

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



TEZĂ DE DOCTORAT

**Antioxidanții în terapia de prevenire a complicațiilor
postoperatorii**

REZUMAT

Conducător de doctorat:

Prof. Univ. Dr. Maria VRABETE

Student doctorand:

Ioana Larisa VASILE (ȘTEFAN)

CRAIOVA

2013

CUPRINS

INTRODUCERE.....	3
STADIUL CUNOAȘTERII.....	3
CONTRIBUȚII PROPRII.....	3
Premisa și obiectivele cercetării.....	3
Material și metodă.....	4
Rezultate.....	5
Discuții.....	6
CONCLUZII FINALE.....	7
BIBLIOGRAFIE	8

CUVINTE CHEIE: Antioxidanți (A), Stres oxidativ (SO), Plăgi chirurgicale, Stres posttraumatic.

INTRODUCERE

Postoperator, stresul oxidativ indus în celulele unităților vasculo-tisulare, traumatizate, este generat de acumularea speciilor reactive de oxigen (SRO) și azot (SRN), odată cu reducerea capacității antioxidante a serului. (Vrabet M., 2001)

Plăgile traumatiche, de tipul: plagă tăiată, strivită, înțepată, infectată, împușcată, reprezintă aproximativ 33–41% din afecțiunile, care afectează membrele superioare (mână, antebraț) la pacienții internați în secția de chirurgie plastică și reparatorie, pentru refacerea lipsei de substanță și recuperarea funcțională, a segmentului afectat.

În chirurgia plastică reparatorie, implicarea directă sau indirectă, (de vecinătate), a mușchilor componenți ai dermatomerului din zona operată, determină instalarea unor modificări fenotipice și structurale, nu doar funcționale, care pot fi reversibile, în fazele acută, subacută sau ireversibile cronicizate, determinând vindecarea cu defect. (H.Eikermann, et al., 2006)

Vindecarea eficientă, fără defect, în maximum trei săptămâni, de la imobilizarea mușchiului în plaga operatorie, se produce la aproximativ 55% dintre cazuri. Există, însă un procent considerabil de vindecări cu defect, care determină disconfortul, caracteristic stării posttraumatice, în cadrul căreia perturbarea psihică asociată, întreține handicapul neuro-motor, starea psihică fiind foarte greu de tratat, în timp. (Deac D., 1999)

Evoluția nefavorabilă a statusului funcțional al musculaturii, în perioada postoperatorie tardivă (peste 6 săptămâni), necesită aplicarea unor metode kinetoterapeutice, ajutătoare, de recuperare, dintre care: stimularea electrică neuro-musuculo-cutanată, exercițiile pentru întreținerea activității sensibilității proprioceptive, terapia cu ultrasunete, etc. (Dubay D.A., 2003).

Modificările fenotipice, de la nivelul fibrei mușchiului striat, însumează elemente ale proceselor de inactivare/activare a genelor specifice și a structurilor (proteinelor) encodeate și transcrise din codul genetic, în concordanță cu aportul de O₂ de la nivelul mitocondriei și raportul dintre oxidanți-antioxidanți stabilit la acest nivel.

Se consideră că hipoxia activează mecanisme, care participă la remodelarea (plasticitatea), mușchiului striat, prin reacții declanșate și controlate de enzime mitocondriale și proteine funcționale, activate de reducerea nivelului de O₂. Creșterea numărului de capilare, pentru creșterea aportului de O₂ și creșterea capacității

oxidative la nivelul mitocondriei, sunt câteva elemente controlate de enzimele din lanțul respirator și de raportul oxidanți-antioxidanți endo și exogeni. (Hoppeler, 2003).

STADIUL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1 – face o trecere în revistă a datelor generale despre plăgile chirurgicale și vindecarea acestora.(Steed D.L., 2003)

CAPITOLUL 2 – pune în evidență conceptele moderne de evidențiere a stresului oxidativ, prin depistarea celor mai sensibili parametri de reflectare a lui: capacitatea antioxidantă a serului, radicalii liberi de O₂ și/ sau speciile reactive de O₂, enzimele antioxidante (superoxiddismutaza, catalaza), glutationul redus, metalele cu efect antioxidant - Zn, Cu și malondialdehida, ca argument al lipoperoxidării.

CAPITOLUL 3 – etalează considerațiile asupra plasticității mușchiului striat și manifestările acesteia, în perioadă posttraumatică.

Sunt expuse mecanismele adaptării miocelulare la antrenamentul prin duranță cât și integrarea semnalului în activitatea țesutului.

CONTRIBUȚII PROPRII

Premisa studiului este evidențierea mecanismelor de adaptare ale organismelor, care asigură vindecarea plăgilor chirurgicale, per primam, permițând o rapidă reîncadrare socială a subiectului.

Obiective

- Selectarea parametrilor clinico-paraclinici, care exprimă raportul oxidanți/antioxidanți, corelat cu procesul de vindecare.
- Stabilirea corelației dintre dezechilibrele redox și tipul durerii raportate.
- Evidențierea complicațiilor postoperatorii, consecințe ale stresului oxidativ (Sox) și efectele, pe care le are terapia auxiliară cu antioxidanți exogeni.
- Stabilirea indicatorilor (markerilor) clinico-paraclinici (funcționali și biochimici) și exprimarea lor sub formă de scoruri.

- Notarea tipurilor de terapii, cu efect favorabil, asupra raportului redox, în cadrul reacției postoperatorii.

Material și metodă

Cu avizul Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie din Craiova și a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, am urmărit evoluția clinică și paraclinică a unui lot de 60 de pacienți, internați în secția de Chirurgie Plastică și Reconstructivă, având acordul acestora și al Șefului Clinicii de Chirurgie Plastică și Reconstructivă. Pacienții au suferit traumatisme ale mâinii, pentru care au necesitat reconstrucția nefuncțională (structurală) a policelui cu aplicare de grefă autologă, prin tehnica: plastie cu piele liberă despăcată (PPLD), durata intervenției: 120 ± 60 minute, sub anestezie generală, (riscul anestezic grad 3).

Am analizat aspectele anatomo-clinice și morfopatologice ale plăgilor și am solicitat predicția medicului chirurg, asupra capacității pacienților de a se vindeca “per primam”.

Lotul selectat a fost omogen, ca urmare a stabilirii unor criterii stricte, de selecție a pacienților, atât demografice cât și de monitorizare în perioada postoperatorie a parametrilor urmăriți.

Tehnici de lucru: tehnici uzuale: numărul de leucocite, formula leucocitară, starea de coagulabilitate a plasmei (INR) și cele efectuate cu tehnica ELISA: determinarea SOD, CAT, a MDA, Cupru, Zinc, GSH în evoluție dinamică, la 24-48 de ore postoperator, la 3-7 zile și la externare și tehnica automată de măsurare a radicalilor liberi de O₂, TBARS și CAO, Oczan Erel.

Examenul histo-patologic al plăgii din perioada preoperatorie a fost interpretat, prin microscopie optică, pe frotiuri colorate cu HE.

Toate datele obținute, au fost prelucrate și introduse într-un sistem de scoruri, (scale sau indicatori) care au servit la evaluarea stării generale postoperatorii.

Starea generala a organismului	Scor
Foarte Bună	1- 3
Bună	4-6
Mediocră	7-9
Precară	10-14

Tabel nr.1 Starea generală a organismului

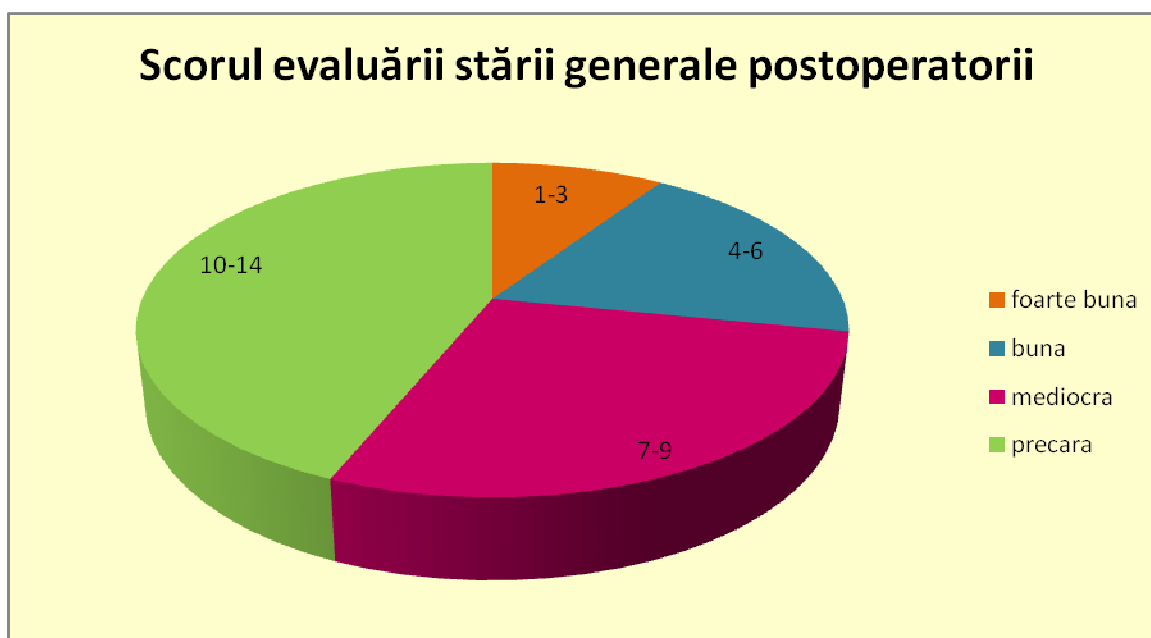


Figura nr.1 Scorul evaluării stării generale postoperatorii

Dintre scorurile și indicii calculați pot fi citați: evaluarea durerii centrale, evaluarea durerii periferice, în funcție de modificările anatomo-patologice, instalarea complicațiilor fiziopatologice postoperatorii, codul disfuncțiilor organice.

Rezultate

Toate datele obținute au fost înscrise în tabele și grafice realizate în Microsoft Excel și supuse unui studiu de **analiză statistică**. Calculând coeficienții de corelație dintre administrarea de SOD, Zn și profilul redox al plasmei am obținut următoarele aspecte:

Valoarea CAO se corelează cu valoarea SOD, după 48 de ore de la administrare ($r:0,85$) și mai puțin cu valorile Zn ($r:0,75$). După 72 de ore de administrare a SOD, evoluția SOD și CAO a căpătat un aspect în platou (steady state), până în a șaptea zi, când nivelul a revenit la valorile martor și s-a stabilizat. Am considerat că acesta este momentul când, administrarea medicamentoasă nu se mai impune, mecanismele endogene antioxidante, fiind refăcute.

Administrarea de Zn a fost însoțită de revenirea valorilor sale serice după 5 zile de la începerea administrării. Creșterile mici, dar progresive nu au modificat valorile CAO, ceea ce dovedește că Zn, ca și celelalte oligoelemente nu modifică potențialul redox, dar servește la cicatrizare.

Calculând coeficienții de corelație dintre scorurile durerii centrale, ale durerii periferice și valorile CAO, am obținut: **r: 0,55** pentru durerea centrală - CAO și **r: 0,82** pentru durerea periferică -CAO. Pe baza acestor corelații considerăm că evaluarea corectă a aspectului macro- și microscopic al plăgii postoperatorii, permite o predicție asupra dezvoltării Sox local, al durerii și timpului vindecării acelei plăgi, precum și dacă este necesară administrarea asocierilor medicamentoase, sub forma triadei: analgetice, antiinflamatorii, antioxidanți.

Rezultatele obținute și prelucrarea lor statistică, ne-a permis susținerea ideii că administrarea antioxidanților exogeni, reduce nivelul oxidanților endogeni, având un efect de prevenire a hiperproducției lor și împiedică astfel stimularea nocicepției, prin mecanismul biochimic, local, al excesului radicalic. Prin aceste mecanisme se explică reducerea dozelor de analgezice, după administrarea de antioxidanți și creșterea capacității de refacere a țesuturilor. Combinarea analgezicelor, cu antioxidanții, postoperator, începând imediat postoperator, normalizează, echilibrul oxidanți/antioxidanți și reducând efectul algogen al al Sox. .

Creșterea ușoară a valorilor CAO, ca urmare a terapiei cu antioxidanți, dovedește faptul că sursa exogenă poate participa la creșterea potențialului de blocare a stresului oxidativ, produs intracelular.

Starea de coagulabilitate a plasmei este un element important, predictiv.

Hipercoagulabilitatea are un efect infaust asupra irigației locale. Cele 10% dintre cazuri au aparținut ambelor grupe A și B. Acestea au avut o evoluție dificilă, în care hipercoagulabilitatea a fost generatoare și a menținut sindromul de compartiment.

Discuții

Considerații asupra rolului și efectelor antioxidanților

Moleculele de antioxidanți blochează speciile reactive de O₂ pentru a preveni producerea efectelor stresului oxidativ, asupra unor macromolecule, lipide membranare și lipoproteine. (Georgescu C, et al, (2010)

Dintre aceste molecule: bilirubina, acidul uric și grupele tiolice ale proteinelor sunt importanți antioxidanți endogeni. Vitaminele C și E și produșii aromatici, rezultați din alimente (flavonoizi și acizi fenolici) sunt principalii antioxidanți exogeni nutriționali. (Novac M, et al, 2008).

Radicalul superoxid stimulează activarea SOD. Administrarea de vitamine scade producția de superoxid sau chiar îl elimină, de aceea nivelul SOD se micșorează.

Corelația antioxidanți-durere-stres

Orice durere declanșează stresul emoțional, de aceea este greu de diferențiat între proporția de participare și contribuția la răspunsul nociceptiv a durerii sau/și a stresului. În stresul posttraumatic valoarea GSPx, SOD și CAT și MDA nu se modifică semnificativ față de martor, dar dacă ele cresc reflectă gravitatea evoluției. Durerea este rezultatul creșterii permeabilității barierei hemato-encefalice (BHE) pentru AO.

Administrarea lor în timpul stimulării dureroase este mai eficientă decât prevenirea.

La pacienți cu stres posttraumatic acut s-a constata că nivelul SOD, GSPx, CAT și MDA nu este modificat față de martor. Totuși creșterea nivelului CISPx și SOD se asociază cu severitatea evoluției. Autorii au raportat scăderi ale SOD, GSPx după aplicarea de AO, analgezice și combinarea paralelă cu scăderea analgeziei indusă de stres.

La pacienții cu modificări ale numărului de leucocite am apreciat declanșarea unei reacții inflamatorii sau preexistența acesteia. În astfel de situații am administrat

medicația de tip NSAID. În cazurile de creștere a CAO am administrat medicație antioxidantă sau alimente bogate în antioxidanți, considerând că valorile acestui parametru trebuie susținute la un nivel crescut, pentru potențarea mecanismului compensator endogen, activat.

CONCLUZII FINALE

1. Stresul chirurgical și durerea postoperatorie influențează starea psiho-emoțională (anxietatea), care împreună cu intensitatea alterării țesuturilor, deficitul morfo-funcțional, preexistente și obiceiurile alimentare ale pacientului chirurgical sunt factori, determinanți ai calității vindecării țesuturilor.
2. Administrarea antioxidantilor poate fi o medicație adjuvantă a analgezicelor, deoarece prevenind excesul de radicali liberi, blochează rolul acestora asupra nocicepției.
3. Măsurarea efectelor antioxidantilor asupra durerii poate fi evidențiată de indicatorii funcționali ai durerii (gradul sau intensitatea durerii, toleranța pacientului, la durere) și doza de analgetice solicitată de pacient.
4. Terapia generală sau administrarea pe cale intravenoasă a analgeticelor, modifică senzația de durere, care este percepută și exprimată, în funcție de starea psihică, în timp ce aplicarea locală a asocierilor medicamentoase, conținând: antiinflamatoare, analgezice, anestezice și anticoagulante, chiar la sfârșitul operației, are efecte directe, benefice.
5. Recunoașterea instalării complexului regional al durerii, tratat clasic cu antihistaminice, anestezice și anticoagulante, administrate local, evoluează spre vindecare, mai rapid, după asocierea de antioxidanți, la fel ca și terapia pentru SC.
6. Creșterea duratei de spitalizare depinde de calitatea vindecării, dependentă de echilibrul redox (oxidanți/antioxidanți), care este un parametru de stare metabolică și biochimică, în perioada postoperatorie.

7. Administrarea medicației antioxidante scade nivelul de TBARS, MDA, SOD, crește CAO, datorită potențării mecanismelor antioxidante plasmatice și reflectă, în același timp, calitatea aportului exogen.
8. Măsurarea și evoluția dinamică a valorilor CAO, raportată la preexistența durerii periferice, înregistrată în memoria celulelor, reflectă experiența țesuturilor, în legătură cu condițiile anaerobiotice și poate fi un indicator al capacității acestor țesuturi, de a rezista la injuria oxidativă.
9. Prevenirea producerii injuriei oxidative, prin simpla administrare a medicației antioxidante exogene, elimină posibilitatea instalării complicațiilor fiziopatologice, precum: sindromul complex regional al durerii, distonia vegetativă și sindromul de compartiment, cauze ale perturbării vindecării plăgilor chirurgicale.

Originalitatea studiului și aportul lucrării se datoresc realizării criteriilor și scorurilor de evaluare a elementelor implicate în generarea complicațiilor postoperatorii. Aceste scoruri pot fi utilizate ca ghid, în practica curentă, în vederea elaborării prognozei și aplicării terapiei adecvate a plăgilor chirurgicale.

BIBLIOGRAFIE

1. Angelescu N., - Tratat de patologie chirurgicală. Ed. Medicală București, 2003
2. Bjornested M., Kumar, Bjorklem L.,- Selenium and the thioredoxin and glutaredoxin systems. Biomed. Environ. Sci. 10: 271-279,1997
3. Brigelius-Flohe R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. Biol. Chem. 387:1329-1335, 2006.
4. Deac D-Utilizarea protezelor sintetice in chirurgia defectelor peretelui abdominal antero-lateral, Ed. CLUSIUM, 1999.
5. Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. Moll. Cell. Endocrinol 250:70-79, 2006
6. Dubay DA, Franz MG - Acute Wound Healing: The biology of Acute Wound Failure, Surg Clin N Am, 83 (2003) 463-481.

7. Georgescu C, Bran B., Vrabete Maria (2010): Blood Transfusion and Cellular Membranes Lipid Peroxidation, in Burn Patients (National Congress of Anesthesiology and Intensive Care:in congress volume).
8. Holmgren A,Johansson C,Berndt C,Lonn ME,Hudemann C,Lillig CH.Thiol redox control via thioredoxin and glutaredoxin systems.Biochem. Soc. Trans. 33: 1375-1377, 2005
9. Hoppeler H, Fluck M. Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and functions, Med Sci Sports Exerc. 2003 Jan;35(1):95-104
10. Kirkman HN.,Gaetani GF. Mammalian catalase:a venerable enzymes with new mysteries.Trends. Biochem. Sci 32:44-50, 2007
11. Kuhlen R, Moreno R, Ranieri M, Rhodes A 2007.: "25 Years of Progress and Innovation in Intensive Care Medicine. Ed. Medizinisch Wissenschaftliche verlagsgesellschaft.
12. Lascăr Ioan, Principii de chirurgie plastică și microchirurgie reconstructivă, Ed. Medicală, 2008
13. Mannheimer PD, Neil MP (2004) The influence of larger subcutaneous blood vessels on pulse oximetry. J. Clin Monit Comput 18:179-188.
14. Misset B, Chalfine, Calandra (2007).: Macrophage migration inhibitory factor and host innate immune defenses against bacterial infections. Infect Dis 2003, 187 (suppl) S 385-891
15. Novac M., Maria Vrabete (2008) Temporal changes of oxidative stress index and total antioxidant potential of plasma : markers for surgically patients, wound healing"; 21-st congress ESICM,Lisbon, Portugal 21-24 september and in "Official Journal of Intensive Care Medicine;volume 31 supplement 1, pag S204",ISSN 0342-4642
16. Silva E, Derek A, 2007): Differential male and female adrenal cortical steroid hormone and cortisol responses to IL6 in humans. Ann.NY Acad Sci; 966:68-72
17. Steed DL - Wound-Healing Trajectories, Surg Clin N Am, 83 (2003) 547-555.
18. Vrabete M, Danilea Ion, Curs de fiziopatologie pentru studenți, Ed. Didactică și Pedagogică București, 2006

19. Vrabet M, Parvu A, Parvanescu H, Bran B, Brujan I (2009) Antioxidant disequilibrium: a possible predictor for organism's evolution and the resistance to therapy appearance, in postoperative period, in surgical patients. p56 Conference on Physiology. Cluj.
20. Vrabet M, Taisescu O, Brujan I (2008): Atom force microscopy application to evidence the interactions between oxidative stress and leucocytes adhesivity. p.27. .
21. Vrabet M. – Toleranța organismului uman la stresul anestezico-chirurgical. . Fiziopatologie clinică. Ed. Sitech, p 66-100, 2001
22. Vrabet M: (2007): Oxidative stress induced in endothelial cells by surgical injury. Timisoara Medical J. Vol.57.suppl. 3. p.19
23. Ying Zhang, Weiling Zhao, Hannah J. Zhang, Frederick E. Domann, and Larry W. Oberley. Overexpression of Copper Zinc Superoxide Dismutase Suppresses Human Glioma Cell Growth. In Cancer Res, 62:1205,1212, 2002.