

Εισαγωγή: Η κλασική χοληδοχονηστιδική αναστόμωση πραγματοποιείται με την απαιτητική τεχνική των διακεκομμένων ή συνεχών ραμμάτων. Έχουν γίνει στο παρελθόν απόπειρες απλούστευσης της αναστόμωσης αυτής, οι οποίες δεν έτυχαν ευρείας εφαρμογής. Από την άλλη πλευρά, στη χειρουργική ουρολογία εφαρμόζεται συχνά η απλοποιημένη τεχνική κυστεοουρητηρικής αναστόμωσης με τη χρήση μεμονωμένου ράμματος (Taguchi technique).

Σκοπός: Η διερεύνηση της δυνατότητας διενέργειας σε χοίρους χοληδοχονηστιδικής αναστόμωσης με τη χρήση μεμονωμένου ράμματος, από τεχνικής (όχι λειτουργικής) πλευράς.

Μέθοδος - Μέθοδος: Τρεις χοίροι βάρους 30 κιλών και γένους θηλυκού χρησιμοποιήθηκαν στο πιλοτικό αυτό πείραμα. Παρασκευάζεται ο χοληδόχος πόρος σε μήκος τριών εκατοστών και αποπληνώνεται περιφερικά. Διενεργείται μικρή νηστιδοτομή στο επιθυμητό σημείο της αναστόμωσης. Ράμμα πολυπροπιλαινίου 6/0 με διπλή βελόνη τοποθετείται μισό εκατοστό από την άκρη του χοληδόχου πόρου, δίχην εξωτερικής αγκύλης (loop suture). Εισάγονται και οι δύο βελόνες διαμέσου της νηστιδοτομής και διεκβάλλονται από το εντερικό τοίχωμα, σε απόσταση τριών εκατοστών από αυτήν. Η αναστόμωση ολοκληρώνεται με το δέσιμο των δύο άκρων του ράμματος. Το ζώο θυσιάστηκε άμεσα μετεγχειρητικά (οξύ πείραμα, feasibility study).

Αποτελέσματα: Ολοκλήρωση της αναστόμωσης επιτυχώς, χωρίς μακροσκοπικά σημεία διαφυγής.

Συμπεράσματα: Η χοληδοχονηστιδική αναστόμωση σε χοίρους με μεμονωμένο ράμμα δεν παρουσιάζει τεχνικές δυσκολίες. Το επόμενο βήμα πρέπει να είναι η πραγματοποίηση πειραμάτων λειτουργικότητας, δηλαδή η μελέτη του ποσοστού διαφυγών και στενώσεων σε πειραματόζωα που παρακολουθούνται για τουλάχιστον έξι εβδομάδες.

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου είναι η δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο στην Ευρώπη και τη Βόρειο Αμερική. Η πρόγνωσή του εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ανάπτυξη μεταστάσεων και το ήπαρ αποτελεί πρωτεύουσα εστία ανάπτυξής τους. Η απομόνωση ενδοθηλιακών κυττάρων των ηπατικών κοιλιοειδών (εκπκ) είναι σημαντική στη βασική έρευνα των ηπατικών μεταστάσεων.

Η παρούσα εργασία παρουσιάζει τεχνικές απομόνωσης και ελέγχου εκπκ που εφαρμόζονται σε in vitro μοντέλα της μεταστατικής ηπατικής νόσου από ορθοκολικό καρκίνο.

15 επίμυες τύπου wistar υποβλήθηκαν σε ηπατεκτομή και ακολούθησε απομόνωση των εκπκ μέσω ενζυματικής αποικοδόμησης του ηπατικού ιστού με κολληγενόση, διαδοχικές φυγοκεντρήσεις και τελικά ανάμειξη με μεταλλικά νανοσωματίδια σημασμένα με το ειδικό για το εκεκ αντίσωμα SE1. Με χρήση ισχυρού μαγνήτη τα κύτταρα απομονώθηκαν και καλλιιεργήθηκαν σε ειδικό υλικό. Η επιβίωσή τους προσδιορίστηκε με κυανόυνη του τριπτανίου και η καθαρότητα με προσδιορισμό της φαγοκυττάρωσης φθορίζουσας ακετυλιωμένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (acLDL). Τα εκεκ που απομονώθηκαν παρουσίασαν επιβίωση >95% και καθαρότητα >90%. Από την 7η ημέρα καλλιιεργείας εμφάνισαν σημεία απόπτωσης και τελικά απεβίωσαν ως τη 10η ημέρα.

Τα παραπάνω δεδομένα θεωρούνται ικανοποιητικά σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, δεδομένου ότι η απομόνωση και η διατήρηση in vitro αυτών των κυττάρων είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα συγκαλλιιεργειών με καρκινικά και κύτταρα του Kupffer, δημιουργώντας μοντέλα προσομοίωσης των ηπατικών μεταστάσεων από ορθοκολικό καρκίνο.

Σκοπός: Σκοπός της εργασίας είναι ο προσδιορισμός της παραγόμενης ποσότητας των διαμεσολαβητών της φλεγμονής (κυτταροκινών και εικοσανοειδών), που ρυθμίζονται παράγοντες ισχαιμικής βλάβης, του εγκεφάλου, μετά αποκλεισμό της καρωτίδας κατά την καρωτιδική ενδαρτηρεκτομή.

Ασθενείς - Μέθοδοι: μελετήθηκαν δύο ομάδες ασθενών (Α και Β) οι οποίοι βλήθηκαν σε ενδαρτηρεκτομή της καρωτίδας στο Νοσοκομείο μας, με 15 ασθενείς στην καθεμιά ομάδα και πίεση κοιλώματος στην έσω καρωτίδα >30mmHg. Ομάδα Α δεν χρησιμοποιήθηκε προσωρινή καρωτιδική παράκαμψη (shunt), στην ομάδα Β χρησιμοποιήθηκε. Υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις της Ιντερλευκίνης 1β (IL-1β), Θρομβοξανθίνης Β2 (TXB2), Προσταγλανδίνης Ε2 (PGE2) και Παράση Νέκρωσης Όγκου (TNFα) με τη μέθοδο ELISA. Παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση συγκεντρώσεων των IL-1β και TXB2 στη διάρκεια του αποκλεισμού της καρωτίδας στην ομάδα Α (p<0, 05). Τα επίπεδα της συκέντρωσης του TNFα αυξήθηκαν στην φάση της επανοιμάτωσης στην ίδια ομάδα (p<0, 05). Οι συγκεντρώσεις του TXB2 ελαττώθηκαν αλλά όχι σημαντικά (p>0, 05). Τα επίπεδα της PGE2 παρέμειναν σταθερά και στις δύο ομάδες.

Συμπέρασμα: πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η αύξηση των διαμεσολαβητών φλεγμονής στη διάρκεια της ενδαρτηρεκτομής της καρωτίδας, όταν δεν χρησιμοποιείται η προσωρινή καρωτιδική παράκαμψη. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη γνωστό είναι η συκέντρωση των παραγόντων αυτών, πάνω από την οποία απειλείται η ραγισμότητα του εγκεφαλικού παρεγχύματος. Και η κλινική του σημαντικότητα δεν σαφής μια και δεν παρατηρήθηκαν στυχή συμβάματα περιεγχειρητικά.

Ο ορθοκολικός καρκίνος είναι από τους συχνότερους παγκοσμίως, με υψηλή θνητότητα η οποία αποδίδεται κυρίως στην ανάπτυξη ηπατικών μεταστάσεων. Τα κύτταρα του Kupffer και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των ηπατικών κοιλιοειδών μεσολαβούν ρυθμίζοντας τη μεταστατική διαδικασία με την παραγωγή κυτταροκινών και με προσκόλλησης.

Η παρούσα εργασία διερευνά μοριακές αλληλεπιδράσεις των καρκινικών κυττάρων του παχέως εντέρου με τα παραπάνω κύτταρα των ηπατικών κοιλιοειδών.

Κύτταρα του Kupffer απομονώθηκαν από 15 επίμυες τύπου wistar και συγκαλλιιεργήθηκαν με μεταστατικά και μη μεταστατικά κύτταρα ορθοκολικού καρκίνου καλλιιεργητικό υλικό (KY) συλλέχθηκε και με ELISA ελέγχθηκαν τα επίπεδα παράγοντα νέκρωσης όγκων άλφα (TNF-α) και ιντερλευκίνης 1 βήτα (IL-1β). Παρόλη ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας (HUVECs) καλλιιεργήθηκαν 4 ώρες στο υλικό KY και ελέγχθηκε η έκφραση δύο μορίων προσκόλλησης (M1 και E-σελεκτίνης) με διαχωρισμό ενεργοποιημένων φθορίζοντων κυττάρων (FACSsort). Τα αποτελέσματα θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά για p<0.05.

Τα κύτταρα του Kupffer που συγκαλλιιεργήθηκαν με καρκινικά κύτταρα, καθώς σε καρκινεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), παρήγαγαν στατιστικώς σημαντικά επίπεδα μετρήσεις με FACSsort έδειξαν υψηλή παραγωγή μορίων προσκόλλησης από τα κύτταρα HUVECs.

Τα μεταστατικά κύτταρα μπορούν να ενεργοποιήσουν κύτταρα Kupffer ώστε να παράγουν κυτταροκίνες, οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα να παράγουν μόρια προσκόλλησης. Τα μόρια αυτά διευκολύνουν τη στάση καρκινικών κυττάρων στα ηπατικά κοιλιοειδή και την προώθηση της μεταστατικής διαδικασίας.