UNIVERSITATEA DE VEST "VASILE GOLDIŞ" DIN ARAD
FACULTATEA DE MEDICINĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

CONDUCĂTOR ŞTIINŢIFIC

Prof. Univ. Dr. Alexandru POP

DOCTORAND

NICOLESCU Cristian Mircea

2018

I.O.S.U.D. - UNIVERSITATEA DE VEST "VASILE GOLDIŞ" DIN ARAD
ŞCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ

EVALUAREA NIVELULUI PLASMATIC DE ALBUMINĂ CA POTENȚIAL BIOMARKER DE PROGNOSTIC CLINIC SEVER ÎN CAZUL POLITRAUMATISMELOR ȘI A INTERVENȚIILOR CHIRURGICALE MAJORE

CONDUCĂTOR ŞTIINŢIFIC

Prof. Univ. Dr. Alexandru POP

DOCTORAND

NICOLESCU Cristian Mircea

2018

PhD THESIS – ABSTRACT

EVALUATION OF THE PLASMA LEVEL OF ALBUMIN AS A POTENTIAL BIOMARKER FOR A SEVERE CLINICAL PROGNOSTIC IN CASE OF MULTIPLETRAUMA AND MAJOR SURGERY

PhD Student:

Nicolescu Cristian Mircea

Scientific supervisor:

Prof. Univ. Dr. Pop Alexandru

CUPRINS

CAPITOLUL I	12
1. INTRODUCERE	12
1.1. Istoric	12
1.2. Generalităţi	12
1.3. Obiective	14
CAPITOLUL II	15
2.1. Stadiul actual al cunoaşterii	15
2.1.1. Sinteza şi degradarea moleculei de albumină	15
2.1.2. Structura moleculei de albumină	18
2.1.3. Rolurile fiziologice alemoleculei de albumină	25
2.1.3.1. Rol de determinare a presiunii coloid - osmotice	25
2.1.3.2. Funcţia de transport a diverselor substanţe	27
2.1.4. Roluri posibile ale moleculei de albumină în condiţii de sindrom inflamator sistemic	30
2.1.4.1. Funcţia antioxidantă	30
2.1.4.2. Proprietăţile antiinflamatorii sistemice	32
2.1.4.3. Rolul de modulator	33
2.1.4.4. Rolul posibil anticoagulant şi agregant plachetar	33
2.1.5. Transferul fiziologic capilar şi distribuţia moleculei de albumină în organism	34
2.1.6. Descrierea procesului de creştere a permeabilităţii peretelui microvascular	36
2.1.7. Scăderea sintezei de albumină în cadrul reacţiei de fază acută hepatică	41
CAPITOLUL III	45
3.1. Evaluarea nivelului plasmatic de albumină ca potenţial biomarker de prognostic sever la pacienţii cu sis indus de trauma	45
3.1.1. Obiective	45
3.1.2. Ipoteza	45
3.1.3. Material şi metodă	46
3.1.3.1. Caracteristicile eşantionului de pacienţi	46
3.1.3.2. Descrierea metodei de determinare a albuminei	46
3.1.3.3. Descrierea metodelor de urmărire clinică a pacienţilor eşantionaţi	48

3.1.4. Rezultate	50
3.1.4.1. Statistica descriptivă	50
3.1.4.2. Test ANOVA între concentrațiile medii ale albuminei	51
3.1.4.3. Relația vârstă – albumină	53
3.1.4.4. Test Scheffe de comparație multiplă pe subgrupuri eșantionate	60
3.1.4.5. Analiza descriptivă bazată pe testul non–parametric Chi – Square	72
3.1.6. Discuții	78
3.1.7. Concluzii	83
3.2. Evaluarea rolului citokinelelor pro - inflamatorii tnf alfa și il6 în producerea hipoalbuminemieila pacienții supuși intervențiilor chirurgicale majore	86
3.2.1. Obiectiv	86
3.2.2. Ipoteza	86
3.2.3. Material	88
3.2.4. Metoda	88
3.2.4.1. Descrierea metodei de determinare a albuminei plasmatice	88
3.2.4.2. Descrierea metodei ELISA de determinare a citokinelor	89
3.2.5. Rezultate	90
3.2.5.1. Statistica descriptivă	90
3.2.5.2. Statistica inferențială- Teste ANOVA de comparație simplă și multiplă	92
3.2.5.3 Teste de corelație	99
3.2.5.4. Teste ANOVA de comparație multiplă	102
3.2.6 Discuții	105
3.2.7 Concluzii	106
3.3 Contribuție personală	107
3.4 Propuneri	110

CAPITOLUL I

1. Introducere

1.1 Generalităţi

În constituţia moleculei de albumină intră 585 aminoacizi, legaţi prin 17 punţi disulfidice ceea ce conferă stabilitate moleculei, masa moleculară este de 66 kDa, iar sarcina electrică este de -15 la pH fiziologic, fiind principalul determinant al găurii anionice.

Sinteza moleculei de albumină are loc la nivelul ţesutului hepatic, odată ajunsă în circulaţie îşi exercită funcţia principală de determinare a presiunii coloid-osmotice, aproximativ 80% din valoarea PCO, atât prin masa sa moleculară, dar şi datorită sarcinii negative a acesteia, care atrage ionul de sodiu (efect Donnau).

Studiile efectuate cu ajutorul albuminei radio-marcate, arată o trecere prin peretele capilar rezultând o rată fiziologică de traversare transcapilară *(Buken et all. 1962),* urmată de o rată de degradare ce are loc la nivelul mai multor ţesuturi. Pe baza acestor date s-a putut deduce distribuţia acestei molecule în organism şi astfel s-au găsit dovezi privind acumularea acestei molecule la nivelul mucoaselor (gastrică şi intestinală), precum şi a tegumentelor din jurul plăgilor,în anumite situaţii patologice. Ţinând cont de aceste dovezi putem explica în mare parte complicaţiile ce apar pe fond de hipoalbuminemie.

Pe lângă funcţia principală de a determina presiunea coloid-osmotică, albumina deţine în mod fiziologic şi funcţia de transportor de diverse substanţe, descriindu-se în acest sens două situsuri de legare, odată cu descifrarea structurii terţiare a moleculei.

În cazul legării fiecărei substanţe se descriu o constantă de asociere (K1) şi o constantă de disociere (K2), raportul dintre ele reprezentând constanta de legare K.

În cazul moleculei de albumină există ipoteze bazate pe studii de laborator efectuate pe serul bovin, care indică un posibil rol antioxidant, datorat grupării tiol (-SH), care ar lega şi anihila radicali de oxigen (H2O2, ONOO-) în cadrul reacţiei de tiolizare, precum şi un

posibil rol de modulator al tonusului vascular prin legarea aceleași grupări tiol (-SH) de oxidul nitric, în cadrul reacţiei de nitrozilare. În plus se discută despre un posibil rol antiinflamator sistemic, în sensul de scădere a interacţiunii dintre neutrofile și endoteliul vascular, prin posibila legare și sechestrare de citokine proinflamatorii.

Există în acest sens studii care demonstrează că dintre soluțiile de resuscitare volemică, soluţia de albumină ar avea cel mai puţin efect proinflamator pe ţesutul pulmonar.

Ultimele trei posibile roluri (antioxidant, antiinflamator și de modulare a tonusului vascular) se exercită în special în condițiile de sindrom inflamator sistemic, dar ele trebuiesc demonstrate pe studii experimentale efectuate pe loturi de pacienţi ce se încadrează în această patologie.

1.3 Obiective

Bazat pe proprietățile acestei molecule, precum și pe datele privind distribuţia în organism, lucrarea de faţă își propune, printr-un studiu observaţional prospectiv randomizat, să pună în evidenţă tendinţa la scădere a albuminemiei în cazul pacienţilor supuși studiului și totodată să evalueze această variabilă ca un posibil marker de prognostic sever, având în vedere diversitatea complicațiilor ce apar pe fond de hipoalbuminemie și posibil să se datoreze acestei scăderi.

Scopul cercetării este de a evidenţia rolul pe care îl deţine molecula de albumină în cazul pacienţilor ce fac obiectul studiului și de a introduce această variabilă în diverse scale de risc sau gravitate, scale care pot fi folosite în practica clinică curentă.

Studiul are la baza o analiză statistică amplă care se bazează pe statistica descriptivă, statistica inferenţială, constând în testele de comparaţie și corelaţie între albumină și vârstă, precum și între albumină, vârstă și scor APACHE II. Aceste teste sunt verificate din punct de vedere statistic prin calcularea probabilităţii de eroare (p).

Pornind de la datele obţinute din primul studiu, coroborat cu datele din literatura de specialitate privind mecanismele care conduc la scăderea albuminemiei, cercetarea clinică efectuată prin cel de-al doilea studiu observaţional s-a axat pe evidenţierea mecanismului principal care să explice apariţia hipoalbuminemiei.

Studiul al II-lea efectuat se bazează pe determinările seriate ale citokinelor plasmatice simultan cu cele ale albuminei plasmatice şi pe statistica descriptivă, precum şi pe statistica inferenţială, constând din efectuarea testelor de comparaţie simplă şi multiplă ANOVA. Aceast studiu deschide calea altor posibile cercetări, atât în cazul reacţiei de fază acută hepatică, cât şi al rolului posibil antiinflamator sistemic deţinut de albumină.

CAPITOLUL II

2.1 STADIUL ACTUAL AL CUNOAŞTERII

2.1.1 SINTEZA ŞI DEGRADAREA MOLECULEI DE ALBUMINĂ

Albumina este sintetizată exclusiv la nivel de ţesut hepatic, informaţia genetică necesară sintezei fiind codificată la nivelul genelor alele situate pe cromozonul 4. Gena răspunzătoare de sinteza albuminei a fost localizată prin metoda hibridizării in situ a probei radiomarcate de acid dezoxiribonucleic (ADN), fiind situată pe braţul cromozonului 4, în imediata vecinătate a centromerului q11-22.

La modul general sinteza albuminei, ca şi a altor molecule proteice necesită prezenţa ARNm (responsabil de transcripţia genetică, transmite informaţia care codifică succesiunea de aminoacizi din structura moleculei), prezenţa substratului de aminoacizi legaţi de acidului ribonucleic de translaţie (ARNt), prezenţa unităţilor ribozomiale funcţionale, precum şi prezenţa substratului energetic celular sub forma acidului adenozintrifosforic (ATP) sau acidului guanozintrifosfat (GTP).

Asamblarea moleculei de albumină are loc prin cuplarea ARNt, care are legat un aminoacid de ARNm, într-o anumită ordine, succesiune dictată de informaţia codificată la nivelul bazelor purinice din structura ARNm. Procesul are loc la nivelul ribozomilor şi se numeşte translaţie genetică.

Procesul de sinteză al albuminei are loc la nivelul ribozomilor de unde molecula de albumină este preluată de către reticulul endoplasmatic dur, ulterior de reticulul moale, pentru a fi excretată în circulaţie de către aparatul Golgi celular, demonstrat şi de studiile

efectuate pe celule hepatice de către Glaumann 1970, respectiv Peters 1971 (All about albumin, Theodore Peters).

Vizualizarea moleculei de albumină la nivel citopasmatic a fost posibilă folosind anticorpii antialbumină, marcaţi fluorescent. Studiile la nivel electronomicroscopic pun în evidenţă prezenţa moleculei de albumină la nivelul canalelor secretorii, aparţinând aparatului Golgi. Se poate astfel considera că este vorba de o moleculă nou sintetizată, care urmează a fi secretată - Guillouzzo 1982, (All about albumin, Theodore Peters). Cantitatea evidenţiată la nivelul citoplasmei celulei hepatice este neglijabilă.

Studiile efectuate cu aminoacizi marcaţi radioactiv arată preluarea semnificativă a acestora la nivelul celulelor periportale, demonstrând faptul că aceste celule sunt active din punct de vedere al sintezei hepatice - Schereiber in 1970 (All about albumin, Theodore Peters).

În timpul perioadei de post, celulele hepatice perivenoase par a fi mai active, în general opinia fiind că toţi lobii hepatici participă la procesul de sinteză, aspect demonstrat de studiile elaborate de Muglia şi Locker 1984.

Se consideră actualmente că acest proces de sinteză hepatică are loc doar la nivel hepatic, deoarece procesul de transcripţie genetică este pus în evidenţă doar la nivelul acestui ţesut prin extragerea ARNm pentru albumină doar din celule hepatice; toate acestea reies din studiile experimentale efectuate pe animalele de laborator de către Sell 1985.

Există în acest sens o serie de alte studii experimentale efectuate la nivelul altor organe (rinichi, creier, inimă, plămân, intestin) care demonstrează absenţa transcripţiei genetice necesară sintezei moleculei de albumină, deoarece ARNm pentru albumină nu a putut fi extras de la nivelul acestor ţesuturi, fiind observat doar la nivelul celulei hepatice.

Întreg acest proces de sinteză necesită aproximativ 25 min., rata sintezei fiind de 190 mg/kg/zi; cantitatea sintetizată în medie pe zi este de 20 grame, iar rata sintezei variind cu statusul nutriţional, precum şi cu stările patologice.

Există la nivel mondial 54 de cazuri de analbuminemie descrise până în prezent (primele două sunt raportate în anul 1954). În cazul acestor pacienţi s-a demonstrat că există gena răspunzătoare de sinteza albuminei, dar s-a descris totodată o eroare genetică în ceea ce

privește modul de îmbinare a moleculei de ARNm care conduce la terminarea prematură a translației genetice, rezultând lipsa sintezei hepatice de albumină.

Sinteza hepatică de albumină are loc, astfel, într-un mediu nutrițional adecvat, fiind influențată de multipli factori hormonali cum ar fi: insulina, corticoizii, hormonul de creștere; toți acești factori stimulează sinteza albuminei în mod fiziologic, însă factorul determinant care controlează sinteza hepatică de albumină îl reprezintă presiunea coloid-osmotică (PCO) de la nivelul interstițiului hepatic. Creșterea presiunii datorată pierderilor de albumină din spațiul intravascular duce la stimularea sintezei.

Degradarea moleculei de albumină are loc la nivelul mai multor organe, reprezentate de piele și mușchi în proporție de aproximativ 50%, urmate de ficat - aproximativ 15% și rinichi - 10%. Trebuie menționat și faptul că albumina este eliminată din organism pe calea tubului digestiv prin materii fecale - studii experimentale realizate cu albumină radiomarcată .

Cantitatea degradată de albumină este exact egală cu cea sintetizată de aproximativ 20 grame/zi, procesul de degradare implicând preluarea moleculei de albumină de către veziculele endocitare prezente le nivelul membranelor celulare. Fuziunea ulterioară a acestor vezicule cu lizozomii celulari reprezintă locul unde are loc procesul de degradare bazat pe clivare coordonată enzimatic.

Rata zilnică de degradare este de aproximativ 3,7%/zi din concentrația plasmatică, ceea ce corespunde unui timp de înjumătățire plasmatic de 19 zile. În urma degradării albuminei rezultă o cantitate de aminoacizi care se adaugă substratului de aminoacizi plasmatici și celulari existenți.

2.1.2 STRUCTURA MOLECULEI DE ALBUMINĂ

Molecula de albumină conține 585 amioacizi, secvențele de aminoacizi ADN - codificate și care în structura moleculei de albumină au fost descrise pentru prima de către Meloun în 1975, pentru ca în 1977 să fie descrise secvențele peptidice ce alcătuiesc această moleculă.

Determinarea completă a secvențelor de aminoacizi ce alcătuiesc această moleculă s-a făcut prin metoda clivării cu bromura cianogenă

la nivelul reziduurilor de metionyl, rezultând astfel şapte fragmente de aminoacizi (Meloun and all.) care ulterior, prin metode fizice de ultracentrifugare, combinate cu cele chimice de oxidare sau alcalinizare, au permis descifrarea structurii complexe a moleculei de albumină.

Analiza spectrofotometrică de absorbţie de masă, relevă existenţa la nivelul structurii moleculare a nouă curburi pentru fiecare domeniu, bucle de aminoacizi în jurul a două legături adiacente bisulfidice care leagă două molecule de cisteină (CyS); iar prezenţa acestor legături bisulfidice conferă stabilitatea moleculei de albumină

Caracteristic pentru molecula de albumină este important de menţionat faptul că în compoziţia sa intră doar două reziduri de triptofan; de asemenea metionina, glicina, izoleucina sunt în cantităţi mici, pe când cisteina, leucina şi mai ales aminoacizi cu sarcina ionică, ca şi acidul glutamic şi lizina, sunt în cantitate mare. S-au descris la nivelul structurii de albumină 185 de ioni per moleculă, la pH fiziologic, ceea ce conferă o sarcină electrică negativă de -15. Datorită acestei sarcini electrice, albumina este principalul determinant al găurii anionice, scăderea concentraţiei plasmatice de albumină, fiind des întâlnit în practica clinică, poate masca astfel o acidoză lactică.

Caracteristica unică structurală a moleculei de albumină este prezenţa legăturilor bisulfid S-S ce leagă cele 17 reziduuri de cisteină (CyS), al 35-lea rămânând liber şi realizează gruparea –tiol ,CyS-SH similar cu grupările -tiol aparţinând glutationului, acesta având rol cunoscut antioxidant. Consecinţa prezenţei acestor legături conferă posibilitatea structurii moleculare de a realiza bucle intercalate între două legături bisulfidice; perechea de legături bisulfidice CyS-S-S-CyS, situate adiacent determină stabilitate structurii, prevenind rotaţia în jurul atomilor de carbon, precum şi rotaţia lanţurilor de aminoacizi între cele două legături.

Structura lineară a curburilor, cu un număr relativ redus de aminoacizi intercalaţi între rezidurile de cisteină, care sunt legate prin aceste punţi bisulfidice, conferind moleculei de albumină flexibilitate şi stabilitate în condiţii extreme.

Masa moleculară a albuminei este de 66 kDa, existând mai multe metode de a determina această masă, fie prin măsurarea presiunii coloid-osmotice făcute pentru prima dată de către E. John, sau prin metoda ultracentrifugării făcute de către Charlwood în 1962**.** Ambele

metode indică aproximativ aceleaşi valori pentru masa moleculară de 69 kDa, supraestimată puţin prin metoda determinării presiunii coloid-osmotice, respectiv de 66,4 kDa prin metoda ultracentrifugării.

Molecula de albumină prezintă birefringenţă la radiaţiile luminoase, adică proprietatea de a scinda radiaţia luminoasă în două fascicule, iar această proprietate se datoreşte formei elipsoidale pe care o prezintă molecula de albumină în soluţie.

Forma moleculei, mai degrabă formă elipsoidală decât formă sferică, îi atribuie soluţiei de albumină o vâscozitate mare, aproape de cea a soluţiei de fibrinogen şi o velocitate la flux mai bună, comparând circulaţia moleculelor de albumină cu "butucii care curg într-un râu".

Există la nivel mondial două studii care demonstrează prezenţa axelor elipsoide de 40, respectiv 140 A; aceste studii s-au bazat pe difuzia de neutroni în unghi mic (Squire et all., 1968 şi Bendeouch şi Chen, 1983). Ulterior prin mijloacele birefringenţei într-un câmp electric, Wright şi Thompson în 1975 au demonstrat prezenţa acelor axe elipsoidale de 40 şi 140 A, pentru ca în urma studierii dispersiei fascicolelor de neutroni în câmp electric să se calculeze aproximativ aceleaşi dimensiuni pentru axele elipsoidale derivate din parametrii hidrodinamici.

Structura tridimensională sau cristalină a albuminei a fost obţinută în urma difracţiei razelor X în 1992 în cadrul experimentelor NASA. Se descrie o structură sub formă de inimă sau triunghiulară cu laturile de 80°, o grosime de aproximativ 30° şi un volum de 88,2 A° (Carter and He, 1992).

Prin spectroscopie de fluorescenţă s-a demonstrat faptul că există mişcări de rotaţie independentă a fiecărui lanţ polipeptidic din cadrul structurii tridimensionale a albuminei.

2.1.3. ROLURILE FIZIOLOGICE ALE MOLECULEI DE ALBUMINĂ

2.1.3.1 Rol de determinare a presiunii coloid - osmotice

Principala funcţie a albuminei este cea de determinare a presiunii coloid-osmotice plasmatice. Această proprietate a moleculei de albumină se cunoaşte de aproximativ 100 ani; Howe et all., au pus in evidenţă pentru prima dată, rolul albuminei de a determina presiunea coloid osmotică (PCO) a plasmei. Actualmente se consideră că albumina determină până la 80% din PCO, în condiţiile în care

participă doar în proporție de 60% din concentrația totală a proteinelor plasmatice, restul de 20% din valoarea PCO, aproximativ 28mmHg, fiind determinată de globulinele plasmatice și în mică măsură de fibrinogen (Haupt MT, Rackow EC. Colloid osmotic pressure and fluid resuscitation with hetastarch, albumin and saline; Kaminski MV, Haase TJ. Albumin and colloid osmotic pressure: Implications for fluid resuscitation).

Cu privire la rolul fiziologic al albuminei de a determina presiunea coloid osmotică, s-a evidențiat faptul că masa moleculară participă în proporție de două treimi în realizarea PCO, restul de o treime se datorează sarcinii electrice negative al acestei molecule care atrage ionul de Na+, principalul determinant al osmolarității plasmatice, cunoscut ca efect Donann (Emerson TE. Unique features of albumin: a brief review. *Crit Care Med* 1989; Doweiko JP, Nompleggi DJ. Use of albumin as a Volume expander. *J Parent Ent Nutr* 1991).

Dacă ar fi să privim strict din punctul de vedere al formulei lui Ernst Starling, emisă în urmă cu aproximativ 100 ani și pe baza căreia s-a descris schimbul la nivel capilar de fluide, putem deduce rolul major pe care îl joacă albumina în determinarea acestui schimb transcapilar de fluide (Starling EH. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 1894).

$Qf = Kf \{ (Pc - Pi) - \partial (\Pi i - \Pi c) \}$, unde

Qf - fluxul transmembranar
Pc - Pi - reprezintă diferența de presiune hidrostatică
$\Pi i - \Pi c$–reprezintă diferența de presiune coloidală
Kf - constanta de permeabilitate pentru apă a peretelui capilar,
***∂*-** coeficientul de reflexie, care determină permeabilitatea peretelui capilar pentru proteinele plasmatice.

Studiile ulterioare efectuate asupra peretelui capilar au demonstrat prezența moleculei de albumină la nivel de glicocalix endotelial, un schelet format din structuri glicoproteice, proteoglicani și glicozaminoglicani. Se formează astfel o structură spongioasă care înspre lumenul capilar prezintă un strat gros de aproximativ 1um format din albumină (Vincent JL, Dubois MJ, Navickis RJ, Wilkes MM: Hypoalbuminemia in acute illness: is there a rationale for

intervention? A meta-analysis of cohort studies and controlled trials. Ann Surg. 2003).

Bariera vasculară funcţională astfel formată deţine un rol complementar albuminei plasmatice, şi anume acela de a respinge trecerea la nivel de joncţiune endotelială a proteinelor plasmatice, din vasul capilar în interstiţiu, rezultând un ultrafiltrat cu conţinut scăzut în proteine.

În condiţiile sindromului inflamator sistemic (SIS), pierderea de lichide şi proteine plasmatice în interstiţiuse datorează descompunerii glicocalixului endotelial cauzat şi de stresul oxidativ creat la nivel de endoteliu vascular, care conduce la disfuncţionalitatea acestei bariere vasculare funcţionale.

Funcţiile secundare atribuite albuminei sunt reprezentate de funcţia de transport a diverselor substanţe care are loc şi în condiţii fiziologice, funcţia antioxidantă, funcţia antiinflamatorie sistemică, funcţia de protecţie la nivel de endoteliu vascular, modulator al tonusului vascular, precum şi posibilul rol anticoagulant.

2.1.3.2 Funcţia de transport a diverselor substanţe

Structura moleculară a albuminei este flexibilă şi permite încorporarea a mai multe substanţe. Studiile efectuate asupra structurilor diverselor substanţe transportate de către molecula de albumină demonstrează că cele mai puternice legături se realizează între albumină şi anioni organici hidrofobi, incluzându-se aici şi acizii graşi cu lanţ lung, bilirubina, hematina.

Se realizează la nivelul structurii moleculare a albuminei un buzunar hidrofobic care captează acizii graşi cu catenă lungă, acizi cum ar fi acidul oleic, acidul palmitic, acidul linoleic, acidul stearic, acidul arahidonic, acidul palmitoleic.

În cazul legării fiecărei substanţe se descrie o constantă de legare, constantă care reprezintă raportul dintre rata de asociere, respectiv rata de disociere.

Ka=ka/kd, Alb+S===ALBS

Este important de menţionat rolul important pe care albumina îl deţine în legarea şi transportul renal al endotoxinelor bacteriene. Prin legarea acestora, în primul rând va scădea concentraţia plasmatică a

endotoxinelor, ulterior le transformă în substanţe mai puţin toxice prin acţiunea anumitor liganzi care declanşează anumite modificări structurale. Rolul albuminei este de a transporta aceste endotoxine la nivel renal sau digestiv cu scopul de a fi eliminate din organism.

Se descriu două situri de legare **(**conform studiilor lui **Sudlow 1976)**, cel dintâi aflat la nivelul buclei aparţinând subdomeniului II şi extins la nivelul buclei mai scurte, în alcătuirea căruia intră lisina (Lys). Acest aminoacid este constituit din anioni cu masă moleculară mare ce expun sarcina electrică în centrul moleculei, diferenţându-se de situl II de legare care are o structură aromatică şi care este neutru din punct de vedere electric; sarcina electrică, dacă este prezentă se situează la periferia moleculei de albumină.

Substanţele care se leagă la nivelul situsului I sunt reprezentate de substanţe medicamentoase ce prezintă afinitate pentru acest situs, cum ar fi: indometacin, digoxin, furosemid, phenitoin şi unele peniciline, dar şi substanţe endogene, de exemplu bilirubina. Situsul menţionat nu are caracteristici hidrofobe, este de dimensiuni mai mari, prezentând adaptabilitate astfel încât să poată lega substanţe cu masă moleculară mai mare (Lewis RT. Albumin: role and discriminate use in surgery. *Can J Surg* 1980).

Situsul II de legare a fost descris folosind dansylsarcoisina ca marker, în constituţia lui intrând secvenţa de aminoacizi aromatici alcătuiţi din ARG-Tyr-THR-ARG – arginină, tirozină, triptofan, arginină (Sanger et all., 1983). Acest situs este hidrofobic, situat la nivelul subdomeniului IIIa, mai mic ca dimensiune, mai puţin flexibil şi este cunoscut ca situsul care leagă benzodiazepinele, precum şi acizi graşi cu lanţ lung. Fenomenul de legare al acestor substanţe este cel mai studiat în literatura de specialitate (Vallner JJ. Binding of drugs by albumin and plasma protein. *J Pharm Sci* 1977).

2.1.4. ROLURI POSIBILE ALE MOLECULEI DE ALBUMINĂ ÎN CONDIȚII DE SINDROM INFLAMATOR SISTEMIC

2.1.4.1 Funcția antioxidantă

Se exercită în primul rând datorită grupării -tiol (-SH) libere de la nivelul CyS; structuri asemănătoare se găsesc în molecula de glutation

(principalul antioxidant intracelular) şi homocisteină, ce are rol antioxidant dovedit în procesul de încetinire a aterosclerozei.

Deşi există o singură grupare -tiol liberă la nivelul moleculei de albumină, concentraţia plasmatică mare a albuminei face ca această proteină să fie considerată în momentul de faţă principalul antioxidant extracelular, fiind răspunzător de determinarea a aproximativ 80% din -tiolul plasmatic (500μmol/), restul de 20% îl reprezintă glutationul şi homocisteina.

Studiile făcute in vitro pe serul bovin au pus în evidenţă reacţiile care au loc la nivelul CyS 34-SH şi care au constat în legarea şi anihilarea reactanţilor liberi de oxigen – hidrogenperoxidul H2O2, respectiv peroxynitritul ONOO-.

Cei trei compuşi rezultaţi în urma reacţiilor de oxidare (reacţia de cedare a unui electron care se împerechează cu electronul liber de pe orbita externă a reactivului de oxigen), nu posedă activitate oxidantă.

Pe baza acestor studii făcute in vitro, simultan în laboratoarele aparţinând institutelor de cercetare din cadrul universităţilor din Statele Unite ale Americii şi Marea Britanie s-a dovedit că terapia de substituţie realizată cu soluţie hipertonă de albumină 20% reface concentraţia tiolului plasmatic. Prin acest efect, albumina îşi poate exercita rolul antioxidant, dar şi efectul antiinflamator sistemic cu reducerea stresului oxidativ la nivel de endoteliu vascular.

Trebuie menţionat şi rolul albuminei de a lega Fe2 sau Cu2 în mijlocul structurii moleculare şi astfel se împiedică interacţiunea cu H2O2, care conduce la producerea de radical de hidroxil, conform reacţiei :

Fe2+H2O2--→Fe3 + OH- +OH-

Radicalii formaţi sunt mult mai agresivi comparativ cu hidrogen peroxidul (H2O2), acţionând asupra lipidelor membranare, proteinelor structurale, precum şi ADN – ului celular. Şi în acest caz se descriu similitudini între rolul deţinut de molecula de albumină şi cea de transferină, aceasta fiind principala globulină plasmatică cu rol în transportul ionului de Fe, în forma sa redusă de Fe2 (ionul feros).

2.1.4.2 Proprietăţile antiinflamatorii sistemice

Se exercită tot prin intermediul grupărilor -tiol (SH), care reducând stresul oxidativ exercitat la nivel de endoteliu vascular inhibă

interacţiunea neutrofilelor activate cu endoteliu, diminuând practic procesul de diapedeză (trecerea neutrofilelor din spaţiu vascular în cel interstiţial). Acest rol este pus în evidenţă de un studiu experimental făcut cu diverse soluţii coloidale folosite pentru resuscitarea volemică şi care evidenţiază totodată efectul cel mai mic proinflamator al soluţiei de albumină 20%, comparativ cu celelalte soluţii.

Experimentele efectuate de Poole et all., demonstrează că acest compus albumin - acid sulfenic, rezultat în urma oxidării albuminei, deţine un rol în răspunsul de activare a celulelor inflamatorii. Mai mult este demonstrat şi impactul pe care îl deţine soluţia de albumină asupra factorului nuclear kappa B. Se inhibă astfel activarea neutrofilelor (Colliet all., 1989) prin scăderea sintezei leucotrienei LT B4.

De asemenea se cunoaşte influenţa pe care o exercită albumina asupra echilibrului acido-bazic prin sarcina electrică de -15 la pH fiziologic. Este principalul determinant al găurii anionice peste jumătate din aceasta; o scădere a albuminei de 1g/dl determină o creştere de 3,4 mmol de bicarbonat, cauzând astfel alcaloza metabolică. Având în vedere faptul că majoritatea pacienţilor critici prezintă un grad de hipoalbuminemie, această scădere maschează acidoza metabolică.

Hipoalbuminemia este întâlnită des în practica clinică, de aceea unii autori recomandă folosirea unei formule corectate în ceea ce priveşte gaura anionică, care să ia în calcul scăderea de albumină:
AGc = AG + 2.5 x (4.5 – conc. alb în g/dl).

2.1.4.3 Rolul de modulator

Rolul de modulator în anumite teritorii vasculare se datorează proprietăţii grupării -tiol libere de a lega oxidul nitric (NO) produs la nivel de endoteliu vascular sub acţiunea NO-sintetazei, care este considerat în prezent mediatorul vasodilatator principal în sepsisul sever şi şocul septic.

ALB-SH(mercaptoalbumina) + NO---→ NITROSO-ALB

Compusul format în urma reacţiilor care au fost studiate in vitro conţine gruparea S - nitrosotiol; astfel prin acestea se consideră că

albumina inhibă producerea vasodilatației, precum și intensitatea acestor reacții.

2.1.4.4 Rolul posibil anticoagulant și antiagregant plachetar

Rolul posibil anticoagulant și antiagregant plachetar este evidențiat prin asemănarea structurală cu heparina, care prezintă grupări de sulfați negative și se leagă de antitrombina III, ceea ce explică efectul anticoagulant. Pe baza acestei proprietăți a albuminei putem explica statusul hipercoagulant întâlnit la cei cu sindrom nefrotic, cât și necesarul mai mic de heparină la pacienții supuși hemodializei, pacienți ce prezintă o creștere a concentrației de albumină, deci și o activitate antitrombinică III mai crescută.

Rolul antiagregant plachetar se datorează hemodiluției care este produsă de această moleculă prin efectul de plasma expander, precum și posibil influența asupra ciclooxigenazei.

Trebuie amintit și rolul albuminei de a îndepărta din circulație anumite substanțe toxice; actualmente, cele mai studiate sunt endotoxinele bacteriene (Wilkes MM, Navickis RJ. Patient survival after human albumin administration. *Ann Intern Med* 2001), dar și autoanticorpii produși în anumite boli autoimune, boli cum ar fi miastenia gravis, unde se indică folosirea acestei substanțe ca soluție de repleție volemică în cursul sedințelor de plasmafereză. Este descris și menționat rolul albuminei în eliminarea cuprului în cazul intoxicațiilor cu această substanță.

2.1.5 TRANSFERUL FIZIOLOGIC CAPILAR ȘI DISTRIBUȚIA MOLECULEI DE ALBUMINĂ ÎN ORGANISM

Prima descriere a cineticii albuminei a fost făcută în 1966 de Schultze și Heremans, pe baza utilizării albuminei radiomarcate și cu determinarea seriată a concentrațiilor plasmatice de albumină la fiecare 5 min.

Rezultă o reprezentare grafică în care se descrie o primă fază de scădere exponențială ce se datorează ratei de difuzie transcapilare de aproximativ 4-5%/h și o a doua fază de scădere mai lentă ce se datorează catabolismului moleculei de albumină, descriindu-se astfel o rată de degradare fracțională de 3,7%/zi.

Panta celei de a doua faze fiind mai orizontalizată este şi cea care determină timpul de înjumătăţire plasmatic de aproximativ 19 zile.

Măsurând cantitatea de albumină conţinută în mediul extravascular, prin metode directe care constau în determinări imunochimice, s-a dovedit că aceasta este în cantitate mai mare ca şi cea calculată din schimbul transcapilar. Din rata de transfer transcapilar rezultă o cantitate de albumină care străbate peretele capilar de 120g/zi, iar cantitatea ce se poate reîntoarce în circulaţie pe cale limfatică este de 177g/zi.

Cantitatea totală distribuită extravascular reprezintă 242 g (2.05 x conc. plasmatică), de unde rezultă o diferenţă de 65 g de albumină (242-177), care se acumulează la nivel de ţesuturi periferice şi care ulterior este degradată. Din suma celor două cantităţi de albumină, distribuite în cele două spaţii (intra- şi extravascular), rezultă cantitatea totală de albumină din organismul uman de 360 grame.

2.1.6 DESCRIEREA PROCESULUI DE CREȘTERE A PERMEABILITĂȚII PERETELUI MICROVASCULAR

Mecanismele care produc scăderea concentraţiei plasmatice a albuminei sunt reprezentate de creşterea permeabilităţii vasculare la nivel de perete capilar şi după unii autori, postcapilar - venular (HedwigS. Murphy - Inflammation 2006), în condiţiile în care la nivel hepatic are loc o scădere a sintezei de albumină în cadrul reacţiei de fază acută hepatică. Reacţia de fază acută hepatică constă în creşterea sintezei proteinelor cu rol de stimularea sistemului imun înnăscut prin procesul de opsonizare bacteriană, respectiv activarea complementului, în detrimentul unor proteine negative de fază acută, albumina fiind principala proteină de fază negativă.

Acest proces de permeabilizare microvasculară este determinat de acţiunea mediatorilor proinflamatori care pot fi grupaţi în mediatori celulari reprezentaţi de :

- citokinele proinflamatorii –TNF alfa, IL1, IL6, IL8 eliberate în special de macrofagesunt considerate mediatori celulari preformaţi.
- serotonina eliberată de trombocitele activate şi considerată mediator celular preformat, în măsură mai mică histamina

(rol important în reacţia anafilactică), fiind eliberat prin degranulare mastocitară.

- leucotrienele LT B4-considerat mediator celular neoformat la nivel de mastocit sub acţiunea complementului C5a .

Mediatorii plasmatici aceştia sunt reprezentaţi de către:

- fracţiunea complementului C5a produs în urma activării cascadei complementului în special pe calea alternă sau manoz-lectinei.
- bradikinina rezultată în urma activării sistemului plasmatic kininogen-kinină.
- produşii de degradare a fibrinogenului rezultaţi din fibrinoliza fiziologică ce are loc sub acţiunea plasminei.

Studiile recente făcute pe animalele de experienţă evidenţiază în mod clar că rolul major în procesul de permeabilizare îl deţin mediatorii celulari - citokinele proinflamatorii – TNF alfa, IL1, IL6, IL8, iar dintre cei plasmatici fracţiunea complementului C5a.

În cadrul reacţiei inflamatorii posttraumatice locale, TNF alfa şi IL1 joacă un rol esenţial în permeabilizarea peretelui microvasular, însă acţiunea lor nu se exercită în mod direct, aşa cum se întâmplă în cazul celorlalţi mediatori (serotonina, bradikinina, histamina) care acționează prin legare de receptor specific la nivel de endoteliu, ci prin intermediul neutrofilelor activate, similar acţiunii fracţiunii C5a.

Rolul IL6 se exercită în principal la nivel hepatic şi constă în producerea reacţiei de fază acută hepatică, iar în ceea ce priveşte rolul IL8, acesta este considerat un factor chemoatractant, realizând un gradient chemotactic la nivelul endoteliului vascular, proces ce favorizează migrarea neutrofilelor şi pasajul lor la nivelul spaţiilor intercelulare.

Fracţiunea C5a este considerată mediatorul plasmatic cu rol principal în permeabilizarea peretului microvascular, datorită acţiunii multiple pe care o deţine şi care acţionează prin intermediul neutrofilelor activate, având o acţiune complementară şi simultană cu cea a citokinelor proinflamatorii.

Conform studiilor efectuate cu ajutorul anticorpilor specifici şi care s-au bazat pe determinarea activităţii mieloperoxidazei (Cordula M-

2013), fracţiunea C5a acţionează la nivelul receptorului C5L2 de la nivelul membranei neutrofilului, determinând stimularea arderilor celulare,cu rol de a produce radicalii liberi de oxigen (O2-, OH-, H2O2) .

Rolul secundar în procesul de permeabilizare îl deţin următorii mediatori celulari: serotonina, eliberată în urma activării şi degranulării trombocitare, histamina cu rol esenţial în permeabilizarea peretului microvasular în cadrul reacţiei anafilactice şi eliberată în urma degranulării mastocitare, respectiv bradikinina produsă ca urmare a activării sistemului kininogen-kinină, secundar activării coagulării pe calea intrinsecă (Fleck A, Raines G, Hawker F, Trotter J, Wallace PI, Ledingham IM, Calman KC: Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury, 2005).

Modul de acţiune al acestor mediatori este similar şi constă în legarea de receptori specifici la nivel de endoteliu vascular, activarea ulterioară enzimatică - serin/threonin kinase, care prin fosforilare induce activarea NO sintetazei cu producerea de oxid nitric, cu rol atât vasodilatator, cât şi de distrugerea proteinelor interjoncţionale ce menţin aderenţele între celulele endoteliale. Distrugerea proteinelor are loc prin procesul de nitrozilare a beta-caterinei şi de dezasamblare ulterioară a caderinei.

2.1.7 SCĂDEREA SINTEZEI DE ALBUMINĂ ÎN CADRUL REACȚIEI DE FAZĂ ACUTĂ HEPATICĂ

Reacţia de fază acută hepatică face parte dintr-o gamă largă de modificări funcţionale (biochimice, fiziologice, nutriţionale), care crează condiţiile necesare de adaptare a organismului la reacţia de stress indusă de inflamaţie. La nivel hepatic se produce o modificare a funcţiei de sinteză, producându-se în exces anumite proteine cu rol în stimularea complementului şi opsonizarea bacteriană, denumite proteine pozitive de fază acută. Concentraţia plasmatică a acestor proteine creşte de până la 1000 de ori în cazul proteinei C reactive şi a amiloidului A (tabelul nr.1), în timp ce sinteza hepatică a altor proteine scade, proteine denumite proteine negative de fază acută reprezentate în special de albumină.

În general se consideră proteină de fază acută, proteina a cărei concentrație plasmatică se modifică cu cel puțin 25% din valoarea inițială.

Tabel nr. 1. Principalele proteine pozitive și negative de fază acută:

Principalele proteine pozitive de fază acută	Principalele proteine negative de fază acută
Proteina C reactivă	Albumina
Manoz – lectina	Transferina
Amyloidul seric P	Transtiretina
Fibrinogenul	Alfa fetoproteina
Alfa glicoproteina	Proteine transportoare de vit. A
C3, C9, factor B	Factorul XII

Mecanismul prin care se stimulează sinteza de proteine pozitive la nivelul celulei hepatice a fost pe deplin demonstrat de către cercetătorii olandezi (Universitatea Groningen 1996), în urma studiilor experimentale pe animale de laborator.

Acest mecanism este declanșat de IL6 și secundar de IL1 (fig.14); ambele citokine se leagă de receptori specifici membranari care prin activare enzimatică duc la sinteza factorului de transcripție genetică – ARNm, răspunzător de transferul informației genetice de la nucleu la nivel de ribozomi și ulterior la producerea ARNt răspunzător de transferul aminoacizilor la nivelul ribozomilor.

CAPITOLUL III

3.1. Evaluarea nivelului plasmatic de albumină ca potențial biomarker de prognostic sever la pacienții cu SIS indus de traumă

3.1.1 Obiective

Studiul de față își propune pe lângă determinarea incidenței hipoalbuminemiei la pacienții cu sindrom inflamator sistemic (SIS) non-septic (indus de traumă chirurgicală sau în caz de politraumă) și evaluarea nivelului plasmatic de albumină ca potențial biomarker de severitate în ceea ce privește prognosticul acestor pacienți.

Studiul actual este un studiu clinic observațional prospectiv randomizat.

În scopul realizării studiului s-au determinat în prima fază valorile albuminei plasmatice la admisie pe terapie intensivă (T.I) la 24h, respectiv 48h după admisia pe T.I. Concomitent s-au determinat valorile plasmatice ale proteinelor totale la aceleași interval de timp, precum și valorile transaminazelor și a bilirubinelor.

Pacienții au fost urmăriți în evoluție din punct de vedere al complicațiilor care apar pe fond de hipoalbuminemie și care sunt posibil produse de scăderea valorii plasmatice a albuminei (ileus prelungit, gastropareza prelungită, sepsa, fistula, insuficiența renală acută).

3.1.2 Ipoteza:

Hipoalbuminemia apare în proporție de până la 90% la pacienții critici admiși pe secțiile de terapie intensivă, mecanismul care produce această scădere constă în creșterea permeabilității microvasculare (la nivel de perete capilar și venular), ca urmare a sindromului inflamator sistemic (SIS), în condițiile scăderii sintezei hepatice de albumină, din cadrul reacției de fază acută hepatică.

Luând în considerare rolurile multiple pe care le deține această moleculă, atât cele fiziologice, cât mai ales cele care apar în condiții de SIS se poate corela această scădere a nivelului plasmatic de albumină cu posibile complicații.

Totodată, trebuie să se țină cont de datele de farmacocinetică ce indică un transfer capilar fiziologic al molecule de albumină, acest transfer fiind crescut în condiții de SIS. În același timp studiile cu albumină radiomarcată indică în cazul pacienților care au suferit o traumă tisulară acumularea acesteia la nivel de mucoasă intestinală și la nivel tegumentar în jurul plăgilor chirurgicale.

3.1.3 Material și metodă

3.1.3.1. Caracteristicile eșantionului de pacienți

După obținerea consimțământului comisiei de etică pentru efectuarea studiilor clinice a spitalului au fost introduși în studiu inițial 108 pacienți în perioada 2015- 2016 care au fost supuși chirurgiei majore sau au suferit politraumatisme (acești pacienți dezvoltând un SIRS non-septic indus de traumă tisulară).

Criteriile de excludere inițiale au fost reprezentate de patologia asociată care poate conduce la scăderea albuminemiei - boli hepatice majore cunoscute, boli renale care asociază sindromul nefrotic sau nefritic, malnutriția protein-calorică severă (IMC<20) sau diareea cu pierderea de proteine.

La 48h după admisie pe secția de terapie intensivă au fost excluși din studiu 2 pacienți, datorită faptului că prezentau disfuncție hepatică, evidențiată prin valori crescute ale transaminazelor sau bilirubinelor, iar un pacient cu hipoalbuminemie severă de 1,7g/dl la admisia pe terapie intensivă (T.I), nu a putut fi luat în calcul din punct de vedere statistic.

3.1.3.2. Descrierea metodei de determinare a albuminei

Determinarea albuminemiei, s-a făcut prin metodele chimiei uscate care se bazează pe legarea albuminei cu substanța pigment în condiții de PH acid, ceea ce produce virarea culorii soluției de la galben spre violet, această modificare a culorii fiind cuantificată prin spectrofotometrie.

Reacția care stă la baza determinării albuminemiei este prezentată mai jos.

Albumina + Bromocresol purple(BCP)----pH acid---------->Complexul BCP-Albumina.

În ceea ce priveşte determinarea proteinelor totale, aceasta s-a bazat pe reacţia acestora cu Cu+2, şi măsurarea ulterior tot prin metoda spectofometrică a complexului format, conform reacţiei de mai jos:
Proteine totale+Cu+2---OH_-------→Complex Prot.-Cu
Ambele reacţii, precum şi determinarea transaminazelor şi a bilirubinelor s-a făcut cu ajutorul aparatului Samsung-Labgeo din cadrul laboratorului al secţiei de terapie intensivă.

În ceea ce priveşte determinarea alanin transaminazei (ALAT) şi a aspartat transaminazei (ASAT) s-a folosit metoda colorimetrică, iar determinarea bilirubinei s-a făcut prin metoda de oxidare enzimatică .

Precizia măsurătorilor a fost evaluată în conformitate cu ghidurile standardizate emise de Institutul pentru studii clinice şi de laborator, folosind reactivi de referinţă BIO-RAD nivel 1 şi 3, iar rezultatul arată un coeficient de variaţie mai mic de 5% în cazul fiecărei determinări .

Liniaritatea măsurătorilor a fost evaluată prin testele specifice de linearitate conform ghidurilor CLSI EP6-A, pentru fiecare din cele 9 probe s-au efectuat 4 măsurători repetate, rezultatele fiind analizate prin metoda regresiei polinomiale, rezultând un coeficient de determinaţie de minim 0,99, fiind pusă în evidenţă linearitatea în fiecare din cele 9 probe supuse testării.

Prelucrarea statistică a datelor, care stă la baza studiului amintit mai sus, a constat în efectuarea statisticii descriptive. S-au determinat valorile medii ale albuminei plasmatice, respectiv a proteinemiei totale în cele trei momente descries anterior. Concomitent s-au calculat abaterile standard în cadrul fiecărei grupe, precum şi valorile medii ale vârstei, transaminazelor şi bilirubinei .

Statistica inferenţială a constat în evidenţierea relaţiei albumină-vârstă prin metoda regresiei liniare, validarea diferenţelor dintre valorile medii ale albuminei plasmatice pentru a demonstra hipoalbuminemia existentă la aceşti pacienţi, precum şi tendinţa de scădere a acesteia.

Calcularea valorilor medii plasmatice ale albuminei corespunzătoare grupelor de pacienţi fără complicaţii clinice, celor cu complicaţii clinice, respectiv cu complicaţii şi care au decedat, şi efectuarea testului de comparaţie multiplă Scheffe între grupele respective, ulterior efectuarea testelor de corelaţie între valoarea albuminei la 48h şi scorul APACHE II (scor de predicţie a gravităţii pentru pacientul critic).

În final s-a realizat o analiză descriptivă cu luarea în calcul a valorii albuminei de 3g/dl, factor ce diferențiază hipoalbuminemia ușoară de cea medie în practica clinică și care este folosit arbitrar ca trigger pentru administrarea soluției de albumină hipertonică 20%.

Analiza a fost bazată pe efectuarea testului non-parametric Chi-Square care evidențiază diferențele între frecvențele aparținând grupelor de pacienți supuși studiului. Pentru validarea semnificației statistice a fiecărui test amintit s-a calculat probabilitatea de eroare p.

3.1.3.3. Descrierea metodelor de urmărire clinică a pacienților eșantionați

În ceea ce privește complicațiile clinice care apar pe fond de hipoalbuminemie și care sunt posibil datorate acestei hipoalbuminemii, acestea au fost urmărite în evoluția pacienților și au fost puse în evidență prin examen clinic general și examene paraclinice, astfel:

- ileusul prelungit prin absența maxima a tranzitului intestinal la 96 h după operație, coroborat cu distensia abdominală și ascultatoric lipsa zgomotelor intestinale, coroborat totodată cu examen imagistic.
- gastropareza prelungită a fost evidențiată clinic prin lipsa toleranței la alimentație care persistă și după 48 h de la operație, cu cantitate semnificativ crescută pe sonda nazo-gastrică (peste 500 ml aspirat nazo-gastric),
- fistula digestivă a fost pusă în evidență prin intoleranța la alimentație, persistența drenajului cu lichide cu conținut intestinal și gastric, împăstarea pansamentelor și în unele cazuri apariția sensibilității abdominale.
- complicațiile septice au fost puse în evidență prin date de laborator (leucocitoza, probe de inflamație crescute și radiografie pulmonară în caz de infecție respiratorie), precum și date clinice - febră, tahipnee, tahicardie.
- insuficiența renală, această complicație a fost evidențiată prin probele de retenție azotată crescute.

3.1.4 Rezultate

3.1.4.1 Statistica descriptivă

Incidenţa hipoalbuminemiei, precum şi calcularea valorilor proteinelor plasmatice pe lotul de pacienţi studiaţi este evidenţiată de următoarea metodă statistică descriptivă. Se pot observa mediile şi abaterile standard aferente fiecărei variabile.

Mediile calculate (tabelul nr.3) scot în evidenţă diferenţa între valorile în timp ale albuminei (0, 24h, 48h), cu o posibilă tendinţă la hipoalbuminemie, respectiv între valorile proteinelor totale, diferenţe care vor fi validate din punct de vedere statistic.

Tabel nr.3 Statistica descriptivă privind lotul de pacienţi supuşi studiului

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
VÂRSTA	105	18	91	65.48	15.693
ALBUMINA	105	3	6	4.209	0.6172
ALBUMINA	105	1.8	4.8	3.37	0.5148
ALBUMINA	105	1.6	4.3	3.023	0.4925
PROT.TOTALE	105	5	8.2	6.56	0.6646
PROT.TOTALE	105	3.3	7.4	5.416	0.6424
PROT.TOTALE	105	3	6.8	5.081	0.6008
TGO	105	6	59	24.58	12.907
TGP	105	7	81	30.53	15.882
BIL-D	105	0.1	0.96	0.1776	0.15924
BIL-T	105	0.1	1.4	0.4985	0.30043
NEUTROFILE	105	45	92	76.01	10.494

3.1.4.2 Test ANOVA între concentraţiile medii ale albuminei

Pentru validarea diferenţelor dintre valorile medii ale albuminei s-a folosit testul ANOVA – Post Hoc (tabelul nr.5), ulterior efectuării testului de omogenitate a variației (tabelul nr.4).

Tabel nr. 4 Testul de omogenitate al variației

Albumina toată perioada

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.642	2	312	.010

Tabel nr. 5 Test ANOVA Post-Hoc

Albumina toată perioada

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.021	2	39.010	131.715	.000
Within Groups	92.406	312	.296		
Total	170.427	314			

Diferențele între mediile valorilor albuminei inițiale, la 24 ore și respectiv la 48 ore sunt semnificativ statistic, deoarece rezultă un F (2, 312) = 131.715 la un p<.001.

În scopul de a vedea dacă diferențele între medii se regăsesc și între inițial și 24ore, și între 24 și 48 ore, etc. s-a calculat testul Scheffe

Post Hoc (tabelul nr. 6), iar rezultatele ne arată că există diferenţă semnificativă statistic între toate măsurătorile repetate.

Pe baza acestor teste de statistic inferenţială observăm tendinţa descrescătoare a valorilor albuminei plasmatice mai accentuată în primele 24 de ore de la admisia pe T.I conform graficului (fig.15).

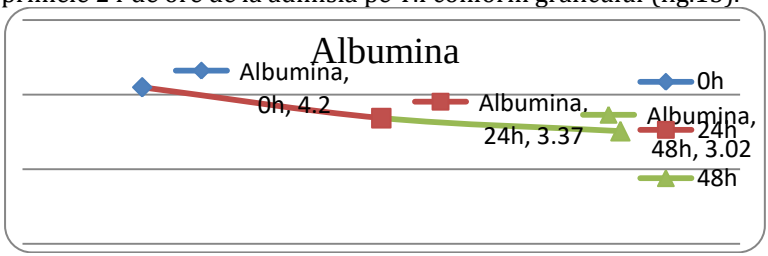

Fig. 15 Reprezentarea grafică a valorilor medii ale albuminei plasmatice

Valoarea medie iniţială la 0h - 4,2 g/dL
Valoarea medie la 24h - 3,37 g/dL
Valoarea medie la 48h - 3,02 g/dL
Albumina valori normale 3,5 - 5,5 g/dL

Pe baza graficului se evidenţiază o tendinţă la scădere a valorilor plasmatice ale albuminei mai mare în primele 24 de ore, comparativ cu următoarele 24 de ore.

3.1.4.3 Relaţia vârstă – albumină

Evidenţierea variaţiei valorilor albuminei plasmatice în funcţie de vârsta pacienţilor s-a efectuat folosind metoda regresiei liniare (albumina – valoare dependentă, iar vârsta este valoarea independentă), mai jos fiind redat graficul - norul de puncte.

În fig.16 este reliefat norul de puncte referitor la albumina inițial și vârsta pacienților, astfel se constată relația inversă între cele două valori.

Această relație invers proporțională dovedită, ne determină să luăm în studiu cele două mecanisme principale care produc scăderea concentrației de albumină plasmatică la pacienții care au suferit o traumă tisulară.

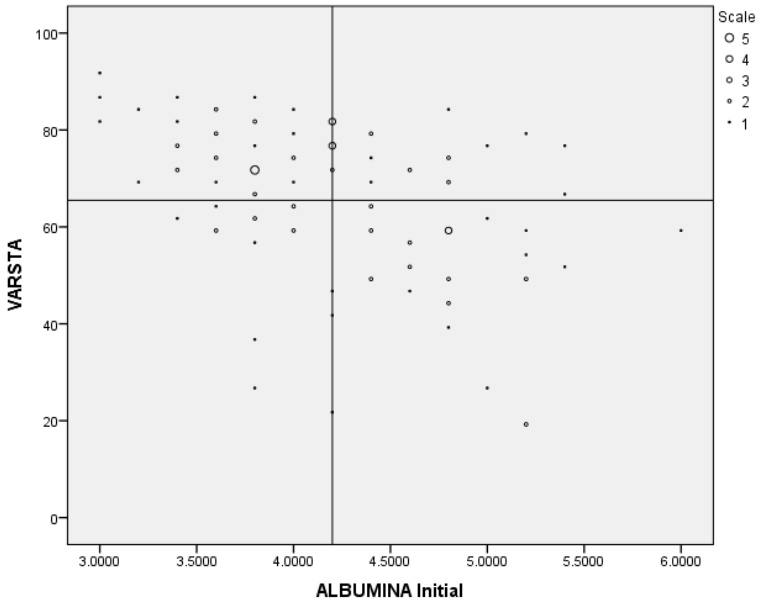

Fig.16 Norul de puncte aferent corelației Vârstă – Albumină Inițial

Mai jos este reliefat norul de puncte (fig.18) referitor la albumina 48 de ore și vârsta pacienților supuși studiului, putându-se constata relația inversă între aceste două valori.

S-au realizat aceste teste de statistică inferențială între vârstă și albumina plasmatică, deoarece așa cum reiese din scorul APACHE II, vârsta este o variabilă cu rol determinant în calcularea acestui scor. Cu cât este mai în vârstă pacientul cu atât scorul APACHE II este mai mare, la vârsta peste 65 ani, cum este cazul pacienților supuși studiului prezent, se adaugă un număr mai mare de puncte, comparativ cu cel adăugat de celelalte variabile, care s-au luat în calcularea scorului.

În toate cele trei situații, metoda regresiei liniare pune în mod clar în evidență o relație de tip invers proporțional între variația albuminei (variabila dependentă) și variația vârstei (variabila independentă).

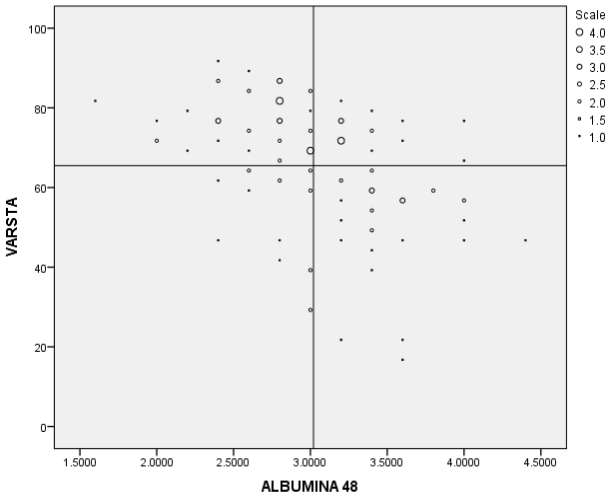

Fig. 18 Norul de puncte aferent corelației Vârstă – Albumină 48 de ore

Testele de corelație efectuate indică o relație invers proporțională între valorile vârstei și cele ale albuminei la 48 h.
Rezultă un P (coeficient Pearson) de -0.433 la un p <0.001 semnificativ statistic (tabelul nr. 7).

Tabelul nr. 7 Testul de corelație Albumină 48 de ore - Vârstă

		ALBUMINA	VÂRSTA
Pearson Correlation	ALBUMINA	1.000	-.433
	VÂRSTA	-.433	1.000
Sig. (1-tailed)	ALBUMINA	.	.000
	VÂRSTA	.000	.
N	ALBUMINA	105	105
	VÂRSTA	105	105

Tabelul nr.8 Variabilele introduse sau excluse din calcul

VariablesEntered/Removed[a]

Model	VariablesEntered	Variables Removed	Metoda
1	VARSTA[b]	.	Enter

a. Variabila dependent : ALBUMINA

b. Toate variabilele cerute necesare şi introduse

Calcularea coeficientului R^2 de determinație, după introducerea în calcul a tuturor variabilelor (tabelul nr. 8) ne indică în ce proporție variația valorii albuminei la 48 de ore este determinată de variabila vârstă şi are o valoare de 17,9%, fiind validată statistic, rezultând un $p<0.001$.

Tabelul nr. 9 Calcularea coeficientului de determinație R^2

Model Summary[b]

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	ChangeStatistics				
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change
1	.433[a]	.187	.179	.4461085	.187	23.751	1	103	.000

a. Predictori: (Variabila constantă) - VÂRSTA
b. Variabila Dependentă: ALBUMINA

Calcularea acestui coeficient de determinaţie (tabelul nr. 9), în ciuda faptului că nu are o valoare mare, este validat statistic ceea ce relevă faptul că variaţia vârstei pacienţilor în eşantionul studiat induce o variaţie a concentraţiei albuminei plasmatice.

Tabel nr.12 Test ANOVA Post Hoc între valorile medii ale proteinelor plasmatice

PROTEINE TOTALE INIŢIAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.982	2	2.491	6.154	.003
Within Groups	40.882	101	.405		
Total	45.864	103			

Ca şi în cazul albuminei, testul ANOVA validează diferenţele dintre valorile medii (0 - 24h - 48h) ale proteinemiei totale. Pe baza testului menţionat rezultă un F = 6.154 la un p<0.003.

Se poate reprezenta grafic variaţia valorilor plasmatice medii ale proteinelor totale, ulterior efectuării testelor de validare statistic. Observăm aceeaşi tendinţă de scădere mai accentuată în primele 24 h, la fel ca şi în cazul scăderii albuminemiei.

Variaţia asemănătoare a valorilor medii ale albuminei plasmatice, respectiv ale proteinelor totale plasmatice este explicată de faptul că

albumina plasmatică determină 60% din concentrația proteinelor plasmatice (fig.19).

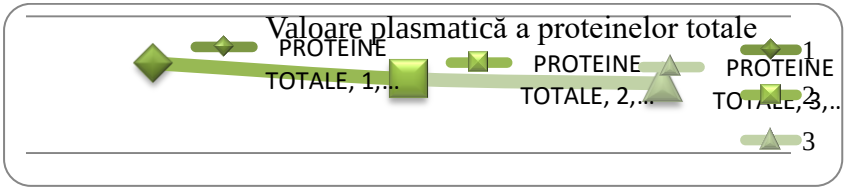

Fig.19 Reprezentarea grafică a valorilor medii ale proteinelor plasmatice

Legenda: 0 h de la spitalizare,24 h de la spitalizare,48 h de la spitalizare

Pentru verificarea ipotezei statistice conform căreia valorile scăzute ale albuminei plasmatice pot fi folosite ca și biomarker de prognostic clinic sever, în cazul lotului de pacienți studiați,acest lot s-a divizat în trei grupe, astfel:

- pacienți fără complicații clinice,
- pacienți cu complicații clinice,
- pacienți cu complicații și ulterior decedați.

S-a efectuat testul Scheffe pentru valoarea inițială a albuminei, dar totodată se poate observa și faptul că aceasta nu are semnificație statistică, deoarece a rezultat un $p>0.05$ între grupul 1 și 2 (tabel nr. 13).

3.1.4.4 Test Scheffe de comparaţie multiplă pe subgrupuri eşantionate

Tabel nr.13 Test de comparaţie multiplă Scheffe Post Hoc

Variabila Dependentă: ALBUMINA INIȚIAL

(I) Complicatii	(J) Complicatii	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	1.00	.3454*	.1255	.026	.034	.657
	2.00	.5830*	.1671	.003	.168	.998
1.00	.00	-.3454*	.1255	.026	-.657	-.034
	2.00	.2376	.1677	.370	-.179	.654
2.00	.00	-.5830*	.1671	.003	-.998	-.168
	1.00	-.2376	.1677	.370	-.654	.179

*. Diferenţa între valorile medii este semnificativă la o probabilitate de eroare de < 0.05.

Pentru a determina acurateţea acestui test Scheffe s-au efectuat în paralel teste de omogenitate a grupelor de pacienţi luate în calcul, precum şi pentru subgrupuri de omogenitate (tabel nr.14).

Testul Scheffe de comparaţie multiplă între valorile albuminei plasmatice la 24 de ore, aparţinând celor trei grupuri de pacienţi prezentate anterior nu este validat din punct de vedere statistic, rezultând un p>0.05, la fel ca şi în cazul testului precedent între grup 1 şi grup 2 (tabel nr. 15).

Tabel nr. 15 Test de comparaţie multiplă Scheffe Post Hoc

Variabila Dependentă: ALBUMINA la 24 h

(I) FACXCO	(J) FACXCO	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	1.00	.4135*	.1364	.012	.075	.752
	2.00	-.0936	.1817	.876	-.545	.358
1.00	.00	-.4135*	.1364	.012	-.752	-.075
	2.00	-.5071*	.1823	.024	-.960	-.054
2.00	.00	.0936	.1817	.876	-.358	.545
	1.00	.5071*	.1823	.024	.054	.960

*. Diferenţa între valorile medii este semnificativă la o probabilitate de eroare de < 0.05.

Din rezultatele obţinute în urma efectuării celor două teste de comparaţie multiplă Scheffe, putem afirma că diferenţele între valorile medii ale concentraţiei albuminei plasmatice corespunzătoare celor două grupe de pacienţi (grupul 1şi grupul 2) sunt egale în realitate, deoarece nu au putut fi validate statistic, deci nu s-a putut respinge ipoteza nulă.

Calcularea valorilor medii ale albuminei plasmatice la 48h, corespunzătoare celor trei grupe , relevă următoarele valori:

- 3.33g/dL – corespunzător lotului de 45 pacienți, fără complicații;
- 2.88g/dL – corespunzător lotului de 43 pacienți, cu complicații;
- 2.54g/dL – corespunzător lotului de 17 pacienți, cu complicații și decese.

Diferențele dintre aceste valori medii sunt validate statistic în urma efectuării testului Scheffe – test de comparație multiplă, rezultând un $p<0.05$ în cazul fiecărei comparații (tabelul nr. 17).

Trebuie menționat că doar diferența între valorile medii ale albuminei la 48h de la admisie, are semnificație statistică conform acestui test, primele două teste de comparație nu sunt validate statistic. Acest rezultat ne obligă să considerăm doar această valoare a albuminei plasmatice la 48h, ca posibil biomarker de prognostic sever.

Tabel nr.17 Test de comparație multiplă Scheffe Post Hoc

Variabila Dependentă : ALBUMINA la 48 h

(I) VAR00002	(J) VAR00002	MeanDifference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					LowerBound	UpperBound

1.00	2.00	.4540568*	.0844238	.000	.244337	.663777
	3.00	.7966013*	.1127013	.000	.516636	1.076567
2.00	1.00	-.4540568*	.0844238	.000	-.663777	-.244337
	3.00	.3425445*	.1134177	.013	.060800	.624289
3.00	1.00	-.7966013*	.1127013	.000	-1.076567	-.516636
	2.00	-.3425445*	.1134177	.013	-.624289	-.060800

*. Diferența între valorile medii este semnificativă la o probabilitate de eroare de < 0.05.

Luând în considerare valoarea albuminei plasmatice la 48 de ore ca posibil
factor predictiv sau biomarker de prognostic sever s-au efectuat în următoarea etapă testele de corelație (tabelul nr.19) între constantele Albumină - Scor APACHE II concomitent cu calcularea corelației între constantele Vârstă - Scor APACHE II.

Tabel nr. 19 Teste de corelație între constantele Vârstă – Scor APACHE II *,*
respectiv constantele Albumină – Scor APACHE II

Variabila Dependentă: Scor APACHE II

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	13.310	3.607		3.690	.000			
	VÂRSTA	.127	.026	.398	4.874	.000	.568	.435	.359
	ALBUMINA	-3.964	.829	-.391	-4.782	.000	-.563	-.428	-.352

Coeficienții de corelație parțială Pearson sunt aproximativ egali: 0.435 în cazul vârstei la un p<0.001, respectiv -0.428 în cazul albuminei la 48 de ore la un p<0.001.

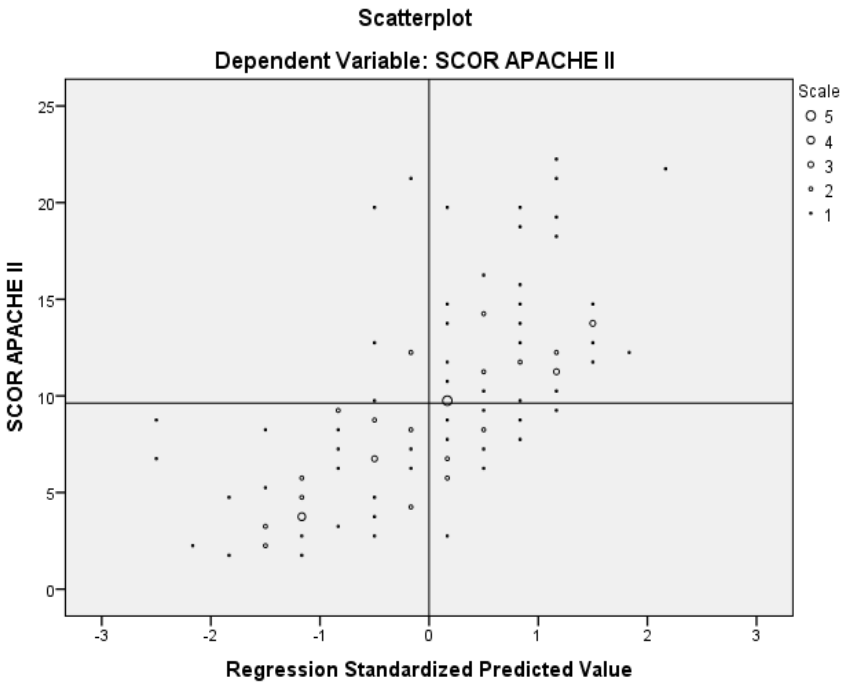

Fig.20 Norul de puncte aferent corelației Vârstă și Albumină – Scor APACHE II

Tabel nr.21 Statistica descriptivă pentru regresie

	Mean	Std. Deviation	N
SCOR APACHE II	9.63	4.995	105
VÂRSTA	65.48	15.693	105
ALBUMINA	3.022857	.4924931	105

După ce s-a efectuat statistica descriptivă (tabel nr.21), s-a calculat proporţia în care albumina şi vârsta sunt predictori pentru scorul APACHE II, prin determinarea coeficientului R^2 (tabel nr.22). Rezultatul obţinut în urma efectuării acestui test este edificator, deoarece cele două variabile (vârstă şi albumină la 48h) determină aproape jumătate din variaţia scorului APACHE II.

Tabel nr.22 Calcularea coeficientului de determinare ajustat R^2

Model Summary[b]

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	ChangeStatistics				
					R Square Change	F Change	df 1	df 2	Sig. F Change
1	.668[a]	.446	.435	3.753	.446	41.102	2	102	.000

a. Predictori: (Constante): ALBUMINA, VÂRSTA

b. VariabilaDependentă : Scor APACHE II

R^2 ajustat evidenţiază faptul că albumina şi vârsta prezic 43,5% din modificările/variaţia scorului APACHE II.

În acelaşi timp s-a calculat numărul de zile de A.T.I pentru pacienţii luaţi în studiu având criterii de includere validate.

Statistica descriptivă de mai jos indică valorile medii a numărului de zile de internare pe secția de terapie intensivă a pacienților supuși studiului, rezultând o medie între 2 zile și 46 de zile A.T.I (tabel nr. 31).

Tabel nr. 31 Statistica descriptivă pentru un interval de încredere – limite minime, maxime

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.00	45	2.76	.645	.096	2.56	2.95	2	4
2.00	43	6.21	3.609	.550	5.10	7.32	3	19
3.00	17	14.94	13.544	3.285	7.98	21.90	3	46
Total	105	6.14	7.161	.699	4.76	7.53	2	46

Diferența dintre valorile zilelor de terapie intensivă corespunzătoare celor trei grupe de pacienți la 48 de ore de la admisie este validată statistic, rezultând un F de 26.699 la un p <.000, înalt semnificativ statistic (tabel nr. 32).

Tabel nr.32 Test ANOVA Post Hoc pentru zile de A.T.I

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BetweenGroups	1832.489	2	916.244	26.699	.000
WithinGroups	3500.369	102	34.317		
Total	5332.857	104			

3.1.4.5 Analiza descriptivă bazată pe testul non–parametric Chi – Square

În final, s-a efectuat o analiză descriptivă care a luat în considerare valoarea albuminei de 3 g/dL ce diferențiază hipoalbuminemia ușoară de cea moderată în practica clinică și care este folosită ca trigger pentru administrarea soluției de albumină hipertonă de substituție. S-a calculat frecvența complicațiilor și deceselor corespunzătoare fiecărei grupe, iar rezultatele au fost verificate prin efectuarea testului non-parametric Chi-Square.

Prima etapă a constat în efectuarea unei statistici descriptive de ansamblu pentru toți pacienții care au avut valoarea albuminei plasmatice < 3g/dl precum și statistica descriptivă bazată pe apariția frecvențelor și a percentilelor la același lot (tabel nr. 34).

Tabel nr.34 Statistica descriptivă privind frecvențele și percentilele

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	L.comp	4	8.7	8.7	8.7
	comp	27	58.7	58.7	67.4

C+d	15	32.6	32.6	100.0
Total	46	100.0	100.0	

Reprezentarea grafică evidențiată mai jos a rezultat din statistica descriptivă a lotului de pacienți supuși studiului, pacienți care au avut ca valoare a albuminei plasmatice aceea de *< 3 g/dl* (fig. 21).

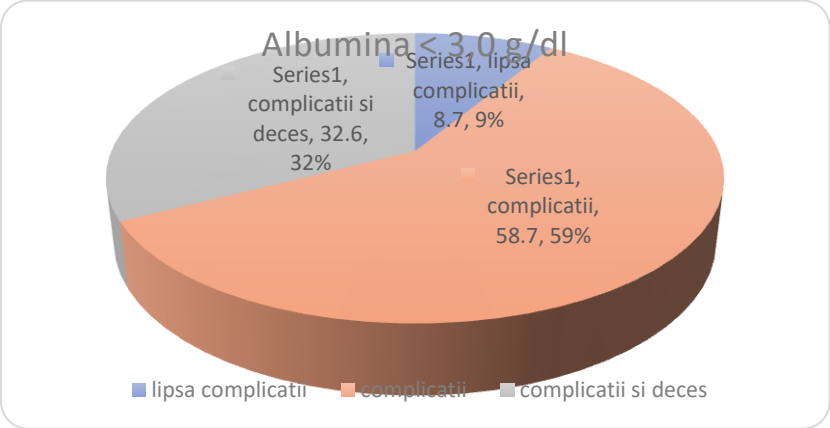

Fig.21 Distribuția frecvențelor pe serii aparținând pacienților cu albumină < 3 g/dl

În același mod s-a luat în calcul și statistica descriptivă pentru lotul de pacienți care au prezentat valoarea albuminei plasmatice > 3 g/dl (tabelele nr. 35 și 36).

Tabel nr. 36 Statistica descriptivă privind frecvențele și percentilele

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Lipsa comp	41	69.5	69.5	69.5
	comp	16	27.1	27.1	96.6
	C+D	2	3.4	3.4	100.0
	Total	59	100.0	100.0	

Evidențirea reprezentării grafice redată mai jos a rezultat asemănător datelor expuse anterior, respectiv din statistica descriptivă a lotului de pacienți supuși studiului, pacienți care au avut ca valoare a albuminei plasmatice aceea de *≥ 3 g/dl* (fig. 22).

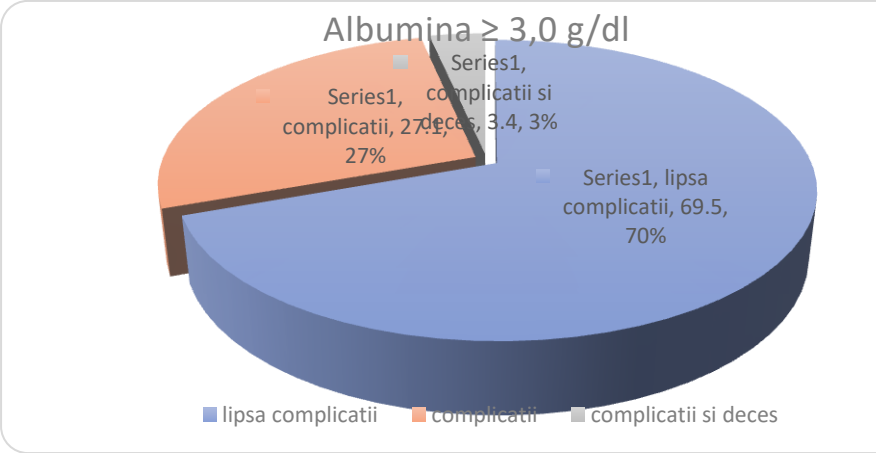

Fig.22 Distribuția frecvențelor pe serii aparținând pacienților cu albumină ≥3 g/dl

Înaintea efectuării propriu-zise a primului test non-parametric (tabel nr. 38 şi nr. 39) s-a realizat o statistică descriptivă pentru toţi pacienţii care nu prezentau complicaţii la 48 de ore.

Tabel nr. 37 Statistică descriptivă pentru lotul de pacienţi fără complicaţii

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Lipsă complicaţii	45	1.9111	.28780	1.00	2.00

Tabel nr.38 Variabilitatea frecvenţelor pentru Testul Chi-Square – pacienţi fără complicaţii

	Observed N	Expected N	Residual
1.00	4	22.5	-18.5
2.00	41	22.5	18.5
Total	45		

Tabel nr. 39 TestulChi-Square -pacienţi fără complicaţii

	VAR00003
Chi-Square	30.422[a]
df	1
Asymp. Sig.	.000

Pe baza acestui test non - parametric se poate afirma că există diferenţă semnificativ statistică între frecvenţele corespunzătoare pacienţilor fără complicaţii la 48 de ore, frecvenţa minimă estimată fiind de 22.5, iar prima evaluare are o frecvenţă < 5.

Înaintea efectuării propriu-zise a celui de al doilea test non-parametric (tabel nr. 41 şi nr. 42) s-a realizat o statistică descriptivă pentru toţi pacienţii care prezentau complicaţii la 48 de ore (tabel nr. 40).

Tabel nr.40 Statistică descriptivă pentru lotul de pacienții cu complicații

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Complicații	43	1.3721	.48908	1.00	2.00

Tabel nr.41 Variabilitatea frecvențelor pentru Testul Chi-Square - pacienți cu complicații

	Observed N	Expected N	Residual
1.00	27	21.5	5.5
2.00	16	21.5	-5.5
Total	43		

Tabel nr.42 Testul Chi-Square -pacienți cu complicații

	VAR00003
Chi-Square	2.814[a]
df	1
Asymp. Sig.	.093

După cum se observă în cazul acestui test non - parametric se poate afirma că nu există diferență semnificativ statistică între frecvențele corespunzătoare pacienților cu complicații la 48 de ore, deoarece probabilitatea de eroare este mai mare de 0.05, frecvența minimă estimată fiind de 21.5, iar prima evaluare are o frecvență < 5.
Anterior efectuării propriu-zise a celui de al treilea test non-parametric (tabel nr. 44 și nr. 45) s-a realizat o statistică descriptivă pentru toți pacienții care prezentau complicații la 48 de ore și au decedat ulterior (tabel nr. 43).

Tabel nr.43 Statistică descriptivă pentru lotul de pacienți cu complicații la 48 de ore și decedați

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Complicații + deces	17	1.1176	.33211	1.00	2.00

Tabel nr.44 Variabilitatea frecvențelor pentru Testul Chi-Square- pacienți cu complicațiila 48 de ore și decedați

	Observed N	Expected N	Residual
1.00	15	8.5	6.5
2.00	2	8.5	-6.5
Total	17		

Tabel nr.45 Testul Chi-Square – pacienți cu complicații la 48 de ore și decedați

	VAR00003
Chi-Square	9.941[a]
df	1
Asymp. Sig.	.002

În urma efectuării acestui test non - parametric se poate afirma că există diferență semnificativ statistică între frecvențele corespunzătoare pacienților cu complicații la 48 de ore și care ulterior

au decedat, deoarece probabilitatea de eroare sub 0.01, frecvența minimă estimată fiind de 8.5, iar prima evaluare are o frecvență < 5.

Efectuarea testului Chi-Square arată diferențe semnificativ statistic între frecvențele pacienților care nu prezentau complicații la 48 de ore, respectiv frecvențele pacienților care prezentau complicații la 48 de ore și ulterior au decedat.

La 60 dintre pacienți s-a determinat valoarea albuminei plasmatice la 24 h, după ce aceștia și-au reluat tranzitul intestinal, estimarea valorilor medii s-a făcut cu ajutorul unui interval de încredere având gradul de siguranță de 95%. *Tabelul nr.47 Testul Student's de comparație pe lotul studiat*

Paired Samples T-Test										
									95% Confidence Interval	
			statistic	**df**	**p**	**Mean difference**	**SE difference**	**Cohen's d**	**Lower**	**Upper**
ALBUMI-NA (72 h)	ALBUMI-NA (72h +24<)	Student's t	-6.79	41.0	<.001	-364	0.0536	-1.05	-473	-256

Testul Student's de comparaţie (tabel. nr. 47) efectuat pune în evidenţă, din punct de vedere statistic, diferenţa între valorile medii ale albuminei înainte şi după reluarea tranzitului intestinal.

Rezultă un Cohen's d de -1.05 la un $p<0.001$ semnificativ statistic. Testul constituie o explicaţie certă în ceea ce priveşte rolul pe care îl deţine alimentaţia administrată precoce, chiar şi numai lichidă, în reluarea tranzitului intestinal.

3.1.6 Discuţii

Conform celor expuse anterior, menţionăm că s-a luat în considerare doar semnificaţia statistică a acestei variabile (nivelul plasmatic al albuminei), iar pentru a evalua şi semnificaţia clinică, care poate să difere de cea statistică, va trebui să se stabilească locul hipoalbuminemiei în cadrul relaţiei cauză-efect.

Cu alte cuvinte, valoarea plasmatică scăzută a albuminei poate fi folosită doar ca un biomarker de prognostic sever, similar utilizării valorii procalcitoninei în cazul sepsei; poate fi de asemenea şi un factor cauzator cu rol în producerea complicaţiilor sau un factor care se agravează după apariţia acestor complicaţii clinice (histograma de mai jos – fig. 24).

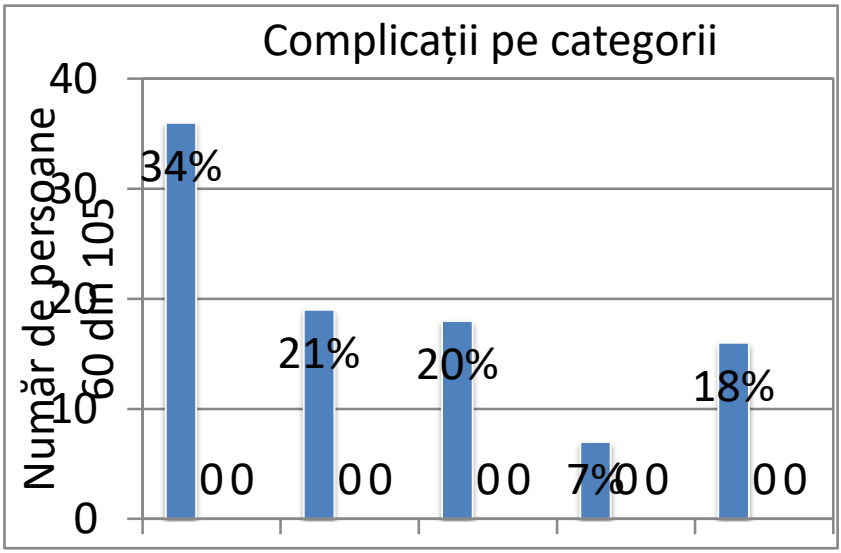

Fig. 24 Grafic reprezentând incidența complicațiilor

Legenda :

1-Ileus prelungit=34%, 2- Complicații infecțioase =21%

3-Gastropareza prelungită 20%, 4-Fistula 7%,5-Insuficiența renală acută 18%

Pentru a stabili care este exact relația între hipoalbuminemia apărută la acești pacienți și complicațiile ce apar pe fond de scădere a albuminei plasmatice și care sunt posibil datorate acestei scăderi, va trebui analizată fiecare complicație în parte, atât din punct de vedere al etiologiei, cât și al efectelor produse, concomitent cu luarea în considerare a funcțiilor demonstrate sau posibile deținute de către molecula de albumină.

Dacă am lua în discuție principala complicație, respectiv cea a ileusului de colon, mentionată în literatura de specialitate alături de alți numeroși factori majori precum: pneumoperitoneul postoperator, sepsa, ischemia intestinală, hipokalemia, administrarea unor substanțe de genul catecolaminelor, opioidelor, edemul de perete intestinal datorat hipoalbuminemiei ce joacă un rol minor.

Necorectarea la timp a acestei hipoalbuminemii conduce la o scădere și mai accentuată a acestei valori, datorită faptului că ileusul de colon favorizează translocația bacteriană și endotoxinică, cu amplificarea producerii de citokine proinflamatorii și posibil activarea fracțiunii C5a, mecanisme ce conduc la permeabilizarea peretului capilar și scăderea de sinteză hepatică, în cadrul reacției de fază acută, având drept consecință hipoalbuminemia.

Soluția hipertonică de albumină 20% administrată pentru corecția hipoalbuminemiei (pragul de administrare fiind sub 3 g/dl) ar întrerupe mecanismele de feedback pozitiv ale acestui cerc vicios.

În cazul celor cinci complicații, amintite mai sus, hipoalbuminemia joacă un rol mai degrabă minor în producerea lor, dar care se agravează în condițiile în care nu se corectează la timp. Corectarea hipoalbuminemiei se face prin administrarea de soluție de substituție hipertonică de albumină 20%, valoarea trigger fiind de 3g/dl.

Soluția de albumină umană obținută prin fragmentarea și purificarea plasmei prezintă siguranță în utilizare clinic, în condițiile în care se administrează sub formă de perfuzie intravenoasă într-un ritm lent și cu monitorizarea tensiunii arteriale sistemice.

În această situație putem vorbi de un mecanism de feedback pozitiv, în care hipoalbuminemia produce un anume tip de complicație, iar aceasta la rândul ei agravează hipoalbuminemia, acest cerc vicios fiind întrerupt prin administrarea de soluție hipertonă de albumină 20%.

Studiile experimentale viitoare ar trebui să stabilească, pe baza tehnicilor avansate de laborator, efectele pe care le poate deține soluția de albumină umană, în ceea ce privește rolul antioxidant, efectul modulator la nivel vascular, precum și efectul antiinflamator sistemic sau posibil și rolul antiinfecțios.

3.1.7 Concluzii

Până în prezent există două scoruri care includ ca și variabilă valoarea albuminei plasmatice, primul fiind scorul APACHE III, doar un scor de predicție a mortalității în primele 24 de ore de la admisia pe T.I., iar cel de al doilea scor APACHE IV folosit ca și scor de

mortalitate, precum şi de predicţie a perioadei de internare pe T.I., în special în cazul pacienţilor cu sepsă sau şoc septic.

Scorul APACHE III a fost introdus în practica clinică pe baza unei metaanalize care a cuprins mai multe studii clinice observaţionale ce au inclus în total 17400 pacienţi admişi pe T.I. Pentru prima dată publicarea articolului cuprinzând metaanaliza respectivă a fost realizată în 1991. Calcularea acestui scor este extrem de dificilă, deoarece necesită luarea în calcul a 20 de variabile fiziologice, iar scorul este exprimat printr-un punctaj de la 0 – 299, la fel de complex fiind şi calcularea scorului APACHE IV. Din aceste motive, atât scorul APACHE III, cât şi scorul APACHE IV, spre deosebire de scorul APACHE II sunt folosite extrem de rar în practica clinică.

În ceea ce priveşte scorul APACHE II, este cel mai cunoscut scor de predicţie a severităţii în cazul pacientului critic, fiind introdus pe baza unei metaanalize prezentate în 1981. Rămâne cel mai larg utilizat scor în practica clinică, dar nu conţine variabila albumina plasmatică (albuminemia).

Scorul APACHE II a fost introdus iniţial ca şi un scor de predicţie la admisia pe T.I (în primele 24h); utilizarea lui s-a extins ulterior, iar în studiul prezentat a fost luat în calcul scorul APACHE II la 48 de ore de la admisia pe T.I, în condiţiile în care doar valoarea albuminei

plasmatice la acest moment poate fi considerată ca și un posibil biomarker de prognostic clinic sever.

În ceea ce privește celelalte scoruri, cum ar fi cele folosite în cazul politraumatismelor: scorul de injurie severă (scor anatomic) sau scorul traumatic revizuit (scor clinic), niciunul dintre acestea nu include albumina plasmatică ca și variabilă fiziologică. În cazul scorurilor care se folosesc pentru evaluarea morbidității sau mortalității postoperator P-POSSUM (tabel nr. 48) conțin mai multe variabile fiziologice, excluzând valoarea albuminei plasmatice .

Pe baza testelor statistice efectuate, putem afirma că ipoteza statistică conform căreia valoarea plasmatică a albuminei, la 48h a pacienților cu SIS indus de traumă, poate fi luată în considerare ca un posibil factor de prognostic sever și este verificată pe baza testelor statistice efectuate.

Conform statisticii descriptive toți pacienții luați în studiu au prezentat un grad de scădere al albuminemiei, iar la 48h de la admisia pe T.I marea majoritate au avut nivelul plasmatic sub 3g/dl, testul Scheffe efectuat între valorile medii la 48h, relevă faptul că valoarea albuminei cu cât este mai mică, cu atât este mai mare rata complicațiilor și a deceselor pacienților luați în studiu.

Testele de corelație efectuate între această valoare și scorul APACHE II demontrează un grad de corelație asemănător cu vârsta pacienților

(criteriu important în calcularea scorului APACHE II), iar în ceea ce privește valoarea de 3g/dl a albuminei plasmatice, testul non-parametric Chi-Square, validează această valoare pentru a fi folosită în practica clinică ca trigger în vederea administrării soluției de albumină 20%, cu scopul de a corecta nivelul scăzut plasmatic al albuminei.

Introducerea valorii albuminei plasmatice într-un scor de gravitate și/sau mortalitate postoperatorie s-ar putea face pe baza unei metanalize care să includă și studiul clinic prospectiv observațional prezentat mai sus.

Conform acestui studiu doar valoarea plasmatică a albuminei la 48 h de la admisia pe T.I, poate fi relevantă și luată în calcul în vederea introducerii într-o scală de risc postoperator, care să poată fi calculată zilnic, cum ar fi scala P- POSSUM.

3.2 Evaluarea rolului citokinelelor pro - inflamatorii TNF alfa și IL6 în producerea hipoalbuminemieila pacienții supuși intervențiilor chirurgicale majore

3.2.1 Obiectiv – Evidențierea rolului comparativ deținut de citokinele proinflamatorii:

Studiul observațional prospectiv randomizat de față își propune să pună în evidență mecanismele care conduc la scăderea nivelului plasmatic al albuminei, în cazul pacienților supuși studiului.

În același timp acest studiu prin dozări repetate ale citokinelor plasmatice proinflamatorii concomitent cu cele ale albuminei plasmatice, are ca scop determinarea rolului major pe care îl deține una dintre citokine comparativ cu cealaltă, respectiv TNF alfa sau IL6, în producerea hipoalbuminemiei.

3.2.2 Ipoteza:

Mecanismele care conduc la scăderea nivelului plasmatic de albumină, în cazul pacienților cu sindrom inflamator sistemic (SIS) indus de traumă chirurgicală, sunt reprezentate de permeabilizarea peretelui capilar, în condițiile în care sinteza hepatică de albumină scade, în cadrul reacției de fază acută hepatică - albumina este considerată proteina de fază negativă.

În același timp putem lua în considerare un mecanism posibil de scădere a concentrației plasmatice de albumină – hemodiluția indusă iatrogen prin administrarea crescută de soluții perfuzabile.

În acest moment, se consideră că mediatorii celulari – TNF alfa, respectiv IL1, IL8 acționează simultan și în mod complementar cu C5a, inducând la nivelul peretelui capilar (joncțiunea interendotelială) activarea neutrofilelor și eliberarea din aceste celule a enzimelor proteolitice, respectiv a produșilor de oxidare, ambele având rol în distrugerea proteinei joncționale - cadeina.

Acest mecanism este considerat actualmente ca fiind unul principal în permeabilizarea peretelui capilar, TNF alfa având conform studiilor rolul principal.

În ceea ce privește reacția de fază acută hepatică - aceasta este o reacție de adaptare, în sensul că sub acțiunea IL6 și posibil IL1 are loc stimularea sintezei hepatice a unor proteine pozitive în detrimentul altora negative.

Se consideră că proteina de fază acută, acea proteină a cărei valoare plasmatică se modifică în ambele sensuri cu cel puțin 25 procente.
Rolul primordial al proteinelor pozitive de fază acută este de a stimula sinteza complementului și în opsonizare bacteriană, prin acest rol activează sistemul imunitar înnăscut.
Această reacție de adaptare la nivel hepatic este considerată ca având un rol esențial în scăderea nivelului plasmatic al albuminei, comparativ cu mecanismul de permeabilizarea peretelui capilar.

3.2.3 Material

După obținerea consimțământului de la comisia de studii și etică a spitalului au fost introduși inițial în studiu 68 pacienți, care au fost supuși intervențiilor chirurgicale de protezare de șold, respectiv colectomie segmentară.
Criteriile de excludere au reprezentat cauzele asociate care pot conduce la scăderea valorii plasmatice a albuminei, altele decât cele menționate mai sus (patologia renală, patologia hepatică, boala diareică cu pierdere de proteine).
Un pacient a fost exclus din studiu la 6 ore după intervenție, prezentând citoliză hepatică și valori crescute ale bilirubinei (disfuncție hepatică), alți doi după culegerea datelor, datorită faptului că prezentau valori extrem de mari ale TNF alfa, considerându-se o greșeală în efectuarea analizelor de laborator (ser hemolizat).
Studiul observațional prospectiv randomizat s-a efectuat pe acest eșantion de 65 de pacienți, care au suferit o traumă tisulară indusă de intervențiile chirurgicale.

3.2.4 Metoda

Atât în cazul albuminemiei și a proteinemiei, precum și a citokinelor plasmatice IL6 și TNF alfa s-au făcut determinări repetate, înainte de intevenția chirurgicală - momentul 0h, la 3ore după începerea intervenției -momentul 3h, la 6 ore după începerea intervenției - momentul 6h, respectiv la 24 ore după începerea intervenției - momentul 24h.

3.2.4.1 Descrierea metodei de determinare a albuminei plasmatice

Determinarea albuminemiei s-a făcut prin metoda chimiei uscate care se bazează pe legarea albuminei cu substanța pigment în condiții de PH acid, ceea ce produce virarea culorii soluției de la galben spre violet, această modificare a culorii fiind cuantificată prin spectrofotometrie.

Reacția care stă la baza determinării albuminemiei este prezentată mai jos :

Albumina + Bromocresol purple (BCP)----Ph acid------→Complexul BCP-Albumina.

Pentru măsurarea nivelului plasmatic de hemoglobină, aparatul face o diluție cu lizant (Dialyser sys SHB și Diastrom lyser sys FBA) și o citește fotometric, rezultatul este dat în g/dl.
Principiul de măsurare al hematocritului se bazează pe determinarea înălțimii impulsului generat de trecerea celulei prin apertură, care este direct proporțional cu volumul celulei. Hematocritul este măsurat prin integrare numerică a volumului celulelor MCV.
Rezultatul obținut folosește ca unități de măsură procentele.

3.2.4.2 Descrierea metodei ELISA de determinare a citokinelor

În ceea ce privește determinarea citokinelor TNF alfa și IL6, aceasta s-a făcut prin reacția ELISA pe raportor cromogen, folosindu-se kituri specifice - ca exemplu:

Human IL -6 ELISA Kit, respectiv ELISA Kit Human TNF alfa .

Determinarea se bazează pe reacția imunoenzimatică cantitativă a IL6, respectiv TNF alfa din ser, având specificitate bună.
Calibratorii și probele reacționează cu anticorpi monoclonali legați de pereții godeurilor unei microplăci.
Măsurarea complexelor enzimă - anticorp se face printr-o reacție cromogenică, după adăugarea substratului, virarea culorii este cuantificată prin reacția de spectrofotometrie.

Aparatul folosit a fost TECAN SUNRISE cititor de microplăci. Nivelul de referință pentru IL6 este de 7 pg/ml, iar pentru TNF alfa este de 8,7 pg/ml.

3.2.5 Rezultate:

În tabelele de mai jos este prezentată statistica descriptivă pentru TNF alfa (tabel nr. 50), respectiv pentru IL6 (tabel nr. 49), care a constat în calcularea valorilor medii, a medianelor, abaterilor standard, precum și dispersiilor pe eșantionul luat în calcul pentru cele două molecule.

3.2.5.1 Statistica descriptivă

Tabelul nr.49 Statistica descriptivă reprezentând valorile pentru IL6

Descriptives

	IL 6 / 0	IL 6 / 3	IL/6	IL 6 / 24
N	65	65	65	65
Missing	934	934	934	934
Mean	3.65	9.30	45.6	190
Median	3.10	5.10	40.0	184
Standard deviation	2.81	10.7	36.2	55.4
Variance	7.90	115	1312	3067
Range	16.4	54.8	218	281
Minimum	1.10	1.20	10.0	101
Maximum	17.5	56.0	228	382
25th percentile	1.90	2.80	20.0	151
50th percentile	3.10	5.10	40.0	184
75th percentile	5.00	13.0	61.0	210

Tabelul nr.50 Statistica descriptivă reprezentând valorile pentru TNF alfa.

Descriptives

	TNF / 0	TNF / 3	TNF / 6	TNF / 24
N	65	65	65	65
Missing	934	934	934	934
Mean	4.12	11.4	5.54	4.58
Median	3.60	11.7	4.60	3.20
Standard deviation	2.40	4.95	5.17	6.69
Variance	5.75	24.5	26.8	44.7
Range	10.6	20.6	33.0	44.3
Minimum	1.10	1.75	1.00	0.700
Maximum	11.7	22.3	34.0	45.0
25th percentile	2.20	8.20	2.10	1.50
50th percentile	3.60	11.7	4.60	3.20
75th percentile	6.10	14.5	6.90	5.10

Se poate observa o creștere în cazul IL6 a valorilor medii peste limita de referință chiar la 3h de la producerea traumei tisulare, apoi valori mari și foarte mari la 6 h, respectiv 24h. În cazul TNF alfa doar valorile de la 3h sunt peste nivelul de referință, iar celelalte valori la 6h, respectiv 24h sunt sub acest nivel.

Pe de altă parte observăm valori foarte mari ale dispersiei și abaterilor standard în cazul IL6 și valori mari ale aceloraşi parametrii în cazul TNF alfa. Aceste valori foarte mari sau mari se datoresc

variaţiilor concentraţiilor plasmatice ale celor două citokine pro-inflamatorii, la un anume interval după producerea traumei tisulare.

3.2.5.2 Statistica inferenţială- Teste ANOVA de comparaţie simplă şi multiplă

Teste de validare statistică a diferenţelor dintre mediile calculate în cazul TNF alfa.

Tabelul nr.51 Test ANOVA Post Hoc pentru TNF alfa 0-3h

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2	η^2p	ω^2
fix 0-3	1719	1	1719.2	114	<.001	0.470	0.470	0.464
Residuals	1936	128	15.1					

Testul ANOVA Post Hoc (tabel nr. 51) validează diferenţele între 0 şi 3 a TNF alfa, rezultând un F de 114 la un p<.001.

În cazul TNF alfa - singurul test ANOVA Post Hoc care validează statistic aceste diferenţe la un p<.001, este cel pentru intervalul 0-3 h. Celelalte teste nu validează aceste diferenţe (6 h - 24 h) sau le validează statistic marginal (3h - 6h). Pe baza acestor rezultate, cum sunt valorile sub nivelul de referinţă, testele nevalidate statistic, precum şi tendinţa evidentă la scădere a concentraţiei TNF alfa, după 3 h, se poate afirma că singurul interval de timp în care acţionează TNF alfa este 0-3h, adică imediat după producerea traumei tisulare.

Teste de validare statistică a diferenţelor între valorile medii calculate în cazul IL6.

Tabelul nr.54 Test ANOVA Post Hoc pentru IL6 0-3h

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2	η^2p	ω^2
fix 0-3	1037	1	1037.2	16.9	< .001	0.117	0.117	0.109
Residuals	7834	128	61.2					

Testul ANOVA Post Hoc (tabel nr.54) validează diferențele între 0 și 3 h ale IL6, rezultând un F de 16,9 la un p<.001.

Toate cele patru teste ANOVA Post Hoc efectuate validează aceste diferențe în ceea ce privește IL6, la un p<0.001.

În concluzie pe baza acestor teste putem afirma că citokina IL6 își începe acțiunea imediat înaintea celor 3h de la producerea traumei tisulare, iar acțiunea poate continua și după 24 h, având în vedere valoarea mare a mediei în acest moment.
În ceea ce privește variația concentrației albuminei plasmatice s-a realizat in prima etapa statistica descriptivă pentru albumina plasmatică (tabel nr. 58).

Descriptives

	ALBUMINA 0	ALBUMINA 3	ALBUMINA 6	ALBUMINA 24
N	65	65	65	65
Missing	934	934	934	934
Mean	4.38	3.70	3.38	3.11
Median	4.40	3.70	3.30	3.10
Standard deviation	0.483	0.451	0.466	0.448
Variance	0.234	0.203	0.217	0.201
Range	2.30	2.00	1.60	1.70
Minimum	3.10	2.70	2.60	2.20
Maximum	5.40	4.70	4.20	3.90
25th percentile	4.10	3.30	3.10	2.80
50th percentile	4.40	3.70	3.30	3.10
75th percentile	4.70	4.00	3.80	3.50

Tabelul nr.58 Statistica descriptivă pentru Albumina plasmatică

Se poate observa tendința la scădere continuă a concentrației plasmatice a albuminei, precum și valorile mici și foarte mici ale abaterilor standard, respectiv dispersiilor în cazul acestei variabile.

Statistica inferențială s-a bazat pe efectuarea testelor ANOVA Post Hoc de comparație simplă pentru albumina plasmatică.

Tabelul nr.59 Test ANOVA Post Hoc pentru albumină 0-3h

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2	η^2p	ω^2
0-3 alb	15.2	1	15.233	69.7	< .001	0.353	0.353	0.346
Residuals	28.0	128	0.219					

Testul ANOVA Post Hoc (tabel nr. 59) validează diferențele între 0 și 3 h, rezultând un F = 69,7 la un p<.001. Evident toate celelalte teste de validare a diferențelor vor fi semnificativ statistic, având în vedere valorile mai mici ale concentrației plasmatice a albuminei.

Considerând toate mecanismele posibile care pot conduce la scăderea nivelului plasmatic al albuminei, pentru excluderea unei eventuale hemodiluții s-au calculat valorile medii ale hemoglobinei și a hematocritului, atât la început, cât și la 24h (tabel nr. 62).

Tabel nr.62 Statistica descriptivă privind valorile medii ale Hg, respectiv Ht.

Descriptives

	AD	HEMATOCRIT	AF	HEMOGLOBINA
N	65	65	65	65
Missing	934	934	934	934
Mean	38.9	34.2	13.4	10.9
Median	39.0	35.0	14.0	11.0
Minimum	30.0	23.0	10.0	7.00
Maximum	49.0	42.0	16.0	13.0

Folosind datele care reies din statistica descriptivă, valorile medii ale hematocritului și ale hemoglobinei s-a realizat următoarea histogramă (fig. 31) :

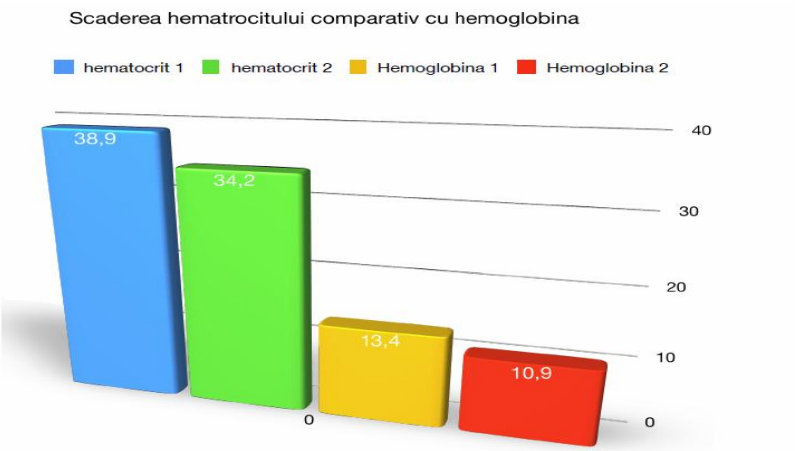

Fig.31 Distribuția valorilor hematocritului și hemoglobinei la momentul inițial și la 24 de ore

Se poate observa o scădere procentuală mai mare a hemoglobinei (Hg) comparativ cu hematocritul (Ht), 19 % la 13%, ceea ce exclude o posibilă hemodiluție a serului care să conducă la scăderea nivelului albuminei plasmatice.
Excluderea hemodiluției se explică din punct de vedere al practicii clinice prin administrarea unui aport hidric sub necesarul fiziologic în cazul pacientului vârstnic, în primele ore postoperator.

3.2.5.3 Teste de corelație

Testele de corelație care s-au efectuat sunt redate în tabelul de mai jos, s-a determinat astfel o posibilă corelație între valorile plasmatice ale albuminei, proteinelor plasmatice totale, IL6, respectiv TNF alfa.

Tabelul reprezentând calcularea coeficientului de corelație Pearson între variabilele enunțate mai sus (tabel nr. 63).

Tabel nr.63 Teste de corelație între variabile

Model Coefficients

Model	Predictor	Estimate	SE	t	p
1	Intercept	4.32142	0.1205	35.864	< .001
	TNF / 0	0.01460	0.0253	0.576	0.567
2	Intercept	4.30876	0.1375	31.328	< .001
	TNF / 0	0.01384	0.0258	0.536	0.594
	IL 6 / 0	0.00432	0.0220	0.196	0.845
3	Intercept	1.65015	0.6389	2.583	0.012
	TNF / 0	0.00250	0.0230	0.109	0.914
	IL 6 / 0	0.00872	0.0195	0.446	0.657
	PROT TP0	0.41649	0.0982	4.239	< .001

Singura corelație validată statistic este între valorile albuminei și cea a proteinelor plasmatice, rezultând un coeficient Pearson de 0,41 la un $p<0.001$.

Există două ipoteze care ar explica lipsa corelării între citokinele pro-inflamatorii - IL6, TNF alfa și nivelul albuminei plasmatice.

Prima ipoteză de natură statistică se bazează pe valorile foarte mari și mari ale dispersiei, respectiv abaterilor standard în cazul IL6, respectiv TNF alfa (loturi neuniforme) comparativ cu cele ale albuminei.

Cea de-a doua ipoteză se bazează pe mecanismul fiziopatologic care produce hipoalbuminemia, nu există o interacțiune directă între molecula de albumină și moleculele polipeptidice ale citokinelor, fiind necesară intervenția mai multor mediatori intermediari.

În cazul proteinelor totale și a albuminei este cunoscut faptul că albumina determină aproximativ 60% din concentrația plasmatică a proteinelor totale, existând astfel o interacțiune directă și continuă între aceste valori.

3.2.5.4. Teste ANOVA de comparaţie multiplă

Pentru a verifica ipoteza conform căreia există o relaţie între creşterea valorilor plasmatice a citokinelor şi scăderea valorilor concentraţiilor plasmatice ale albuminei s-a folosit testul de corelaţie multiplă ANOVA.

Tabel nr.66 Testul ANOVA de comparaţie multiplă în interval (0-24h)

Within Subjects Effects

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p	η^2	partial η^2	ω^2
RM Factor 1	565379	1	565379	736	< .001	0.457	0.852	0.456
RM Factor 1 * timp 0 -24	574237	1	574237	747	< .001	0.464	0.854	0.463
Residual	98343	128	768					

Note. Type 3 Sums of Squares

Primul test efectuat între creşterea în intervalul 0-24h a IL6 şi scăderea albuminemiei în cadrul aceluiaşi interval, indică un coeficient de variaţie F de 736, la un p<.001(tabel nr. 66).

Similar cu realizarea testelor ANOVA de comparaţie multiplă pentru relaţia IL 6 - albuminemie s-au procesat testele ANOVA pentru relaţia TNF alfa – albuminemie.

Tabel nr.69 Testul ANOVA Post Hoc de comparaţie multiplă în interval (0-3h)

Within Subjects Effects

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
RM Factor 1	897	1	897.45	119	< .001
RM Factor 1 * timp 0-3	1029	1	1029.03	136	< .001
Residual	968	128	7.56		

Note. Type 3 Sums of Squares

Primul test de comparaţie multiplă ANOVA între creşterea TNF alfa în intervalul 0-3h şi scăderea valorilor albuminei plasmatice în acelaşi interval, ne arată un coeficient F de doar 136, la un $p<0.001$ (tabel nr. 69).

Pe baza tuturor acestor teste de comparaţie multiplă ANOVA putem afirma că există o relaţie, verificată statistic, între creşterea valorilor citokinelor şi scăderea valorilor albuminei.

Coeficientul F de variaţie foarte mare în cazul comparaţiei creşterii IL6 - scăderea albuminei, fiind datorat concentraţiilor foarte mari ale IL6, după momentul 6h.

3.2.6 DISCUȚII

Luând în considerare faptul că IL 6 acţionează doar la nivel hepatic în cadrul reacţiei de fază acută hepatică, care conduce la scăderera sintezei hepatice de albumină şi că această citokină acţionează şi după 24 h de la inducerea traumei chirurgicale, putem afirma că acţiunea acestei interleukine este mai importantă comparativ cu cea a TNFalfa ,care este considerată pirncipala citokină ce acţionează la nivel capilar. Există în acest sens numeroase studii care pun în evidenţă valori crescute ale acestei citokine şi la 4 zile de la producerea traumei chirurgicale.

În ceea ce priveşte celelalte citokine proinflamatorii cum ar fi IL8, creşterea valorii concentraţiei plasmatice a acesteia este nesemnificativă, chiar dacă concentraţii crescute s-au putut dovedi şi după 24 de ore de la producerea traumei.

Referitor la IL1, această citokină proinflamatorie conform studiilor făcute pe animale de experienţă, ar acţiona atât la nivelul peretelui capilar, cât şi la nivelul ţesutului hepatic, dar rolul său nu este elucidat, cel puţin până în prezent, deoarece toate determinările plasmatice efectuate pe pacienţii aparţinând lotului descris sunt neconcludente, posibil datorită timpului de înjumătăţire plasmatic scurt al acesteia.

În ceea ce priveşte acţiunea fracţiunii complementului C5a va trebui demonstrată doar după ce tehnicile de laborator uzuale vor permite determinarea concentraţiei plasmatice al acesteia, concomitent cu determinările plasmatice ale citokinelor proinflamatorii şi respectiv ale albuminei plasmatice.

Studiile observaţionale viitoare ar trebui să demonstreze mecanismul exact de acţiune al citokinei proinflamatorii IL6 la nivelul ţesutului hepatic, doar prin stimularea sintezei proteinelor pozitive de fază acută hepatică în detrimentul celor de fază negativă sau există şi o inhibiţie simultană a sintezei proteinelor negative de fază hepatică.

Studiile experimentale care vor fi efectuate în viitor se vor concentra asupra rolului soluţiei hipertonice de albumină ce se administrează pentru corecţia hipoalbuminemiei, aceste studii vor trebui să pună în evidenţă posibilul rol antiinflamator al acestei soluţii, exercitat prin blocarea creşterii plasmatice a IL6.

Scăderea concentraţiei IL6, după administrarea soluţiei ar demonstra o curbă de feedback pozitiv, în care nivelul crescut de IL6, produs secundar traumei tisulare induce scăderea albuminemiei, în acest caz administrarea de soluţie hipertonică de albumină 20%, ar întrerupe acest cerc vicios.

3.2.7 CONCLUZII

Majoritatea studiilor publicate în literatura de specialitate indică o creştere semnificativă a IL6 la cateva ore după producerea traumei chirurgicale majore şi care rămâne la valori crescute şi după 24 de ore de la intervenţia chirurgicală.

Totodată aceleaşi studii relevă modificări minime ale concentraţiei plasmatice ale celorlalte citokine proinflamatorii TNF alfa, respectiv IL1.

Actualmente, opinia generală despre concentraţia plasmatică a acestor citokine este că prezintă variaţii foarte mari la un moment dat după producerea traumei chirurgicale , indiferent de metoda de determinare folosită.

Consecinţele acestui fapt din punct de vedere statistic sunt abaterile standard şi dispersiile foarte mari, ceea ce face aproape imposibilă validarea oricărui test de corelaţie.

Testele de statistică inferenţială – de comparaţie simplă şi multiplă ANOVA, împreună cu datele obţinute din statistica descriptivă, validează ipoteza că IL6 deţine un rol mai important în scăderea albuminei plasmatice, comparativ cu TNF alfa, la lotul de pacienţi

supuşi studiului, în ciuda faptului că nu există o corelaţie statistic validată între valorile citokinelor inflamatorii şi albumina plasmatică.

Conform acestui studiu creşterea TNf alfa produce o scădere a albuminei doar în primele ore după producerea traumei (intervalul 0-3h), iar IL6 care începe să crească tot în primele trei ore şi acţionează imediat înaintea celor 3h, creşterea IL6 fiind asociată cu scăderea nivelului albuminei în intervalul 3h - 24h, această scădere fiind mai mare comparativ cu scăderea concentraţiei acestei molecule în intervalul 0 - 3 h.

În plus, valoarea medie ridicată a concentraţiei IL6 la sfârşitul celor 24 h sugerează posibila acţiune a acesteia şi după acest moment, fiind singura citokină inflamatorie cu acţiune prelungită.

3.3 CONTRIBUȚIE PERSONALĂ

Lucrarea prezentată ce are la bază studiile efectuate şi-a propus să pună în evidenţă importanţa moleculei de albumină la pacienţii cu sindrom inflamator sistemic indus de traumă chirurgicală sau secundar politraumatismelor.

Plecând de la faptul că albumina plasmatică ca şi variabilă fiziologică intră până în prezent în alcătuirea a două scoruri de risc, scorul APACHE III, respectiv scorul APACHE IV, care sunt scoruri de predicţie a mortalităţii la admisia pe T.I şi foarte rar uzitate în practica clinică, datorită dificultăţilor create în calcularea lor. Am evaluat valoarea albuminei plasmatice ca posibil biomarker de prognostic sever pe baza unui studiu prospectiv observaţional randomizat cuprinzând 105 pacienţi care au suferit o traumă tisulară corespunzând intervenţiilor chirurgicale majore, respectiv politraumatismelor.

S-a pus în evidenţă într-o primă fază tendinţa descrescătoare care o prezintă concentraţia plasmatică de albumină la 24 de ore, respectiv 48 de ore.

Testul ANOVA Post Hoc validează diferenţele între valorile medii ale concentraţiei plasmatice, iar pe baza testului Scheffe Post Hoc am dovedit că această tendinţă la scădere este mai accentuată în primele 24 de ore .

În cea de-a doua fază am pus în evidenţă prin metoda regresiei liniare relaţia invers proporţională între vârstă şi albumină, în acest sens s-a calculat coeficientul Pearson de corelaţie simplă.

Etapa cea mai importantă a constat în efectuarea testului Scheffe Post Hoc între valorile medii ale albuminei plasmatice aparţinând celor trei grupe de pacienţi (grupa de pacienţi fără complicaţii, cu complicaţii şi cea cu complicaţii şi decese). Acest test a fost validat statistic doar în cazul valorii albuminei plasmatice, la 48 de ore de la admisia pe T.I.

Cercetarea s-a bazat în continuare pe efectuarea testelor statistice de corelaţie luând în calcul această variabilă, astfel încât s-a pus în evidenţă o corelaţie aproximativ egală între vârstă şi scor APACHE II, respectiv albumină la 48 de ore şi scorul APACHE II la acel moment.

Totodată, s-a demonstrat că există o concordanţă în determinarea scorului APACHE II între albumină şi vârstă.

Pe baza acestor rezultate se poate lua în considerare introducerea variabilei reprezentate de albumina plasmatică într-un scor de risc al mortalităţii şi morbidităţii în cazul pacienţilor supuşi studiului, acest scor putând fi calculat zilnic.

Analiza descriptivă realizată s-a bazat pe valoarea albuminei plasmatice de 3g/dl, valoare ce diferenţiază hipoalbuminemia uşoară de cea medie.

Testul Chi – Square non-parametric efectuat între distribuţia frecvenţelor dintre cele două loturi supuse studiului, lotul cu albumină plasmatică <3 g/dl, respectiv lotul cu >3g/dl, validează această valoare ca trigger pentru tratamentul cu soluţia de substituţie de albumină hipertonă.

Discuţiile care derivă de la această variabilă se bazează pe faptul că semnificaţia statistică a unei variabile diferă de cea clinică, astfel încât trebuie analizat unde este locul albuminei plasmatice în cadrul relaţiei cauză – efect. De fapt, în acest context clinic ne referim la complicaţiile posibil produse de hipoalbuminemie şi care apar pe acest fond.

Am luat în discuţie în cazul fiecărei din cele cinci complicaţii apărute (ileus prelungit, gastropareza prelungită, sepsa, fistula şi insuficienţa renală acută), factorii cauzatori majori, precum şi mecanismele care produc această complicaţie.

În fiecare caz albumina joacă un rol minor în producerea fiecărei complicaţii, dar valoarea scăzută a albuminemiei trebuie corectată

rapid pentru a se evita agravarea acestei scăderi. Din punct de vedere practic putem vorbi de un mecanism de feedback pozitiv, iar administrarea soluției hipertone de albumină întrerupe în mod cert acest cerc vicios.

Motivația efectuării celui de al doilea studiu se bazează pe cele două constatări ce reies din primul studiu – tendința mai accentuată la scădere a albuminemiei în primele 24h, care se explică printr-o permeabilizare suplimentară a peretelui capilar precum și relația invers proporțională între vârstă și albumină care se explică atât prin permeabilizarea suplimentară a peretelui capilar cât și prin scăderea mai accentuată a sintezei hepatice de albumină, ambele mecanisme având loc în cazul pacientului vârstnic.

Acest studiu prospectiv observațional randomizat realizat pe 65 de pacienți supuși intervențiilor chirurgicale de colectomie și protezare de șold și-a propus să scoată în evidență mecanismul principal care conduce la hipoalbuminemie.

Studiul a constant în determinări seriate la momentul 0, 3h, 6h, respectiv 24h, atât a albuminei plasmatice cât și a citokinelor proinflamatorii TNF alfa și IL6.

Rolul major pe care în deține IL6 în producerea hipoalbuminemiei, comparativ cu cel al TNF alfa a fost evidențiat pe statistica descriptivă, precum și pe baza testelor ANOVA Post Hoc de comparație simplă și multiplă.

În cazul acestui studiu nu s-a putut valida statistic corelația dintre cele trei variabile amintite mai sus, existând două explicații pentru acest rezultat negativ.

Pornind de la rezultatele acestui studiu putem afirma cu certitudine că reacția de fază acută hepatică joacă rolul primordial în scăderea albuminei plasmatice, în cazul pacienților supuși cercetării.

Studiile viitoare ar trebui să descrie mecanismul exact prin care se produce scăderea sintezei hepatice de albumină.

3. 4 PROPUNERI

1. Introducerea variabilei – valoarea plasmatică a albuminei într-un scor de evaluare a riscului de mortalitate și morbiditate în cazul pacienților care prezintă o traumă chirurgicală indusă de intervențiile chirurgicale sau în cazul politraumatismelor.

2. Ar fi util introducerea valorii albuminei în scorul POSSUM folosit în statusul clinic postoperator, respectiv în cadrul calculării scorului traumatic în statusul clinic posttraumatic. De menționat ar fi în acest context că actualmente niciunul dintre scorurile amintite nu conțin variabila – valoarea albuminei plasmatice.

3. Evaluarea pe baza unor studii clinice observaționale, prospectiv randomizate a reacției de fază acută hepatică, prin determinarea seriată a concentrațiilor plasmatice ale proteinelor de fază acută pozitive, respectiv negative concomitent cu cele ale IL6 și posibil a IL1. În acest sens este important să se stabilească rolul pe care îl deține IL1 și fracțiunea C5a în producerea hipoalbuminemiei la acest grup de pacienți.

4. Evidențierea pe baza unor studii experimentale dublu orb a rolului antiinflamator sistemic pe care îl deține soluția hiperoncotică de substituție de albumină. Aceste studii ar trebui să țină cont de rezultatele obținute în cel de al doilea studiu observațional din cadrul cercetării efectuate, în ceea ce privește IL6.

5. Evidențierea rolului antioxidant al soluției hiperoncotice de albumină, bazat pe studii clinice experimentale randomizate dublu orb prin determinarea plasmatică a produsului albuminacidsulfenic, rezultat în urma reacției de oxidare (tiolizare) la nivelul grupării –SH (tiol) din structura moleculei de albumină.

6. Evidențierea rolului de modulator al tonusului vascular, bazat pe studii clinice experimentale randomizate dublu orb, pe care îl deține soluția hiperoncotică de albumină, prin determinarea plasmatică a produsului nitrozoalbumină rezultat în urma reacției de nitrozilare ce are loc la nivelul grupării –SH (tiol) din structura moleculei de albumină.

Bibliografie

1. **Weil MH, Henning RJ, Puri VK. Colloid oncotic pressure: clinical significance. *Crit Care Med* 1979; 7(3):113–116.**

2. **D'Angio RG. Is there a role for albumin in nutrition support? *Ann Pharmacother* 1994; 28(4):478–482.**
3. **Ford EG, Jennings LM, Andrassy RJ. Serum albumin (oncotic pressure) correlates with enteral feeding intolerance in the pediatric surgical patient. *J Pediatr Surg* 1987; 22(7): 597–599.**
4. **Powanda MC, Moyer ED. Plasma proteins and wound healing. *Surg Gynecol Obstet* 1981; 153(3):749–753.**
5. **Foley EF, Borlase BC, Dzik WH, et al. Albumin supplementation in the critically ill. *Arch Surg* 1990; 125(6): 739–742.**
6. **Harvey HJ. Complications of small intestinal biopsy in hypoalbuminemic dogs. *Vet Surg* 1990; 19(4):289–292.**
7. **Jorgensen KA, Stoffersen E. Heparin like activity of albumin. *Thromb Res* 1979; 16: 569–574.**
8. **Jorgensen KA, Stoffersen E. On the inhibitory effects of albumin on platelet aggregation. *Thromb Res* 1980; 17(1–2):13–18.**
9. **Jackson CA, Greaves M, Patterson AD, et al. Relationship between platelet aggregation, thromboxane synthesis and albumin concentration in nephrotic syndrome. *Br J Haematol* 1982; 52(1):69–77.**
10. **Green RA, Russo EA, Greene RT, et al. Hypoalbuminemia-related platelet hypersensitivity in two dogs with nephrotic syndrome. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186(5):485–488.**
11. **Rao AK, Koike K, Day HJ, et al. Bleeding disorder associated with albumin-dependent partial deficiency in platelet thromboxane production. *Am J Clin Path* 1985; 83(6): 687–696.**

12. **Sloand EM, Bern MM, Kaldany A. Effect on platelet function of hypoalbuminemia in peritoneal dialysis. *Thromb Res* 1986; 44(4):419–425.**
13. **Iseki K, Kawazoe N, Fukiyama K. Serum albumin is a strong predictor of death in chronic dialysis patients. *Kidney Int* 1993; 44(1):115–119.**
14. **McEllistrum MC, Collins JC, Powers JS. Admission serum albumin level as a predictor of outcome among geriatric patients. *South Med J* 1993; 86(12):1360–1361.**
15. **Law MR, Morris JK, Wald NJ, et al. Serum albumin and mortality in the BUPA study. *Int J Epidemiol* 1994; 23(1):38–41.**
16. **Moore LE, Garvey MS. The effects of hetastarch on serum colloid oncotic pressure in hypoalbuminemic dogs. *J Vet Intern Med* 1996; 10(5):300–303.**
17. **Drobatz KJ, Macintire DK. Heat-induced illness in dogs: 53 cases (1976–1993). *J Am Vet Med Assoc* 1996; 209(11): 1894–1899.**
18. **Logan JC, Callan MB, Drew K, et al. Clinical indications for use of fresh frozen plasma in dogs: 74 dogs (October through December 1999). *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218(9):1449–1455.**
19. **Ikenoue N, Saitsu Y, Shimoda M, et al. Disease-induced alterations in plasma drug-binding proteins and their influence on drug binding percentages in dogs. *Vet Q* 2000; 22(1):43–49.**
20. **Brown J. Structural origins of mammalian albumin. *Fed Proc* 1976; 35: 2141–2144.**
21. **Golub R, Sorrento JJ, Cantu E, et al. Efficacy of albumin supplementation in the surgical intensive care unit: a prospective, randomized trial. *Crit Care Med* 1994; 22(4):613–619.**
22. **Thomas LA, Brown SA. Relationship between colloid osmotic pressure and plasma protein concentration in cattle, horses, dogs and cats. *Am J Vet Res* 1992; 53(12): 2241–2244.**
23. **Rackow EC, Falk JL, Fein A, et al. Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of cardiorespiratory**

effects of albumin, hetastarch and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock. *Crit Care Med* 1983; 11(11):839–850.

24. **Lucas CE, Ledgerwood AM, Higgins RF, et al. Impaired pulmonary function after albumin resuscitation from shock. *J Trauma* 1980; 20(6):446–451.**
25. **Doweiko JP, Nompleggi DJ. Use of albumin as a Volume expander. *J Parent Ent Nutr* 1991; 15(4):484–487.**
26. **Starling EH. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 1894; 140: 312–326.**
27. **Emerson TE. Unique features of albumin: a brief review. *Crit Care Med* 1989; 17(7):690–694.**
28. **Tullis JL. Albumin: guidelines for clinical use. *J Am Med Assoc* 1977; 237(5):460–463.**
29. **Center SA. Pathophysiology, laboratory diagnosis and diseases of the liver. *In:* EttingerSJ, FeldmanEC, *eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders Co* 1995, *pp.* 1261–1312.**
30. **Lewis RT. Albumin: role and discriminate use in surgery. *Can J Surg* 1980; 23(4):322–328.**
31. **Vallner JJ. Binding of drugs by albumin and plasma protein. *J Pharm Sci* 1977; 66(4):447–465.**
32. **Koch-Weser J, Sellers EM. Binding of drugs to serum albumin. *N Eng J Med* 1976; 294(10):526–531.**
33. **Doweiko JP, Nompleggi DJ. Interactions of albumin and medications. *J Parent Ent Nutr* 1991; 15(2):212–214.**
34. **Doweiko JP, Bistrian BR. The effects of glycosylated albumin on platelet aggregation. *J Parent Ent Nutr* 1994; 18(6):516–520.**
35. **Doweiko JP, Nompleggi DJ. The role of albumin in human physiology and pathophysiology: Part III. Albumin and disease states. *J Parent Ent Nutr* 1991; 15(4):476–483.**
36. **Holt ME, Ryall MET, Campbell AK. Albumin inhibits human polymorphonuclear leucocyte luminol-dependent chemiluminescence: evidence for oxygen radical scavenging. *Br J Exp Path* 1948; 65: 231–241.**
37. **Emerson TE, Redens TB, Lindsey CL. Human serum albumin pretreatment attenuates lung dysfunction in the**

endotoxemic sheep ARDS model. *Fed Am Soc Exp Biol J* 1988; 2: A997.

38. **Mecray PM, Barden RP, Ravdin IS. Nutritional edema: its effects on the gastric emptying time before and after gastric operations. *Surgery* 1936; 1: 53–64.**
39. **Barden RP, Thompson WD, Ravdin IS, et al. The influence of serum protein on the motility of the small intestine. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 66: 819–821.**
40. **Fleck A, Hawker F, Wallace PI, et al. Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminemia in disease and injury. *Lancet* 1985; 1(8432):781–783.**
41. **Schierhout G, Roberts I. Fluid resuscitation with colloids and crystalloids: a systematic review of randomized controlled trials. *Br J Med* 1998; 316(7136):961–964.**
42. **Bunn F, Lefebvre C. *Li Wan Po A. Human albumin solutions for resuscitation and volume expansion in critically ill patients. The Albumin Reviewers. Cochrane Database of Systematic Reviews (computer file)* 2000; 2:*CD001208.***
43. **Street AM, Keller AJ. Adverse effects of albumin – uncertain times. *Med J Aust* 1999; 170(8): 398–399.**
44. **Allison SP, Lobo DN. Debate: Albumin administration should not be avoided. *Crit Care (London)* 2000; 4(3): 147–150.**
45. **Wilkes MM, Navickis RJ. Patient survival after human albumin administration. *Ann Intern Med* 2001; 135(3): 149–164.**
46. **Choi PTL, Yip G, Quinonez LG, et al. Crystalloids versus colloids in fluid resuscitation. a systematic review. *Crit Care Med* 1999; 27(1):200–210.**
47. **Webb AR. The appropriate role of colloids in managing fluid imbalance: a critical review of recent meta-analytic findings. *Crit Care (London)* 2000; 4: S26–S32.**
48. **Smiley LE, Garvey MS. The use of hetastarch as adjunct therapy in 53 dogs with hypoalbuminemia: a phase two clinical trial. *J Vet Intern Med* 1994; 8(3):195–202.**
49. **Zilg H, Schneider H, Seiler FR. Molecular aspects of albumin functions: indications for its use in plasma substitutions. Symposium for the Standardization of**

Albumin, Plasma Substitutes and Plasmapharesis*. Dev Biol Standardization* 1981*;* 48*:* 31–42*.*

50. Llop JM, Munoz C, Badia MB, et al. Serum albumin as indicator of clinical evolution in patients on parenteral nutrition: multivariate study*. Clin Nutr* 2001*;* 20*(*1*):*77–81*.*

51. Boldt J, Heesen M, Muller M, et al. The effects of albumin versus hydroxyethyl starch solution on cardiorespiratory and circulatory variables in critically ill patients*. Anesth Analg* 1996*;* 83*(*2*):*254–261*.*

52. Kirby R, Rudloff E. The critical need for colloids: maintaining fluid balance*. Comp Cont Ed Pract Vet* 1997*;* 19*(*6*):* 705–717*.*

53. Mbaba Mena J, DeBacker D, Vincent JL. Effects of a hydroxyethylstarch solution in plasma colloid osmotic pressure in acutely ill patients*. Acta Anaesthesiol Belgica* 2001*;* 51*:* 39–42*.*

54. 69Cotter S. Clinical Transfusion Medicine*. Adv Vet Sci Comp Medical* 1991*;* 36*:* 187–223*.*

55. Reinhardt GF, Wilkins DB, Mysocofski JE, et al. Incidence and mortality of hypoalbuminemic patients in hospitalized veterans*. J Parent Ent Nutr* 1980*;* 4*(*4*):*357–359*.*

56. Rudloff E, Kirby R. Hypovolemic shock and resuscitation*. Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994*;* 24*(*6*):* 1015–1039*.*

57. Kristensen AT. Administration of blood products to animals*. In:* BistnerSI, FordRB*, eds. Kirk and Bistner's Handbook of Veterinary Procedures and Emergency Treatment. Philadelphia: W.B. Saunders Co* 1995*, pp.* 561–573*.*

58. Wolfsheimer KJ. Fluid therapy in the critically ill patient*. Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1989*;* 19*(*2*):* 361–378*.*

59. Smiley LE. The use of hetastarch for plasma expansion*. Prob Vet Med* 1992*;* 4*(*4*):*652–667*.*

60. Chan DL, Freeman LM, Rozanski EA, et al. Colloid osmotic pressure of parenteral nutrition components and

intravenous fluids*. J Vet Emerg Crit Care* 2001*;* 11*(4):*269–273*.*

61. Dahlinger J*,* Marks SL*,* Hirsh DC. Prevalence and identity of translocating bacteria in healthy dogs*. J Vet Intern Med* 1997*;* 11*(6):*319–321*.*

62. Vincent JL: Relevance of albumin in modern critical care medicine. Best Pract Res Clin Anaesthesiol. 2009, 23: 183-191. 10.1016/j.bpa.2008.11.004.

63. Vincent JL, Dubois MJ, Navickis RJ, Wilkes MM: Hypoalbuminemia in acute illness: is there a rationale for intervention? A meta-analysis of cohort studies and controlled trials. Ann Surg. 2003, 237: 319-334.

64. American Thoracic Society: Evidence-based colloid use in the critically ill: American Thoracic Society Consensus Statement. Am J Respir Crit Care Med. 2004, 170: 1247-1259.

65. Desborough JP. Physiological responses to surgery and trauma. In:Hemmings HC Jr. Hopkins PM, eds. Foundations of Anaesthesia, 1999

66. Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR: The role of albumin in critical illness. Br J Anaesth. 2000, 85: 599-610. 10.1093/bja/85.4.599.

67. Fleck A, Raines G, Hawker F, Trotter J, Wallace PI, Ledingham IM, Calman KC: Increased vascular permeability: a major cause of hypoalbuminaemia in disease and injury. Lancet. 1985, 1: 781-784.

68. Jacob M, Bruegger D, Rehm M, Welsch U, Conzen P, Becker BF: Contrasting effects of colloid and crystalloid resuscitation fluids on cardiac vascular permeability.

Anesthesiology. 2006, 104: 1223-1231. 10.1097/00000542-200606000-00018.

69. **Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E: The antioxidant properties of serum albumin. FEBS Lett. 2008, 582: 1783-1787. 10.1016/j.febslet.2008.04.057.**

70. **Dubois MJ, Orellana-Jimenez C, Melot C, De Backer D, Berre J, Leeman M, Brimioulle S, Appoloni O, Creteur J, Vincent JL: Albumin administration improves organ function in critically ill hypoalbuminemic patients: a prospective, randomized, controlled, pilot study. Crit Care Med. 2006, 34: 2536-2540. 10.1097/01.CCM.0000239119.57544.0C.**

71. **Caironi P, Gattinoni L: The clinical use of albumin: the point of view of a specialist in intensive care. Blood Transfus. 2009, 7: 259-267.**

72. **Vincent JL, Fink MP, Marini JJ, Pinsky MR, Sibbald WJ, Singer M, Suter PM, Cook D, Pepe PE, Evans T: Intensive care and emergency medicine: progress over the past 25 years. Chest. 2006, 129: 1061-1067. 10.1378/chest.129.4.1061.**

73. **Fattori E,Cappeleti M,Costa P, et al defective inflammatory response in inteleukine-6 deficient mice J.Exp.Med.1994-,180-,1243-50**
74. **Roberts WG,Palade GE. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor J Cell Sci;1995,108;2369-79**
75. **Dvorak AM,Feng D,The vesiculo-vacoualar organelle (vvo). A new endothelial cell permeability organelle-jHistochem Cytochem 2001;49;419-32**

76. **Dejana E,Bazzoni G,lampugni MG.Vascular endothelial (VE)-cadherin ,only an intercellular glue?Exp.Cell Res.1999;252;13-19**
77. **Orsenigo F,Giampetro C,Ferrari A,Corada M, Galaup A Phosphorilation of VE-cadherin is modulated haemodynamic forces and contributes to the regulation of vascular permeability in vivo-Nat.Commun2012;3;1208**
78. **Gavard J,Gutkind JS VEGF-controls endothelial-cell permeability by promoting the beta-arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin**
79. **Philipsson M,Kubes P.The neutrophils in vascular inflammation.Nat.Med.2011;17;1381-90**
80. **Marshall I.Characterization and distribution of histamine-H1 and H2 receptor in precapillary vesselsJ.cardiovasc.Pharmacol. 1984,6,S587-97**
81. **Nagy JA,Benjamin L,Zeng H,Dvorak AM,Dvorak HF Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. Angiogenesis 2008;11:109-19**
82. **Geister M.Richards CD,Gauldie J.Cytokine oncostatin M and IL-1 regulate yhe expression of the IL-6 receptor in acute inflammation in vivo.Cytokine 1993:5:1-7**
83. **Kordula T,Rokita H,Koj A,Fiers W,gauldie J,Baumman H. Effects of IL-6 and LIF on acute phase response and DNA synthesis in cultured rat hepatocytes Lymphokine Cytokine Res 1991;10;23-26.**
84. **Chawda M, Hildebrand F, Pape HC, Giannoudis PV. Predicting outcome after multiple trauma: which scoring system? Injury. 2004;35(4):347–58. [PubMed]**
85. **Balestreri M, Czosnyka M, Chatfield D, et al. Predictive value of Glasgow Coma Scale after brain trauma: change in trend over the past ten years. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2004;75(1):161–2. [PMC free article] [PubMed]**
86. **Forouzanfar MM, Safari S, Niazazari M, et al. Clinical decision rule to prevent unnecessary chest X-ray in**

patients with blunt multiple traumas. Emerg Med Australas. 2014;26(6):561–6. [PubMed]

87. **Shojaee M, Faridaalaee G, Yousefifard M, et al. New scoring system for intra-abdominal injury diagnosis after blunt trauma. Chin J Traumatol. 2014;17(1):19–24. [PubMed]**
88. **Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Wright L, Alzola C, Knaus WA. Evaluation of acute physiology and chronic health evaluation III predictions of hospital mortality in an independent database. Crit Care Med. 1998;26(8):1317–26. [PubMed]**
89. **Champion HR, Sacco WJ, Carnazzo AJ, Copes W, Fouty WJ. Trauma score. Crit Care Med. 1981;9(9):672–6. [PubMed]**
90. **Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, et al. The APACHE III prognostic system Risk prediction of hospital mortality for critically ill hospitalized adults. Chest. 1991;100(6):1619–36. [PubMed]**
91. **Champion HR, Copes WS, Sacco WJ, Lawnick MM, KEAST SL, FREY CF. The Major Trauma Outcome Study: establishing national norms for trauma care. J Trauma Acute Care Surg. 1990;30(11):1356–65. [PubMed]**
92. **Dalgic A, Ergungor FM, Becan T, Elhan A, Okay O, Yuksel BC. The revised Acute Physiology and Chronic Health Evaluation System (APACHE II) is more effective than the Glasgow Coma Scale for prediction of mortality in head-injured patients with systemic trauma. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2009;15:453–8. [PubMed]**
93. **Safavi M, Honarmand A. Comparison of infection probability score, APACHE II, and APACHE III scoring systems in predicting need for ventilator and ventilation duration in critically ill patients. Arch Iran Med. 2007;10(3):354–60. [PubMed]**

94. Rocca B, Martin C, Viviand X, Bidet P, Saint-Gilles HL, Chevalier A. Comparison of four severity scores in patients with head trauma. J Trauma Acute Care Surg. 1989;29(3):299–305. [PubMed]

95. Vassar MJ, Wilkerson CL, Duran PJ, Perry CA, Holcroft JW. Comparison of APACHE II, TRISS, and a proposed 24-hour ICU point system for prediction of outcome in ICU trauma patients. J Trauma Acute Care Surg. 1992;32(4):490–500. [PubMed]

96. Rabbani A, Moini M, Rabbani A, Moini M. Application of" Trauma and Injury Severity Score" and" A Severity Characterization of Trauma" score to trauma patients in a setting different from" Major Trauma Outcome Study. Arch Iran Med. 2007;10(3):383–6. [PubMed]

97. Siritongtaworn P, Opasanon S. The Use of Trauma Score-Injury Severity Score (TRISS) at Siriraj Hospital: How Accurate Is It? J Med Assoc Thai. 2009;92(8):1016–21. [PubMed]

98. Goffi LSaba VGhiselli RNecozione SMattei ACarle F Preoperative APACHE II and ASA scores in patients having major general surgical operations: prognostic value and potential clinical applications. Eur J Surg.1999;165:730-735.PubMedGoogle Scholar

99. Saklad M Grading of patients for surgical procedures. Anesthesiology.1941;2:281-285.Google Scholar

100. Knaus WAZimmerman JEWagner DPDraper EALawrence DE APACHE–Acute Physiology and Chronic Health Evaluation: a physiologically based classification system. Crit Care Med.1981;9:591-597.PubMedGoogle Scholar

101. Copeland GPJones DWalters M POSSUM: a scoring system for surgical audit. Br J Surg.1991;78:355-360.PubMedGoogle Scholar

102. Knaus WADraper EAWagner DPZimmerman JE APACHE II: a severity of disease classification system. Crit Care Med.1985;13:818-829.PubMedGoogle Scholar

103. Rutledge RFakhry SRutherford EMuakkassa FMeyer A Comparison of APACHE II, Trauma Score, and Injury Severity Score as predictors of outcome in critically injured trauma patients. Am J Surg.1993;166:244-247. PubMedGoogle Scholar

104. Bohnen JMMustard RASchouten BD Steroids, APACHE II score, and the outcome of abdominal infection. Arch Surg.1994;129:33-37.PubMedGoogle Scholar

105. Altomare DFSerio GPannarale OC et al Prediction of mortality by logistic regression analysis in patients with postoperative enterocutaneous fistulae. Br J Surg.1990;77:450-453.PubMedGoogle Scholar

106. Fan STLai ECMok FPLo CMZheng SSWong J Prediction of the severity of acute pancreatitis. Am J Surg.1993;166:262-268.PubMedGoogle Scholar

107. Jones HJSde Cossart L Risk scoring in surgical patients. Br J Surg.1999;86:149-157.PubMedGoogle Scholar

108. Singh BCordeiro PGSantamaria EShaha ARPfister DGShah JP Factors associated with complications in microvascular reconstruction of head and neck defects. Plast Reconstr Surg.1999;103:403-411.PubMedGoogle Scholar

109. Durazzo AESMachado FSCaramelli B Avaliação cardiológica pré-operatória para a cirurgia não cardíaca. Rev Bras Cir Cabeça Pescoço.1999;23:7-13.Google Scholar

110. Hosmer DWLemeshow S Applied Logistic Regression. New York, NY: Wiley & Sons; 1989.

111. Hanley JAMcNeil BJ The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. Radiology.1982;143:29-36.PubMedGoogle Scholar

112. Metz CEWang PLKronman HB A new approach for testing the significance of differences between ROC curves measured from correlated data. In: Deconik F, ed. Information Processing in Medical Imaging. Vol 8. Boston, Mass: Martinus Nijhoff; 1984:286-295. Google Scholar

113. Arvidsson SOuchterlony JNilsson SSjöstedt LSvärdsudd K The Gothenburg study of perioperative risk, I: preoperative findings, postoperative complications. Acta Anaesthesiol Scand.1994;38:679-690.PubMedGoogle Scholar

114. Sagar PMHartley MNMancey-Jones BSedman PCMay JMacfie J Comparative audit of colorectal resection with the POSSUM scoring system. Br J Surg.1994;81:1492-1494.PubMedGoogle Scholar

115. Shaheen OH Problems in Head and Neck Surgery. London, England: Balliere Tindall; 1984.

116. Evans PHR Complications in head and neck surgery and how to avoid trouble. J Laryngol Otol.1989;103:926-929.PubMedGoogle Scholar

117. Clavien PASanabria JRMentha G et al Recent results of elective open cholecystectomy in a North American and a European center: comparison of complications and risk factors. Ann Surg.1992;216:618-626.PubMedGoogle Scholar

118. Owens WDFelts JASpitznagel ELJ ASA physical status classifications: a study of consistency of ratings. Anesthesiology.1978;49:239-243.PubMedGoogle Scholar

119. De Melo GMRibeiro KCBKowalski LPDeheinzelin D Risk factors for postoperative complications in oral cancer and their prognostic implications. Arch

Otolaryngol Head Neck Surg.2001;127:828-833.PubMedGoogle Scholar

120. Haynes SRLawler PG An assessment of the consistency of ASA physical status classification allocation. Anaesthesia.1995;50:195-199.PubMedGoogle Scholar

121. Gagner MFranco DVons CSmadja CRossi RLBraasch JW Analysis of morbidity and mortality rates in right hepatectomy with the preoperative APACHE II score. Surgery.1991;110:487-492.PubMedGoogle Scholar

122. Schein MGecelter G APACHE II score in massive upper gastrointestinal haemorrhage from peptic ulcer: prognostic value and potential applications. Br J Surg.1989;76:733-736.PubMedGoogle Scholar

123. Whiteley MSPrytherch DRHiggins BWeaver PCProut WG An evaluation of the POSSUM surgical scoring system. Br J Surg.1996;83:812-815.PubMedGoogle Scholar

124. Shuhaiber JH Quality measurement of outcome in general surgery revised: commentary and proposal. Arch Surg.2002;137:52-54.PubMedGoogle Scholar

125. Civetta JMHudson-Civetta JANelson LD Evaluation of APACHE II for cost containment and quality assurance. Ann Surg.1990;212:266-276.PubMedGoogle Scholar

126. Pugliano FAPiccirillo JFZequeira MR et al Clinical-severity staging system for oropharyngeal cancer: five-year survival rates. Arch Otolaryngol Head Neck Surg.1997;123:1118-1124.PubMedGoogle Scholar

127. Pugliano FAPiccirillo JFZequeira MRFredrickson JMPerez CASimpson JR Clinical-severity staging system for oral cavity cancer: five-year survival rates.

Otolaryngol Head Neck Surg.1999;120:38-45.PubMedGoogle Scholar

128. Ribeiro KCKowalski LPLatorre MR Impact of comorbidity, symptoms, and patients' characteristics on the prognosis of oral carcinomas. Arch Otolaryngol Head Neck Surg.2000;126:1079-1085.PubMedGoogle Scholar

129. Singh BBhaya MZimbler M et al Impact of comorbidity on outcome of young patients with head and neck squamous cell carcinoma. Head Neck.1998;20:1-7.PubMedGoogle Scholar