α, να δράσουν άμεσα και γρήγορα. Η είσοδος των ουδετερόφιλων στους ιστούς, (πχ στις κυψελίδες των πνευμόνων), μαζί με τα ενεργοποιημένα μακροφάγα πυροδοτεί την βλάβη των κυττάρων του πνεύμονα και των γλυκοπρωτεϊνών του υποστρώματος (πχ της ελαστίνης και του κολλαγόνου). Η βλάβη σχετίζεται κυρίως με την παραγωγή οξειδωτικών προϊόντων και την απελευθέρωση πρωτεασών της σερίνης και μεταλοπρωτεασών του υποστρώματος.

4. Η παραγωγή οξειδωτικών προϊόντων.

Τα περισσότερα οξειδωτικά προϊόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης προέρχονται από τα φαγοκύτταρα. Οι δύο κύριες οδοί παραγωγής των οξειδωτικών προϊόντων είναι: η οδός της NADPH οξειδάσης και η οδός της επαγωγίμης (ή προκλητής) συνθετάσης του Μονοξειδίου του Αζώτου (Nitric Oxide: NO) παράγοντα. (Εικόνα 10)



Εικόνα 10 Παραγωγή οξειδωτικών προϊόντων.

5. Η μεταβολική οδός της NADPH οξειδάσης

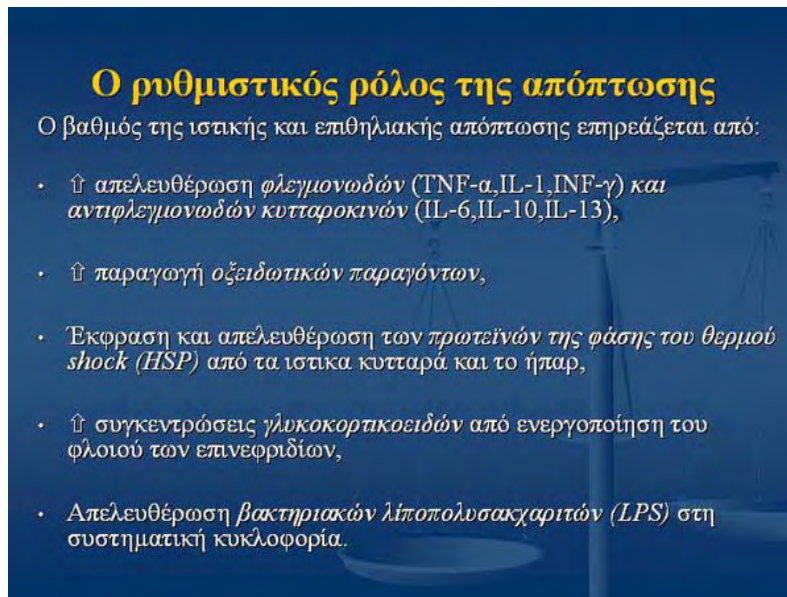
Στα κύτταρα η NADPH οξειδάση υπάρχει σε υπομονάδες που εντοπίζονται τόσο στην κυτταρική μεμβράνη, όσο και στο κυτταρόπλασμα. Η ενεργοποίηση του κυττάρου προκαλεί μετακίνηση των κυτταροπλασματικών υπομονάδων στην κυτταρική μεμβράνη με αποτέλεσμα το σχηματισμού ενός πολυμερικού συμπλόκου με δράση οξειδάσης. Χαρακτηριστική είναι μια ασυνήθη σειρά μεταφοράς ηλεκτρονίων στη μεταβολική οδό της NADPH οξειδάσης. Με την παρουσία της οξειδάσης, το NADPH υφίσταται οξείδωση (αποβολή ηλεκτρονίων). Τα απελευθερωμένα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με το μοριακό O₂ το οποίο ανάγεται και σχηματίζει το ανιόν του υπεροξειδίου. Μια από τις δράσεις του υπεροξειδίου είναι να προκαλέσει αναγωγή στον ενδοκυττάριο σίδηρο, μετατρέποντάς τον από τρισθενή σίδηρο σε δισθενή. Η αποβολή, όμως, ενός ηλεκτρονίου από το μόριο του οξυγόνου (οξείδωση), το μετατρέπει σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), το οποίο δεν είναι ελεύθερη ρίζα και μπορεί να αναχθεί στην πλέον δραστική ρίζα του οξυγόνου, την ρίζα του υδροξυλίου (HO). Η παραγωγή ρίζας του υδροξυλίου απαιτεί την παρουσία ενός βαρέως μετάλλου, για παράδειγμα σιδήρου, στην μεταβατική (ασταθή) μορφή του δισθενούς σιδήρου. Δίνοντας ένα ηλεκτρόνιο στο υπεροξείδιο του υδρογόνου ο δισθενής σίδηρος επαναοξειδώνεται σε τρισθενή σίδηρο. Άλλο ισχυρό οξειδωτικό το οποίο παράγεται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι το υποχλωριώδες οξύ. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται στα ουδετερόφιλα με την παρουσία του ενζύμου της μυελοϋπεροξειδάσης και ενός αλογόνου, όπως του χλωρίου, όπου μετατρέπεται ενζυμικά το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε υποχλωριώδες οξύ.

6. Η μεταβολική οδός της επαγωγίμης (ή προκλητής) συνθετάσης του NO (Inducible Nitric Oxide Synthetase: iNOS)

Η οδός παραγωγής οξειδωτικών προϊόντων εκφράζεται μόνο σε ενεργοποιημένα κύτταρα (διεγερμένα). Η επαγωγή συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου υπερπαράγεται και αντιδρά με την L-Arginine για να παραχθεί το μονοξείδιο του αζώτου, το οποίο προκαλεί χάλαση στα λεία μυϊκά κύτταρα. Το μονοξείδιο του αζώτου αντιδρά επίσης με τα αρωματικά οξέα για να σχηματίσει σταθερά παράγωγα, όπως είναι η νιτροτυροσίνη. Η τροποποίηση (νιτροζυλίωση) των πρωτεϊνών που περιέχουν τυροσίνη, μπορεί να καταστρέψει τη λειτουργία τους. Το μονοξείδιο του αζώτου μετατρέπεται σε υπεροξυνιτρώδες ανιόν, το οποίο αντιδρά έντονα με την ομάδαθειόλης. Το υπεροξυνιτρώδες ανιόν διασπάται στη νιτρώδη και τη νιτρική ρίζα, οι οποίες χρησιμεύουν σαν κατάλληλοι ποσοτικοί αντιπροσωπευτικοί δείκτες της παραγωγής του μονοξειδίου του αζώτου. Η παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων στα φαγοκύτταρα εξηγούν πολλές τελικές ιστικές βλάβες κατά την φλεγμονώδη απάντηση. Πιο συγκεκριμένα, τα οξειδωτικά προϊόντα μπορεί να διαιωνίζουν την διέγερση των φαγοκυττάρων προκειμένου να παράγουν επιπλέον βλαπτικούς διαμεσολαβητές και κυτταροκίνες. Επίσης, χημικές ενώσεις ανάλογες προς την L-arginine ανταγωνίζονται αποτελεσματικά την δυνατότητα της επαγωγίμης συνθετάσης του NO να αντιδρά με το φυσικό υπόστρωμα, την L-Arginine. Τα οξειδωτικά προϊόντα τέλος, ανταγωνίζονται την ενδογενή συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου - των ενδοθηλιακών κυττάρων - προκαλώντας με τον τρόπο αυτό, απώλεια στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, η οποία οδηγεί σε συστηματική υπέρταση.

7. Ο ρόλος της ιστικής και επιθηλιακής απόπτωσης στη φλεγμονή.

Η απόπτωση αποτελεί τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, μία διακριτή μορφή κυτταρικού θανάτου που δεν σχετίζεται με την γήρανση και ως εκ τούτου τον βιολογικό θάνατο του κυττάρου. Η απόπτωση είναι παρούσα σε ποικίλες φυσιολογικές ή/και παθολογικές καταστάσεις με ρόλο μη διακριτό πάντα. Αρκετοί ερευνητές έχουν αναζητήσει τον ακριβή μηχανισμό δράσης της σε συνθήκες ισχαιμίας, τραύματος και ιστικής καταστροφής, χωρίς να καταλήγουν πάντα σε ακριβή συμπεράσματα. Γενικά όμως, έχει αποδειχθεί πως ο βαθμός της ιστικής και της ενδοθηλιακής απόπτωσης επηρεάζεται από την αυξημένη απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- α , IL-1 β , ιντερφερόνη- γ κ.λ.π.). καθώς και από την αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων (H_2O_2 , O_2 , OH, NO), κυρίως σε καταστάσεις εναλλαγής ισχαιμίας-επαναιμάτωσης. Καθένας ξεχωριστά από αυτούς τους παράγοντες, από τη μία ευθύνεται για τη διαταραχή της ισορροπίας της απόπτωσης στους ιστούς, ενώ από την άλλη με την ταυτόχρονη ενεργοποίησή τους μπορεί να έχουν συνεργική δράση στην πυροδότηση της απόπτωσης (Εικόνα 11)



Εικόνα 11 Ρυθμιστικός ρόλος της απόπτωσης.

Η απόπτωση επομένως, διαδραματίζει θεμελιώδη ρόλο στην πρόοδο της σηπτικής διαδικασίας. Τελευταία αναδεικνύεται πως η απορρύθμιση της αποπτωτικής διεργασίας ίσως να είναι το πρώτο βήμα στην ανεπαρκή λειτουργία του οργάνου στόχου (Εικόνα 12)



Εικόνα 12 Ρυθμιστικός ρόλος της απόπτωσης.

Συμπέρασμα: Ο οργανισμός διαθέτει μια πληθώρα αμυντικών μηχανισμών, οι οποίοι ενεργοποιούνται σε κάθε κατάσταση ή συνθήκη που θα μπορούσε δυνητικά να διαταράξει την ακεραιότητα και τη φυσιολογική λειτουργία του. Τόσο οι λοιμώξεις, οι τραυματισμοί, τα εγκαύματα, οι κακώσεις, όσο και άλλες παθολογικές καταστάσεις,

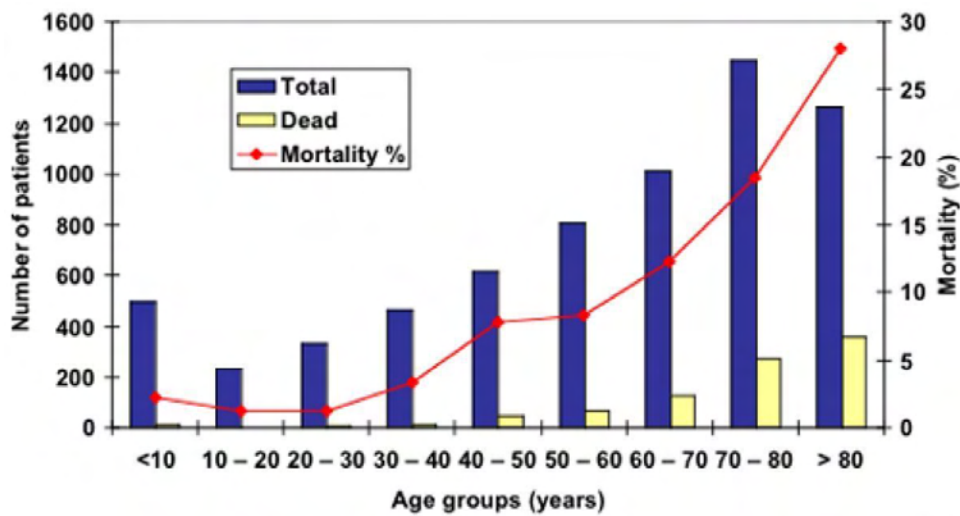
όπως η παγκρεατίτιδα, οι μεταγγίσεις, η οξεία ηπατική ανεπάρκεια, η συστηματική αγγειίτιδα, μπορούν να πυροδοτήσουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Συγχρόνως όμως, μέσω των προφλεγμονωδών μεσολαβητών- οι οποίοι ανθίσταται στην παθολογική κατάσταση- ο οργανισμός φροντίζει ώστε να προφυλαχθεί από την δράση των ίδιων των αμυντικών του μηχανισμών ή διαφορετικά από την υπέρμετρη ενεργοποίηση των μηχανισμών άμυνας του ανθρώπινου οργανισμού. Για αυτό τον σκοπό παράγει και αντισταθμιστικές-ρυθμιστικές κυτταροκίνες που με ένα πολύπλοκο αλληλεπιδρούμενο σύστημα επηρεάζουν και ελέγχουν την αντίδραση στον παθογόνο παράγοντα. Κατά την σηπτική κατάσταση όμως, οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί αδυνατούν να αντιροπίσουν την φλεγμονώδη διαδικασία. Αυτό συμβαίνει είτε σε περιπτώσεις εκτεταμένων και επιπλεγμένων κακώσεων, είτε σε πολύπλοκα και πολλαπλά φλεγμονώδη ερεθίσματα. Τα ίδια τα κύτταρα άμυνας που παράγει ο οργανισμός για να τον προστατέψουν, στρέφονται εναντίον του και επιδρούν πλέον βλαπτικά μόνο και μόνο από την αδυναμία αυτοπεριορισμού τους. Μια πληθώρα αντιδράσεων και μηχανισμών εκτρέπονται από τη φυσιολογική τους λειτουργία, συστηματοποιώντας έτσι την ανεπάρκεια αυτορρύθμισης και σε άλλα ζωτικά όργανα. Πρόκειται τότε για μια κατάσταση την οποία ο οργανισμός αδυνατεί να αντιροπήσει ακόμα και με κατάλληλη θεραπευτική παρέμβαση.

1.1.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ασθένεια

Η σοβαρότητα της ασθένειας επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, οι κυριότεροι είναι η ηλικία, το φύλο καθώς και η παρουσία άλλων ασθενειών.

1.1.4.1 Η Ηλικία

Η συχνότητα εμφάνισης σήψης είναι υψηλότερη σε ηλικιωμένους ασθενείς. Σύμφωνα με μία μελέτη, που διεξήχθη στις ΗΠΑ σε πάνω από 10,4 εκατομμύρια ενήλικων σηπτικών ασθενών και εξέταξε την επίδραση της ηλικίας στην σήψη σε διάρκεια 24 χρόνων, οι ηλικιωμένοι ασθενείς (ηλικίας άνω των 65 χρόνων) αντιπροσωπεύουν περίπου το 65% των περιπτώσεων σήψης. Σε σύγκριση με τους νεότερους ασθενείς οι ηλικιωμένοι σηπτικοί ασθενείς έχουν αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας κατά την διάρκεια της νοσηλείας (*Martin GS et al., 2006*). Οι ηλικιωμένοι ασθενείς μπορεί να παρουσιάζουν ασυνήθιστα χαρακτηριστικά της ασθένειας με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της διάγνωσης και κατά συνέπεια της θεραπείας. Ακόμα, η μείωση της νεφρικής λειτουργία καθώς και η κακή ροή του ήπατος μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες των αντιμικροβιακών φαρμάκων (*McCue JD, 1999*).



Διάγραμμα 1 Η εμφάνιση σήψης επηρεάζεται από την ηλικία του ασθενή.

1.1.4.2 Το φύλο

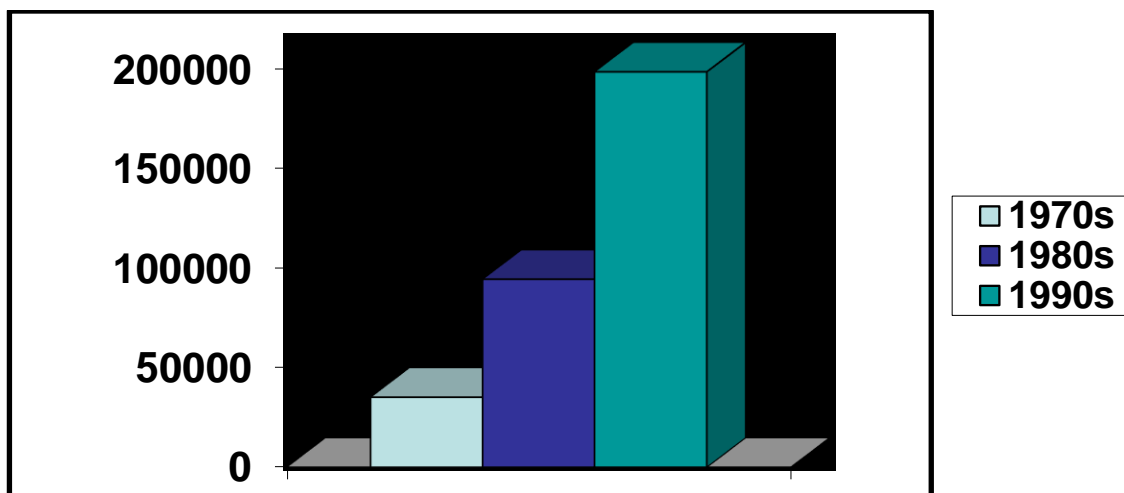
Τα πειραματικά δεδομένα σε ζώα δείχνουν ότι οι γυναίκες έχουν ένα έμφυτο πλεονέκτημα επιβίωσης στην σήψη (Zellweger R. Et al., 1997), ωστόσο τα ποσοστά που προκύπτουν από κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους ποικίλλουν μεταξύ των δύο (2) φύλων. Διεξήχθησαν διάφορες έρευνες όπου τα ποσοστά θνησιμότητας των γυναικών ήταν άλλοτε υψηλότερα, άλλοτε μικρότερα ή και ίδια με αυτά των ανδρών. Οι διαφορές στα αποτελέσματα μπορεί να αποδοθούν σε διάφορους λόγους, όπως στις ορμόνες του κάθε φύλου, καθώς και σε πολυμορφισμούς φυλογεννητικών γονιδίων (Federman DDN Engl J Med, 2006).

1.1.4.3 Συνυπάρχουσες Παθήσεις

Οι παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο θνησιμότητας περιλαμβάνουν ήδη υπάρχουσες παθήσεις, όπως η ανοσοκαταστολή, ο καρκίνος, HIV/AIDS, ηπατική ανεπάρκεια, καθώς και η εξάρτηση από το αλκοόλ. Όλες αυτές οι ασθένειες εξασθενούν τον οργανισμό του ασθενή καθιστώντας τον ευάλωτο στις συνέπειες της σήψης. Σύμφωνα με μία μελέτη μεταξύ των ασθενών που εμφάνισαν σοβαρά συμπτώματα σήψης αποδείχθηκε ότι ένα μεγάλο ποσοστό των ασθενών είχαν ήδη κάποιο νόσημα, ιδιαίτερα διαβήτη (23%), χρόνια πνευμονία (17%), καρκίνο (16%), καρδιακή ανεπάρκεια (14%), νεφρική ανεπάρκεια (11%), και ηπατική νόσο (7%) (Kendra N. Iskander et al. 2013, Martin G. et al. 2009).

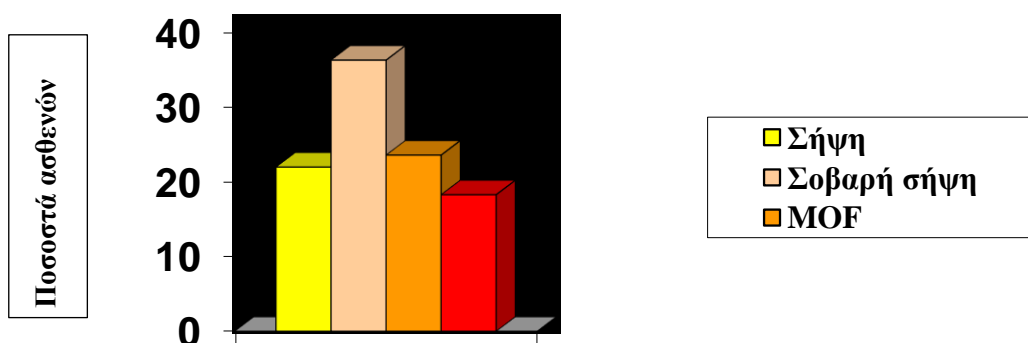
1.1.5 Διακυμάνσεις της θνησιμότητας και των διαφόρων τύπων σήψης

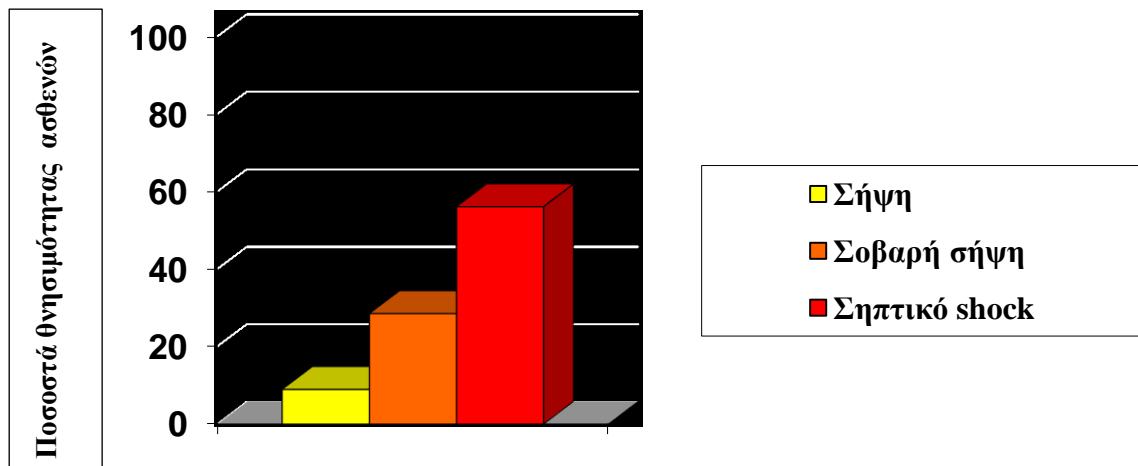
Η σοβαρή σήψη και η σηπτική καταπληξία (shock) αποτελούν μείζονα προβλήματα παγκοσμίως, αφενός διότι η συχνότητά τους αυξάνεται, αφετέρου διότι συνοδεύονται από υψηλή νοσηρότητα και θνητότητα. Περισσότερα από 750.000 άτομα ετησίως παρουσιάζουν σοβαρή σήψη στις ΗΠΑ, ενώ περίπου 67% (500.000 άτομα) χρειάζονται κάποιο είδος εντατικής φροντίδας και νοσηλείας. Η θνητότητα κυμαίνεται από 25-50%. Ωστόσο, η έγκαιρη αναγνώριση και έγκαιρη εφαρμογή της κατάλληλης θεραπευτικής αντιμετώπισης είναι δυνατόν να βελτιώσουν την έκβαση των ασθενών με σοβαρή σήψη και σηπτικό shock και να αυξήσουν την επιβίωσή τους (Angus et al. CCM 2001)



Διάγραμμα 2 Θάνατοι λόγω σήψης στις ΗΠΑ. Ευγενική χορηγία του Angus et al. CCM 2001

Η σήψη όπως προαναφέρθηκε είναι μία ασθένεια που προέκυψε μέσα από τις Μονάδες Εντατικής Θεραπείας, σύμφωνα με μελέτη που διεξήχθη το 2008 από τους Moreno et al. Int Care Med 2008. Η μελέτη περιλάμβανε 2.600 ασθενείς οι οποίοι βρισκόνταν στην Μονάδα Εντατικής Θεραπείας πάνω από 48 ώρες. Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσιάζονται παρακάτω, στο **Διάγραμμα 3**. Είναι εμφανές ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών προσβλήθηκε από σοβαρή σήψη, ακολουθεί στην συνέχεια η πολλαπλή οργανική ανεπάρκεια (MOF) και τέλος η σήψη και το σηπτικό σοκ, με μικρή διαφορά μεταξύ τους (Andrés Esteban et al. 2008).





Διάγραμμα 4 Ποσοστά θνησιμότητας μεταξύ των ασθενών. Ευγενική χορηγία Moreno et al. Int Care Med 2008; Kumar et al. Crit Care Med 2006

Στο Διάγραμμα 4 φαίνεται ότι τα ποσοστά θνησιμότητας των ασθενών με σηπτικό σοκ ξεπερνάνε τα ποσοστά της σήψης και της σοβαρής σήψης. Τα αποτελέσματα προέκυψαν από μελέτη που εξέταζε την διάρκεια της υπότασης πριν την χορήγηση αντιμικροβιακών φαρμάκων, τονίζοντας ότι η διάρκεια έπαιξε σημαντικό ρόλο για την επιβίωση των ασθενών (Kumar, Anand MD et al.).

1.1.6 Θεραπεία

Μέχρι στιγμής έχουν γίνει πολλές προσπάθειες έτσι ώστε να βρεθεί ο κύριος παράγοντας που προκαλεί σήψη. Ωστόσο, δεν έχει βρεθεί κάποιος συγκεκριμένος μεσολαβητής ή κάποιο συγκεκριμένο μεταβολικό μονοπάτι, αυτό κατά συνέπεια αυξάνει την πολυπλοκότητα της ασθένειας. Δεδομένου της θνησιμότητας που προκαλεί η ασθένεια είναι επιτακτική ανάγκη η μελέτη και κατανόηση της παθοφυσιολογίας της σήψης έτσι ώστε να βρεθεί στοχευμένη θεραπεία. (Kendra N et al. 2013).

1.2 Οξειδωτικό Στρες

1.2.1 Ορισμός

Το οξειδωτικό στρες αντιπροσωπεύει μια διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS) και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αδρανοποιεί τα τοξικά αυτά μόρια και να επισκευάζει τις βλάβες που προκαλούν. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου βλάπτουν όλα τα συστατικά του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών, των λιπιδίων και του DNA. Έχει οριστεί ως μία διαταραχή στην προοξειδωτική και αντιοξειδωτική ισορροπία του οργανισμού γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή βιομορίων.

1.2.2 Ιστορική αναδρομή

Το 1775 ο Priestley ανέφερε ότι «η συνεχής έκθεση στο οξυγόνο μπορεί να σβήσει το κερί της ζωής πολύ γρήγορα». Η προφητική αυτή παρατήρηση από τον άνθρωπο που ανακάλυψε το οξυγόνο, έδωσε το έναυσμα για τη λύση ενός από τα σημαντικότερα προβλήματα της σύγχρονης επιστήμης: του «παράδοξου του οξυγόνου».

Το O₂ είναι πολύ σημαντικό στοιχείο για τη διατήρηση της ζωής, αλλά κάτω από κάποιες περιπτώσεις μπορεί να γίνει τοξικό, καθώς η έκθεση του οργανισμού σε αυξημένες συγκεντρώσεις οξυγόνου προκαλεί ανεπιθύμητες αντιδράσεις για την υγεία.

Ο όρος οξειδωτικό στρες ορίστηκε για πρώτη φορά το 1985 ως “μια διαταραχή στην προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ισορροπία” (Sies H. 1985). Παρά το γεγονός ότι αυτός ο ορισμός έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για πάνω από δύο δεκαετίες, είναι πιθανό να υποβληθεί σε αλλαγές στο μέλλον. Πράγματι, λόγω της πολυπλοκότητας που σχετίζεται με την εκτίμηση της κυτταρικής οξειδοαναγωγικής ισορροπίας, έχει υποστηριχθεί ότι ο όρος οξειδωτικό στρες είναι χρήσιμος μόνο αν τα μοριακά στοιχεία της ανισορροπίας είναι γνωστά. Σε μια προσπάθεια να βελτιωθεί η έννοια του οξειδωτικού στρες, ο Dean Jones πρότεινε ότι ο όρος αυτός θα πρέπει να επαναπροσδιοριστεί ως "διατάραξη της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης και ελέγχου» (Jones DP. 2006, Cott K. Powers and Malcolm J. Jackson).

Τα τελευταία χρόνια ο ρόλος των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην παθογένεση πολλών ασθενειών κίνησε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, με αποτέλεσμα μέρα με τη μέρα οι ερευνητές να κατανοούν καλύτερα τις επιβλαβείς δράσεις, αλλά και την επίλυση αυτών με τη μελέτη των αντιοξειδωτικών συστατικών του οργανισμού και των τροφίμων, τα οποία παρουσιάζουν σημαντική προστατευτική δράση.

1.2.3 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

Με την οξυγόνωση της ατμόσφαιρας της Γης σημειώθηκε μια δραματική αλλαγή στην πορεία της εξέλιξης. Η αύξηση στην συγκέντρωση του οξυγόνου επέτρεψε την αξιοποίηση των πλούσιων σε οξυγόνο πρωτεϊνών διαμεμβρανικής επικοινωνίας, οι οποίες είναι απαραίτητες για την πολυκύτταρη ευκαρυωτική ζωή, για τα υψηλά μεταβολικά επίπεδα καθώς και για ποικιλία νέων μεταβολικών αντιδράσεων. Τα υψηλά επίπεδα του οξυγόνου οδήγησαν τελικά στην άνοδο των σύνθετων μορφών ζωής και την επακόλουθη επίγεια εξάπλωσή τους (*Baudouin-Cornu P. And Thomas D. 2007*).

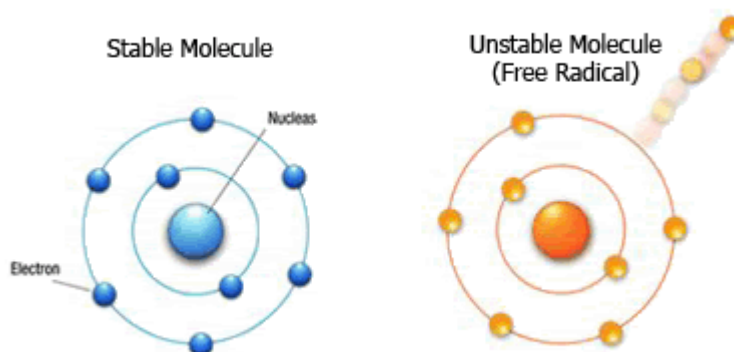
Ωστόσο, τα οφέλη που προσφέρει μια ατμόσφαιρα πλούσια σε οξυγόνο στην επίγεια ζωή συνοδεύονται με συνέπειες, από τις οποίες η βλάβη σε κυτταρικό επίπεδο από αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS, επίσης γνωστά ως ελεύθερες ρίζες), είναι ίσως η πιο σημαντική. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως τα υπεροξειδία και τα ιόντα υδροξυλίου, αντιδρούν με μια μεγάλη ποικιλία βιολογικών μορίων, προκαλώντας σημαντικές μοριακές βλάβες και παρεμβαίνουν ακόμα και στην κυτταρική λειτουργία. Οι ROS παίζουν μεγάλο ρόλο στην οξειδωτική βλάβη η οποία προκαλείται από την γήρανση καθώς και από πολλές ασθένειες του ανθρώπου (*Leigh Boardman et al. 2011*).

Τα μόρια αποτελούνται από έναν ή περισσότερους ατομικούς πυρήνες, οι οποίοι περιβάλλονται από ηλεκτρόνια, τα οποία περιφέρονται γύρω από τον πυρήνα. Τα ηλεκτρόνια είναι διευθετημένα σε έναν αριθμό τροχιακών, τα οποία βρίσκονται σε διαφορετικές αποστάσεις από τον πυρήνα. Στα περισσότερα μόρια, τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται σε κάθε τροχιακό, ζευγαρώνουν με ένα άλλο ηλεκτρόνιο. Τα δύο ηλεκτρόνια κάθε ζεύγους περιστρέφονται γύρω από τον εαυτό τους (spin) σε αντίθετες κατευθύνσεις. Τα ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια διατηρούν το μόριο σχετικά σταθερό εμφανίζοντας μικρότερη ενεργειακή κατάσταση, με αποτέλεσμα να είναι λιγότερο δραστικό. Όταν ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, ιδιαίτερα αυτά που βρίσκονται στα εξωτερικά τροχιακά του ατόμου, είναι ασύζευκτα, δεν έχουν δηλαδή ζευγάρι, τότε το μόριο γίνεται ασταθές, εμφανίζοντας μεγαλύτερη ενεργειακή κατάσταση, με αποτέλεσμα να είναι πιο δραστικό από άλλα μόρια.

Άτομα ή μόρια με ασύζευκτα ηλεκτρόνια ονομάζονται **παραμαγνητικά**, ενώ όταν δεν διαθέτουν τέτοια ηλεκτρόνια, **διαμαγνητικά**. Ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο έχει τεράστια έλξη στα ηλεκτρόνια γειτονικών ατόμων με αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών αντιδράσεων μεταξύ ατόμων ή μορίων, κατά τις οποίες έχουμε μεταφορά ηλεκτρονίων. Τέτοιες αντιδράσεις ονομάζονται **οξειδοαναγωγικές** (redox), εκ των οποίων κατά την οξείδωση έχουμε απώλεια ηλεκτρονίων, ενώ κατά την αναγωγή έχουμε απόκτηση ηλεκτρονίων από ένα άτομο.

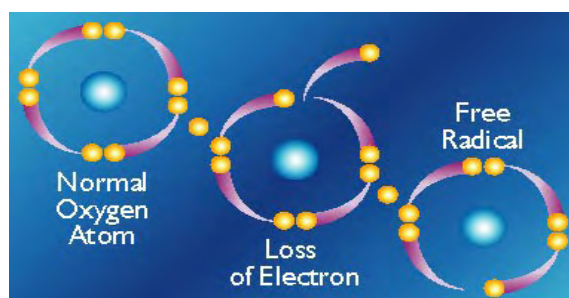
Ένα άτομο ή μόριο με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια και ανεξάρτητη παρουσία λέγεται **ελεύθερη ρίζα** και συμμετέχει πολύ εύκολα σε αντιδράσεις οξειδοαναγωγής με γειτονικά μόρια (*Gilbert 2000, Halliwell & Gutteridge 1990*). Κατά τις αντιδράσεις αυτές όχι μόνο μεταβάλλονται σημαντικά τα γειτονικά μόρια στόχοι, αλλά μερικές φορές μεταβιβάζονται τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια από στόχο σε

στόχο, δημιουργώντας έτσι μία δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ. ελεύθερη ρίζα υπό μορφή αλυσιδωτής αντίδρασης (Halliwell & Gutteridge, 1990).



Εικόνα 13 Η δραστηριότητα της ελεύθερης ρίζας οφείλεται στο ασύζευκτο ηλεκτρόνιο της εξωτερικής στιβάδας

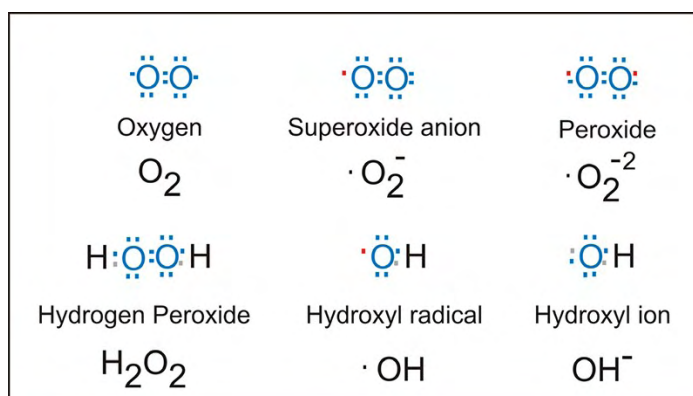
Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο και μερικές φορές το άζωτο (Sengupta et al. 2004; Pani and Galeotti, 2010; AICR, 2007), το θείο (Battin et al., 2009; Pani and Galeotti, 2010) ή τον άνθρακα. Το ίδιο το οξυγόνο που αναπνέουμε αποτελεί μία ελεύθερη ρίζα, αφού περιέχει δύο ασύζευκτα ηλεκτρόνια, που βρίσκονται σε δύο διαφορετικά τροχιακά. Η μορφή όμως αυτή του O_2 , που λέγεται οξυγόνο τριπλής κατάστασης (*triplet state*) και συμβολίζεται με $3O_2$, δεν είναι ιδιαίτερα δραστική. Όμως, είναι δυνατή η ενεργοποίηση του μοριακού οξυγόνου, με αποτέλεσμα τα δύο ηλεκτρόνια να βρεθούν στο ίδιο τροχιακό. Η πολύ δραστική αυτή μορφή οξυγόνου ονομάζεται οξυγόνο μονής κατάστασης (*singlet state*) και συμβολίζεται με 1O_2 . Αν και το οξυγόνο μονής κατάστασης δεν αποτελεί ελεύθερη ρίζα, τα ηλεκτρόνια του βρίσκονται σε διεγερμένη κατάσταση, δηλαδή είναι πολύ δραστικά και ως εκ τούτου μπορεί να προκαλέσουν βλαπτικές αντιδράσεις παρόμοιες με αυτές των ελευθέρων ριζών οξυγόνου



Εικόνα 14 Δημιουργία ελεύθερης ρίζας.

Υπάρχουν πολλοί τύποι ελεύθερων ριζών στο σώμα. Τα τέσσερα ιδιαίτερα βλαβερά είναι :

- Η **ρίζα του υπεροξειδίου** τείνει να προσλαμβάνει το απαραίτητο ηλεκτρόνιο από τα μιτοχόνδρια του κυττάρου. Όταν τα μιτοχόνδρια καταστρέφονται, το κύτταρο χάνει την ικανότητα να παράγει ενέργεια και πεθαίνει.
- Η **ρίζα του υδροξυλίου** μπορεί να αντιδρά με ένζυμα, πρωτεΐνες και λίπη στις κυτταρικές μεμβράνες.
- Η **ρίζα του περοξυλίου λιπιδίων** προκαλεί μια αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξειδωσης των λιπιδίων, η οποία μπορεί να βλάψει την κυτταρική μεμβράνη, προκαλεί την λύση του κυττάρου και ελευθέρωση του περιεχομένου του.
- Το **μονήρες οξυγόνο** δεν είναι ουσιαστικά ελεύθερη ρίζα, αλλά μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή άλλων ελευθέρων ριζών.



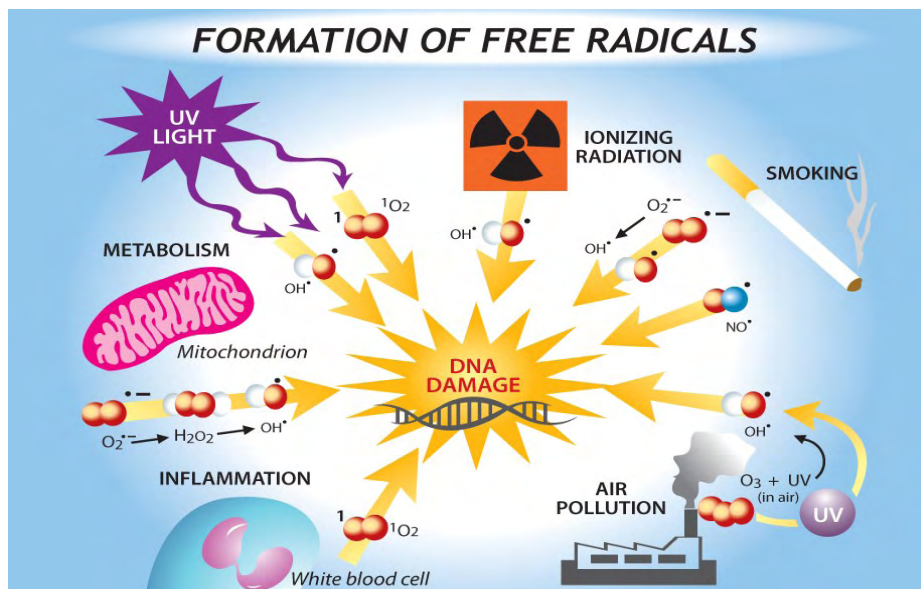
Εικόνα 15 Δραστικές μορφές οξυγόνου.

1.2.4 Πώς παράγονται οι ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι δυνατόν να παραχθούν ενδογενώς στους οργανισμούς καθώς αποτελούν προϊόντα της φυσιολογικής λειτουργίας του μεταβολισμού του κυττάρου. Μάλιστα, εκτός από τις επιβλαβείς συνέπειες που έχουν για το κύτταρο, έχουν σημαντική λειτουργία και στην μεταγωγή σήματος, τόσο ενδοκυτταρικά, όσο και διακυτταρικά. Συγκεκριμένα μπορούν να παραχθούν στους οργανισμούς ως εξής ενδογενώς και εξωγενώς (Battin et al., 2009) :

- κατά τις αντιδράσεις της αναπνευστικής αλυσίδας (στα μιτοχόνδρια)
- προοξειδωτικά ενζυμικά συστήματα
- τη λιπιδική οξείδωση
- την ακτινοβολία
- τη φλεγμονή

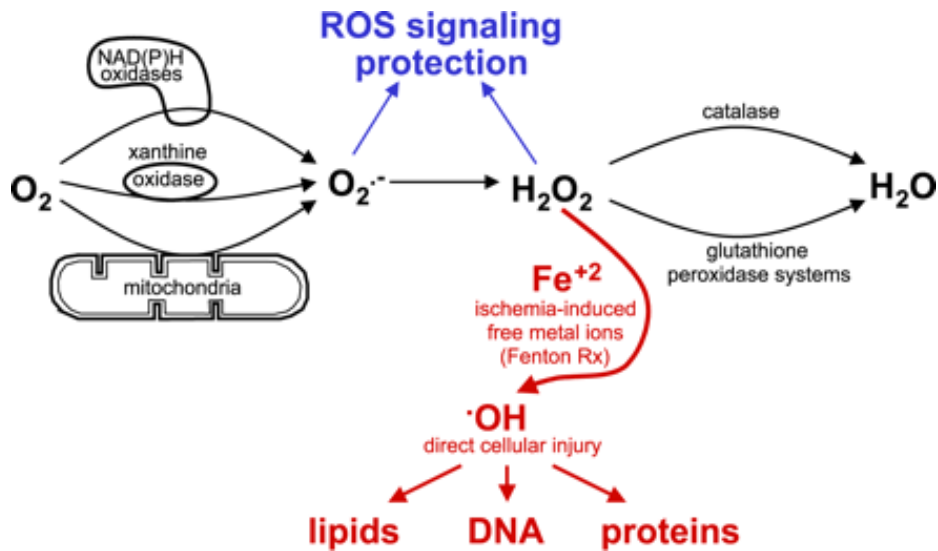
- το κάπνισμα
- την μολυσμένη ατμόσφαιρα, το νέφος (όζον, νιτροξειδία)



Εικόνα 16 Σχηματισμός ελευθέρων ριζών

1.2.5 Επιπτώσεις

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδρούν είτε μεταξύ τους είτε με διάφορα άλλα μόρια τα οποία δεν είναι ρίζες. Όταν αντιδρούν μεταξύ τους οδηγούν στην παραγωγή μιας μη ρίζας. Η μη ρίζα αυτή συνήθως είναι λιγότερο δραστική από εκείνες που οδήγησαν στην παραγωγή της. Όταν οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με μία μη ρίζα, όπως είναι τα περισσότερα βιομόρια (DNA, λιπίδια, πρωτεΐνες), παράγονται νέες ρίζες οι οποίες στην συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με άλλα μόρια και να οδηγήσουν στην παραγωγή νέων ριζών. Η διαδικασία αυτή μπορεί να συνεχιστεί αλυσιδωτά με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό (Halliwell 2001; Halliwell & Gutteridge 1998). Υπό κανονικές συνθήκες περίπου το 5% του εισπνεόμενου οξυγόνου μεταβολίζεται στο νερό μέσω της διαδρομής που φαίνεται στην παρακάτω εικόνα. Το σουπεροξειδίο του οξυγόνου και το υπεροξειδίο του υδρογόνου παράγονται φυσιολογικά και μπορεί να έχουν προστατευτικές δράσεις. Ωστόσο, με την επαναιμάτωση η φυσιολογική ισορροπία χάνεται και ρίζες υδροξυλίου ($\bullet OH$) μπορούν να παραχθούν μέσω της αντίδρασης Fenton (Hess M.L. and Manson N.H. 1984).



Εικόνα 17 Μεταβολισμός οξυγόνου

1.2.5.1 Θετικές επιδράσεις

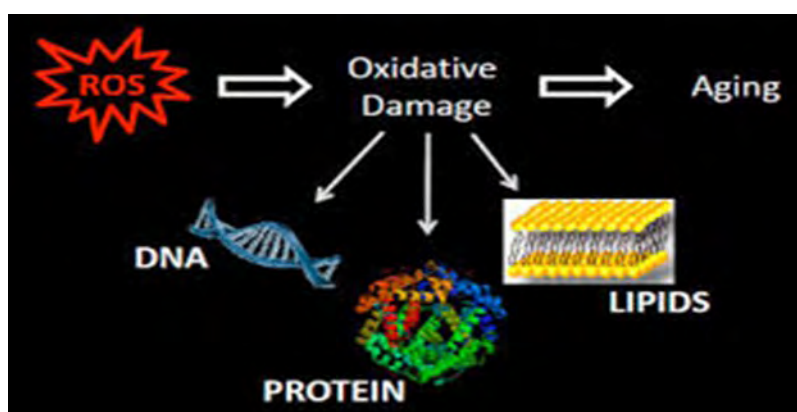
Το οξειδωτικό στρες προκαλεί ποικίλες βλάβες στον οργανισμό, ωστόσο οι δραστικές ρίζες οξυγόνου συμμετέχουν και σε διαδικασίες σημαντικές για την λειτουργία του οργανισμού. Χρησιμοποιούν στην **άμυνα** του οργανισμού απομακρύνοντας αντιγόνα με τη διαδικασία της φαγοκύτωσης, καθώς οι δραστικές ρίζες οξυγόνου ενισχύουν την βακτηριοκτόνο δράση των μακροφάγων. Επιπλέον οι ROS ρυθμίζουν μηχανισμούς που συνδέονται με την **ανοσία**, τον **κυτταρικό πολλαπλασιασμό**, το **μεταβολισμό** (ιδιαίτερα το H_2O_2), την **απόπτωση** και τη **μυϊκή συστολή** (Reid, 2001; Linnane et al., 2002). Αναστολή της παραγωγής ROS οδηγεί σε απώλεια της μυϊκής συστολής ενώ αυξημένη παραγωγής ROS έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μυϊκής κόπωσης. Ακόμα, αιμοπετάλια που βρίσκονται σε περιοχή που έχει υποστεί πληγή απελευθερώνουν ROS τα οποία αποτελούν σήμα για την στρατολόγηση κι άλλων αιμοπεταλίων στην περιοχή καθώς και λευκοκυττάρων. Τέλος, συμμετέχουν και στην διαδικασία της **αγγειογένεσης**.

Είναι πλέον επιστημονικώς αποδεδειγμένο ότι οι ROS μπορούν να χρησιμοποιηθούν και ως **υποστρώματα ενζύμων**, όπως το H_2O_2 χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα για τις υπεροξειδάσες της αίμης που εμπλέκονται στην ιωδίωση των ορμονών του θυρεοειδή αδένου. Η συγκέντρωση του H_2O_2 στον ιστό ποικίλει από 1 έως 700nM. Ωστόσο, διακρίνονται σημαντικές αλλαγές στην συγκέντρωσή του όταν ανταποκρίνεται σε κυτταροκίνες και σε αυξητικούς παράγοντες. Το γεγονός ότι αυτά τα γεγονότα σηματοδότησης αναστέλλονται από υπεροξειδία ή από την υπερέκφραση καταλάσης καθιστά πιθανή την εμπλοκή του H_2O_2 στον καταρράκτη σηματοδότησης. Η σηματοδότηση της ινσουλίνης φαίνεται να περιλαμβάνει H_2O_2 ως μέρος του

μηχανισμού για αναστρέψιμη αδρανοποίηση ορισμένων πρωτεϊνικών φωσφατασών τυροσίνης, την ίδια στιγμή που οι πρωτεϊνικές κινάσες τυροσίνης ενεργοποιούνται μέσω του υποδοχέα ινσουλίνης (John W Baynes and Marek H Dominiczak, 2012).

1.2.5.2 Αρνητικές επιδράσεις

Στα αρνητικά αποτελέσματα των ελεύθερων ριζών οξυγόνου, συγκαταλέγονται η μείωση των αμυντικών συστημάτων του οργανισμού και η οξείδωση μορίων, όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και DNA (Lyras et al, 1977).



Εικόνα 18 Στόχοι ROS,

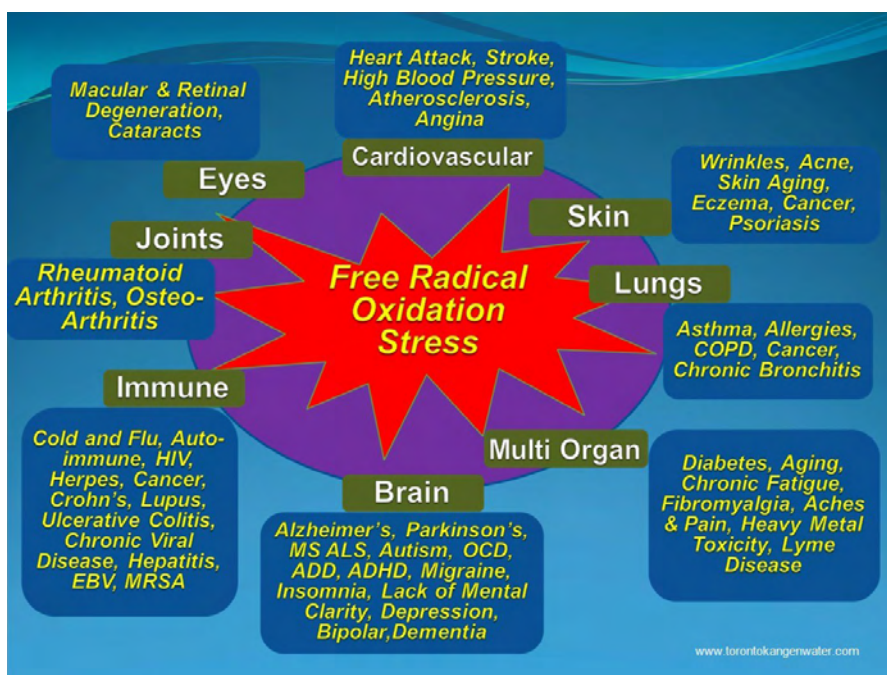
Στα **λιπίδια** οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν υπεροξείδωση που σχετίζεται με τη γήρανση, τον καρκίνο και την αθηροσκλήρυνση. Όλες οι κυτταρικές μεμβράνες είναι ευάλωτες σε οξείδωση εξαιτίας των υψηλών συγκεντρώσεων σε ακόρεστα λιπαρά οξέα. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων συμβαίνει σε τρία στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την επίθεση της ελεύθερης ρίζας, η οποία αποσπά ένα άτομο υδρογόνου από μια ομάδα μεθυλενίου στα λιπίδια. Η παρουσία ενός διπλού δεσμού γειτονικά της ομάδας μεθυλενίου εξασθενεί τον δεσμό μεταξύ των ατόμων υδρογόνου και άνθρακα έτσι ώστε να μπορεί να αποσπαστεί εύκολα από το μόριο. Μετά την απόσπαση του υδρογόνου το λιπαρό οξύ διατηρεί ένα ηλεκτρόνιο και σταθεροποιείται με επαναδιευθέτηση της μοριακής δομής για να σχηματίσει ένα συζυγές διένιο. Όταν το οξυγόνο είναι σε επαρκή ποσότητα στο περιβάλλον, το λιπαρό οξύ θα αντιδράσει με αυτό για να σχηματίσει ROO[•] κατά τη διάρκεια της φάσης πολλαπλασιασμού. Αυτές οι ελεύθερες ρίζες είναι ικανές να αποσπάσουν κι άλλο άτομο υδρογόνου από ένα γειτονικό λιπαρό οξύ, το οποίο οδηγεί ξανά σε παραγωγή ριζών λιπαρών οξέων που υποβάλλονται στις ίδιες διαδικασίες- επαναδιευθέτηση και αλληλεπίδραση με οξυγόνο (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Στις **πρωτεΐνες** που περιέχουν αμινοξέα όπως μεθειονίνη, κυστεΐνη, τρυπτοφάνη, τυροσίνη, φαινυλαλανίνη και ιστιδίνη αντιδρούν πιο εύκολα με ελεύθερες ρίζες με

αποτέλεσμα τη μεταβολή της δομής τους και της λειτουργίας τους. Ανάμεσα στις διάφορες ROS, το OH·, το RO· και οι ενεργές ρίζες αζώτου προκαλούν πρωτεϊνική καταστροφή. Οι πρωτεΐνες υποβάλλονται σε άμεση και έμμεση καταστροφή μετά την αλληλεπίδραση με ROS όπως είναι οι αλλαγές στην τριτοταγή τους δομή, ο εκφυλισμός και ο θρυμματισμός τους. Οι επιπτώσεις της πρωτεϊνικής καταστροφής είναι απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας, αλλαγμένες κυτταρικές λειτουργίες όπως παραγωγή ενέργειας και αλλαγές στον τύπο και στο επίπεδο των κυτταρικών πρωτεϊνών (Davis 1987; Grune et al. 1997; Halliwell and Gutteridge 1999; Levine et al. 2000; Stadtman, 1986)

Στην περίπτωση του DNA, οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν βλάβες τόσο στις βάσεις (πουρίνες, πυριμιδίνες), όσο και στην D-ριβόζη του μορίου, θραύσεις στο DNA, καθώς βλάβη στο σύστημα επιδιόρθωσης του DNA (Ames, 1986; Beckman and Koppenol, 1996; Dizdaroglu and Jaruga et al., 2002q Halliwell, 2001; Halliwell and Gutteridge, 1999; Helbock et al., 1999).

Σε επίπεδο **οργάνων και οργανισμού**, το οξειδωτικό στρες είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με πολλές παθολογικές καταστάσεις, οι οποίες είναι αποτέλεσμα των κυτταρικών επιδράσεων του στρες. Στην παρακάτω εικόνα βλέπουμε αρκετές εξ αυτών:



Εικόνα 19 Ασθένειες που οφείλονται στο οξειδωτικό στρες.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν σημαντικό ρόλο στην σωστή και ομαλή λειτουργία του οργανισμού. Είναι γνωστό ότι έχουν τόσο ευεργετικές όσο και επιβλαβείς συνέπειες για την υγεία. Πρέπει να διατηρείται η ισορροπία των επιπέδων των υπεροξειδίων, καθώς η διατάραξη αυτής θα είχε ως αποτέλεσμα την βλάβη σε κυτταρικό επίπεδο (Craig N. Morell, 2008).

1.2.6 Ασθένειες που σχετίζονται με ελεύθερες ρίζες

Ο κατάλογος των ασθενειών, που σχετίζονται με την παρουσία ελευθέρων ριζών συνεχώς αυξάνεται (Halliwell, 2001). Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν:

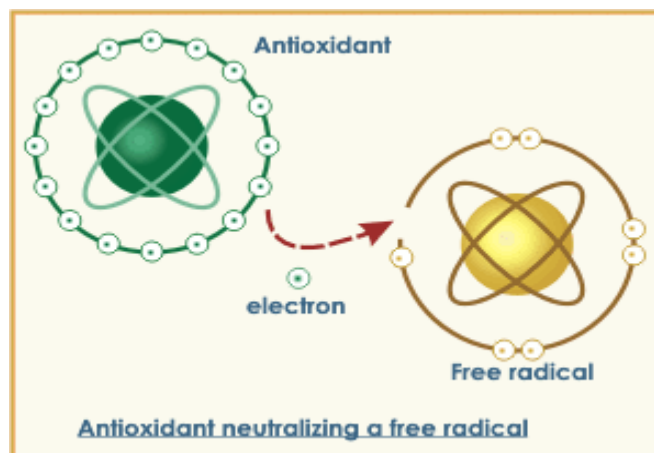
- ο καρκίνος
- οι καρδιαγγειακές παθήσεις
- οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες (Parkinson, Alzheimer, Huntington)
- η αθηροσκλήρυνση
- το AIDS
- η ηπατίτιδα
- και διάφορες αυτοάνοσες ασθένειες όπως ρευματοειδής αρθρίτιδα

Έχει διαπιστωθεί πως το οξειδωτικό στρες εμπλέκεται και στην εμφάνιση πολλών άλλων ασθενειών, δρεπανοκυτταρικής αναιμίας, μυοκαρδιακών βλαβών, σχιζοφρένειας, διπολικής διαταραχής και συνδρόμου εύθραυστου Χ χρωμοσώματος. Τέλος, το οξειδωτικό στρες φαίνεται ότι κρύβεται πίσω από το σύνδρομο της χρόνιας κοπώσεως (B.N. Ames et al., 1993, Cooke et al., 2003).

1.2.7 Αντιοξειδωτικά

1.2.7.1 Ορισμός

Ως αντιοξειδωτικός παράγοντας, ορίζεται μια ουσία η οποία όταν βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες ενός προς οξείδωση υποστρώματος επιβραδύνει ή εμποδίζει την οξείδωση αυτού του υποστρώματος (Halliwell B, 2001). Τα αντιοξειδωτικά δρουν δανείζοντας ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο στις ελεύθερες ρίζες. Οι αντιοξειδωτικές ουσίες παρέχουν μία θωράκιση στο σώμα μας (μία δηλαδή αντιοξειδωτική προστασία). Οι μηχανισμοί δράσης των αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι ενζυμικοί ή μη ενζυμικοί.



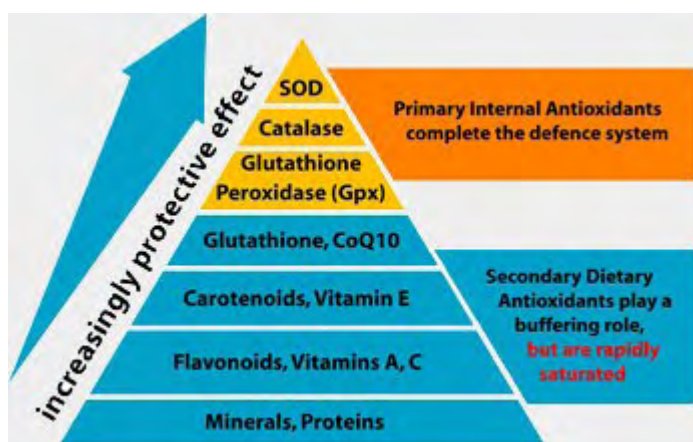
Εικόνα 20 Μηχανισμός δράσης αντιοξειδωτικών

Στα αντιοξειδωτικά με **ενζυμικούς** μηχανισμούς δράσεις περιλαμβάνονται ενδογενή ένζυμα όπως : η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), η καταλάση (CAT), η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX) και η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR).

Στα αντιοξειδωτικά που δρουν με **μη ενζυμικούς** μηχανισμούς ανήκουν μόρια τα οποία έχουν αντιοξειδωτικές ικανότητες όπως : η βιταμίνη E, η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ, β'-καροτίνη, η γλουταθειόνη, το συνένζυμο Q-10(σαρδέλα, σόγια) και το σελήνιο.

1.2.7.2 Ρόλος αντιοξειδωτικών

- Προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, και συνεπώς το κύτταρο, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.
- Ασκούν αντικαρκινική δράση : Μπλοκάρουν ή εμποδίζουν την προσκόλληση επικίνδυνων ενζύμων στους ιστούς, αδρανοποιούν καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν μεταλλάξεις σε υγιή κύτταρα κι επιβραδύνουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης.
- Διατηρούν το δέρμα ελαστικό και το προφυλάσσουν από την πρόωρη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου.
- Δρουν καρδιοπροστατευτικά
- Δρουν αντιαλλεργικά σε μεγάλο φάσμα αλλεργιών.



Εικόνα 21 Κατάταξη με βάση τη σημαντικότητα αντιοξειδωτικών

1.3 Εγκεφαλική βλάβη

Με τον όρο “*εγκεφαλικές βλάβες*“, εννοούμε κάθε μορφής καταστροφή οποιουδήποτε τμήματος του εγκεφάλου. Αυτή η βλάβη, μπορεί να οφείλεται σε τραύμα ή σε οποιαδήποτε ασθένεια που θα προκαλούσε φλεγμονή, δυσλειτουργία ή καταστροφή εγκεφαλικών κυττάρων ή εγκεφαλικού ιστού.

Μια τέτοια βλάβη, θα μπορούσε να ήταν εντοπισμένη σε κάποιο τμήμα του εγκεφάλου ή να ήταν και εξαπλωμένη σε όλο τον εγκέφαλο. Η αρχική βλάβη, θα μπορούσε να ήταν τόσο μικρή, ώστε να μην προκαλεί αρχικά συμπτώματα αλλά, καθώς εξελισσόταν, με την πάροδο του χρόνου, να προκαλεί εμφανείς σωματικές και νοητικές αλλαγές. Τέλος, μία εγκεφαλική βλάβη, θα μπορούσε να αφορά άμεσα, είτε τους νευρώνες (τα κυρίως κύτταρα του νευρικού συστήματος, που επιτελούν τις λειτουργίες του), είτε τα κύτταρα της νευρογλοίας (δηλαδή του ιστού που στηρίζει, απομονώνει και συμβάλλει στην θρέψη των νευρώνων). (Headway Brain Injury Services and Support).

1.3.1 Τι μπορεί να προκαλέσει εγκεφαλικές βλάβες.

- **Τραυματισμός**
- **Φλεγμονή:** Κάθε φλεγμονή εντός του εγκεφάλου, μπορεί να επηρεάσει την λειτουργία του. Μπορεί να οφείλεται σε λοιμώξεις, με αποτέλεσμα μηνιγγίτιδα ή εγκεφαλίτιδα, ή σε άλλες λοιμώξεις, οι οποίες προκαλούν διακριτές βλάβες εντός του εγκεφαλικού ιστού, όπως είναι η νευροκυστικέρκωση, η οποία οφείλεται σε ένα παράσιτο το οποίο προκαλεί μικρές περιοχές εναπόθεσης ασβεστίου, προκαλώντας έτσι επιληψία. Άλλες λοιμώξεις, τέλος μπορεί να προκαλέσουν τον σχηματισμό αποστημάτων.
- **Φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες ασθένειες:** Σ’ αυτές περιλαμβάνονται η σαρκοείδωση, η αμυλοείδωση, η φλεγμονώδης νόσος του παχέος εντέρου και η ρευματοειδής αρθρίτιδα.
- **Ορισμένες ασθένειες,** επηρεάζουν μόνον συγκεκριμένα κύτταρα του εγκεφάλου. Για παράδειγμα, η σκλήρυνση κατά πλάκας καταστρέφει τα κύτταρα της νευρογλοίας, τα οποία μονώνουν τα νευρικά κύτταρα. Χωρίς αυτή τη μόνωση πλέον, η μετάδοση των ηλεκτρικών σημάτων διαταράσσεται, με αποτέλεσμα την εμφάνιση συμπτωμάτων. Η νόσος του Αλτσχάιμερ, καθώς και άλλες μορφές άνοιας, εμφανίζονται όταν προσβάλλονται και καταστρέφονται πρόωρα τα νευρικά κύτταρα.
- **Ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή εγκεφαλικό έμφραγμα:** Είναι μία κατάσταση, κατά την οποία διακόπτεται η παροχή αίματος σε τμήμα του εγκεφάλου, οπότε εγκέφαλος παύει να λειτουργεί φυσιολογικά. Υπάρχουν πολλοί λόγοι που μπορεί να μειώσουν την παροχή αίματος στον εγκέφαλο. Μπορεί να οφείλεται σε βαθμιαία στένωση μιας αρτηρίας που παρέχει αίμα σε

κάποια περιοχή του εγκεφάλου, ή από κάποιο πήγμα αίματος (θρόμβο), που ξεκίνησε από άλλη περιοχή του σώματος.

- **Αιμορραγία:** Μπορεί να προέλθει από ρήξη εγκεφαλικού ανευρύσματος, αρτηριοφλεβώδους δυσπλασίας, ή μη ελεγχόμενης υπέρτασης.
- **Όγκοι:** Μπορεί να προέρχονται, είτε από κύτταρα του εγκεφάλου, είτε να είναι μεταστατικοί από άλλα όργανα. Μπορεί να είναι καλοήθεις ή κακοήθεις. Συνήθεις όγκοι που προέρχονται από κύτταρα του εγκεφάλου, είναι τα μηνιγγιώματα, τα αδενώματα και τα γλοιώματα.
- **Αδενώματα της υπόφυσης:** Είναι συχνοί καλοήθεις όγκοι, οι οποίοι αναπτύσσονται από την υπόφυση. Επειδή η περιοχή αυτή γειτονεύει άμεσα με το οπτικό νεύρο, μπορεί να προκληθούν προβλήματα στην όραση, μέχρι τύφλωση.
- **Πολύμορφο γλοιοβλάστωμα:** Κακοήθης όγκος, αποτελεί τον συχνότερο τύπο αστροκυττώματος, προέρχεται από τα αστροκύτταρα και είναι ένα είδος γλοιώματος.
- **Εγκεφαλική παράλυση:** Είναι μία κατάσταση, κατά την οποία, ο αναπτυσσόμενος εγκέφαλος ενός βρέφους, στερείται το οξυγόνο και αποτυγχάνει να αναπτυχθεί κανονικά. Αυτό μπορεί να συμβεί στη μήτρα, πριν από την γέννηση ή μπορεί να οφείλεται σε τραυματισμό ή ασθένεια κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής. Συχνά, η αιτία μπορεί να είναι μία φλεγμονή ή μία αιμορραγία, όμως, πολλές φορές, δεν ανευρίσκεται ποτέ η αιτία της εγκεφαλικής παράλυσης. (["Birth Hypoxia and Brain Damage to Newborns"](#). Michael E. Duffy. Retrieved 2013-07-27).

1.3.2. Αντίδραση του σώματος στην εγκεφαλική βλάβη

Οι κυτοκίνες είναι γνωστό ότι επάγονται ως απόκριση στην βλάβη του εγκεφάλου. Έχουν ποικίλες δράσεις που μπορούν να προκαλέσουν, επιδείνωση, διαμεσολάβηση και / ή αναστολή της κυτταρικής βλάβης και επισκευή. Ο TGFβ φαίνεται να ασκεί κατά κύριο λόγο νευροπροστατευτική δράση, ενώ ο TNFα μπορεί να συμβάλει στη νευρωνική βλάβη και να ασκεί προστατευτική δράση. Η IL-1 διαμεσολαβεί στην ισχαιμική, διεγερτοτοξική, και τραυματική εγκεφαλική βλάβη, πιθανόν μέσω πολλαπλών δράσεων στην νευρογλοία, τους νευρώνες, και το αγγειακό σύστημα. Οι κυτοκίνες μπορεί να είναι χρήσιμο εργαλείο για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών στρατηγικών. Αυτήν τη στιγμή, βρίσκονται ήδη σε κλινικές δοκιμές.

1.4 Εγκεφαλικό επεισόδιο

1.4.1 Ορισμός

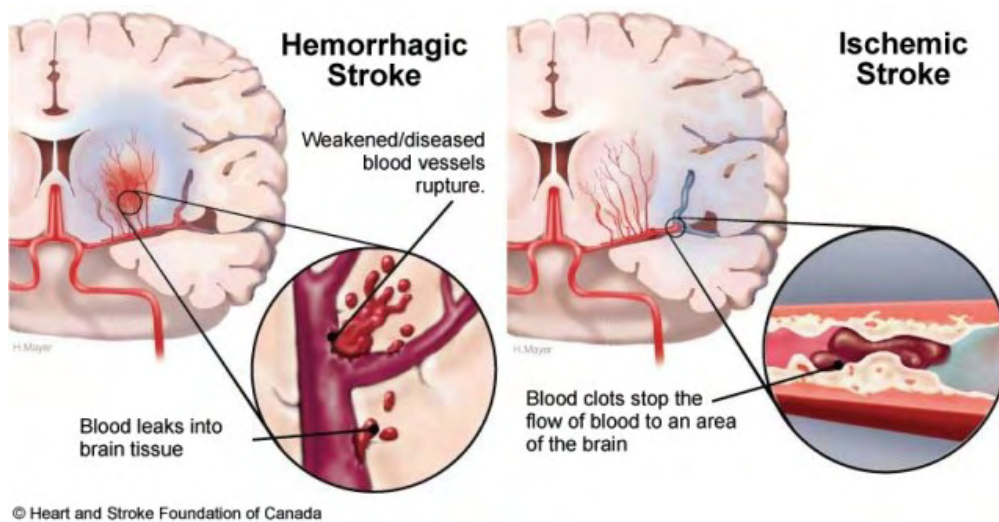
Το εγκεφαλικό επεισόδιο, επίσης γνωστό και ως εγκεφαλικό αγγειακό επεισόδιο (CVA), αγγειοεγκεφαλική προσβολή (CVI), ή επίθεση του εγκεφάλου, είναι η βλάβη που προκαλείται όταν η παροχή του αίματος σε μία περιοχή του εγκεφάλου σταματήσει, οπότε τα κύτταρα που δεν παίρνουν οξυγόνο πεθαίνουν. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι εγκεφαλικού επεισοδίου: το **ισχαιμικό**, λόγω έλλειψης της ροής του αίματος, και το **αιμορραγικό**, λόγω αιμορραγίας. Αποτελέσματα αυτών είναι, κάποιο τμήμα του εγκεφάλου να μην λειτουργεί σωστά. (What Is a Stroke?, <http://www.nhlbi.nih.gov>). Τα συμπτώματα ενός εγκεφαλικού επεισοδίου μπορεί να περιλαμβάνουν αδυναμία μετακίνησης ή μη αίσθησης της μίας πλευράς του σώματος, προβλήματα κατανόησης ή ομιλίας, αισθήσεις όπως ότι ο κόσμος γυρίζει, ή χάνεται από τη μία πλευρά. (Donnan GA et.al., Stroke, 2008). Τα συμπτώματα συχνά εμφανίζονται αμέσως μετά το εγκεφαλικό επεισόδιο. Εάν τα συμπτώματα διαρκούν λιγότερο από ένα ή δύο ώρες αυτό είναι γνωστό ως παροδική ισχαιμική προσβολή (TIA). Τα αιμορραγικά εγκεφαλικά επεισόδια μπορούν επίσης να σχετίζονται με σοβαρή κεφαλαλγία. Ένα εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να είναι ελαφρύ ή πολύ σοβαρό και τα αποτελέσματά του προσωρινά ή μόνιμα.. (What Is a Stroke?,<http://www.nhlbi.nih.gov/>). Μακροπρόθεσμες επιπλοκές μπορεί να περιλαμβάνουν πνευμονία ή απώλεια ελέγχου της κύστης. (What Are the Signs and Symptoms of a Stroke?, <http://www.nhlbi.nih.gov>, 2014).

1.4.2 Τύποι εγκεφαλικού επεισοδίου

Αποφρακτικά: 85% των περιπτώσεων.

- από **ισχαιμία** (ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο - ΙΕΕ). Όταν η ροή του αίματος προς τον εγκέφαλο σταματά εξαιτίας της παρουσίας θρόμβου σε ένα αγγείο που έχει υποστεί βλάβη από αρτηριοσκλήρυνση. Το τμήμα του εγκεφάλου που αιματώνεται από την αρτηρία αυτή υπολειτουργεί ή νεκρώνεται, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει σοβαρές μόνιμες αναπηρίες ή θάνατο. Πρόκειται για τη συχνότερη μορφή εγκεφαλικού επεισοδίου.
- από **εμβολή** (εμβολικό εγκεφαλικό επεισόδιο – ΕΕΕ). Απόφραξη της ροής αίματος ενός αγγείου προς τον εγκέφαλο, από θρόμβο που δημιουργείται σε άλλο σημείο του σώματος, συχνότερα στην καρδιά. Όπως και στο ΙΕΕ, τα νευρολογικά συμπτώματα οφείλονται στην ανεπαρκή αιμάτωση μιας περιοχής του εγκεφάλου.

Αιμορραγικά: 15% των περιπτώσεων (αιμορραγικό εγκεφαλικό επεισόδιο – ΑΕΕ). Όταν ένα αγγείο εντός ή εκτός του εγκεφάλου ρήγνυται, επιτρέποντας στο αίμα να διαφύγει στο εσωτερικό του κρανίου (εγκεφαλική αιμορραγία) και να σχηματίσει αιμάτωμα. Η ανεξέλεγκτη υπέρταση αποτελεί πολύ συχνά το αίτιο αυτής της κατάστασης. Τα νευρολογικά συμπτώματα συχνά οφείλονται στη μηχανική πίεση που ασκείται από το αιμάτωμα στους παρακείμενους ιστούς του εγκεφάλου και είναι δυνατόν να υποχωρήσουν εάν το αιμάτωμα αφαιρεθεί χειρουργικά ή απορροφηθεί. ("Brain Basics: Preventing Stroke". National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Retrieved 2009.)



Εικόνα 22 Αιμορραγικό και Ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο.


1.4.3 Αίτια

Άτομα προχωρημένης ηλικίας, οι άνδρες πιο συχνά από τις γυναίκες και άτομα με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου. Άλλοι παράγοντες που αυξάνουν την πιθανότητα να συμβεί εγκεφαλικό επεισόδιο αλλά μπορούν να αντιμετωπιστούν ή να τροποποιηθούν είναι:

- **Υπέρταση.** Ο σπουδαιότερος παράγοντας στην πρόληψη των εγκεφαλικών είναι η ορθή θεραπεία την αρτηριακής υπέρτασης. Είναι ο ισχυρότερος ανεξάρτητος παράγοντας για την πρόκληση τόσο των ισχαιμικών όσο και των αιμορραγικών εγκεφαλικών επεισοδίων. Ένας άνθρωπος 50 ετών με υπέρταση έχει τετραπλάσιο κίνδυνο να πάθει εγκεφαλικό τα επόμενα χρόνια από αυτόν που δεν έχει. Έχει αποδειχθεί ότι η θεραπεία της υπέρτασης μειώνει τα εγκεφαλικά κατά 38% τουλάχιστον. Η αντιυπερτασική θεραπεία θα πρέπει να

συνιστάται μόνο από ειδικό γιατρό που θα κρίνει ποιο φάρμακο και σε ποια δόση είναι κατάλληλο για τον συγκεκριμένο ασθενή. Οι συνηθέστερες κατηγορίες φαρμάκων είναι τα διουρητικά, οι αναστολείς των β-αδρενεργικών υποδοχέων, οι ανταγωνιστές ασβεστίου, οι ανταγωνιστές της αγγειοτενσίνης II και οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου. Τον Οκτώβριο του 2003 δημοσιεύτηκε μελέτη 6105 ασθενών από 10 χώρες στο έγκυρο αμερικανικό περιοδικό STROKE, που αποδείκνυε μεταξύ άλλων, οφέλη που είχαν ασθενείς που είχαν υποστεί ΑΕΕ όταν λάμβαναν αντιυπερτασική θεραπεία βασισμένη στον αναστολέα του μετατρεπτικού ενζύμου περινδοπρίλη ή και συνδυασμό της με το διουρητικό ινδαπαμίδη.

- **Καρδιακή και αγγειακή νόσος.** Η συχνότερη καρδιακή πάθηση που προκαλεί ισχαιμικά εγκεφαλικά είναι η αρρυθμία που λέγεται κολπική μαρμαρυγή. Είναι ο δεύτερος στη σειρά παράγων κινδύνου εγκεφαλικών μετά την υπέρταση. Περίπου 0.4% του γενικού πληθυσμού έχει κολπική μαρμαρυγή, η συχνότητά της αυξάνεται με την ηλικία. Τα μισά θρομβοεμβολικά εγκεφαλικά οφείλονται στην αρρυθμία αυτή. Επίσης η ασυμπτωματική στένωση της καρωτίδας, που σημαίνει στένωση πάνω από 50% της καρωτίδας και που δεν έχει εκδηλώσει συμπτώματα, απαντάται περίπου στο 5 έως και 9% των ανθρώπων ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών. Τα άτομα αυτά έχουν κίνδυνο να πάθουν ισχαιμικό εγκεφαλικό με συχνότητα 1-2% κάθε χρόνο. Άλλες καρδιακές παθήσεις όπως έμφραγμα μυοκαρδίου, παθήσεις των βαλβίδων, η διατακτική μυοκαρδιοπάθεια κλπ, αποτελούν επίσης σημαντικούς παράγοντες κινδύνου εγκεφαλικών. Η συμβολή του καρδιολόγου είναι απαραίτητη στην θεραπεία αυτών των παθήσεων.
- **Ιστορικό παροδικού ισχαιμικού επεισοδίου.** Παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο ονομάζεται η προσωρινή διακοπή της αιματικής ροής σε ένα σημείο του εγκεφάλου. Μπορεί να έχει διάρκεια μερικών δευτερολέπτων ή μερικών ωρών, συνήθως όμως διαρκεί λιγότερο από 24 ώρες. Αποτελεί ένα σημαντικό προειδοποιητικό σημείο ενός μελλοντικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Είναι ένδειξη ότι η αιματική ροή προς τον εγκέφαλο είναι διαταραγμένη.
- **Διαβήτης.** Η ύπαρξη σακχαρώδους διαβήτη αυξάνει το σχετικό κίνδυνο ισχαιμικού εγκεφαλικού μέχρι και 6 φορές. Ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος όταν ο διαβήτης συνυπάρχει με υπέρταση.
- **Χοληστερόλη.** Η αύξηση της χοληστερόλης είναι σημαντικός παράγων κινδύνου στεφανιαίας νόσου αλλά αμφισβητούμενος μέχρι πρόσφατα για την εκδήλωση γενικά εγκεφαλικών επεισοδίων. Σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιοπάθεια που έχουν και αυξημένη χοληστερόλη, η χορήγηση αντιχοληστερινικών φαρμάκων (στατινών) μειώνει τα εγκεφαλικά κατά μέσο όρο 23%.
- **Κάπνισμα.** Το κάπνισμα θεωρείται σημαντικός παράγων κινδύνου εκδήλωσης εγκεφαλικού, καθ' όσον διπλασιάζει τη πιθανότητα της πάθησης.



Stroke Risk Scorecard

Each box that applies to you equals 1 point. Total your score at the bottom of each column and compare with the stroke risk levels on the back.

RISK FACTOR	HIGH RISK	CAUTION	LOW RISK
Blood Pressure	<input type="checkbox"/> >140/90 or unknown	<input type="checkbox"/> 120-139/80-89	<input type="checkbox"/> <120/80
Atrial Fibrillation	<input type="checkbox"/> Irregular heartbeat	<input type="checkbox"/> I don't know	<input type="checkbox"/> Regular heartbeat
Smoking	<input type="checkbox"/> Smoker	<input type="checkbox"/> Trying to quit	<input type="checkbox"/> Nonsmoker
Cholesterol	<input type="checkbox"/> >240 or unknown	<input type="checkbox"/> 200-239	<input type="checkbox"/> <200
Diabetes	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> Borderline	<input type="checkbox"/> No
Exercise	<input type="checkbox"/> Couch potato	<input type="checkbox"/> Some exercise	<input type="checkbox"/> Regular exercise
Diet	<input type="checkbox"/> Overweight	<input type="checkbox"/> Slightly overweight	<input type="checkbox"/> Healthy weight
Stroke in Family	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> Not sure	<input type="checkbox"/> No
TOTAL SCORE	<input type="checkbox"/> High Risk	<input type="checkbox"/> Caution	<input type="checkbox"/> Low Risk

Εικόνα 23 Παράγοντες κινδύνου εγκεφαλικού.

1.4.4 Συμπτώματα

- Αδυναμία, μούδιασμα, παράλυση σε ένα μέρος του σώματος (πρόσωπο, χέρια, πόδια)
- Δυσκολίες ομιλίας, κατανόησης, σύγχυση
- Δυσκολίες όρασης (απώλεια ή μείωση της όρασης στο ένα ή και στα δύο μάτια)
- Ζαλάδες, απώλεια ισορροπίας, δυσκολίες βαδίσματος, απώλεια συντονισμού των κινήσεων
- Έντονος επίπονος πονοκέφαλος που εμφανίζεται ξαφνικά χωρίς να υπάρχει γνωστή αιτία
- Ημιπληγία (όταν παραλύει η μια πλευρά του σώματος)
- Δυσκολία στην κίνηση της γλώσσας
- Έντονη όσφρηση καμένου

1.4.5 Διάγνωση

Ένα εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να διαγνωσθεί με διάφορες τεχνικές.

- Εξετάσεις αίματος
- Νευρολογική εξέταση
- Εξετάσεις απεικόνισης (Μαγνητική ή Αξονική τομογραφία)

Αλλά η καλύτερη διάγνωση μπορεί να γίνει μόνο με αξονική τομογραφία ή μαγνητική τομογραφία. Για τον εντοπισμό αιμορραγιών στον εγκέφαλο, η μαγνητική τομογραφία προτιμάται καθώς επιτυγχάνει μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας στο να εντοπίσει κάποια αιμορραγία στον εγκέφαλο. (Hill MD et.al. 2005).

1.4.6 Θεραπεία

Η θεραπευτική αντιμετώπιση των εγκεφαλικών επεισοδίων δεν έχει σήμερα ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πράγματι για τα εγκεφαλικά επεισόδια αποφρακτικού τύπου, υπάρχει το φάρμακο tPA το οποίο μπορεί να διαλύει τον θρόμβο που σχηματίζεται και αποφράσσει ζωτικά αγγεία που τροφοδοτούν τον εγκέφαλο με αίμα. Τα εγκεφαλικά αγγειακά επεισόδια ανήκουν σε δύο κατηγορίες. Τα αποφρακτικά οφείλονται στο κλείσιμο μιας αρτηρίας ενώ τα αιμορραγικά οφείλονται σε αιμάτωμα λόγω ρήξης αγγείων.

Μια νέα μέθοδος βασίζεται στην αξονική τομογραφία διάχυσης και στην αγγειογραφία που γίνεται με τον αξονικό τομογράφο.

Η αξονική τομογραφία διάχυσης είναι πολύ καλή και ακριβής μέθοδος για την μέτρηση της ροής αίματος στον εγκέφαλο. Βοηθά ουσιαστικά στον καθορισμό των ασθενών που θα επωφεληθούν ή όχι από τη θρομβολυτική θεραπεία με το tPA.

Η μέθοδος βοηθά τους γιατρούς να υπολογίσουν ποια τμήματα του εγκεφάλου του ασθενούς είναι νεκρά και ποια υποφέρουν, χρειάζονται άμεσα βοήθεια διότι διαφορετικά θα νεκρωθούν. Αφού υπολογίσουν το ποσοστό των περιοχών που έχουν νεκρωθεί και αυτών που μπορούν να επωφεληθούν ακόμη από τη θεραπεία, οι γιατροί αποφασίζουν ποια μέθοδο θα χρησιμοποιήσουν για την αφαίρεση της απόφραξης των εγκεφαλικών αγγείων.

1.5 Επιδημιολογία

Το εγκεφαλικό επεισόδιο ήταν η δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου σε παγκόσμιο επίπεδο το 2011, αντιπροσωπεύοντας τους 6,2 εκατομμύρια θανάτους (~ 11% του συνόλου). ("The top 10 causes of death". WHO). Περίπου 17 εκατομμύρια άνθρωποι

είχαν υποστεί εγκεφαλικό επεισόδιο το 2010 και 33 εκατομμύρια άνθρωποι, οι οποίοι είχαν ήδη υποστεί εγκεφαλικό επεισόδιο ήταν ακόμα ζωντανοί. Μεταξύ 1990 και 2010 ο αριθμός των εγκεφαλικών επεισοδίων μειώθηκε περίπου κατά 10% στον ανεπτυγμένο κόσμο και αυξήθηκε κατά 10% στον αναπτυσσόμενο κόσμο. Ενώ, τα δύο τρίτα των εγκεφαλικών επεισοδίων διαγνώστηκαν σε άτομα άνω των 65 ετών. (Feigin VL et. al., 2014). Οι κάτοικοι της Νότιας Ασίας βρίσκονται σε ιδιαίτερα υψηλό κίνδυνο για εγκεφαλικά επεισόδια, αντιπροσωπεύοντας το 40% των παγκόσμιων θανάτων από εγκεφαλικό επεισόδιο. (Indian Heart Association Why South Asians Facts , 2015).

Το εγκεφαλικό επεισόδιο κατατάσσεται μετά τις καρδιακές παθήσεις και πριν από τον καρκίνο. (Donnan GA, 2008). Στις Ηνωμένες Πολιτείες το εγκεφαλικό επεισόδιο είναι η κύρια αιτία της αναπηρίας, και πρόσφατα μειώθηκε από την τρίτη που οδηγεί στην τέταρτη κύρια αιτία θανάτου. (Towfighi A et. Al. , 2011).

Η συχνότητα εμφάνισης εγκεφαλικού επεισοδίου αυξάνει εκθετικά από το 30ο έτος της ηλικίας, και η αιτιολογία ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία. (Ellekjaer H, et.al. 1997.) Η προχωρημένη ηλικία είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο. Το 95% των εγκεφαλικών επεισοδίων συμβαίνουν σε άτομα ηλικίας 45 ετών και άνω, και τα δύο τρίτα των εγκεφαλικών επεισοδίων συμβαίνουν σε άτομα ηλικίας άνω των 65 ετών (National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), 1999), (Enelick Richard C. Et.al ,1994). Ο κίνδυνος ενός ατόμου να πεθάνει, αν έχει ένα εγκεφαλικό επεισόδιο αυξάνεται επίσης με την ηλικία . Ωστόσο, εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία, ακόμη και στην παιδική.

Τα μέλη μιας οικογένειας μπορεί να έχουν, γενετική τάση για εγκεφαλικό επεισόδιο ή έναν κοινό τρόπο ζωής που συμβάλλει σε αυτό. Τα υψηλότερα επίπεδα του παράγοντα von Willebrand είναι πιο συχνά μεταξύ των ατόμων που έχουν υποστεί ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο για πρώτη φορά. (Ellekjaer H, et.al. 1997.) Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης απέδειξαν ότι ο μόνος σημαντικός γενετικός παράγοντας ήταν ο τύπος αίματος του ατόμου. Έχοντας υποστεί εγκεφαλικό επεισόδιο ένα άτομο στο παρελθόν αυξάνεται σημαντικά ο κίνδυνος για μελλοντικά εγκεφαλικά επεισόδια.

Οι άνδρες έχουν 25% περισσότερες πιθανότητες να υποστούν εγκεφαλικά επεισόδια από τις γυναίκες (National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), 1999), αλλά το 60% των θανάτων από εγκεφαλικό επεισόδιο συμβαίνουν σε γυναίκες. (Villarosa, et.al, 1993). Επειδή οι γυναίκες ζουν περισσότερο, είναι μεγάλες ηλικιακά, κατά μέσο όρο, όταν έχουν εγκεφαλικά επεισόδια και έτσι πεθαίνουν πιο συχνά. (National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), 1999). Ορισμένοι παράγοντες κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο ισχύουν μόνο για τις γυναίκες, μεταξύ αυτών είναι η εγκυμοσύνη, ο τοκετός και η εμμηνόπαυση.

1.6 Ιστορική αναδρομή

Επεισόδια εγκεφαλικού έχουν αναφερθεί από τη 2η χιλιετία π.Χ. στην αρχαία Μεσοποταμία και την Περσία. (Ashrafian H , 2010). Ο Ιπποκράτης (460-370 π.Χ.) ήταν ο πρώτος ο οποίος, περιέγραψε το φαινόμενο της αιφνίδιας παράλυσης που συχνά σχετίζεται με ισχαιμία. Η αποπληξία, από την ελληνική λέξη που σημαίνει "χτύπησε κάτω με τη βία», εμφανίστηκε για πρώτη φορά στα γραπτά του Ιπποκράτη, και χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει το φαινόμενο αυτό. (Thompson JE, 1996), (Kopito, Jeff, 2001). Η λέξη εγκεφαλικό επεισόδιο χρησιμοποιείται ως συνώνυμο για αποπληκτική κατάσχεση ήδη από το 1599, (R. Barnhart, 1995) και είναι μια αρκετά κυριολεκτική μετάφραση του ελληνικού όρου.

Το 1658, στην αποπληξία του, ο Johann Jacob Wepfer (1620-1695) προσδιόρισε την αιτία του αιμορραγικού εγκεφαλικού επεισοδίου όταν πρότεινε, ότι οι άνθρωποι που είχαν πεθάνει από αποπληξία είχαν αιμορραγία στον εγκέφαλό τους (National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), 1999), (Thompson JE, 1996). Ο Wepfer προσδιόρισε επίσης τις κύριες αρτηρίες που τροφοδοτούν τον εγκέφαλο, την σπονδυλική και τις καρωτιδικές αρτηρίες, και προσδιόρισε την αιτία ενός τύπου ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, γνωστό ως εγκεφαλικό έμφραγμα όταν πρότεινε ότι αποπληξία μπορεί να προκληθεί από μια απόφραξη σε αυτές τις αρτηρίες. (National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS), 1999). Ο Rudolf Virchow περιέγραψε πρώτος τον μηχανισμό της θρομβοεμβολής ως έναν σημαντικό παράγοντα (Schiller F, 1970).

Ο όρος αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο εισήχθη το 1927, αντικατοπτρίζοντας μια "αυξανόμενη συνειδητοποίηση και αποδοχή των αγγειακών θεωριών και (...) την αναγνώριση των συνεπειών της αιφνίδιας διακοπής στην αγγειακή παροχή του εγκεφάλου». (Stanley et.al., 2010). Η χρήση του τώρα αποθαρρύνεται από μια σειρά εγχειριδίων νευρολογίας.

Ο όρος επίθεση εγκεφάλου, εισήχθη για να υπογραμμίσει την οξεία φύση του εγκεφαλικού επεισοδίου, σύμφωνα με την Αμερικανική Ένωση Stroke, (*Mosby's Medical Dictionary, 8th edition*. Elsevier. 2009).

1.7 Συσχετισμός Συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης και εγκεφαλικού επεισοδίου

Η φλεγμονώδης διεργασία παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και την ανάπτυξη ισχαιμικών αγγειακών εγκεφαλικών νόσων. Στοιχεία έχουν δείξει ότι με τη συχνότητα της ισχαιμίας, παρατηρείται επίσης μία φλεγμονώδης απόκριση, και συμμετέχει στον τραυματισμό και την επισκευή των ιστών του εγκεφάλου. Ο καταρράκτης αντιδράσεων της φλεγμονώδους απάντησης που επάγεται μετά από εγκεφαλικό έμφραγμα, αποτελεί ένα σημαντικό παθοφυσιολογικό μηχανισμό του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (Zierath D. Et.al, 2010), (Nakase T. et.al, 2008), (Wang Q, et.al., 2007). Η οξεία φάση της μετα-εγκεφαλικού φλεγμονώδους απόκρισης, αποτελεί αντανακλαστικό και μη ειδική συστηματική φλεγμονώδη απόκριση, η οποία συνοδεύεται από τη συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων, την απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτοκινών, την επαγωγή έκφρασης μορίων προσκόλλησης λευκοκυττάρων, και την μετανάστευση των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων σε περιοχές της βλάβης του ιστού. Επιπλέον, ορισμένοι περιφερειακοί φλεγμονώδεις δείκτες αλλάζουν σημαντικά, για παράδειγμα, υπάρχει αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων, της ιντερλευκίνης-6 του ορού και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) (ShenharTsarfaty S et.al, 2008), (McCull BW, et.al., 2007), (Sotgiu S. et.al, 2006). Βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις μπορούν να προκαλέσουν ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Επιπλέον, εγκεφαλικό επεισόδιο, ειδικά ένα σοβαρό εγκεφαλικό επεισόδιο, συχνά εμπλέκεται με μολύνσεις του πνευμονικού ή του ουροποιητικού συστήματος. Βακτηριακή λοίμωξη είναι πιθανό να επιδεινώσει την φλεγμονώδη αντίδραση και να αυξήσει την εγκεφαλική βλάβη των ιστών. Μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι η μόλυνση και ο πυρετός έχουν σημαντική συσχέτιση με την κακή πρόγνωση για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (Harms H. et.al, 2008), (Schwarz S, et.al, 2008). Πρόληψη και θεραπεία των βακτηριακών μολύνσεων, που μειώνουν τη θερμοκρασία του σώματος και ελέγχουν την φλεγμονώδη απόκριση έχουν γίνει στρατηγικές θεραπείας για την οξεία φάση του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, λίγα είναι γνωστά για τις αιτίες της πρόωρης συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης σε ένα ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, και για τις δυναμικές αλλαγές των περισσότερων δεικτών φλεγμονής στην οξεία φάση του εγκεφαλικού επεισοδίου.

Ο Lichao ye και οι συνεργάτες του (LICHAO YE, et.al., 2015) μελέτησαν, τις δυναμικές αλλαγές των φλεγμονωδών δεικτών, όπως της θερμοκρασίας του σώματος, τον περιφερικό αριθμό των λευκοκυττάρων του αίματος και τα επίπεδα της υψηλής ευαισθησίας (hs)-CRP του ορού, που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με οξεία εγκεφαλική απόφραξη, με σκοπό την αξιολόγηση των παρακάτω υποθέσεων: Συστημική φλεγμονώδης απόκριση κατά το μετά-εγκεφαλικό επεισόδιο συμβαίνει κυρίως λόγω της νέκρωσης του εγκεφαλικού ιστού, παρά λόγω κρυπτογενών μολύνσεων. Επιτυχής θρομβολυτική αγωγή μπορεί να μειώσει την νέκρωση των ιστών του εγκεφάλου και της φλεγμονώδους απόκρισης, με αποτέλεσμα μια προηγούμενη επιστροφή των φλεγμονωδών δεικτών στα φυσιολογικά τους εύρη.

Στην μελέτη τους αναφέρεται πως το εγκεφαλικό επεισόδιο, επάγει το σώμα να παράγει μία φλεγμονώδη απόκριση έναντι της βλάβης του εγκεφαλικού ιστού. Το οξύ ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, το οποίο συμβαίνει λόγω της διακοπής της περιφερειακής εγκεφαλικής αιματικής ροής, της επαναιμάτωσης και της καταστροφής του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, προκαλεί την μετανάστευση των περιφερικών λευκών αιμοσφαιρίων και την διείσδυση τους, στον εγκέφαλο, όπου ενεργοποιούν την μικρογλοία, ξεκινούν έναν καταρράκτη φλεγμονώδους αντίδρασης, απελευθερώνουν μια σειρά φλεγμονωδών δεικτών και αυξάνουν τη βλάβη του εγκεφάλου. Αυτή η φλεγμονώδης απόκριση δεν περιορίζεται στον τοπικό ιστό του εγκεφάλου στα πρώτα στάδια, αλλά είναι μια γενική, μη-ειδική και συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση. Βιολογικοί δείκτες, όπως η θερμοκρασία και η πίεση του αίματος, και φυσιολογικές παράμετροι, όπως τα περιφερικά λευκοκύτταρα του αίματος, η CRP και η ιντερλευκίνη-6, είναι σημαντικοί δείκτες της συστημικής φλεγμονώδους απόκρισης (ShenharTsarfaty S et.al, 2008), (McCull BW, et.al., 2007), (Sotgiu S. et.al, 2006). Μετά από ένα εγκεφαλικό επεισόδιο, ο πυρετός είναι ένα κοινό κλινικό φαινόμενο, το οποίο μπορεί να μην είναι μόνο η πρόωρη συστημική φλεγμονώδης απόκριση έναντι του νεκρωτικού εγκεφαλικού ιστού, αλλά επίσης να προκαλείται από τη βαθιά μόλυνση, τη φλεβική θρόμβωση και άλλες επιπλοκές. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ανύψωση της θερμοκρασίας του σώματος συνδέεται με την κλινική σοβαρότητα και την πρόγνωση του εγκεφαλικού επεισοδίου (Naess H. et.al., 2010), (Saini M., et.al, 2009), (Greer DM., et.al, 2008). Η αυξημένη θερμοκρασία σώματος είναι επίσης ένας παράγοντας κινδύνου για τον αιμορραγικό μετασχηματισμό του οξέος ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου όταν η συνδυασμένη θεραπεία τύπου ιστού-ενεργοποιητή πλασμινογόνου δεν εφαρμόζεται σε ασθενείς (Leira R. et.al, 2012). Μερικές μελέτες έχουν βρει ότι όσο υψηλότερες και πιο γρήγορες είναι οι αυξήσεις της θερμοκρασίας του σώματος κατά την οξεία φάση του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου, τόσο πιο σοβαρή πιθανόν να είναι η εγκεφαλική βλάβη. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση ισχύει μόνο μέσα στις πρώτες 24 ώρες του εγκεφαλικού επεισοδίου (Wang Y. et.al, 2000), (Kammersgaard LP, et.al., 2002). Άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι δεν είναι η εκάστοτε θερμοκρασία του σώματος που σχετίζεται με τις δυσμενείς εκβάσεις του εγκεφαλικού επεισοδίου, αλλά η μέγιστη θερμοκρασία που επιτυγχάνεται λίγες μέρες μετά το εγκεφαλικό επεισόδιο (Karaszewski B, et.al.,2012), (den Hertog HM, et.al. 2011), (Leira R, et.al. 2006). Η μελέτη του Lichao και των συνεργατών του (LICHAO YE, et.al., 2015) αποκάλυψε ότι όσο πιο σοβαρό το εγκεφαλικό επεισόδιο, τόσο περισσότερο αυξάνεται η θερμοκρασία του σώματος.

Στην οξεία φάση του εγκεφαλικού εμφράγματος, όταν ο ιστός του εγκεφάλου είναι σε κατάσταση ισχαιμίας και υποξίας, διεγείρονται τα λευκοκύτταρα, τα οποία μεταναστεύουν και συγκεντρώνονται στα τοιχώματα των αγγείων, απελευθερώνοντας ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και άλλες επιβλαβείς ουσίες, που προκαλούν ή επιβαρύνουν την βλάβη του ιστού (Zierath D. Et.al, 2010), (Nakase T. et.al, 2008), (Wang Q, et.al., 2007). Ζωικά μοντέλα έχουν δείξει ότι η έλλειψη λευκών αιμοσφαιρίων μπορεί να μειώσει το εγκεφαλικό έμφραγμα και έτσι να μειωθεί η φλεγμονώδης απόκριση (Hurn

PD, et.al. 2007). Ως εκ τούτου, πολλοί μελετητές θεωρούν ότι η αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων είναι ένας παράγοντας κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο, και σχετίζεται με κακή πρόγνωση (Smith CJ, et.al., 2004), (Christensen H, et.al., 2004). Το φαινόμενο της συσσωμάτωσης των λεμφοκυττάρων σε κατεστραμμένους ιστούς του εγκεφάλου, είχε παρατηρηθεί και από τους Akorov κ.ά. (Akorov SE et.al, 1996).

Η CRP είναι μια πρωτεΐνη της οξείας φάσης που συντίθεται από κύτταρα του ήπατος και των επιθηλιακών κυττάρων όταν διεγείρονται από φλεγμονώδεις παράγοντες. Ως ένας σημαντικός φλεγμονώδης δείκτης, η CRP δεν συνδέεται μόνο με τη συστηματική αθηροσκλήρωση και τη στεφανιαία νόσο, αλλά επίσης συνδέεται στενά με τη συχνότητα, την ανάπτυξη και την πρόγνωση των εγκεφαλικών έμφρακτων (EliasSmale SE, et.al., 2007), (Ridker PM, et.al, 2008). Υψηλά επίπεδα CRP βρέθηκαν να συσχετίζονται θετικά με τη σοβαρότητα και τη μακροπρόθεσμη θνησιμότητα από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (Idicula TT, et.al, 2009), (den Hertog HM et.al., 2009). Οι Lichao ye et.al., διαπίστωσαν ότι όσο πιο σοβαρή η νόσος, τόσο υψηλότερο είναι το επίπεδο ορού του hs-CRP.

Μια σειρά από παθοφυσιολογικές αλλαγές συμβαίνουν μετά από μια οξεία εγκεφαλική απόφραξη. Σε ένα μικρό ισχαιμικό συμβάν, εάν η ροή του αίματος επανέρθει γρήγορα, η λειτουργία των κυττάρων μπορεί να αποκατασταθεί στο φυσιολογικό, εάν αυξάνεται η ισχαιμία, το εύρος του εμφράγματος εκτείνεται. Ο νεκρωτικός εγκεφαλικός ιστός θα μπορούσε να ενεργοποιήσει τη φλεγμονώδη απόκριση μέσω των κυττάρων, των σωματικών υγρών και των μεταβολικών μηχανισμών, με την εμφάνιση πυρετού, λευκοκυττάρωσης και αύξησης των επιπέδων CRP. Προηγούμενες μελέτες έχουν βρει μια θετική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους της βλάβης και των αλλαγών των φλεγμονωδών δεικτών (Sotgiu S et.al. 2006), (Smith CJ, et.al. 2004). Η θρομβολυτική θεραπεία μπορεί να διευκολύνει την ταχεία αποκατάσταση του αυλού του αποφρακτικού αγγειακού συστήματος, την αποκατάσταση της ροής του αίματος και μείωση της ισχαιμικής περιοχής ή τον όγκο του εμφράγματος. Ως εκ τούτου, θεωρείται ως το πιο σημαντικό μέτρο για την αποκατάσταση της ροής του αίματος. Ανασυνδυασμένος τύπος ιστού-ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Alteplase) είναι το κύριο θρομβολυτικό φάρμακο που χρησιμοποιούνται σήμερα, με ένα αποτελεσματικό θεραπευτικό χρονικό παράθυρο του 4,5 h (Hacke W, et.al.2008). Οι Lichao ye et.al. έδειξαν ότι οι κλινικές νευρολογικές λειτουργίες των ασθενών που υποβάλλονται σε επιτυχή ενδοφλέβια θρομβολυτική θεραπεία, βελτιώθηκαν σημαντικά, με μία σημαντική μείωση της φλεγμονώδους απόκρισης. Όσον αφορά τη λεπτομερή κλινική παρουσίαση, σε σύγκριση με τις ομάδες της αποτυχημένης θρομβολυτικής θεραπείας και του ελέγχου, οι ασθενείς στην επιτυχή θρομβολυτική ομάδα εμφάνισαν μια σημαντική μείωση της θερμοκρασίας του σώματος, που συνοδεύταν από σημαντική μείωση του αριθμού των περιφερειακών λευκοκυττάρων του αίματος, και μια σημαντική μείωση στα επίπεδα της hs-CRP. Αυτά τα αποτελέσματα σχετίζονται με προηγούμενες μελέτες (Audebert HJ, et.al., 2004), (Hemmen TM, et.al., 2010), (Idicula TT., et.al. 2008), (Millan M. et.al.,2008), και δείχνουν ότι η συστηματική φλεγμονώδης απόκριση μετά από οξύ εγκεφαλικό έμφραγμα

προκύπτει κυρίως λόγω της ισχαιμικής βλάβης του τοπικού εγκεφαλικού ιστού παρά λόγω κρυπτογενούς μόλυνσης. και ότι η επιτυχής θρομβολυτική θεραπεία μπορεί να μειώσει την νέκρωση των ιστών του εγκεφάλου και της φλεγμονής και να επάγει την επισκευή των ιστών.

Συνοψίζοντας, στην μελέτη των Lichao ye et.al, παρατηρήθηκε ότι η οξεία ισχαιμική αποπληξία επάγει μια συστημική φλεγμονώδη απόκριση, λόγω της νέκρωσης του εγκεφαλικού ιστού, προκαλώντας αυξήσεις στους περιφερικούς φλεγμονώδεις δείκτες (θερμοκρασία σώματος, αριθμό των περιφερικών λευκοκυττάρων του αίματος και τα επίπεδα hs-CRP). Οι μεταβολές στους φλεγμονώδεις δείκτες σχετίζονται με τη σοβαρότητα του εγκεφαλικού επεισοδίου. Εξαιρετικά έγκαιρη και αποτελεσματική θρομβολυτική θεραπεία μπορεί να μειώσει σημαντικά την συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και να βελτιώσει τη λειτουργία των νεύρων.

1.8 Το σύνδρομο συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS) προβλέπει τη σοβαρότητα και την έκβαση του εγκεφαλικού επεισοδίου.

Το εγκεφαλικό επεισόδιο είναι μια αιτία του οξέος στρες με αντίκτυπο στα βιοχημικά γεγονότα, όπως η απελευθέρωση δεικτών οξειδωτικού στρες, γλουταμινικού, και κυτοκινών. Αυτοί οι βιοδείκτες είναι γνωστό ότι προκαλούν λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία, αυξημένη θερμοκρασία, και υποξία των ιστών οδηγώντας στην εκδήλωση του συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS). Η παρουσία SIRS σε ασθενείς που νοσηλεύονται στη μονάδα εντατικής θεραπείας έχει αναφερθεί να σχετίζεται με το θάνατο και την αναπηρία. Στο εγκεφαλικό επεισόδιο, το SIRS μπορεί να είναι ένα σύμπτωμα της συστηματικής λοίμωξης και τα αποτελέσματα του μπορεί να μην είναι παρόμοια με μη μολυσματικά αίτια. Κατά τα τελευταία χρόνια, έχει αναφερθεί ο ρόλος του SIRS στα εγκεφαλικά επεισόδια, από την άποψη της θνησιμότητας, του λειτουργικού αποτελέσματος, και των επιπλοκών κατά τη διάρκεια της παραμονής στο νοσοκομείο, όπως η πνευμονία, η ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία. Σε ασθενείς με υπαραχνοειδή αιμορραγία, το SIRS σχετιζόταν με το θάνατο, τον αγγειοσπασμό, και την αναπηρία. Σε μελέτη που εκπονήθηκε με σκοπό τον ρόλο του SIRS στον προσδιορισμό της σοβαρότητας και της έκβασης της υπαραχνοειδούς αιμορραγίας (SAH), βρέθηκε σε 103 ασθενείς με υπαραχνοειδή αιμορραγία, το SIRS να είναι παρών στο 54,4% των ασθενών. Σε αυτή τη μελέτη, το SIRS σχετιζόταν με τη σοβαρότητα της SAH, την υπεργλυκαιμία, και την κακή έκβαση. Σε ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή αιμορραγικό, τα κύτταρα του αίματος συμπεριλαμβανομένων των λευκοκυττάρων, πλασματοκύτταρα και μακροφάγα προσέρχονται στο σημείο του τραυματισμού. Προφλεγμονώδη κύτταρα απελευθερώνουν φλεγμονώδεις μεσολαβητές και ενισχύουν την απελευθέρωση της πρωτεΐνης, η οποία ενεργοποιεί τη μικρογλοία και την αστρογλοία. Η απελευθέρωση

των κυτοκινών, χημειοκινών, προσταγλανδινών, και πρωτεασών έχει ως αποτέλεσμα το SIRS στο οξύ εγκεφαλικό. Η θεραπευτική υποθερμία έχει χρησιμοποιηθεί για να μειώσει την απελευθέρωση των φλεγμονωδών δεικτών για να βελτιωθεί η έκβαση του εγκεφαλικού επεισοδίου. Σε ασθενείς με εγκεφαλικό επεισόδιο, το SIRS στη δεύτερη ή την τρίτη εβδομάδα μπορεί να είναι λόγω της συστηματικής λοίμωξης. (Jayantee Kalita, et.al., 2015). Στα παρακάτω πινακάκια και εικόνες, εμφανίζονται κάποιες μετρήσεις, όπως αξιολογήθηκαν από την μελέτη των Jayantee Kalita, et.al.

Table 2. Correlation of radiological parameters of stroke in patients with SIRS at the time of admission

Neuroimaging features	No SIRS, N = 80	SIRS present, N = 120	P value
ICH (n = 125)	45/125	80/125	.06
ICH volume (mL)	16.9 ± 11.0	40.0 ± 27.7	<.001
ICH size (in cm ²)	8.8 ± 4.8	17.8 ± 8.9	<.001
Intraventricular extension	12/53 (23%)	41/53 (77%)	.002
IVH score	2.2 ± 4.9	6.0 ± 6.2	.007
Midline shift (hemorrhage)	15/75 (20%)	60/75 (80%)	<.001
Midline shift (infarct)	2/22 (9%)	20/22 (91%)	<.001
Hemorrhagic infarct	5/22 (23%)	17/22 (77%)	.002
Opposite side hydrocephalous	13/87 (15%)	74/87 (85%)	<.001
Large infarct	4/23 (18%)	19/23 (82%)	<.001

Abbreviations: ICH, intracerebral hemorrhage; IVH, intraventricular hemorrhage; SIRS, systemic inflammatory response syndrome.

Πίνακας 1 Συσχέτιση των ραδιολογικών παραμέτρων του εγκεφαλικού σε ασθενείς με SIRS, κατά το χρόνο εισαγωγής.

Table 3. Correlation of biochemical parameters of stroke patients with SIRS at admission

Biochemical parameters	No SIRS, N = 80	SIRS present at admission, N = 120	P value
Hemoglobin(g/dL)	12.64 ± 1.70	12.40 ± 2.44	.53
Platelet (mm ³)	171.93 ± 65.23	157.15 ± 103.90	.28
CRP (mg/dL)	2.49 ± 3.50	5.46 ± 5.80	.01
Blood sugar (mg/dL)	122.0 ± 57.9	140.5 ± 64.7	.12
BUN (mg/dL)	18.7 ± 10.8	27.4 ± 18.3	.001
S creatinine (mg/dL)	1.08 ± .40	1.7 ± 2.8	.006
MCV (fL)	92.00 ± 16.77	103.23 ± 91.86	.35
S protein (g/dL)	6.95 ± .74	8.95 ± .76	.31
S albumin (g/dL)	3.95 ± .44	3.84 ± .70	.29
S uric acid (mg/dL)	5.16 ± 1.67	6.20 ± 3.93	.10
S cholesterol (mg/dL)	162.83 ± 40.18	163.81 ± 45.57	.90
S LDL (mg/dL)	97.95 ± 33.98	97.89 ± 39.61	.99
S ALP (KA)	146.59 ± 68.67	167.46 ± 93.96	.10
S bilirubin(mg/dL)	.82 ± .56	.96 ± .60	.19
Hyponatremia	26/80	45/120	.58
Hypernatremia	11/80	55/120	.001

Abbreviations: ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea nitrogen; CRP, C reactive protein; LDL, low-density lipoprotein; MCV, mean corpuscular volume, S, serum; SIRS, systemic inflammatory response syndrome.

Πίνακας 2 Συσχέτιση των βιοχημικών παραμέτρων ασθενών με εγκεφαλικό και την πρόσθετη παρουσία SIRS.

Table 4. Relation between presence of SIRS at admission and outcome

Clinical outcome parameters	No SIRS at admission, N = 80	SIRS present at admission, N = 120	P value
Need for mechanical ventilation at the time of admission	0/80	28/120	<.001
Need for mechanical ventilation on the 1st week of admission	0/80	29/120	<.001
Need for mechanical ventilation on the 2nd week of admission	1/80	9/94	.05
Duration of hospital stay (d)	11.8 ± 10.6	15.01 ± 10.13	.01
Death	1/80	30/128	<.001
mRS score at 1 mo	2.8 ± 1.1	4.5 ± 1.3	<.001
mRS score at 3 mo	2.3 ± 1.2	4.5 ± 1.2	<.001
BI score at 3 mo	81.5 ± 21.4	56.9 ± 8.9	.01
Poor outcome (mRS >2) at 3 mo	20/80	90/120	<.001

Abbreviations: BI, Barthel index; mRS, modified Rankin Scale; SIRS, systemic inflammatory response syndrome.

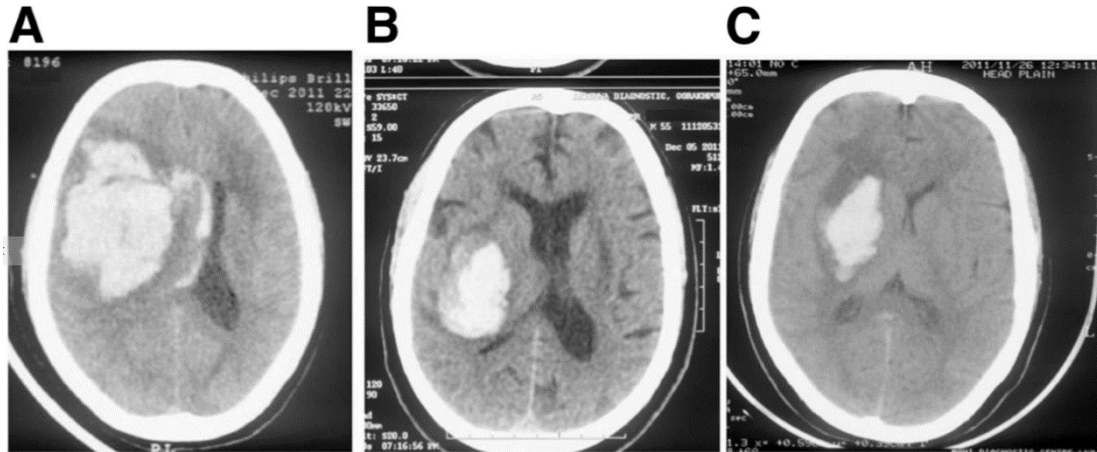
Πίνακας 3 Συσχέτιση της παρουσίας SIRS και έκβασης της υγείας των ασθενών.

Table 5. Relative risk of having severe stroke and poor outcome with number of SIRS criteria fulfilled at admission

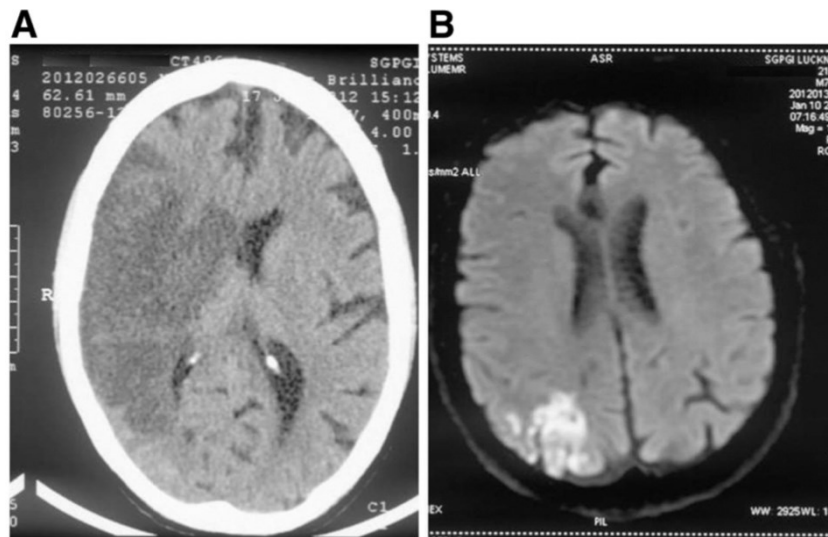
Variables	2 SIRS criteria fulfilled			3 SIRS criteria fulfilled			4 SIRS criteria fulfilled		
	RR (95% CI)	N (%)	P	RR (95% CI)	n (%)	P	RR (95% CI)	n (%)	P
NIHSS score > 16 n = 87	1.14 (.41 - 3.14)	10 (9%)	.80	3.83 (1.70-8.62)	33 (31%)	.001	7.96 (3.33-19.04)	44 (43%)	<.001
GCS < 10 n = 71	.57 (.19-1.70)	5 (6.5%)	.31	2.72 (1.33-5.54)	25 (35%)	.005	5.77 (2.82-11.78)	36 (47%)	<.001
In-hospital death n = 30	.88 (.83-.93)	0 (0%)	.05	1.85 (.86-3.97)	11 (33%)	.04	4.71 (2.19-10.11)	19 (62%)	<.001
Hospital stay >14 d n = 59	5.93 (1.60-21.89)	12 (15%)	.003	2.13 (1.03-4.35)	24 (36%)	.03	1.35 (.68-2.65)	23 (31%)	.37
Need for mechanical ventilation n = 29	.64 (.13-3.02)	2 (10%)	.57	2.20 (.91-5.34)	10 (35%)	.07	5.77 (2.45-13.57)	17 (55%)	<.001
3-Month mRS ≥3 n = 91	.64 (.19-2.08)	12 (8.5%)	.45	1.38 (1.08-1.78)	34 (32%)	.02	1.66 (1.32-2.09)	45 (42%)	<.001

Abbreviations: CI, 95% confidence interval; GCS, Glasgow Coma Scale; mRS, modified Rankin Scale; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale; RR, relative risk; SIRS, systemic inflammatory response syndrome.

Πίνακας 4 Σχετικός κίνδυνος της ύπαρξης πολλαπλού εγκεφαλικού και κακής έκβασης με τον αριθμό των κριτηρίων SIRS.



Εικόνα 24 Η παρουσία SIRS κατά τη στιγμή της εισαγωγής προβλέπει τη σοβαρότητα του εγκεφαλικού επεισοδίου και την έκβαση 3-μηνών. (A) 49 χρονών γυναίκα με αιμορραγία στο δεξί κέλυφος. Είχε όλα τα 4 χαρακτηριστικά του SIRS και σοβαρό εγκεφαλικό επεισόδιο. Πέθανε την τρίτη ημέρα της νοσηλείας. (B) 55 χρονών άντρας με αιμορραγία στο δεξί κέλυφος. Με 3 από τα 3 κριτήρια SIRS. Επέζησε αλλά είχε μια κακή έκβαση στους 3 μήνες. (Γ) 44 χρονών άντρας με αιμορραγία στο δεξί κέλυφος. Χωρίς SIRS και ήπιο εγκεφαλικό επεισόδιο. Είχε καλή έκβαση στους 3 μήνες.



Εικόνα 25 Η παρουσία SIRS κατά τη στιγμή της εισαγωγής προβλέπει τη σοβαρότητα του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και την 3-μηνών έκβαση (A) 50 χρονών άντρας με πλήρες δεξί έμφρακτο της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας, με SIRS (3 από 4 κριτήρια) και σοβαρό εγκεφαλικό επεισόδιο. Έλαβε εξιτήριο την 25η ημέρα από την εισαγωγή και είχε κακή έκβαση στους 3 μήνες. (B) 85 χρονών άντρας, με έμφρακτο στις δεξιές οπίσθιας εγκεφαλικής αρτηρίας, χωρίς SIRS και ήπιο εγκεφαλικό. Έλαβε εξιτήριο την τέταρτη ημέρα από την εισαγωγή. Είχε καλή έκβαση στους 3 μήνες.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι να καταδείξει πώς το οξειδωτικό στρες μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου σε ασθενείς με εγκεφαλική βλάβη και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση. Για τον σκοπό αυτό έγιναν καθημερινές αιμοληψίες σε 23 ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη και μετρήθηκε η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (TAC), η οξείδωση των λιπιδίων του πλάσματος (TBARS) και η οξείδωση των πρωτεϊνών του πλάσματος (CARBONYLS).

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Πρωτόκολλα δεικτών οξειδωτικού στρες

Για την διεξαγωγή της έρευνας χρησιμοποιήθηκε πλάσμα από 23 ασθενείς με συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και εγκεφαλικό επεισόδιο, οι οποίοι νοσηλεύονταν στη ΜΕΘ του Πανεπιστημιακού νοσοκομείου Λάρισας. Επίσης, για μια περαιτέρω σύγκριση, χρησιμοποιήθηκαν αντίστοιχες τιμές από 24 φυσιολογικά άτομα. Η στατιστική σημαντικότητα των μετρήσεων αξιολογήθηκε με το t-test με επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$.

3.1.1 Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) στο πλάσμα

Αρχή της μεθόδου

Το οξειδωτικό στρες στο κυτταρικό περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό άκρως ενεργών και ασταθών υπεροξειδίων των λιπιδίων από τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Προϊόν της διάσπασης αυτών των ασταθών μορίων είναι η μαλονδιαλδεΐδη. Η μαλονδιαλδεΐδη μπορεί να προσδιοριστεί μέσω της αντίδρασής της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ. Έτσι, τα TBARS εκφράζονται σαν ισοδύναμα της μαλονδιαλδεΐδης, η οποία σχηματίζει μία ένωση με το θειοβαρβιτουρικό οξύ με αναλογία μαλονδιαλδεΐδης προς θειοβαρβιτουρικό οξύ 1/2. Η μέτρηση της αλονδιαλδεΐδης είναι μία φωτομετρική μέθοδος για τον προσδιορισμό του βαθμού υπεροξείδωσης των λιπιδίων.

Πριν ξεκινήσει η πειραματική διαδικασία ρυθμίζουμε το υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 95 °C.

Αντιδραστήρια

- *Tris-HCl 200 mM (pH 7,4)*

MB (Tris): 121,14

MB (HCl): 36,46 (stock 37%) [10,1 N]

Για να φτιάξουμε ≈ 100 mL του Tris-HCl buffer φτιάχνουμε 25 mL Tris (200 mM) και 42 mL HCl (0,1 N). Για το Tris ζυγίζουμε 0,61 g και τα διαλύουμε σε 25 mL νερού. Για το HCl διαλύουμε 0,42 mL του stock 37% HCl (10,1 N) σε 42 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε τα 25 mL από το Tris και προσθέτουμε αργά τα 42 mL του HCl και μετά προσθέτουμε νερό ως τα 100 mL. Ελέγχουμε το pH αν είναι στο 7,4.*

Το Tris είναι συντομογραφία του τρισυδροξυμεθυλαμινομεθάνιου (trishydroxymethylaminomethane). Το Tris είναι κατάλληλο για τη δημιουργία ρυθμιστικών διαλυμάτων με pH από 6,5 μέχρι 9,7.

- *Διάλυμα Na_2SO_4 (2 M) – TBA (55 mM)*

MB (TBA): 144,1

MB (Na₂SO₄): 142,04

[Οδηγίες για Παρασκευή 10 mL διαλύματος. Το συγκεκριμένο διάλυμα πρέπει να φτιάχνεται πάντοτε την ημέρα του πειράματος]. Ζυγίζουμε 2,84 g Na₂SO₄ και 0,08 g θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Τα μεταφέρουμε σε ένα ποτήρι ζέσεως και προσθέτουμε 10 mL νερού. Θερμαίνουμε και ανακατεύουμε με το μαγνητάκι μέχρι να διαλυθούν τα συστατικά πλήρως.

- *TCA 35%*: Ζυγίζουμε 35 g TCA και τα διαλύουμε σε απεσταγμένο νερό ώστε ο τελικός όγκος να φτάσει τα 100 mL νερού (σε θερμοκρασία δωματίου).
- *TCA 70%*: Ζυγίζουμε 70 g TCA και τα διαλύουμε σε απεσταγμένο νερό ώστε ο τελικός όγκος να φτάσει τα 100 mL νερού (σε θερμοκρασία δωματίου).

Πειραματικό Πρωτόκολλο

1. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες Falcon (15 ml) προσθέτουμε 100 μL πλάσματος (για τα δείγματα) ή απεσταγμένο νερό (για το τυφλό).
2. Προσθέτουμε 500 μL TCA 35% και 500 μL Tris-HCl και αναδεύουμε.
3. Επωάζουμε για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου.
4. Προσθέτουμε 1 mL Na₂SO₄ – TBA και επωάζουμε στους 95 °C για 45 min στο υδατόλουτρο.
5. Μεταφέρουμε τους Falcon στον πάγο και τους αφήνουμε να κρυώσουν για 5 min.
6. Προσθέτουμε 1 mL TCA 70% και αναδεύουμε.
7. Μεταφέρουμε 1 mL σε Eppendorfs και φυγοκεντρούμε στα 11200 g (10000 rpm) στους 25 °C για 3 min.
8. Μεταφέρουμε με πιπέτα 900 μL από το υπερκείμενο σε κυβελίδα και μετράμε την απορρόφηση στα 530 nm.

Υπολογισμοί

Η συγκέντρωση των TBARS (μmol/L) = (Abs δείγματος – Abs τυφλού) / 0.156 × 31, όπου το 31 είναι ο συντελεστής αραίωσης, που προέρχεται από τη διαίρεση του τελικού όγκου (3100 μL) με τον όγκο του πλάσματος (100 μL) (3100 / 100 = 31). Το 0.156 προέρχεται από το συντελεστή μοριακής απόσβεσης* της MDA που είναι 156000 (mol/L) διαιρούμενου με 10⁻⁶ με σκοπό να μετατραπούν τα mol/L to μmol/L.

*Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης μιας ουσίας ισούται με την απορρόφηση της ουσίας αυτής σε συγκέντρωση 1 mol/L.

Χρήσιμες πληροφορίες

Το TCA προστίθεται στον ορό ώστε να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες του (αλβουμίνη, ανοσοσφαιρίνες κτλ).

Το Na₂SO₄ χρησιμοποιείται σαν αφυδατικός παράγοντας σε οργανικά διαλύματα.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να γίνει εκτός από το πλάσμα και στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Η ποσότητα αιμόλυματος που χρησιμοποιείται είναι όση και αυτή του πλάσματος (100 μL). Τα βήματα της μεθόδου παραμένουν ίδια. Η μόνη διαφοροποίηση είναι στους υπολογισμούς της συγκέντρωσης των TBARS στα ερυθροκύτταρα. Οι υπολογισμοί είναι οι ακόλουθοι:

Υπολογισμοί

Η συγκέντρωση των TBARS (μmol/L) = (Abs δείγματος – Abs τυφλού) / 0,156 × 31 × 2, όπου το 31 είναι ο συντελεστής αραιώσης, που προέρχεται από τη διαίρεση του τελικού όγκου (3100 μL) με τον όγκο του αιμόλυματος (100 μL) (3100 / 100 = 31) και το 2 προκύπτει από την 1:1 λύση των ερυθροκυττάρων με απιονισμένο νερό. Το 0,156 προέρχεται από το συντελεστή μοριακής απόσβεσης* της MDA που είναι 156000 (mol/L) διαιρούμενου με 10⁻⁶ με σκοπό να μετατραπούν τα mol/L to μmol/L.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των TBARS εκφράζεται ως προς την αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός kit και πρέπει να εκφραστεί σε g/L ώστε η μονάδα αυτή να είναι σε συμφωνία με τη συγκέντρωση των TBARS που υπολογίστηκε προηγουμένως (μmol/L). Έτσι, μετά τη φωτομέτρηση η τιμή της αιμοσφαιρίνης υπολογίζεται σε g/dL. Πολλαπλασιάζοντας την τιμή αυτή με 10 × 2, τη μετατρέπουμε σε g/L και ταυτόχρονα λαμβάνουμε υπόψη την 1:1 αραιώση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων.

3.1.2 ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΑ ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΑ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ (PC)

Αρχή της μεθόδου

Οι πρωτεΐνες και τα αμινοξέα είναι ευαίσθητα σε οξειδωτικές βλάβες. Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι ένας γενικός δείκτης της οξείδωσης των πρωτεϊνών που χρησιμοποιείται ευρέως. Οι καρβονυλικές ομάδες (αλδεΐδες και κετόνες) παράγονται κυρίως στις προσθετικές ομάδες της προλίνης (pro), της αργινίνης (arg), της λυσίνης (lys) και της θρεονίνης (thr). Είναι αξιόπιστης δείκτης οξείδωσης των πρωτεϊνών διότι τα καρβονύλια είναι σταθερά μόρια.

Οι πρωτεΐνες που καρβονυλώνονται υφίστανται μη αναστρέψιμες βλάβες. Η καρβονυλίωση οδηγεί στην απώλεια της φυσιολογικής τους λειτουργίας. Οι καρβονυλωμένες πρωτεΐνες σε μέτριο βαθμό, διασπώνται από το πρωτεόσωμα αλλά αν υποστούν πολύ δριμυείς βλάβες τότε δεν μπορούν να διασπαστούν και συγκεντρώνονται σε συσσωματώματα υψηλού μοριακού βάρους. Η καρβονυλίωση των πρωτεϊνών όχι μόνο επηρεάζει τη δική τους λειτουργία αλλά και τον τρόπο με τον οποίο λειτουργούν και άλλα βιομόρια. Για παράδειγμα, αν υποστούν καρβονυλίωση ένζυμα όπως εκείνα που επισκευάζουν το DNA ή οι DNA πολυμεράσες, το DNA δε θα επιδιορθώνεται ούτε θα αντιγράφεται με την απαραίτητη πιστότητα.

Ο σχηματισμός των καρβονυλίων συνήθως ανιχνεύεται με την αντίδρασή τους με το DNPH (2,4 – δινιτροφαινυλδραζίνη) προς σχηματισμό του DNP-hydrazone (2,4 – δινιτροφαινυλδραζονίου).

Αντιδραστήρια

- *Διάλυμα HCl 2,5 N*
- HCl: MB 36,46 stock 37% (10,1 N)

Για να φτιάξουμε 100 mL διαλύματος 2.5 N HCl, προσθέτουμε αργά 24,6 mL του 37% HCl (ίσο με 10,1 N HCl) σε ≈70 mL απεσταγμένου νερού και το φέρνουμε σε τελικό όγκο 100 mL με απεσταγμένο νερό. Κατά την παρασκευή του διαλύματος του 2,5 N HCl χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή επειδή το διάλυμα του 37 % είναι πολύ καυστικό. Πάντα η παρασκευή γίνεται κάτω από τον απαγωγό και φορώντας γάντια.

- *DNPH 14 mM (MB: 198,1)*

Για να φτιάξουμε 100 mL 14 mM DNPH διαλύουμε 0,2833 g DNPH σε 100 mL 2,5 N HCl. Το διάλυμα αυτό φτιάχνεται πάντα τη μέρα του πειράματος. Όταν το ετοιμάσουμε το καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο γιατί είναι φωτοευαίσθητο. Απαιτούνται 0,5 mL για κάθε δείγμα. Φτιάχνουμε και ένα τυφλό για κάθε δείγμα.

- *Ουρία 5 M (pH 2,3) (MB: 6,.06)*

Για να φτιάξουμε 100 mL 5 M ουρίας (pH 2,3, το οποίο ρυθμίζεται με 2N HCl), διαλύουμε 30 g ουρίας in ≈70 mL απεσταγμένου νερού και το φέρνουμε σε τελικό όγκο 100 mL με απεσταγμένο νερό.

Πειραματικό πρωτόκολλο

1. Σε 50 μL πλάματος προσθέτουμε 50 μL 20% TCA σε eppendorfs και αναδεύουμε στο vortex (κάθε δείγμα έχει το τυφλό του)*. Το 20% TCA προστίθεται με σκοπό να κατακρήμνιστούν οι πρωτεΐνες του πλάσματος. Το TCA (τριχλωροξικό οξύ) χρησιμοποιείται ευρέως στη βιοχημεία για την κατακρήμνιση μακρομορίων όπως πρωτεΐνες, DNA και RNA.
2. Επωάζουμε στον πάγο για 15 λεπτά και φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 5 λεπτά στους 4 °C.
3. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο.
4. Προσθέτουμε στο ίζημα (πελέτα) 0,5 mL του 14 mM DNPH (διαλυμένο σε 2,5 N HCL) για τα δείγματα ή 0,5 mL 2,5 N HCL για τα τυφλά (κάθε δείγμα έχει το δικό του τυφλό), διαλύουμε με την πιπέτα το ίζημα, αναδεύουμε και επωάζουμε στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα με ενδιάμεση ανάδευση στο vortex κάθε 15 λεπτά. Φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 5 λεπτά στους 4 °C.
5. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο.
6. Προσθέτουμε 1 mL από το 10% TCA, αναδεύουμε (διαλύουμε με την πιπέτα το ίζημα αν χρειάζεται) και φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 5 λεπτά στους 4 °C.
7. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο.
8. Προσθέτουμε 0,5 mL αιθανόλης και 0,5 mL οξικού ειθυλεστέρα (αναλογία μίγματος, 1:1 v/v), κάνουμε vortex και φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 5 λεπτά στους 4 °C. Το ίζημα πλένεται με 10% TCA και με μίγμα αιθανόλης και οξικού αιθυλεστέρα για να απομακρυνθεί το DNPH που δεν έχει αντιδράσει.
9. Επαναλαμβάνουμε τα βήματα 7 και 8 δύο ακόμα φορές.
10. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο.
11. Προσθέτουμε 1 mL 5 M ουρία (pH 2,3), αναδεύουμε και επωάζουμε στους 37 °C για 15 λεπτά. Η ουρία προκαλεί μετουσίωση των πρωτεϊνών (διασπώντας τους ομοιπολικούς δεσμούς) αυξάνοντας τη διαλυτότητά τους.
12. Φυγοκεντρούμε στα 15000 g για 3 λεπτά στους 4 °C.
13. Μεταφέρουμε με την πιπέτα 900 μL σε μία κυβελίδα και μετράμε την απορρόφηση στα 375 nm.

* (Κάθε δείγμα έχει το τυφλό του. Το τυφλό περιέχει τα πάντα εκτός από τα 0,5 mL DNPH, τα οποία αντικαθίστανται 0,5 mL HCL 2,5 N).

Υπολογισμοί

Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mL) = $A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{τυφλού}} / 0.022 \times 1000/50$.

Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DNPH είναι $22 \text{ mM} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Το 1000/50 είναι ο συντελεστής αραιώσης (1000 μL στην κυψελίδα /50 μL δείγματος).

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των πρωτεϊνικών καρβονυλίων ανά πρωτεΐνη πλάσματος μπορεί να γίνει μέσω της εξίσωσης:

Συγκ. πρωτ. καρβ. (nmol/mg) = συγκ. πρωτ. καρβ. nmol/mL / συγκ. πρωτ mg/mL

Συγκέντρωση πρωτεϊνών = 70 mg/mL

Η μέθοδος αυτή μπορεί να γίνει εκτός από το πλάσμα και στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Οι διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται είναι στην ποσότητα του αιμολύματος που χρησιμοποιείται (50 μL αραιωμένα 1/10 σε αντίθεση με το πλάσμα που δεν υπάρχει αραιώση) και στους υπολογισμούς της συγκέντρωσης των καρβονυλίων στα ερυθροκύτταρα. Οι υπολογισμοί είναι οι ακόλουθοι:

Υπολογισμοί

Συγκέντρωση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mL) = $A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{τυφλού}} / 0.022 \times 1000/50 \times 2 \times 10$.

Ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DNPH είναι $22 \text{ mM} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Το 1000/50 είναι ο συντελεστής αραιώσης (1000 μL στην κυψελίδα /50 μL δείγματος). Πολλαπλασιάζουμε με 2 για να συνυπολογίσουμε την 1:1 αραιώση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων και με 10 για να συνυπολογίσουμε την 1:10 αραιώση του δείγματος.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των καρβονυλίων εκφράζεται ως προς την αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός kit και πρέπει να εκφραστεί σε g/L ώστε η μονάδα αυτή να είναι σε συμφωνία με τη συγκέντρωση των TBARS που υπολογίστηκε προηγουμένως ($\mu\text{mol/L}$). Έτσι, μετά τη φωτομέτρηση η τιμή της αιμοσφαιρίνης υπολογίζεται σε g/dL. Πολλαπλασιάζοντας την τιμή αυτή με 10×2 , τη μετατρέπουμε σε g/L και ταυτόχρονα λαμβάνουμε υπόψη την 1:1 αραιώση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων.

Συγκέντρωση καρβονυλίων ανά mg αιμοσφαιρίνης

Protein carbonyls (nmol/ mg Hb)

3.1.3 Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα (TAC) του πλάσματος

Αρχή της μεθόδου

Ο όρος ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) αναφέρεται στην ικανότητα των συστατικών του πλάσματος του αίματος να εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες. Κάθε συστατικό του πλάσματος έχει αντιοξειδωτική δράση. Ωστόσο, κάθε ένα συνεισφέρει με διαφορετικό τρόπο στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος, η οποία είναι γενικά ένα μέτρο της αντιοξειδωτικής κατάστασης ολόκληρου του οργανισμού.

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί τρόποι προσέγγισης της ποσοτικοποίησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος. Ο πρώτος είναι το άθροισμα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε συστατικού του πλάσματος ξεχωριστά. Αυτός είναι ο πιο επίπονος τρόπος επειδή υπάρχουν πολλά μόρια που συνεισφέρουν στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος. Ο δεύτερος τρόπος είναι η μέτρηση της TAC ως σύνολο.

Το ουρικό οξύ φαίνεται να είναι το μόριο που έχει τον πιο ισχυρό ρόλο στον καθορισμό της τιμής της TAC στο πλάσμα (55-60%) προκαλώντας μεγάλη αύξησή της όταν η συγκέντρωσή του αυξάνεται. Το ουρικό οξύ βρίσκεται σε πολύ πιο υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα σε σχέση με άλλα μόρια με εξαίρεση τις θειόλες. Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι το δεύτερο πιο ισχυρό μόριο στον καθορισμό της τιμής της TAC και ακολουθούν κατά σειρά οι βιταμίνες E και A. Οι βιταμίνες C και E μάλιστα είναι πιθανό να αποτελούν το 25 % της συνολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος.

Η TAC του ορού στη συγκεκριμένη μέθοδο υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Παρουσία ενός δότη υδρογόνων που υπάρχει στον ορό, η παραπάνω ρίζα (DPPH[•]) ανάγεται προς σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine). Η μετατροπή της ρίζας υπολογίζεται με φωτομέτρηση στα 520 nm.

Αντιδραστήρια

- *Phosphate buffer 10 mM (pH 7.4)*
- MB (KH₂PO₄): 136
- MB (Na₂HPO₄): 178

Για να φτιάξουμε 500 mL του phosphate buffer φτιάχνουμε 100 mL KH₂PO₄ (10 mM) και 400 mL Na₂HPO₄ (10 mM). Για το KH₂PO₄ ζυγίζουμε 0,136 g και τα διαλύουμε σε 100 mL νερό. Για το Na₂HPO₄ ζυγίζουμε 0,712 g και τα διαλύουμε σε 400 mL νερό. Σε ένα ποτήρι ζέσεως χύνουμε τα διαλύματα και προσθέτουμε NaOH ή HCl, 1 N μέχρι το pH να φτάσει την τιμή 7,4.

- *DPPH 0,1 mM, MB: 394,32*

Διαλύουμε 0,02 g DPPH σε 5 mL μεθανόλης και τα αναμιγνύουμε με μαγνητάκι (10 mM). Μετά αραιώνουμε 100 φορές με μεθανόλη και τα αναμιγνύουμε ξανά με μαγνητάκι. Για παράδειγμα, αραιώνουμε 200 μL του 10 mM διαλύματος του DPPH σε 19,8 mL μεθανόλης

(ποσό αρκετό για 10 δείγματος, συν το τυφλό και τον θετικό έλεγχο). Εξαιτίας της αραιώσης, ο αρχικός όγκος των 5 mL είναι πάντα αρκετός για πολλούς προσδιορισμούς. Καλύπτουμε με αλουμινόχαρτο το ποτήρι ζέσεως στο οποίο φτιάχνουμε το DPPH για να αποφύγουμε τη φωτόλυση. Το συγκεκριμένο διάλυμα φτιάχνεται τη μέρα του πειράματος.

- Ασκορβικό οξύ 10 mM

Είναι έτοιμο προς χρήση.

Φυσιολογικά, η τιμή της απορρόφησης για το δείγμα που περιέχει το ασκορβικό οξύ (Positive Control) θα πρέπει να είναι χαμηλότερη και από την τιμή των δειγμάτων αλλά και του τυφλού. Ο λόγος είναι η συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος (ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό μόριο) που έχουμε επιλέξει. Η τιμή της απορρόφησης των δειγμάτων θα πρέπει να βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές του τυφλού (η μεγαλύτερη τιμή) και του θετικού ελέγχου (η μικρότερη τιμή).

Πειραματικό πρωτόκολλο

Προσθέτουμε τις ακόλουθες ποσότητες στα Eppendorfs:

	Blank	Sample
Phosphate buffer 67 mM, pH 7.95	660 μ L	660 μL
DTNB 1 mM	330 μ L	330 μL
Απεσταγμένο νερό	20 μ L	—
Αιμόλυμα	—	20 μL

Ανακινούμε τα Eppendorfs μερικές φορές και τα επωάζουμε στο σκοτάδι για 60 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης η αντιοξειδωτικές ουσίες του ορού εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH μετατρέποντάς τη στην πιο σταθερή ένωση υδραζίνη.

Φυγοκεντρούμε για 3 λεπτά στα 20000 g στους 25 °C (για την καταβύθιση σωματιδίων που θα αυξήσουν την απορρόφηση). Μεταφέρουμε 900 mL από το υπερκείμενο με πιπέτα σε πλαστική κυψελίδα και μετράμε την απορρόφηση στα 520 nm. Επειδή είναι πιθανό η απορρόφηση του τυφλού να αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, είναι σκόπιμη η επανάληψη της μέτρησης του τυφλού κάθε 5 περίπου δείγματα.

Υπολογισμοί

Τα αποτελέσματα μπορούν να εκφραστούν ως:

i) % μείωση της απορρόφησης (Abs) σε σχέση με το τυφλό, πχ,

$$\% \text{ Abs μείωση} = (\text{Abs τυφλού} - \text{Abs δείγματος}) / \text{Abs τυφλού} \times 100$$

ii) $\mu\text{mol DPPH που απομακρύνθηκαν} / \text{mL πλάσματος} = [(\% \text{ Abs μείωση} / 100) \times 50 \times 50] / 1000$

α) Διαιρούμε με το 100 με σκοπό να μετατρέψουμε την ποσοστιαία μείωση της απορρόφησης σε απλή μείωση της απορρόφησης.

β) Πολλαπλασιάζουμε με το 50 διότι η συγκέντρωση του DPPH στην κυψελίδα είναι 50 μmol/L της κυψελίδας.

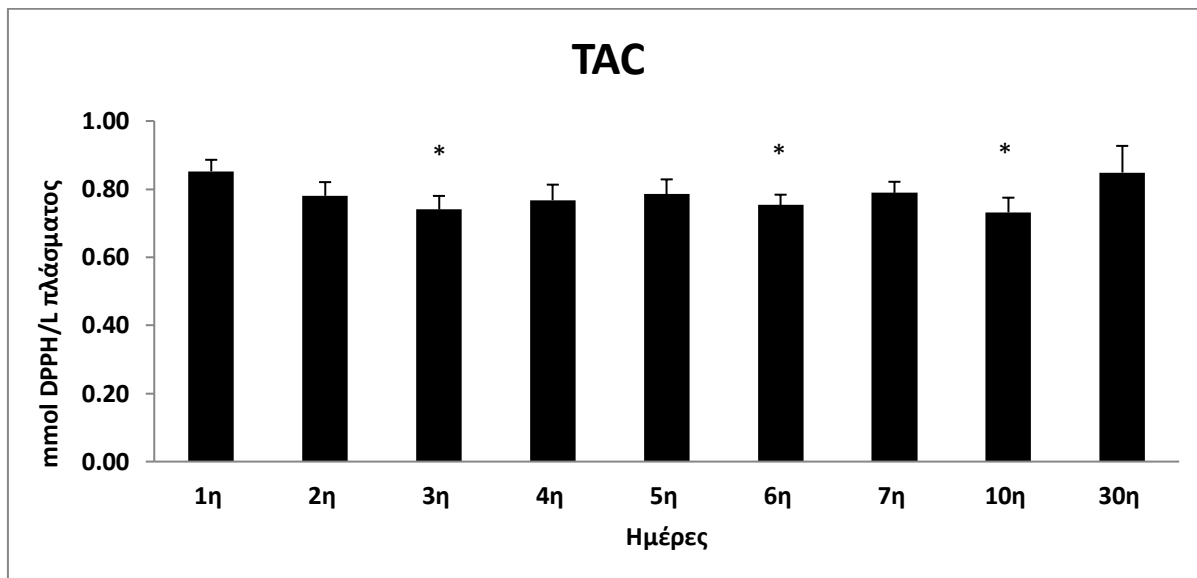
γ) Πολλαπλασιάζουμε με το 50 διότι η αραίωση του πλάσματος στην κυψελίδα είναι 50-πλάσια (1000 μL στην κυψελίδα / 20 μL πλάσματος του δείγματος στην κυψελίδα = 50).

δ) Διαιρούμε με το 1000 για να μετατρέψουμε τα L του πλάσματος σε mL ορού.

Παράδειγμα. Αν η % μείωση της απορρόφησης είναι 20, τα μmol του DPPH που απομακρύνθηκαν / mL πλάσματος είναι: $20 / 100 \times 50 \times 50 / 1000 = 0,5$ μmol DPPH που απομακρύνθηκαν / mL πλάσματος ή 0,5 mmol DPPH που απομακρύνθηκαν / L πλάσματος ή 0,5 mmol DPPH/L.

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1.1 Επίπεδα TAC σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.



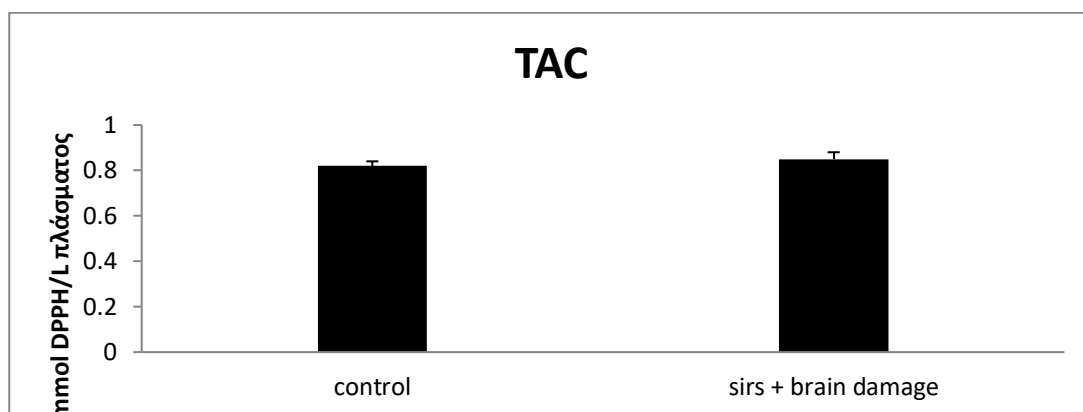
Διάγραμμα 5 Ημερήσια επίπεδα TAC σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη..

- ❖ Στατιστικά σημαντικά **μείωση** παρατηρήθηκε την 3^η, 6^η και 10^η ημέρα σε σχέση με την 1^η ημέρα εισαγωγής στη ΜΕΘ. (επίπεδο σημαντικότητας $p < 0,05$). Στην 3^η ημέρα παρατηρείται μείωση κατά **13,17%**, στην 6^η κατά **9,29%** και στην 10^η κατά **14,15%**.
- ❖ Ωστόσο, παρατηρείται μια τάση για μείωση στις 4^η, 5^η και 7^η ημέρα αιμοληψίας σε σχέση με την 1^η.
- ❖ Την 30^η ημέρα τα επίπεδα της TAC επιστρέφουν στα αρχικά επίπεδα.

Μείωση TAC % \pm SEM, σε σχέση με την 1 ^η ημέρα εισαγωγής στη ΜΕΘ	
3 ^η ημέρα	13,17 \pm 5,41
6 ^η ημέρα	9,29 \pm 3,98
10 ^η ημέρα	14,15 \pm 5,46

Πίνακας 5 Επίπεδα TAC \pm SEM

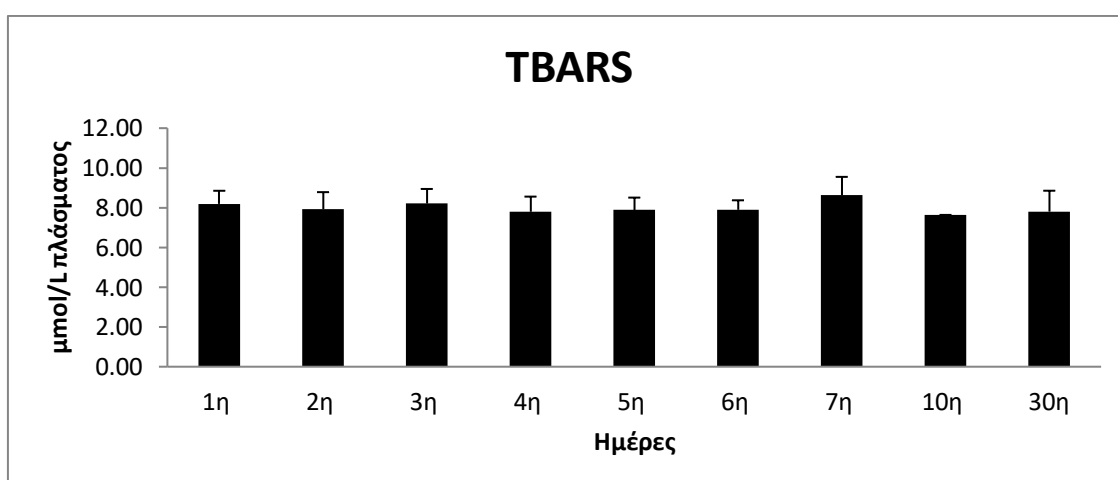
4.1.1. Επίπεδα TAC σε φυσιολογικούς ασθενείς και σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.



Διάγραμμα 6 Σύγκριση επιπέδων TAC σε φυσιολογικούς και σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.

- ❖ Στο διάγραμμα 6 παρουσιάζονται τα επίπεδα της TAC σε ασθενείς με SIRS (πρώτη ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ) και εγκεφαλική βλάβη, και σε φυσιολογικά άτομα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών και υγιών ατόμων ($p > 0,05$), συνεπώς οι ασθενείς είχαν τα ίδια επίπεδα TAC με τους φυσιολογικούς.

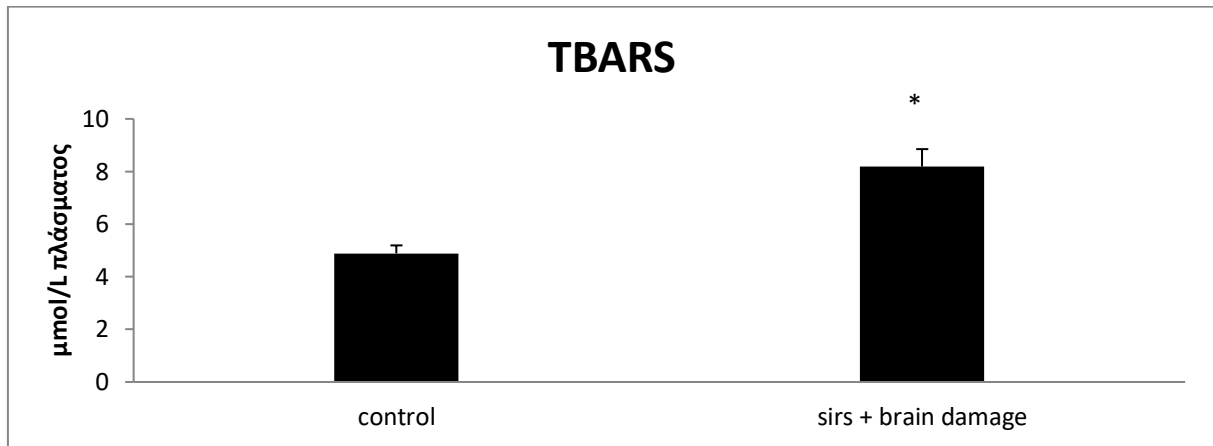
4.2.1 Επίπεδα TBARS σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.



Διάγραμμα 7 Ημερήσια επίπεδα TBARS σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη..

- ❖ Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των TBARS.

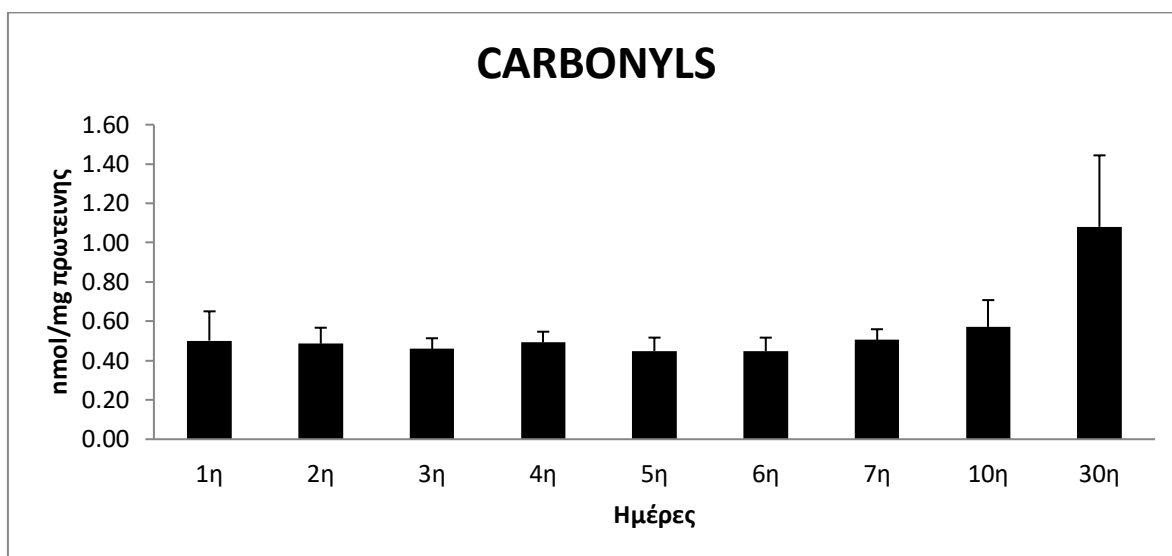
4.2.2 Επίπεδα TBARS φυσιολογικών σε σύγκριση με ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.



Διάγραμμα 8 Σύγκριση τιμών TBARS σε φυσιολογικούς και σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.

- ❖ Στο διάγραμμα 8 γίνεται μια σύγκριση των τιμών TBARS μεταξύ φυσιολογικών ατόμων (ομάδα control) και των τιμών της 1^η ημέρας νοσηλείας των ασθενών με SIRS και εγκεφαλική βλάβη, στη ΜΕΘ. Παρατηρούμε ότι κατά την πρώτη μέρα νοσηλείας οι ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη, παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα TBARS ($p < 0,05$) σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα με ποσοστό 67,49% ($67,49 \pm 8,01$).

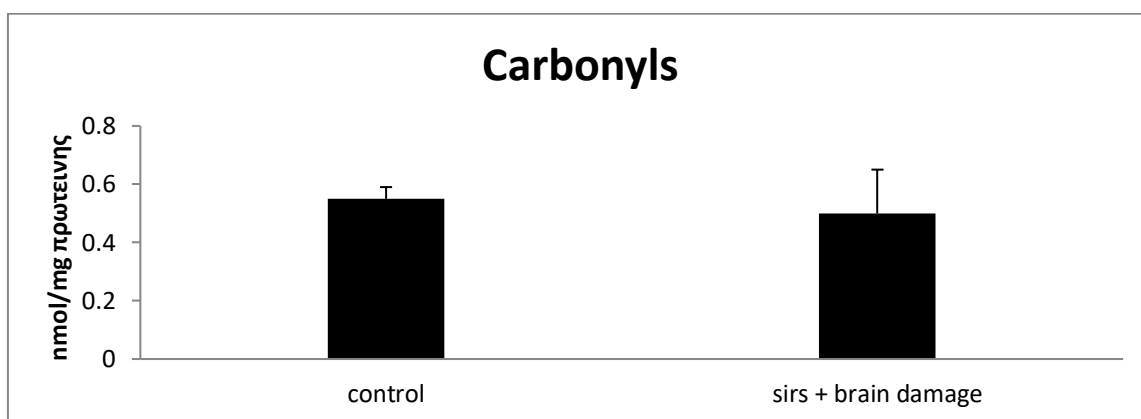
4.3.1 Επίπεδα Καρβονυλίων σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη..



Διάγραμμα 9 Επίπεδα Καρβονυλίων σε ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.

- ❖ Δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα των καρβονυλίων.

4.3.2 Επίπεδα καρβονυλίων σε φυσιολογικά άτομα και ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.



Διάγραμμα 10 Επίπεδα καρβονυλίων σε φυσιολογικά άτομα και ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη.

- ❖ Στο παραπάνω διάγραμμα γίνεται μια σύγκριση μεταξύ ατόμων με SIRS και εγκεφαλική βλάβη κατά την πρώτη ημέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ και φυσιολογικών ατόμων. Οι διαφορές δεν είναι στατιστικά σημαντικές με

$p > 0,05$. Συνεπώς, οι ασθενείς κατά την 1^η μέρα νοσηλείας στη ΜΕΘ εμφάνισαν ίδια επίπεδα καρβονυλίων με τους φυσιολογικούς.

5.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση και η εξέλιξη της σε σήψη, είναι μία από τις κύριες αιτίες θανάτου σε ασθενείς που νοσηλεύονται σε κρίσιμη κατάσταση σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Η παθοφυσιολογία της σήψης χαρακτηρίζεται από μία σειρά γεγονότων συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης, ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και μεταλλαγές στο σύστημα πήξεως, οι οποίες οδηγούν σε διαταραχές στην μεταφορά οξυγόνου και μεταβολικών υποστρωμάτων στους ιστούς, σε οργανική ανεπάρκεια και τελικά στον θάνατο.

Το οξειδωτικό στρες υποδηλώνει την ανισορροπία μεταξύ των δραστικών μορφών οξυγόνου και της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού. Το οξειδωτικό στρες παίζει κρίσιμο ρόλο τόσο ως υποκινητής όσο και ως μεσολαβητής της συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης (*Derek S. Wheeler 2011*).

Το εγκεφαλικό επεισόδιο, το οποίο ορίζεται ως τη βλάβη που προκαλείται όταν η παροχή του αίματος σε μία περιοχή του εγκεφάλου σταματήσει, οπότε τα κύτταρα που δεν παίρνουν οξυγόνο πεθαίνουν, είναι μια αιτία του οξειδωτικού στρες με αντίκτυπο στα βιοχημικά γεγονότα, όπως η απελευθέρωση γλουταμινικού, και κυτοκινών. Αυτοί οι βιοδείκτες είναι γνωστό ότι προκαλούν λευκοκυττάρωση ή λευκοπενία, αυξημένη θερμοκρασία, και υποξία των ιστών οδηγώντας στην εκδήλωση του συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS). Η παρουσία SIRS σε ασθενείς που νοσηλεύονται στη μονάδα εντατικής θεραπείας έχει αναφερθεί να σχετίζεται με το θάνατο και την αναπηρία. Στο εγκεφαλικό επεισόδιο, το SIRS μπορεί να είναι ένα σύμπτωμα της συστηματικής λοίμωξης και τα αποτελέσματα του μπορεί να μην είναι παρόμοια με μη μολυσματικά αίτια. Κατά τα τελευταία χρόνια, έχει αναφερθεί ο ρόλος του SIRS στα εγκεφαλικά επεισόδια, από την άποψη της θνησιμότητας, του λειτουργικού αποτελέσματος, και των επιπλοκών κατά τη διάρκεια της παραμονής στο νοσοκομείο, όπως η πνευμονία, η ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι οι ελεύθερες δραστικές ρίζες (ROS, RNS) προκαλούν έμμεση βλάβη στους ιστούς μέσω ενεργοποίησης προ-φλεγμονωδών μονοπατιών, τα οποία ρυθμίζουν την μεταγραφή γονιδίων που συμμετέχουν στο στάδιο πριν την εκδήλωση φλεγμονής. Τα δραστικά αυτά είδη προκαλούν μεταλλαγές σε πρωτεϊνικές κινάσες που ενεργοποιούνται από μιτογόνο, οι οποίες μεσολαβούν στην μεταγωγή εξωκυτταρικών σημάτων από τους υποδοχείς στους μεταγραφικούς παράγοντες του πυρήνα (όπως ο AP-1 και ο NF-κB). Συγκεκριμένα ο παράγοντας NF-κB φαίνεται να είναι ο κύριος διακόπτης ή το κύριο σημείο ελέγχου για την έκφραση προ-φλεγμονωδών γονιδίων.

Οι παράγοντες NF-κB και AP-1 ρυθμίζονται μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων εντός του κυττάρου. Το ενδιαφέρον έγκειται στο γεγονός ότι η οξειδοαναγωγή έχει διαφορετικά αποτελέσματα για τους πολυδύναμους αυτούς μεταγραφικούς παράγοντες. Οι προ-οξειδωτικοί παράγοντες ενεργοποιούν τον NF-κB και

καταστέλλουν τον AP-1, ενώ οι αντι-οξειδωτικοί παράγοντες ενεργοποιούν τον AP-1 και καταστέλλουν τον NF-κΒ. Πειραματικές μελέτες υποδεικνύουν το μονοπάτι που ενεργοποιείται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ ως κύριο χαρακτηριστικό του σηπτικού σοκ (Abraham E. 2003).

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι να καταδείξει πώς το οξειδωτικό στρες μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου σε ασθενείς με εγκεφαλική βλάβη και συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση. Για τον σκοπό αυτό έγιναν καθημερινές αιμοληψίες σε 23 ασθενείς με SIRS, οι οποίοι νοσηλεύονται στη ΜΕΘ και μετρήθηκε η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος (TAC), η οξείδωση των λιπιδίων του πλάσματος (TBARS) και η οξείδωση των πρωτεϊνών του πλάσματος (CARBONYLS). Επίσης, έγινε μια σύγκριση αυτών των τιμών, κατά την 1^η ημέρα εισαγωγής στη ΜΕΘ, με αντίστοιχες τιμές φυσιολογικών ατόμων.

Υπάρχει μια κατάσταση στη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση, η οποία προκύπτει από μια ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών, και περιλαμβάνει την οξειδωτική τροποποίηση κυτταρικών μακρομορίων, επαγωγή κυτταρικού θανάτου μέσω απόπτωσης και δομική βλάβη του ιστού. Η μαλονονδιαλδεΐδη (MDA) είναι ένα τελικό προϊόν που σχηματίζεται κατά το οξειδωτικό στρες, συγκεκριμένα λόγω της υπεροξείδωσης των λιπιδίων. Είναι ένα από τα πολλά προϊόντα που σχηματίζονται κατά την αποικοδόμηση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Το αραχιδονικό οξύ (AA) απελευθερώνεται λόγω της δράσης της φωσφολιπάσης-A₂ (PL-A₂). Ακολούθως, το AA δέχεται επίθεση από τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) (κυρίως από τη ρίζα υδροξυλίου OH•) που προέρχονται από τα μιτοχόνδρια μέσω μιας μη ενζυμικής αντίδρασης και έτσι σχηματίζονται λιπιδιακά ενδοϋπεροξειδία. Αυτά τα λιπιδιακά ενδοϋπεροξειδία υποβάλλονται σε αυθόρμητη διάσπαση και σχηματίζεται στο ενδοκυτταρικό χώρο η MDA. Η MDA απελευθερώνεται στον εξωκυτταρικό χώρο και τελικά στο αίμα. Η MDA έχει χρησιμοποιηθεί ως ένας αποτελεσματικός βιοδείκτης της υπεροξείδωσης των λιπιδίων για περισσότερα από 30 χρόνια. Το οξειδωτικό στρες έχει τεκμηριωθεί ως ένας μηχανισμός δυσλειτουργίας των οργάνων, και επομένως ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος στη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και στη σήψη. Ο Lorente και οι συνεργάτες του (Lorente, et.al, 2013), αναφέρουν αυξημένα επίπεδα μαλονονδιαλδεΐδης του ορού, σε ενήλικες με συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση αλλά και σοβαρή σήψη, ιδιαίτερα σε μη επιζώντες. Ενώ οι επιζώντες παρουσίασαν μείωση της μαλονονδιαλδεΐδης του ορού με την πάροδο του χρόνου, η αύξηση επήλθε στους μη επιζώντες. Συγκεκριμένα, στη μελέτη τους παρατηρήθηκαν υψηλότερα επίπεδα MDA στον ορό σηπτικών ασθενών την 1^η, 4^η και 8^η ημέρα ($p < 0.001$) από την διάγνωση της ασθένειας. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι υπάρχει αυξημένο οξειδωτικό στρες στη σήψη και ειδικότερα, ότι τα λιπίδια της μεμβράνης στοχεύονται από ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω μελέτη για την επικύρωση της χρησιμότητας της μαλονονδιαλδεΐδης ως προγνωστικός βιοδείκτης στη σήψη ώστε να καθορίσει ένα ρόλο για αντιοξειδωτική θεραπεία. Στη συγκεκριμένη μελέτη ωστόσο, τα επίπεδα TBARS δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Μετρήσεις των επιπέδων της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) έδειξαν να παρέχουν έναν ολοκληρωμένο δείκτη, σε αντίθεση με την ξεχωριστή μέτρηση όλων των αντιοξειδωτικών (Ghiselli A, et.al 2000). Θα μπορούσε ενδεχομένως να χρησιμοποιηθεί για να εκτιμηθεί η πραγματική αλλαγή στην αντιοξειδωτική κατάσταση σε ασθενείς με σοβαρή σήψη και μπορεί να οδηγήσει σε καθολικά χρήσιμη θεραπεία (Pinsky MR, et.al, 2003). Οι περισσότεροι πιστεύουν ότι τα υψηλότερα επίπεδα των οξυριζών και τα χαμηλότερα επίπεδα των αντιοξειδωτικών σε ασθενείς με SIRS ή σηπτική καταπληξία, οδηγούν σε ανεπάρκεια πολλαπλών οργάνων (Goode HF, et.al, 1995), (Leaver HA, et.al, 1995), (Motoyama T, et.al, 2003). Ωστόσο, τα επίπεδα της TAC του ορού, αυξάνονται σε χειρουργικούς ασθενείς με σηπτικό σοκ (Pascual C, et.al, 1998). Επιπλέον, η ενδογενής δυνατότητα εκκαθάρισης των περοξυλ-ριζών στο πλάσμα ασθενών με SIRS, βρέθηκε να είναι αυξημένη στους μη επιζώντες (Tsai K, et.al, 2000), (Bone RC, et.al, 1992), (Shiesh SC, et.al, 2000). Οι Chuang *et al*, έδειξαν ότι τα επίπεδα της TAC στον ορό αντανakλούν την κλινική σοβαρότητα της σήψης. Τα επίπεδα της TAC του ορού βρέθηκαν υψηλότερα στους μη επιζώντες σε σχέση με τους επιζώντες. Η πραγματική μεταβολή των επιπέδων της TAC στη σοβαρή σήψη παραμένει αμφιλεγόμενη. Πιθανολογείτε ότι οι αντιφλεγμονώδεις διαδικασίες ενεργοποιούνται για να αντισταθμίσουν τα υπερβολικά επίπεδα των προφλεγμονωδών κυτοκινών (van der Poll T, et.al, 1999) ή το οξειδωτικό στρες (Boveris A, et.al, 2002). Είναι επίσης πιθανό ότι μια αλλαγή στην αντιοξειδωτική άμυνα (π.χ. μια σημαντική αλλαγή στα επίπεδα της TAC του ορού) τελικά οδηγεί σε δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού και κακή έκβαση στους επιζώντες (Tsai K, et.al, 2000), (Bone RC, et.al, 1992), (Shiesh SC, et.al, 2000). Παρατεταμένα υψηλότερα επίπεδα TAC, όπως σημειώνονται στους μη επιζώντες, μπορεί να οφείλονται σε μια απόκριση του ξενιστή στο οξειδωτικό στρες ή σε ένα μηχανισμό αντιστάθμισης στα εξαντλημένα αντιοξειδωτικά συστατικά (MacKinnon KL, et.al, 1999). Είναι επίσης πιθανό ότι η αύξηση των επιπέδων TAC του ορού επιδεινώθηκε κατά τη σοβαρή σήψη, το οποίο υποδηλώνει ότι δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται σαν ρουτίνα μια αντιοξειδωτική θεραπεία για τη θεραπεία της σοβαρής σήψης μέχρι ο μηχανισμός δράσης της να γίνει κατανοητός. Ωστόσο, ο Ghiselli και οι συνεργάτες του, (Ghiselli A, et.al 2000) πρότειναν ότι το πλάσμα, αντί του ορού, θα πρέπει να χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των επιπέδων της TAC. Σε κάποιες μελέτες, φάνηκε να υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων TAC, τα οποία ανιχνεύθηκαν στο πλάσμα και στον ορό. Ο Pascual και οι συνεργάτες του (Pascual C, et.al, 1998) ανέφεραν ότι τα επίπεδα της TAC του πλάσματος ήταν χαμηλότερα σε ασθενείς με σήψη, αλλά υψηλότερα σε ασθενείς με σηπτικό σοκ σε σχέση με τα άτομα ελέγχου. Ο MacKinnon και οι συνεργάτες του (MacKinnon KL, et.al, 1999), σε μια μελέτη που διεξήχθη σε 50 ασθενείς σε κρίσιμη κατάσταση, ανέφεραν ότι η συνολική αντιοξειδωτική κατάσταση και τα επίπεδα του ουρικού οξέος, ήταν υψηλότερα στους μη επιζήσαντες από ό, τι στους επιζώντες, και πιθανολογείται ότι η υψηλότερη συνολική αντιοξειδωτική κατάσταση θα μπορούσε να αντανakλά τα υψηλότερα επίπεδα του ουρικού οξέος που

προκαλούνται από τη νεφρική δυσλειτουργία. Σύμφωνα με τα ευρήματα των Tsai et.al (Tsai K, et.al, 2000) ανέφεραν ότι τα επίπεδα της TAC στο πλάσμα ήταν σημαντικά υψηλότερα στους μη επιζώντες σε σχέση με τους επιζώντες. Ωστόσο, σε άλλες μελέτες (Cowley HC, et.al, 1996), (Goode HF, et.al, 1995), (Dasgupta A, et.al, 1997), διαπιστώθηκε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος στους μη επιζώντες ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στους επιζώντες μεταξύ των ασθενών με σοβαρή σήψη. Η διαφορά στα ευρήματα από τις μελέτες αυτές μπορεί κυρίως να οφείλεται σε διαφορές στις μεθόδους μέτρησης. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται κυρίως για την αποτίμηση της TAC είναι, η φασματοφωτομετρική μέθοδος, και η μέθοδος TRAP. Στην συγκεκριμένη μελέτη, που διεξήχθη στο πλάσμα των ασθενών και με τη χρήση της φασματοφωτομετρικής μεθόδου, τα επίπεδα της TAC παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση στην 3^η (κατά 13,17%), 6^η (κατά 11,65%) και 10^η (κατά 14,15%) ημέρα σε σχέση με την 1^η ενώ την 30^η ημέρα τα επίπεδα επανήρθαν στα αρχικά.

Η συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση συνδέεται με μια σημαντική απώλεια των πρωτεϊνών του σώματος (Streat SJ, et.al, 1987), και αυτή η πρωτεόλυση παρεμβαίνει σε σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες (Windsor JA 1993), (Windsor JA, et.al, 1988), που μπορεί να καθυστερήσει την ανάρρωση του ασθενούς και την έξοδο του από το νοσοκομείο. Η SIRS συνδέεται με την πρόωμη οξείδωση των πρωτεϊνών (Winterbourn CC, et.al, 2000), από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (Supinski G., 1998). Η οξείδωση των πρωτεϊνών στις ασθένειες, συνοδεύεται από την εισαγωγή ομάδων καρβονυλίου στις πλευρικές αλυσίδες των πρωτεϊνών και η μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων καθορίζει την έκταση της οξειδωτικής βλάβης (Gladstone IM Jr, et.al, 1994). Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια παράγονται μέσω διαφόρων μηχανισμών, οι οποίοι περιλαμβάνουν το υποχλωριώδες οξύ που προέρχεται από τα ουδετερόφιλα, από αντιδράσεις που καταλύονται από μέταλλα, και τη σύζευξη με προϊόντα αλδεΰδης των λιπιδίων (Blakeman DP, et.al 1995), (Reznick AZ, et.al, 1992). Στη μελέτη των Fikri M. et.al (Fikri M. Et.al, 2002), η συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων βρέθηκε σημαντικά μεγαλύτερη στους σηπτικούς ασθενείς από ό, τι στους ασθενείς της ομάδας ελέγχου καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Αυξημένες συγκεντρώσεις, στο πλάσμα και στους ιστούς των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, συσχετίζονται με την σοβαρότητα της ασθένειας και την κλινική έκβαση, σε διάφορες ασθένειες σήψης και φλεγμονώδεις ασθένειες (Gladstone IM Jr, et.al, 1994), (Lih-Brody L, et.al, 1996), (Quinlan GJ, et.al 1994). Στην συγκεκριμένη μελέτη δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των καρβονυλίων.

Για δεκαετίες, η παρατηρούμενη προ-φλεγμονώδης απόκριση, χαρακτηριστική της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης, πιστεύεται ότι ήταν η κύρια αιτία της βλάβης των οργάνων, αλλά, μέχρι σήμερα, οι δοκιμές αντιφλεγμονωδών παραγόντων έχουν σταθερά αρνητικά αποτελέσματα, σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς. Οι Lorente και οι συνεργάτες του προτείνουν, ότι οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να εξετάσουν εάν βιοδείκτες μπορούν να εντοπίσουν ασθενείς με αυξημένο οξειδωτικό στρες που μπορεί να αποκομίσουν το μέγιστο όφελος από τη θεραπεία με αντιοξειδωτικά, στη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση. Ομοίως, η χρήση αντιοξειδωτικής θεραπείας

στη SIRS και τη σήψη, παραμένει μια ελκυστική, αλλά αναπόδεικτη στρατηγική. Ενώ τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα με βιταμίνη Ε, σελήνιο, Ν-ακετυλοκυστεΐνη, και άλλες ενώσεις μπορούν να μειώσουν το οξειδωτικό στρες, οι κλινικές μελέτες έχουν αποτύχει να αποδείξουν με πειστικό τρόπο ένα ωφέλιμο αποτέλεσμα. Τα αντιοξειδωτικά τα οποία, στοχεύουν στα μιτοχόνδρια, σε πρωτεύουσα θέση παραγωγής των ROS / RNS, έχουν φανεί υποσχόμενα σε προκλινικές μελέτες. (Lorente, et.al, 2013).

Συνοπτικά, στη συγκεκριμένη μελέτη τα επίπεδα της TAC, βρέθηκαν μειωμένα την 3^η, 6^η και 10^η ημέρα στη ΜΕΘ, σε σχέση με την πρώτη ενώ την 30^η ημέρα τα επίπεδα επανήλθαν στα αρχικά. Τα επίπεδα των TBARS και των καρβονυλίων δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά. Σε μια περαιτέρω σύγκριση με τιμές φυσιολογικών ατόμων, βρέθηκε ότι οι ασθενείς με SIRS και εγκεφαλική βλάβη, κατά την 1^η ημέρα νοσηλείας στην ΜΕΘ εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά αυξημένα επίπεδα TBARS (67,49%) σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα, ενώ οι υπόλοιποι δείκτες δεν εμφάνισαν στατιστική σημαντική διαφορά. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα δεν μπορούμε να εξάγουμε κάποιο συμπέρασμα σχετικά με τη μεταβολή των δεικτών οξειδωτικού στρες με την πάροδο του χρόνου σε ασθενείς με συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση και εγκεφαλικό. Πιθανόν το αποτέλεσμα να οφείλεται στο μικρό αριθμό ασθενών. Ωστόσο, καθώς τα αποτελέσματα δείχνουν μια τάση συσχέτισης, θα πρέπει να διεξαχθεί περαιτέρω έρευνα.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abraham E. *Nuclear factor-kappaB and its role in sepsis-associated organ failure*, [J Infect Dis](#), 2003 Jun 15;187 Suppl 2:S364-9.
- Andrés Esteban, Niall D. Ferguson, Maureen O. Meade, Fernando Frutos-Vivar, Carlos Apezteguia, Laurent Brochard, Konstantinos Raymondos, Nicolas Nin, Javier Hurtado, Vinko Tomicic, Marco González, José Elizalde, Peter Nightingale, Fekri Abroug, Paolo Pelosi, Yaseen Arabi, Rui Moreno, Manuel Jibaja, Gabriel D'Empaire, Fredi Sandi, Dimitros Matamis, Ana María Montañez, and Antonio Anzueto "*Evolution of Mechanical Ventilation in Response to Clinical Research*", American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, Vol. 177, No. 2 (2008), pp. 170-177.
- [Andrew Lever](#), professor of infectious diseases and honorary consultant physician and [Iain Mackenzie](#), consultant in intensive care medicine and anaesthesia . *BMJ. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis*, Oct 27, 2007; 335(7625): 879–883
- Baudouin-Cornu P., Thomas D. 2007. *Evolutionary biology: oxygen at life's boundaries*. Nature 445, 35–36
- Bone RC, Fisher CJ Jr, Clemmer TP, Slotman GJ, Metz CA, Balk RA *Crit Care Med*. 1989 May; 17(5):389-93), *Sepsis syndrome: a valid clinical entity*. *Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group*.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ *Chest Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis*. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992 Jun; 101(6):1644-55.
- Craig N. Morrell *Reactive Oxygen Species Finding the Right Balance* [Circ Res. Sep 12, 2008; 103\(6\): 571–572](#)
- [David F. Stowe](#) and [Amadou K. S. Camara](#) *Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production in Excitable Cells: Modulators of Mitochondrial and Cell Function*, *Antioxid Redox Signal*. Jun 2009; 11(6): 1373–1414.
- [Deborah J. Stearns-Kurosawa](#), [Marcin F. Osuchowski](#), [Catherine Valentine](#), [Shinichiro Kurosawa](#), and [Daniel G. Remick](#) *The Pathogenesis of Sepsis* , [Annu Rev Pathol. 2011; 6: 19–48](#).
- Derek S. Wheeler *Oxidative Stress in Critically Ill Children with Sepsis*, Oct 2011
- [Diana Mühl](#), [Gábor Woth](#), [Livia Drenkovics](#), [Adrienn Varga](#), [Subhamay Ghosh](#), [Csaba Csontos](#), [Lajos Bogár](#), [György Wéber](#), [János Lantos](#) *Comparison of oxidative stress & leukocyte activation in patients with severe sepsis & burn injury* , *Indian Journal of Medical Research*, 2011

- Drancourt M, Aboudharam G, Signoli M, Dutour O, Raoult D. 1998. **Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: an approach to the diagnosis of ancient septicemia.** Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95:12637–12640
- [Dongping Liu](#) and [Yang Xu](#) **p53, Oxidative Stress, and Aging**, Antioxid Redox Signal. Sep 15, 2011; 15(6): 1669–1678.
- Federman DDN Engl J Med **The biology of human sex differences**, 2006 Apr 6; 354(14):1507-14.
- Hess M.L., Manson N.H **Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury.** 1984 (November) J. Mol. Cell. Cardiol. 16(11):969–985.
- John W Baynes and Marek H Dominiczak, 2012 **Medical Biochemistry**, chapter *The beneficial effects of reactive oxygen species*)
- Jones A.E., Puskarich M.A., 2009. **Sepsis - Induced Tissue Hypoperfusion.** *Critical Care Clinics*, 25, pp. 769–779.
- Jones DP. **Redefining oxidative stress.** *Antioxid Redox Signal*. 2006 8:1865–1879.
- [Kendra N. Iskander](#), [Marcin F. Osuchowski](#), [Deborah J. Stearns-Kurosawa](#), [Shinichiro Kurosawa](#), [David Stepien](#), [Catherine Valentine](#), and [Daniel G. Remick](#) **Sepsis: Multiple Abnormalities, Heterogeneous Responses, and Evolving Understanding** *Physiol Rev*. Jul 2013; 93(3): 1247–1288.
- [Konrad Reinhart](#), [Michael Bauer](#), [Niels C. Riedemann](#), and [Christiane S. Hartog](#) 2012 **New Approaches to Sepsis: Molecular Diagnostics and Biomarkers**
- Kumar, Anand MD; Roberts, Daniel MD; Wood, Kenneth E. DO; Light, Bruce MD; Parrillo, Joseph E. MD; Sharma, Satendra MD; Suppes, Robert BSc; Feinstein, Daniel MD; Zanotti, Sergio MD; Taiberg, Leo MD; Gurka, David MD; Kumar, Aseem PhD; Cheang, Mary MSc **Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*** , © 2006 Lippincott Williams & Wilkins, Inc. Volume 34(6), June 2006, pp 1589-1596
- [Lee P. Skrupky](#), Pharm.D., B.C.P.S., [Paul W. Kerby](#), M.B B.S., and [Richard S. Hotchkiss](#), M.D, **Advances in the Management of Sepsis and in the Understanding of Key Immunologic Defects of the Disorder** *Anesthesiology*. Dec 2011; 115(6): 1349–1362.
- [Leigh Boardman](#), [John S. Terblanche](#), [Stefan K. Hetz](#), [Elrike Marais](#) and [Steven L. Chow](#) **Reactive oxygen species production and discontinuous gas exchange in insects** , 24 Aug 2011
- [Marshall JC](#). **SIRS and MODS: what is their relevance to the science and practice of intensive care?** , 2000 Dec, 14(6):586-9.

- *Martin G, Brunkhorst FM, Janes JM, Reinhart K, Sundin DP, Garnett K, Beale R The international PROGRESS registry of patients with severe sepsis: drotrecogin alfa (activated) use and patient outcomes. Crit Care. 2009; 13(3):R103.*
- *Martin GS, Mannino DM, Moss M The effect of age on the development and outcome of adult sepsis Crit Care Med. 2006 Jan, 34(1):15-21.*
- *McCue JD Antibiotic use in the elderly: issues and nonissues Clin Infect Dis. 1999 Apr, 28(4):750-2.*
- *Ronan M. G. Berg, Kirsten Moller and Damian M.Bailey, Neuro-oxidative-nitrosative stress in sepsis, July 2011 J Cereb Blood Flow Metab 31(7): 1532–1544.*
- *Schottmueller H. 1914, Wesen und Behandlung der Sepsis. Inn. Med. 31:257–280*
- *Sies H. Oxidative Stress. 1985 London Academic*
- [Scott K. Powers](#) and Malcolm J. Jackson *Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production* *Physiol Rev.* Jul 23, 2010. [Physiol Rev. Oct 2008; 88\(4\): 1243–1276.](#)
- *Spink WW., 1978 Infectious diseases. Prevention and treatment in the nineteenth and twentieth centuries.* University of Minnesota Press, Minneapolis, MN
- [Stuart G. Jarrett](#) and [Michael E. Boulton](#) *CONSEQUENCES OF OXIDATIVE STRESS IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION,* [Mol Aspects Med. Aug 2012; 33\(4\): 399–417.](#)
- [Weiss SL, Deutschman CS.](#) *Elevated malondialdehyde levels in sepsis - something to 'stress' about?* [Crit Care.](#) 2014 Mar 19;18(2):125.
- *Zellweger R, Wichmann MW, Ayala A, Stein S, DeMaso CM, Chaudry IH Females in proestrus state maintain splenic immune functions and tolerate sepsis better than males. Crit Care Med. 1997 Jan; 25(1):106-10.*
- *Headway Brain Injury Services and Support.*
- ["Birth Hypoxia and Brain Damage to Newborns".](#) *Michael E. Duffy. Retrieved 2013-07-27*
- ["What Is a Stroke?".](#) <http://www.nhlbi.nih.gov/>. *March 26, 2014. Retrieved 26 February 2015.*
- *Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM (May 2008). "Stroke". Lancet 371 (9624): 1612–23. doi:10.1016/S0140-6736(08)60694-7.PMID 18468545.*
- *What Are the Signs and Symptoms of a Stroke?* [http://www.nhlbi.nih.gov.](http://www.nhlbi.nih.gov/) *March 26, 2014. Retrieved 27 February 2015. External link in |website= (help)*
- ["Brain Basics: Preventing Stroke".](#) *National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Retrieved 2009-10-24.*

- Hill MD (November 2005). "Diagnostic biomarkers for stroke: a stroke neurologist's perspective". *Clinical Chemistry* **51** (11): 2001–2.
- "Brain aneurysm - Introduction". NHS Choices.
- Fisher CM (1968-12-18). "The arterial lesions underlying lacunes". *Acta Neuropathologica* 12 (1): 1–15
- National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) (1999). "Stroke: Hope Through Research". National Institutes of Health.
- Shah, A. S. V.; Lee, K. K.; McAllister, D. A.; Hunter, A.; Nair, H.; Whiteley, W.; Langrish, J. P.; Newby, D. E.; Mills, N. L. (24 March 2015). "Short term exposure to air pollution and stroke: systematic review and meta-analysis". *BMJ* 350 (mar23 11): h1295–h1295.
- Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition. (8th ed.). Philadelphia, Pa: Elsevier. 2009.
- Ay H, Furie KL, Singhal A, Smith WS, Sorensen AG, Koroshetz WJ (November 2005). "An evidence-based causative classification system for acute ischemic stroke". *Annals of Neurology* 58 (5): 688–97
- "The top 10 causes of death". WHO.
- Feigin VL, Forouzanfar MH, Krishnamurthi R, Mensah GA, Connor M, Bennett DA, Moran AE, Sacco RL, Anderson L, Truelsen T, O'Donnell M, Venketasubramanian N, Barker-Collo S, Lawes CM, Wang W, Shinohara Y, Witt E, Ezzati M, Naghavi M, Murray C (2014). "Global and regional burden of stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010". *Lancet* 383 (9913): 245–54
- Indian Heart Association Why South Asians Facts Web. May 8, 2015. <http://indianheartassociation.org/why-indians-why-south-asians/overview/>
- Towfighi A, Saver JL (August 2011). "[Stroke declines from third to fourth leading cause of death in the United States: historical perspective and challenges ahead](#)". *Stroke* **42** (8): 2351–5.
- Ellekjaer H, Holmen J, Indredavik B, Terent A (November 1, 1997). "[Epidemiology of Stroke in Innherred, Norway, 1994 to 1996: Incidence and 30-Day Case-Fatality Rate](#)". *Stroke* **28** (11): 2180–2184
- enelick Richard C., Rossi, Peter W., Dougherty, Karla (1994). *Living with Stroke: A Guide for Families*. Contemporary Books, Chicago.
- [National Institute of Neurological Disorders and Stroke \(NINDS\)](#)(1999). "[Stroke: Hope Through Research](#)". National Institutes of Health.
- Villarosa, Linda; Singleton, Lafayette; Johnson, Kirk A. (1993). *The Black health library guide to stroke*. New York: Henry Holt and Co.
- Ashrafian H (2010). "Familial stroke 2700 years ago". *Stroke* **41** (4): e187.

- Thompson JE (August 1, 1996). "The evolution of surgery for the treatment and prevention of stroke. The Willis Lecture". *Stroke* 27 (8): 1427–34.
- Kopito, Jeff (September 2001). "A Stroke in Time". MERGINET.com
- R. Barnhart, ed. *The Barnhart Concise Dictionary of Etymology* (1995)
- Schiller F (April 1970). "[Concepts of stroke before and after Virchow](#)". *Med Hist*14 (2): 115–31
- Stanley Finger; François Boller; Kenneth L. Tyler (2010). [Handbook of Clinical Neurology](#). North-Holland Publishing Company. p. 401
- *Mosby's Medical Dictionary, 8th edition*. Elsevier. 2009.
- Zierath D, Thullbery M, Hadwin J, Gee JM, Savos A, Kalil A, Becker KJ. CNS immune responses following experimental stroke. *Neurocrit Care*. 2010;12:274–284.]
- Nakase T, Yamazaki T, Ogura N, Suzuki A, Nagata K. The impact of inflammation on the pathogenesis and prognosis of ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2008;271:104–109.
- Wang Q, Tang XN, Yenari MA. The inflammatory response in stroke. *J Neuroimmunol*. 2007;184:53–68.
- ShenharTsarfaty S, Assayag EB, Bova I, Shopin L, Berliner S, Shapira I, Bornstein NM. Early signaling of inflammation in acute ischemic stroke: Clinical and rheological implications. *Thromb Res*. 2008;122:167–173.
- McColl BW, Allan SM, Rothwell NJ. Systemic inflammation and stroke: Aetiology, pathology and targets for therapy. *Biochem Soc Trans*. 2007;35:1163–1165.
- Sotgiu S, Zanda B, Marchetti B, Fois ML, Arru G, Pes GM, Salaris FS, Arru A, Pirisi A, Rosati G. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia. *Eur J Neurol*. 2006;13:505–513.
- Naess H, Idicula T, Lagallo N, Brogger J, WajeAndreassen U, Thomassen L. Inverse relationship of baseline body temperature and outcome between ischemic stroke patients treated and not treated with thrombolysis: The Bergen stroke study. *Acta Neurol Scand*. 2010;122:414–417.
- Saini M, Saqur M, Kamruzzaman A, Lees KR, Shuaib A. VISTA Investigators: Effect of hyperthermia on prognosis after acute ischemic stroke. *Stroke*. 2009;40:3051–3059.]
- Greer DM, Funk SE, Reaven NL, Ouzounelli M, Uman GC. Impact of fever on outcome in patients with stroke and neurologic injury: A comprehensive meta-analysis. *Stroke*. 2008;39:3029–3035.
- Harms H, Prass K, Meisel C, Klehmet J, Rogge W, Drenckhahn C, Göhler J, Bereswill S, Göbel U, Wernecke KD, et al. Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: A randomized controlled trial. *PLoS One*. 2008.

- Schwarz S, Al-Shajlawi F, Sick C, Meairs S, Hennerici MG. Effects of prophylactic antibiotic therapy with mezlocillin plus sulbactam on the incidence and height of fever after severe acute ischemic stroke: The Mannheim Infection in Stroke Study (MISS) Stroke. 2008;39:1220–1227.
- LICHAO YE, RUOWEI CAI, MEILI YANG, JIAQIANG QIAN, and ZHILIN HONG. Reduction of the systemic inflammatory induced by acute cerebral infarction through ultra-early thrombolytic therapy. 2015 Aug 6.
- Leira R, Sobrino T, Blanco M, Campos F, Rodríguez-Yáñez M, Castellanos M, Moldes O, Millán M, Dávalos A, Castillo J. A higher body temperature is associated with haemorrhagic transformation in patients with acute stroke untreated with recombinant tissue-type plasminogen activator (rtPA) Clin Sci (Lond) 2012
- Wang Y, Lim LL, Levi C, Heller RF, Fisher J. Influence of admission body temperature on stroke mortality. Stroke. 2000.
- Kammersgaard LP, Jørgensen HS, Rungby JA, Reith J, Nakayama H, Weber UJ, Houth J, Olsen TS. Admission body temperature predicts long-term mortality after acute stroke: The Copenhagen Stroke Study. Stroke. 2002
- Karaszewski B, Thomas RG, Dennis MS, Wardlaw JM. Temporal profile of body temperature in acute ischemic stroke: Relation to stroke severity and outcome. BMC Neurol. 2012
- den Hertog HM, van der Worp HB, van Gemert HM, Algra A, Kappelle LJ, van Gijn J, Koudstaal PJ, Dippel DW. An early rise in body temperature is related to unfavorable outcome after stroke: Data from the PAIS study. J Neurol. 2011.
- Leira R, Rodríguez-Yáñez M, Castellanos M, Blanco M, Nombela F, Sobrino T, Lizasoain I, Dávalos A, Castillo J. Hyperthermia is a surrogate marker of inflammation-mediated cause of brain damage in acute ischaemic stroke. J Intern Med. 2006.
- Hurn PD, Subramanian S, Parker SM, Afentoulis ME, Kaler LJ, Vandenberg AA, Offner H. T- and B-cell-deficient mice with experimental stroke have reduced lesion size and inflammation. J Cereb Blood Flow Metab. 2007.
- Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, del Zoppo GJ, Hallenbeck JM, Rothwell NJ, Hopkins SJ, Tyrrell PJ. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume, stroke severity and long-term outcome. BMC Neurol. 2004/
- Christensen H, Boysen G. C-reactive protein and white blood cell count increases in the first 24 h after acute stroke. Cerebrovasc Dis. 2004

- Akopov SE, Simonian NA, Grigorian GS. Dynamics of polymorphonuclear leukocyte accumulation in acute cerebral infarction and their correlation with brain tissue damage. *Stroke*. 1996.
- EliasSmale SE, Kardys I, Oudkerk M, Hofman A, Witteman JC. C-reactive protein is related to extent and progression of coronary and extra-coronary atherosclerosis; results from the Rotterdam study. *Atherosclerosis*. 2007.
- Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008.
- Idicula TT, Brogger J, Naess H, WajeAndreassen U, Thomassen L. Admission C-reactive protein after acute ischemic stroke is associated with stroke severity and mortality: The 'Bergen stroke study' *BMC Neurol*. 2009.
- den Hertog HM, van Rossum JA, van der Worp HB, van Gemert HM, de Jonge R, Koudstaal PJ, Dippel DW. PAIS investigators: C-reactive protein in the very early phase of acute ischemic stroke: Association with poor outcome and death. *J Neurol*. 2009.
- Hacke W, Kaste M, Bluhmki E, Brozman M, Dávalos A, Guidetti D, Larrue V, Lees KR, Medeghri Z, Machnig T, et al. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 h after acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 2008
- Audebert HJ, Rott MM, Eck T, Haberl RL. Systemic inflammatory response depends on initial stroke severity but is attenuated by successful thrombolysis. *Stroke*. 2004.
- Hemmen TM, Raman R, Guluma KZ, Meyer BC, Gomes JA, CruzFlores S, Wijman CA, Rapp KS, Grotta JC, Lyden PD. ICTuS-L Investigators: Intravenous thrombolysis plus hypothermia for acute treatment of ischemic stroke (ICTuS-L): Final results. *Stroke*. 2010.
- Idicula TT, WajeAndreassen U, Brogger J, Naess H, Lundstadsveen MT, Thomassen L. The effect of physiologic derangement in patients with stroke treated with thrombolysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2008.
- Millan M, Grau L, Castellanos M, Rodríguez-Yáñez M, Arenillas JF, Nombela F, Pérez de la Ossa N, López-Manzanares L, Serena J, Castillo J, Dávalos A. Body temperature and response to thrombolytic therapy in acute ischaemic stroke. *Eur J Neurol*. 2008.
- Jayantee Kalita, MD, DM, Jogendra Bastia, MD, DM, Sanjeev K. Bhoi, MD, DM, and Usha K. Misra, MD, DM , Systemic Inflammatory Response Syndrome Predicts Severity of Stroke and Outcome, *National stroke association* ,2015.
- Chamorro A, Urra X, Planas AM. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke* 2007;38:1097–103.
- Dirnagl U, Klehmet J, Braun JS, et al. Stroke-induced immunodepression: experimental evidence and clinical relevance. *Stroke* 2007;38:770–3.
- Emsley HC, Hopkins SJ. Acute ischaemic stroke and infection: recent and emerging concepts. *Lancet Neurol* 2008;7:341–53.
- Sykora M, Diedler J, Poli S, et al. Autonomic shift and increased susceptibility to infections after acute intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2011;42:1218–23.
- Grabska K, Gromadzka G, Czlonkowska A. Infections and ischemic stroke outcome. *Neurol Res Int* 2011. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/691348>.

- Vermeij FH, Scholte op Reimer WJ, de Man P, et al. Stroke-associated infection is an independent risk factor for poor outcome after acute ischemic stroke: data from the Netherlands Stroke Survey. *Cerebrovasc Dis* 2009;27:465–71.
- Rocco A, Fam G, Sykora M, et al. Poststroke infections are an independent risk factor for poor functional outcome after three-months in thrombolysed stroke patients. *Int J Stroke* 2012 May 28. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00822.x> [Epub ahead of print].
- Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, et al. Prevention, diagnosis, therapy and follow-up care of sepsis: 1st revision of S-2k guidelines of the German Sepsis Society (Deutsche Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG)) and the German Interdisciplinary Association of Intensive Care and Emergency Medicine (Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI)). *Ger Med Sci* 2010;8. <http://dx.doi.org/10.3205/000103>.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250–6.
- Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest* 1992;101:1481–3.
- Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med* 2002;28:108–21.
- Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 2007;33:606–18.
- Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006;34:344–53.
- Harrison DA, Welch CA, Eddleston JM. The epidemiology of severe sepsis in England, Wales and Northern Ireland, 1996 to 2004: secondary analysis of a high quality clinical database, the ICNARC Case Mix Programme Database. *Crit Care* 2006;10:R42.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546–54.
- Martin CM, Priestap F, Fisher H, et al. A prospective, observational registry of patients with severe sepsis: the Canadian Sepsis Treatment and Response Registry. *Crit Care Med* 2009;37:81–8.
- Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, et al. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med* 2003;31:2332–8.
- Finfer S, Bellomo R, Lipman J, et al. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:589–96.
- Schoenberg MH, Weiss M, Radermacher P. Outcome of patients with sepsis and septic shock after ICU treatment. *Langenbecks Arch Surg* 1998;383:44–8.
- Bauer M, Brunkhorst F, Welte T, et al. Sepsis: update on pathophysiology, diagnostics and therapy. *Anaesthesist* 2006;55:835–45
- Kasuya Y, Hargett JL, Lenhardt R, et al. Ventilator-associated pneumonia in critically ill stroke patients: frequency, risk factors, and outcomes. *J Crit Care* 2011;26:273–9.
- Walter U, Knoblich R, Steinhagen V, et al. Predictors of pneumonia in acute stroke patients admitted to a neurological intensive care unit. *J Neurol* 2007;254:1323–9.
- Wartenberg KE, Stoll A, Funk A, et al. Infection after acute ischemic stroke: risk factors, biomarkers, and outcome. *Stroke Res Treat* 2011;2011:830614.

- Mascia L, Sakr Y, Pasero D, et al. Extracranial complications in patients with acute brain injury: a post-hoc analysis of the SOAP study. *Intensive Care Med* 2008;34:720–7.
- Lorente L, Martín MM, Abreu-González P, Domínguez-Rodríguez A, Labarta L, Díaz C, Solé-Violán J, Ferreres J, Cabrera J, Igeño JC, Jiménez A: Sustained high serum malondialdehyde levels are associated with severity and mortality in septic patients. *Crit Care* 2013, 17:R290
- Murphy MP: How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 2009, 417:1–13.
- Ischiropoulos H, Beckman JS: Oxidative stress and nitration in neurodegeneration: cause, effect, or association? *J Clin Invest* 2003, 111:163–169.
- Galley HF: Bench-to-bedside review: Targeting antioxidants to mitochondria in sepsis. *Crit Care* 2010, 14:230.
- von Dessauer B, Bongain J, Molina V, Quilodran J, Castillo R, Rodrigo R: Oxidative stress as a novel target in pediatric sepsis management. *J Crit Care* 2011, 26:103.e101-e107.
- Slatter DA, Paul RG, Murray M, Bailey AJ: Reactions of lipid-derived malondialdehyde with collagen. *J Biol Chem* 1999, 274:19661–19669.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A: Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006, 52:601–623.
- Scott L Weiss and Clifford S Deutschman. Elevated malondialdehyde levels in sepsis - something to 'stress' about? *Critical Care* 19 Mar 2014.
- Leonardo Lorente, corresponding author, María M Martín, Pedro Abreu-González, Alberto Domínguez-Rodríguez, Lorenzo Labarta, César Díaz, Jordi Solé-Violán, José Ferreres, Judith Cabrera, Jose Carlos Igeño, and Alejandro Jiménez. Sustained high serum malondialdehyde levels are associated with severity and mortality in septic patients. *Critical care* 2013.
- Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, Davies NA, Cooper CE, Singer ML: **Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock.** *Lancet* 2002, **360**:219-223.
- Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF, Webster NR, Jones JG, Menon DK: **Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors.** *Crit Care Med* 1996, **24**:1179-1183.
- Alonso de Vega JM, Diaz J, Serrano E, Carbonell LF: **Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome.** *Crit Care Med* 2002, **30**:1782-1786.
- Alonso de Vega JM, Diaz J, Serrano E, Carbonell LF: **Plasma redox status relates to severity in critically ill patients.** *Crit Care Med* 2000, **28**:1812-1814.
- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C: **Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data.** *Free Rad Biol Med* 2000, **29**:1106-1114.
- Pinsky MR: **Antioxidant therapy for severe sepsis: promise and perspective.** *Crit Care Med* 2003, **31**:2697-2698.
- Eichacker PQ, Parent C, Kalil A, Esposito C, Cui X, Banks SM, Gerstenberger EP, Fitz Y, Danner RL, Natanson C: **Risk and the efficacy of anti-inflammatory agents: retrospective and confirmatory studies of sepsis.** *Am J Respir Crit Care Med* 2002, **166**:1197-1205.

- Goode HF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR: **Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction.** *Crit Care Med* 1995, **23**:646-651.
- Leaver HA, Yap PL, Rogers P, Wright I, Smith G, Williams PE, France AJ, Craig SR, Walker WS, Prescott RJ: **Peroxides in human leukocytes in acute septic shock: a preliminary study of acute phase changes and mortality.** *Eur J Clin Invest* 1995, **25**:777-783.
- Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H: **Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome.** *Crit Care Med* 2003, **31**:1048-1052.
- Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, Reinhart K: **Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis.** *Crit Care Med* 1998, **26**:705-709.
- Tsai K, Hsu TG, Kong CW, Lin K, Lu F: **Is the endogenous peroxyl-radical scavenging capacity of plasma protective in systemic inflammatory disorders in humans?** *Free Rad Biol Med* 2000, **28**:926-933.
- MacKinnon KL, Molnar Z, Lowe D, Watson ID, Shearer E: **Measures of total free radical activity in critically ill patients.** *Clin Biochem* 1999, **32**:263-268.
- Teng RJ, Ye YZ, Parks DA, Beckman JS: **Urate produced during hypoxia protects heart proteins from peroxynitrite-mediated protein nitration.** *Free Rad Biol Med* 2002, **33**:1243-1249.
- Anker SD, Doehner W, Rauchhaus M, Sharma R, Francis D, Knosalla C, Davos CH, Ciccoira M, Shamim W, Kemp M, *et al.*: **Uric acid and survival in chronic heart failure: validation and application in metabolic, functional, and hemodynamic staging.** *Circulation* 2003, **107**:1991-1997.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ: **Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine.** *Chest* 1992, **101**:1644-1655.
- Whitehead TP, Thorpe GHG, Maxwell SRJ: **Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids.** *Analytica Chimica Acta* 1992, **266**:265-277.
- Shiesh SC, Chen CY, Lin XZ, Liu ZA, Tsao HC: **Melatonin prevents pigment gallstone formation induced by bile duct ligation in guinea pigs.** *Hepatology* 2000, **32**:455-460
- van der Poll T, van Deventer SJ: **Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis.** *Infect Dis Clin North Am* 1999, **13**:413-426.
- Boveris A, Alvarez S, Navarro A: **The role of mitochondrial nitric oxide synthase in inflammation and septic shock.** *Free Rad Biol Med* 2002, **33**:1186-1193
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)* 1993, **84**:407-412.
- Lissi E, Salim-Hanna M, Pascual C, del Castillo MD: Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. *Free Rad Biol Med* 1995, **18**:153-158.

- Dasgupta A, Malhotra D, Levy H, Marcadis D, Blackwell W, Johnston D: **Decreased total antioxidant capacity but normal lipid hydroperoxide concentrations in sera of critically ill patients.** *Life Sciences* 1997, **60**:335-340.
- Chia-Chang Chuang, Shu-Chu Shiesh, Chih-Hsien Chi, Yi-Fang Tu, Lien-I Hor, ChiChang Shieh and Ming-Feng Chen. **Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis.** *Critical Care* 2006
- Blakeman DP, Ryan TP, Jolly RA, Petry TW. Diquatdependent protein carbonyl formation. Identification of lipid dependent and lipid independent pathways. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 929–935
- Burkinshaw L, Morgan DB, Silvertown NP, Thomas RD. Total body nitrogen and its relation to body potassium and the fat-free mass in healthy subjects. *Clin Sci* 1981; 61: 457–462.
- Gladstone IM Jr, Levine RL. Oxidation of proteins in neonatal lungs. *Pediatrics* 1994; 93: 764–768.
- Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP et al. Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 2078–2086
- Quinlan GJ, Evans TW, Gutteridge JM. Oxidative damage to plasma proteins in adult respiratory distress syndrome. *Free Radic Res* 1994; 20: 289–298.
- Reznick AZ, Cross CE, Hu M-L et al. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992; 286: 607– 611.
- Siegel S, Castellan Jr. *Nonparametric statistics for behavioral sciences.* 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1988.
- Streat SJ, Beddoe AH, Hill GL. Aggressive nutritional support does not prevent protein loss despite fat gain in septic intensive care patients. *J Trauma* 1987; 27: 262–266.
- Supinski G. Free radical induced respiratory muscle dysfunction. *Mol Cell Biochem* 1998; 179: 99–110.
- Wilmore DW. Does loss of body protein determine outcome in patients who are critically ill? *Ann Surg* 1998; 228: 143–145.
- Windsor JA. Underweight patients and the risks of major surgery. *World J Surg* 1993; 17: 165–172.
- Windsor JA, Hill GL. Risk factors for postoperative pneumonia. The importance of protein depletion. *Ann Surg* 1988, 208: 209–214.
- Fikri M. Abu-Zidan, Lindsay D. Plank and John. A. Windsor. *Proteolysis in Severe Sepsis is Related to Oxidation of Plasma Protein.* Taylor and Franks, 2002.