

LEPTINA, UN NOU MARKER PROINFLAMATOR ȘI COMPOZIȚIA CORPORALĂ – CORELAȚII PRIVIND PERIOADA POSTOPERATORIE PRECOCE ÎN CHIRURGIA MAJORĂ

Irina Ristescu^{1,4*}, Ioana Grigoraș^{1,4}, Didona Ungureanu^{2,4},
D. Rusu¹, D. Brănișteanu^{3,4}

*doctorand Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa” Iasi

1. Disciplina de Anestezie și Terapie Intensivă, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa” Iasi, Romania
2. Disciplina de Imunologie Clinică, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa” Iasi, Romania
3. Disciplina de Endocrinologie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa” Iasi, Romania
4. Spitalul Clinic de Urgență “Sf. Spiridon”, Iasi, Romania

LEPTIN, A NEW PROINFLAMMATORY MARKER AND BODY COMPOSITION – CORRELATIONS DURING EARLY POSTOPERATIVE PERIOD AFTER MAJOR SURGERY

(ABSTRACT): *Introduction:* Leptin is an adipokine regulating energy balance but recently has been related to immune system and inflammatory response. *Objectives:* To investigate the correlation between leptin plasma level and body composition in patients with signs of systemic inflammatory response syndrome after major abdominal surgery and to characterise early dynamics of this and other proinflammatory cytokines in such patients. *Methods:* We prospectively enrolled 40 patients divided in 2 groups: study group (20 pts) – patients with major abdominal surgery and signs of SIRS and control group (20 pts) – preoperative patients without inflammatory disease. Plasma concentration of leptin, CRP and IL6 were measured preoperatively in both groups and in first three days postoperative (9 samples) in the study group. Body composition (percent of body fat, lean body mass, total body water) was recorded using bioelectrical impedance analysis method. *Results:* In control group leptin has a positive correlation ($r^2=0.52$) with the percent of body fat. In study group this correlation is present ($r=0.85$) preoperatively but is lost at 24, 48 and 72 hours postoperative measurements ($r=0.04, 0.07, 0.15$). In study group leptin acts as a pro-inflammatory cytokine. The plasmatic peak of 17.31 ng/ml is reached at 12 h, later than IL 6 (plasmatic peak at 6h) but earlier comparing with CRP (plasmatic peak at 24h). *Conclusions:* In patients with major abdominal surgery and SIRS leptin acts as a proinflammatory mediator with mainly extraadipocitary source. Leptin has specific early dynamics and may be useful as an early diagnostic marker of systemic inflammation.

KEY WORDS: LEPTIN, BODY COMPOSITION, BIOELECTRICAL IMPEDANCE ANALYSIS, PERCENT OF BODY FAT.

Correspondence to: Irina Ristescu, Adress: University Emergency Hospital “Sf. Spiridon”, Anesthesia and Intensive Care Departament, bd. Independenței 1, 700111, Iași, Romania, Phone: +40744762900, Email address: iristescu@yahoo.com*

INTRODUCERE

Răspunsul organismului la agresiunea indusă de actul chirurgical este reprezentat de o reacție inflamatorie, care are ca scop inițierea proceselor de apărare și ulterior cicatrizare (vindecare) tisulară.

* received date: 05.07.2011

accepted date: 12.11.2011

Proportional cu severitatea injuriei și, mai ales, cu amploarea răspunsului imunologic declanșat, reacția inflamatorie locală se poate transforma într-un sindrom de răspuns inflamator sistemic (SIRS) [1]. Activarea excesivă și prelungită a macrofagelor, leucocitelor și a celulelor endoteliale determină sinteza și eliberarea crescută de citokine proinflamatorii incluzând interleukina IL – 6, TNF α , și IL -1 β [2]. Acest răspuns este precoce și precede cu câteva ore eliberarea proteinelor de fază acută (PCR) și leucocitoza, sugerând importanța identificării lor ca marker de diagnostic precoce în SIRS și sepsis postoperator [3].

Deși datele din literatură arată că citokinele precum IL-6 se corelează cu severitatea sepsisului și cu prognosticul, acestea nu reprezintă în prezent instrumente diagnostice sau terapeutice [4]. Totuși, IL-6 este considerat a fi un marker precoce independent de apariția a sepsisului postoperator [5]. Numeroase studii statuează rolul nivelurilor semnificativ crescute PCR ca marker al infecției [6-8], dar dinamica tardivă reduce din utilitatea clinică.

Este cunoscut faptul că variațiile ponderale extreme determină interferențe negative cu sistemul imun. Obezitatea crește susceptibilitatea la apariția unor afecțiuni inflamatorii sau autoimune, în timp ce malnutriția și postul prelungit scad apărarea împotriva infecțiilor [9].

Impactul țesutului adipos asupra proceselor imune și inflamatorii ar putea fi mediat de adipocitokine, o placă turnantă între statusul nutrițional, metabolisme și sistemul imun [10].

Adipocitul secretă hormoni peptidici specifici, numiți adipocitokine leptina, adiponectina, rezistina [11]. Acestea acționează pe receptori proprii, cu localizări și efecte multiple, doar parțial elucidate. Deși datele din literatură sunt controversate [12,13], adipokinele par a fi corelate mai ales cu țesutul adipos central/visceral, dar în timp ce leptina crește odată cu țesutul adipos visceral, adiponectina scade odată cu scăderea raportului dintre adipozitatea viscerală și țesutul adipos periferic/subcutanat [14]. Adipokinele sunt implicate în modalitățile de răspuns ale organismului la stressul acut precum trauma sau sepsisul [13,15].

Leptinei i s-au atribuit până în prezent multiple roluri: reglează aportului alimentar și greutatea corporală (nivelele serice sunt direct proporționale cu masa de țesut gras), asigură homeostazia energetică, stimulează angiogeneza, osteosinteza și modulează răspunsul imun și inflamator [16-18]. Efectele leptinei asupra sistemului imun sunt explicate de similitudinile structurale și funcționale cu familia de citokine cu lanț lung helicoidal din care fac parte IL- 6 și citokinele înrudite cu IL -6 cum ar fi IL 13, oncostatin M, GCSF [19].

Leptina serică pare să aibă o corelație pozitivă cu procentul de masă grasă la subiecții sănătoși [20-26] și posibil la pacienții cu sepsis [27]. Principalii factori care reglează sinteza și eliberarea de leptină în condiții de inflamație sunt TNF α și IL -1 β [19]. Există date care pledează în favoarea unui rol pro-inflamator al leptinei, inducând efecte imune mediate de limfocitul T helper 1, generatoare de reacții autoimune [28]. Deficiența de leptină scade funcția imunitară, făcând gazda mai susceptibilă la infecții [29,30].

În perioada postoperatorie imediată leptina pare să crească după unii autori având roluri în vindecarea plăgii chirurgicale, prevenirea suprainfecției postoperatorii, activarea hematopoezei [3]. Rezultatele unui studiu efectuat la pacienți critici cu patologie respiratorie indică valori scăzute ale leptinei serice, pacienții septici având valori mai reduse comparativ cu pacienții non-septici [31].

Într-un studiu ce a inclus 22 pacienți cu intervenții chirurgicale abdominale și sepsis postoperator Maruna arată că leptina crește față de normal și creșterea corelează cu TNF- α și IL-6, dar nu corelează cu indicele de masă corporală [32]. Chachkhiani studiind comparativ pacienți după chirurgie abdominală și pacienți septici demonstrează creșterea comparabilă a leptinei și a IL-6 [3]. Un studiu egiptean recent publicat efectuat pe 110 pacienți cu sepsis, cu SIRS și non-SIRS arată creșterea leptinei serice în SIRS și sepsis și corelarea cu TNF- α și IL-6. Autorii stabilesc un nivel cut-off al leptinei care diferențiază sepsisul de SIRS fără a face corecția leptinei la masa corporală [33]. Într-un studiu comparativ incluzând pacienți cu sepsis sever versus șoc septic Arnalich arată o creștere a leptinei în ambele loturi față de un lot martor și identifică leptina crescută și IL-6 scăzută ca asociate supraviețuirii [4].

Datele din literatură arată rezultate contradictorii privind atât nivelul leptinei plasmatice în stările critice cât și corelația între nivelul plasmatic și masa de țesut adipos. Nu se cunoaște dacă diferențele dintre rezultatele studiilor sunt generate de designul diferit al loturilor sau de localizarea diferită a afecțiunii cauzale.

OBIECTIVE

Scopul studiului a fost investigarea corelației între nivele plasmatice ale leptinei, un nou marker inflamator și masa de țesut gras determinată prin metoda bioimpedanței electrice la pacienții aflați în perioada postoperatorie precoce după intervenții chirurgicale majore comparativ cu un lot martor prin: identificarea dinamicii precoce a leptinei la bolnavii postoperator cu SIRS comparativ cu lot martor; compararea dinamicii precoce a leptinei cu cea a unor markeri inflamatori consacrați (IL-6 și PCR); investigarea corelației între valorile leptinei și masa de țesut gras în SIRS comparativ cu lotul martor.

MATERIAL ȘI METODĂ

Am efectuat un studiu interdisciplinar – Terapie Intensivă, Endocrinologie și Imunologie – cu caracter prospectiv comparativ cu durata de 12 luni desfășurat în Clinica Anestezie-Terapie Intensivă a Spitalului “Sf. Spiridon”. Recrutarea pacienților a avut loc în perioada 15.09.2010–15.09.2011.

Protocolul de studiu a fost aprobat de Comitetul de Etică al Spitalului “Sf. Spiridon”, Iași, România. Toți pacienții au semnat consimțământul informat. În cazul în care pacienții nu au fost capabili să ia decizii datorită sedării sau alterării statusului mental, consimțământul informat a fost obținut de la o rudă de gradul întâi.

Grupul de studiu a inclus 40 pacienți divizați în loturi egale:

1. lotul SI (SIRS) - pacienți aflați în perioada postoperatorie după chirurgie majoră și
2. lotul M (martor) - pacienți chirurgicali în perioada preoperatorie fără afecțiuni inflamatorii.

Au fost înrolați toți pacienții consecutivi care au îndeplinit criteriile de includere și care și-au exprimat consimțământul informat.

Criteriile de includere în lotul SI au fost pacienții postoperator după chirurgie digestivă majoră electivă cu cel puțin două criterii de SIRS - temperatura $<36.3^{\circ}\text{C}$ sau $>38.3^{\circ}\text{C}$, tahicardie >90 bătăi/minut, frecvența respiratorie >20 respirații/minut sau $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg (în absența ventilației mecanice), leucocitoza $>12 \times 10^9/\text{l}$ sau leucopenie $< 4 \times 10^9/\text{l}$ sau $> 10\%$ neutrofile imature iar în lotul M pacienți preoperator cu patologie fără componentă inflamatorie.

Criterii de excludere din studiu au fost în lotul SI prezența culturilor pozitive, în lotul M prezența bolilor intercurrente, diabet zaharat, cancer, boli inflamatorii cronice, terapie antiinflamatorie sau corticoterapie și PCR > normal. Dozarea PCR a fost utilizată ca modalitate de validare a lotului martor fără inflamație.

Date de laborator

Pentru determinarea leptinei, CRP și IL 6 s-au recoltat câte 5 ml sânge integral în eprubetă de plastic cu gel activator, care au fost supuși centrifugării (3000 turații timp de 10 minute) în decurs de maxim 1 ora de la recoltare. Serul a fost ulterior congelat la -40°C . Prima recoltare s-a făcut preoperator (lot SI) și în dimineața înrolării (lot M) și a fost repetată în lotul SI la 6 ore în primele 24 ore, la 12 ore în următoarele 24 ore și 1 dată/zi în fiecare din următoarele 3 zile. Analiza probelor s-a realizat în laboratorul de Imunologie a Spitalului Sf. Spiridon.

Dozarea leptinei a fost efectuată prin metoda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) utilizând un aparat automat de imunodiagnostic ELISA SANOFI Pasteur cu kit Leptin Sandwich ELISA (Diagnostic Automation, INC, CA, USA) - valori normale: $F=7.36\pm 3.73\text{ng/ml}$, $B=3.84\pm 1.79\text{ng/ml}$. Dozarea s-a realizat prin metoda IMMULITE pe aparatul Immulite Siemens cu kit IL 6 IMMULITE (Siemens) - valori normale $<5.9\text{pg/ml}$. Dozarea PCR a fost efectuată prin metoda IMMULITE cu același aparat, cu kit HIGH SENSITIVITY CRP - valori normale $<3\text{mg/dl}$. Un număr de 25 de probe au fost lucrate în duplicat, iar variabilitatea rezultatelor a fost de 5% pentru leptină, 5 % pentru IL-6 și 8 % pentru PCR.

Analiza compoziției corporale

Indicele de masă corporală (BMI) a fost măsurat prin cântarire și măsurarea înălțimii. Pacienții critici au fost cântăriți cu ajutorul patului cântar (pat Total Care-Hillrom).

Compoziția corporală a fost măsurată prin metoda bioimpedanței electrice (BIA) cu ajutorul aparatului Body Composition Analyser (Biodynamics Model 310).

Analiza bioimpedanței electrice (BIA) este o metodă simplă, rapidă, necostisitoare și non-invazivă de evaluare a compoziției corporale și a modificărilor temporale ale acesteia. Principiul metodei constă în determinarea impedanței electrice a unui curent electric ce trece prin organism. BIA cu frecvență unică - Single frequency BIA (SF-BIA) utilizează un curent electric de 50 kHz care se descarcă între suprafețele a doi electrozi plasați la mână și la picior. SF-BIA permite estimarea țesutului nongras - fat-free mass (FFM) și a apei totale din organism – total body water (TBW), dar nu poate identifica diferențele în compoziția intracelulară. SF-BIA are o precizie/reproductibilitate de 2.7–4.0%. Eroarea de predicție este estimată la 3–8% pentru TBW și respectiv 3.5–6% pentru FFM.

Impedanța electrică (Z) este constituită din două componente, rezistența (R) și reactanța (Xc). Reactanța evaluează masa celulară din organism în timp ce rezistența măsoară apa totală – TBW. Determinarea impedanței permite estimarea următorilor parametri: procentul de masă grasă - percentage body fat (PBF); masa grasă în kg - body fat (BF); țesutul non-gras – fat free mass (FFM); apa totală - total body water (TBW).

Măsurătorile BIA au fost efectuate preoperator și dimineața timp de 4 zile postoperator (lotul SI) și la înrolare (lotul M).

Analiza statistică

Am utilizat testul t-Student (comparațiile intergrup), testul ANOVA (variabilitatea temporală a parametrilor), testul log rank. $r^2 > 0.5$ înseamnă corelația

semnificativă și $p < 0.05$ diferența semnificativă a parametrilor. Analizele statistice au fost calculate cu ajutorul programului SPSS 17.0 for Windows.

REZULTATE

Caracteristicile pacienților

Datele demografice ale pacienților din loturile M și SI au fost comparabile din punct de vedere statistic (Tabel 1). Loturile SI și M au cuprins câte 20 pacienți cu vârstă medie 63.7 ani și respectiv 52,4 ani și au inclus 11 bărbați/9 femei, respectiv 14 bărbați/6 femei.

Tabel 1
*Caracteristicile generale ale loturilor**

	lot SIRS n=20	lot MARTOR n=20
Date demografice		
Vârsta (ani)	63.74±10.02	52.45±13.30
Sex ratio (B/F)	11/9	14/6
Compoziție corporală		
Greutate (Kg)	74.24±12.96	78.20±13.62
IMC (Kg/m ²)	25.84±4.82	27.80±4.18
PBF (%)	26.97±10.67	31.74±6.52
TBW (%)	53.00±10.80	47.84±6.25
FFM (%)	20.03±3.97	20.42±2.78
Markeri biologici		
Leptina (ng/ml)	8.26±10.85	12.90±12.83
CRP (mg/dL)	2.81±4.12	0.17±0.13
IL-6 (pg/ml)	19.08±32.19	2.46±0.86

*IMC- indice de masă corporală, PBF – procent de masă grasă, TBW – apa totală, FFM – masa de țesut nongras

În lotul martor au fost incluși 20 pacienți chirurgicali aflați în perioada preoperatorie cu următoarele diagnostice: colecistită cronică litiatică – 12 pacienți, hernie inghinală – 5 pacienți, hemoroizi - 1 pacient, eventrație postoperatorie – 1 pacient, hidrocel – 1 pacient (Tabel 2).

Tabel 2
Diagnosticul și intervențiile chirurgicale în lotul martor

Diagnostic chirurgical	Intervenție chirurgicală	Pacienți (n=20)
Colecistita cronică litiatică	Colecistectomie laparoscopică	12
Hernie inghinală	Cura herniei inghinale	5
Hemoroizi	Cura hemoroizilor	1
Eventrație	Cura eventrației	1
Hidrocel	Cura hidrocelului	1

În lotul SI au fost incluși 20 pacienți chirurgicali supuși unor intervenții chirurgicale electiv de mare amploare cu patologie neoplazică- 18 pacienți (8-cancer colo-rectal, 4-cancer cap de pancreas, 2-cancer esofagian, 2-cancer gastric, 1-cancer jejunal, 1-cancer ovarian) și patologie benignă-2 pacienți (1-polipoză colică, 1-boală aorto-iliacă std.III) (Tabel 3). Toți acești pacienți au dezvoltat sindrom de răspuns inflamator sistemic în perioada postoperatorie, definit pe baza criteriilor menționate anterior. Durata intervenției chirurgicale a fost în medie de 221 minute (90-430 minute). Toți pacienții au fost admiși în clinica de terapie intensivă pe o durată medie de 2,2 zile.

Tabel 3
Diagnosticul și intervenția chirurgicală în lotul SI

Diagnostic chirurgical	Intervenție chirurgicală	Pacienți (n=20)
Neoplasm gastric	Gastrectomie totala	2
Neoplasm esofagian	Esofagectomie	2
Neoplasm cefalopancreatic	Duodenopancreatectomie cefalică	4
Neoplasm colon drept	Hemicolectomie dreapta	3
Neoplasm colon stang	Colectomie stânga	2
Neoplasm rectal inferior	Excizie abdominopelvina rect	3
Neoplasm jejunal	Enterectomie	1
Polipi colonici	Colectomie totala	1
Neoplasm ovarian	Histerectomie totala cu anexectomie bilaterala	1
Arteriopatie obliteranta stadiul IV	Bypass aortobifemural	1

Dinamica temporală a leptinei

Valoarea medie inițială a leptinei a fost de $7,7 \pm 13,1$ ng/ml în lotul M și de 3,84 ng/ml în lotul SI. Analiza dinamicii temporale a leptinei la pacienții din lotul SI a arătat o creștere a valorilor de la o valoare preoperatorie de 3,84 ng/ml la 3,90 ng/ml la 6 ore postoperator și un peak plasmatic de 17,31 ng/ml la 12 ore. Ulterior valorile înregistrează o scădere treptată de la 15,10 ng/ml la 18 ore la 3,89 ng/ml la 96 ore postoperator. În lotul SI valorile leptinei au fost mai mici (probele preoperatorie, la 6, 36, 48, 72 și 96 ore) sau mai mari (probele recoltate la 12, 18 și 24 ore) semnificativ statistic comparativ cu lotul martor (Tabel 4).

Tabel 4
Dinamica temporală a leptinei (LPT) în lotul SIRS (SI) comparativ cu lotul Martor (M)

	0h	6h	12h	18h	24h	36h	48h	72h	96h
lot Martor – leptină medie	7.74								
lot SIRS – leptină medie	3.84	3.90	17.31	15.10	13.66	4.44	5.14	4.07	3.89
<i>p</i>	0.05	0.01	0.01	0.03	0.02	0.01	0.04	0.01	0.01

Dinamica temporală a markerilor inflamatori studiată comparativ

Analiza variației temporale a PCR la pacienții din lotul SI arată o valoare medie inițială normală de 1,25 mg/dl urmată de o valoare de 1,38 mg/dl la 6 ore postoperator și o creștere ulterioară cu peak plasmatic de 12,65 mg/dl la 24 ore postoperator, menținerea de valori similare până la 48 ore și scădere ulterioară până la 4,9 mg/dl la 96 ore postoperator.

Valorile medii ale leptinei, așa cum a fost prezentat anterior, înregistrează un peak de 17,3 ng/ml la 12 ore postoperator cu scădere ulterioară. Dinamica valorilor IL 6 la acești pacienți arată o valoare preoperatorie de 8,6 pg/ml urmată de un peak plasmatic precoce la 6 ore postoperator cu o valoare de 230,04 pg/ml și ulterior de reducerea treptată a valorilor până la 12,23 pg/ml la 96 ore postoperator (Fig.1).

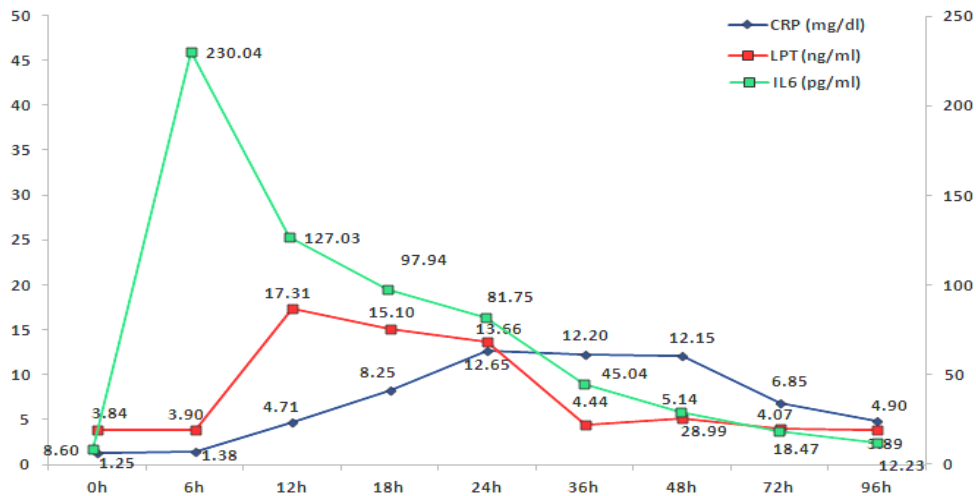


Fig. 1 Dinamica temporală a markerilor inflamatori leptina (LPT), proteina C reactiva (CRP) și IL-6 în lotul SIRS (SI)

Analiza compoziției corporale

IMC mediu nu diferă semnificativ statistic la cele 2 loturi în ansamblu (25.8 în lotul SI și 27.8 în lotul M, $p=0,07$).

Compoziția corporală evaluată prin BIA prezintă valorii medii inițiale de:

- în lotul SI:
 - PBF 26.9% (21.9 la B și 33.1 la F),
 - TBW 53l (57.2 la B și 47.8 la F)
 - FFM 20% (20.8 la B și 19 la F);
- în lotul M:
 - PBF 31.7% (28.5 la B și 33.8 la F),
 - TBW 47.8l (51 la B și 45.7 la F)
 - FFM 20.4% (20.4 la B și 20.3 la F)

Monitorizarea parametrilor BIA pe parcursul celor 4 zile de studiu a arătat variații nesemnificative ale compoziției corporale la pacienții din lotul SI (Tabel 5).

Determinarea preoperatorie și postoperatorie zilnică (în total 5 măsuratori) a compoziției corporale prin bioimpedantă a identificat o creștere inițială (primele 24 ore postoperator) a apei totale din organism, fapt explicat de profilul hormonal din perioada imediat postoperatorie ce induce retenție hidrosalină. Procentul de masă grasă variază nesemnificativ în perioada menționată.

Tabel 5*Variația temporală a parametrilor BIA în loturile Martor (M) și SIRS (SI)*

BIA	lot Martor	lot SIRS					p
		0h	24h	48h	72h	96h	
Greutate (Kg)	78.2	74.2	74.0	73.3	73.6	72.9	0.69
IMC (Kg/m²)	27.8	25.8	25.8	25.7	25.7	25.5	0.07
BF (Kg)	24.9	20.8	19.1	18.5	19.6	18.2	0.36
PBF (%)	31.7	27.0	25.0	24.2	25.5	24.0	0.57
TBW (L)	37.4	38.5	41.8	41.5	39.9	41.1	0.49
TBW (%)	47.8	53.0	57.4	57.5	55.1	57.2	0.59
FFM (kg)	15.9	14.9	13.0	13.3	14.1	13.6	0.50
FFM (%)	20.4	20.0	17.6	18.3	19.4	18.8	0.19

IMC-index de masa corporala, BF-masa grasa, TBW-apa totală, FFM-masa negrasi

Corelația leptină/procent de masă grasă

În lotul martor am investigat corelația dintre valoarea absolută (măsurată) a leptinei serice și următorii parametri: greutatea corporală (kg), IMC (kg/m²), țesutul gras (procent).

Valoarea leptinei serice la pacienții din lotul M nu se corelează cu greutatea corporală (coeficientul de corelație $R^2=0.035$) și nici cu indicele de masă corporală (coeficientul de corelație $R^2=0.137$) (Fig. 2).

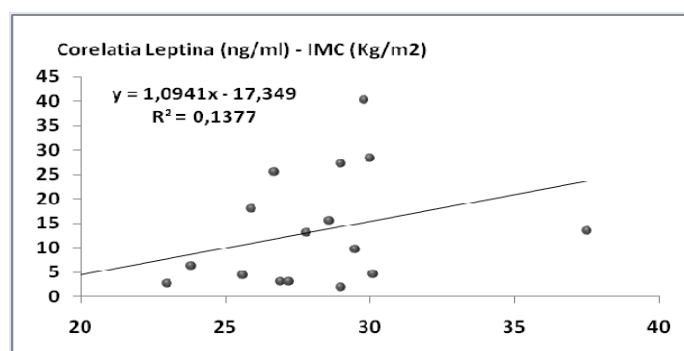


Fig. 2 Corelația între leptină și IMC la lotul martor

Separând însă din greutatea corporală procentul de masă grasă și analizând relația cu leptina serică am obținut o corelație pozitivă la întregul lot martor (coeficientul de corelație $R^2=0.529$) (Fig. 3).

Este cunoscut că valoarea normală a leptinei este mai mică la bărbați față de femei, probabil în relație cu cantitatea de țesut adipos. În lotul martor am analizat

corelația între leptina serică și masa de țesut adipos la bărbați (coeficientul de corelație $R^2=0.725$) și la femei (coeficientul de corelație $R^2=0.461$) și am observat că se menține o corelație pozitivă pentru ambele sexe.

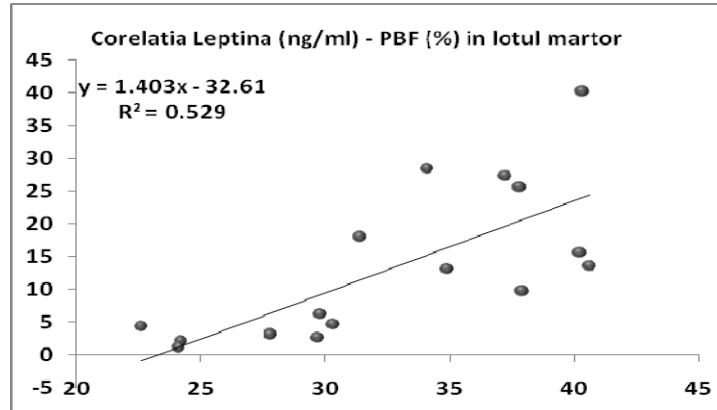


Fig. 3 Corelația între leptină și procentul de țesut gras la lotul martor

Analiza corelației între leptina serică și masa de țesut gras măsurată prin bioimpedanță în lotul SI a identificat rezultate diferite în funcție de raportarea la momentul intervenției chirurgicale. În perioada preoperatorie (Fig. 4) am observat că se păstrează corelația pozitivă identificată în cazul lotului martor. Acest lucru sugerează că la pacienții fără semne de inflamație leptina corelează semnificativ cu masa țesutului gras, ceea ce a fost raportat și de alți autori în literatură.

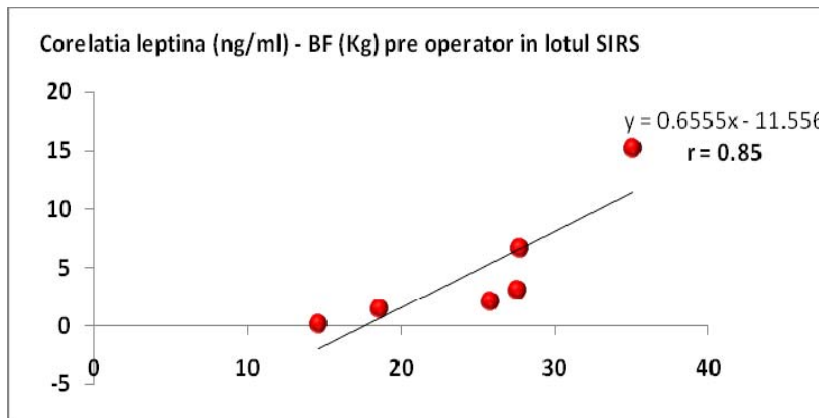


Fig. 4 Corelația între leptină și masa de țesut gras preoperator în lotul SIRS

Intervențiile chirurgicale de mare amploare, cum au fost cele practicate la pacienții din acest lot, se însoțesc de răspuns infamator sistemic.

În lotul SI analiza relației între valoarea leptinei serice și masa de țesut gras la 24 ore postoperator a arătat o lipsa de corelație, explicată prin creșterea valorii leptinei în condițiile menținerii procentului de masă grasă (Fig. 5).

Corelația negativă se mentine și tardiv, la 48 și 72 ore după intervenția chirurgicală (Fig. 6,7).

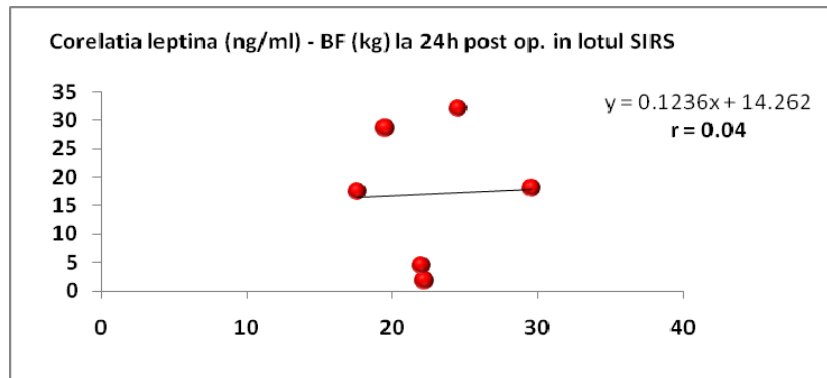


Fig. 5 Corelația între leptină și masa de țesut gras la 24 ore postoperator în lotul SI

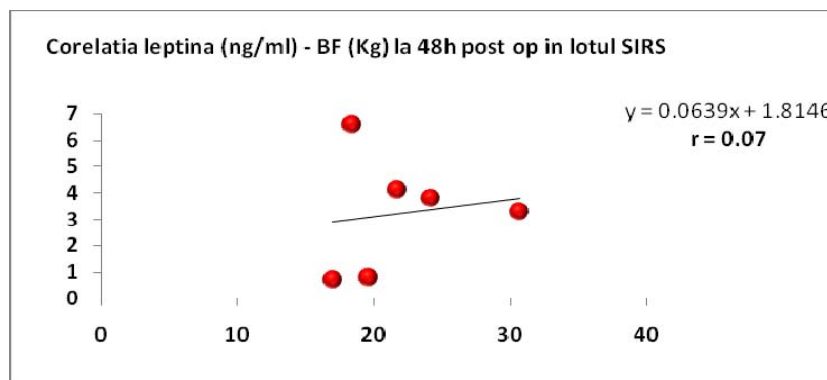


Fig. 6 Corelația între leptină și masa de țesut gras la 48 ore postoperator în lotul SI

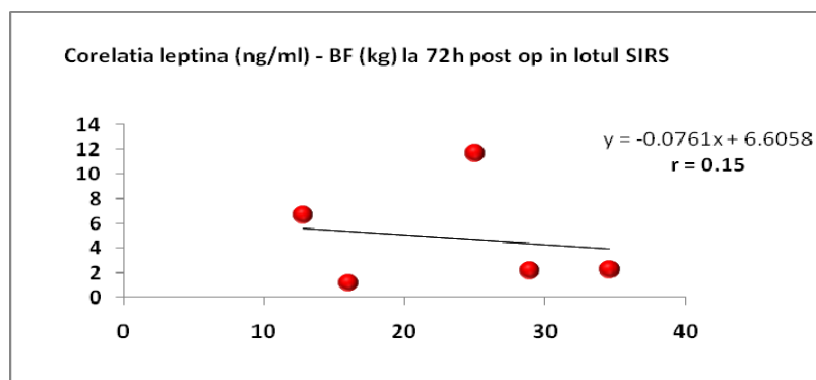


Fig. 7 Corelația între leptină și masa de țesut gras la 72 ore postoperator în lotul SI

DISCUȚII

Este cunoscut în prezent că sindromul de răspuns inflamator sistemic asociat cu eliberarea unei constelații de mediatori pro și antiinflamatori este direct proporțional cu

durata și intensitatea agresiunii. Studiul nostru a inclus pacienții cu intervenții chirurgicale abdominale majore ca model de caracterizare a inflamației sistemice. Avantajele acestui model sunt omogenitatea lotului de pacienți și posibilitatea de a stabili intervale bine definite de la debutul inflamației.

Mărimea loturilor din studiul nostru este similară altor studii: 33 pacienți postoperator și 12 cu sepsis postoperator [3], 25 pacienți cu sepsis postoperator intraabdominal [34], 30 pacienți critici [35], 40 pacienți cu sepsis, 34 cu SIRS și 32 stări critice nonSIRS [33].

Studiul nostru arată că leptina are variații semnificative precoce la pacienții cu sindrom de răspuns inflamator sistemic. Comparativ cu lotul martor valorile inițiale ale leptinei sunt mai mici în lotul SI. Aceasta este concordant cu date raportate anterior, care arată că nivelul plasmatic inițial al leptinei este mai mic în perioada postoperatorie sau în sepsis [31]. În inflamație valoarea serică a leptinei crește semnificativ la 12 ore, iar după 24 ore scade și rămâne la nivele relative constante în următoarele 32-96 ore, concordant cu datele raportate de Maruna [32,34]. Studiul nostru caracterizează mai bine dinamica precoce a leptinei, având în vedere că recoltarea probelor s-a făcut la 6 ore în primele 24 ore și la 12ore în ziua următoare, spre deosebire de alte studii, care recoltează o singură probă zilnic [32, 36-39].

Pe de altă parte, Koch arată într-un studiu publicat în 2010 că leptina serică și receptorii circulanți de leptină nu diferă semnificativ la pacientul critic față de lotul martor și nu diferă semnificativ la pacienții cu infecție față de cei fără infecție [13]. Diferențele acestea pot fi explicate prin metodele de determinare ale leptinei serice. Kiturile utilizate în studiile mai vechi dozau leptina totală (liberă și legată de receptorii solubili), iar kiturile mai noi determină leptina serică liberă, nelegată [40].

Ținând cont de toate de mai sus, putem spune că leptina are o dinamică precoce semnificativă în inflamație, putând fi un marker util de diagnostic precoce în aceste stări. Kinetica leptinei poate fi comparată cu cea a altor markeri biologici de inflamație. Proteina C reactivă este markerul cel mai utilizat în practica clinică. În lotul nostru are un maxim tardiv la 24 ore în SIRS comparativ cu IL-6 (maxim la 6 ore) și leptină (maxim la 12 ore), concordant cu date raportate în literatură [41]. IL-6 este un marker recunoscut ca având o dinamică precoce și semnificativă în inflamație și infecție [4,33,38]. Dinamica temporală precoce a IL-6 și leptinei, arată o puternică corelație, raportată și de alte studii [33].

Aceste date sunt interpretate ca reflectând capacitatea leptinei de a induce sinteza de TNF α și IL-6 după stimularea prin LPS [42]. Totuși, faptul că maximum de nivel circulant al leptinei, așa cum este caracterizat de noi, urmează peakului plasmatic al IL-6 și nu îl precede, pune sub semnul întrebării această ipoteză. Pe de altă parte, Langouche raportează lipsa de corelație între nivelele LPT serice și TNF α , IL-6, IL-8, IL-10 [31]. Dinamica temporală a markerilor în lotul SI arată un nivel maxim al IL-6 la 6 ore și un nivel maxim al leptinei la 12 ore. Creșterea leptinei la 12 ore poate fi un avantaj, pentru că depistarea IL-6 ca marker de inflamație poate fi ratată în unele cazuri din practica clinică, datorită intervalului foarte scurt de la declanșarea inflamației.

Având în vedere că leptina este un hormon secretat de adipocite, s-a căutat să se stabilească corelația dintre nivelele serice ale leptinei și compoziția corporală. Analiza compoziției corporale prin bioimpedanță este larg utilizată în studii clinice și există în prezent numeroase date teoretice și de metodologie a diferitelor tehnici BIA [43-46].

Numeroase studii arată că la subiecții sănătoși sau control există o puternică corelație între IMC și leptină, corelație care se pierde în inflamație [36,37,40]. Spre

deosebire de studiile anterioare, care au explorat corelația leptină - țesut gras prin raportare la IMC, studiul nostru măsoară cu ajutorul BIA masa grasă în valori absolute (kg) și în procente, ceea ce conferă o mai bună bază științifică corelației amintite. Rezultatele noastre concordă cu datele raportate anterior, având în vedere că la lotul martor leptina corelează cu masa grasă, atât la bărbați, cât și la femei. Această corelație se menține în lotul SIRS în perioada preoperatorie dar se pierde în perioada postoperatorie, măsurată la 24, 48 și 72 ore după intervenția chirurgicală. Creșterea valorilor leptinei în aceasta perioadă sugerează un comportament al leptinei similar proteinelor de fază acută. Sinteza leptinei în perioada postoperatorie are majoritar sursă extra-adipocitară, la nivelul celulelor inflamatorii sau adipocitul poate fi stimulat și poate crește în condiții de inflamație sinteza de leptină.

CONCLUZII

Leptina, la pacienții aflați în perioada postoperatorie precoce după intervenții chirurgicale abdominale majore, cu sindrom de răspuns inflamator sistemic, este un mediator pro-inflamator cu sursă adipocitară și majoritar extraadipocitară, cu dinamică precoce, care intervine în reglarea răspunsului imun prin acțiune la nivelul sistemului nervos central. Astfel, leptina poate fi un util biomarker pentru diagnosticul precoce al inflamației.

Acknowledgments:

Studiul a fost realizat pe baza grantului intern de cercetare numărul 17079/30.09.2010 cu titlul "*Dinamica precoce a nivelului plasmatic a leptinei la pacientul critic și corelația cu supraviețuirea - studiu prospectiv comparativ*", director de grant Conf. Dr. Ioana Grigoraș, finanțat de Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, România.

BIBLIOGRAFIE

1. Ahmed N, Christou N, Meakins JL. The systemic inflammatory response syndrome and the critically ill surgical patient. *Curr Opin Crit Care* 1995; 1: 290-305.
2. Cheadle W, Mercer J: Sepsis and septic complications in the surgical patients. *Shock* 1996; 6(Suppl 1): S6-S9.
3. Chachkhiani I, Gürlich R, Maruna P, Frasko R, Lindner J. The postoperative stress response and its reflection in cytokines network and leptin plasma levels. *Physiol Res* 2005, 54(3): 279-285.
4. Arnalich F, López J, Codoceo R, Jimenez M, Madero R, Montiel C. Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in sepsis and septic shock. *J Infect Dis.* 1999; 180(3): 908-911.
5. Mokart D, Capo C, Blache JL, Delpero JR, Houvenaeghel G, Martin C, Mege JL. Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer. *Br J Surg* 2002; 89(11): 1450-1456.
6. Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clin Chim Acta.* 2005; 351(1-2): 17-29.
7. Woeste G, Müller C, Bechstein WO, Wullstein C. Increased serum levels of C-Reactive Protein precede anastomotic leakage in colorectal surgery. *World J Surg.* 2010; 34(1): 140-146.
8. Welsch T, Frommhold K, Hinz U, Weigand MA, Kleeff J, Friess H, Büchler MW, Schmidt J. Persisting elevation of C – Reactive Protein after pancreatic resections can indicate developing inflammatory complications. *Surgery.* 2008; 143(1): 20-28.
9. Morris DL, Rui L. Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 297(6): E1247-1259.

10. Lang K, Ratke J. Leptin and Adiponectin: new players in the field of tumor cell and leukocyte migration. *Cell Commun Signal*. 2009; 7: 27.
11. Stofkova A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocr Regul*. 2009; 43(4): 157-168.
12. Inadera H. The usefulness of circulating adipokine levels for the assessment of obesity-related health problems. *Int J Med Sci*. 2008; 5(5): 248-262.
13. Owecki M. Fat tissue and adiponectin: new players in critical care? *Crit Care*. 2009; 13(4):174.
14. Venkatesh B, Hickman I, Nisbet J, Cohen J, Prins J. Changes in serum adiponectin concentrations in critical illness: a preliminary investigation. *Crit Care*. 2009; 13(4): R105.
15. Karastergiou K, Mohamed-Ali V. The autocrine and paracrine roles of adipokines. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 318(1-2): 69-78.
16. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros C. Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging Clinical Applications. *Ann Intern Med*. 2010; 152: 93-100.
17. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology* 2000; 68: 437-446.
18. Blüher S, Mantzoros CS. Leptin in humans: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89(3): 991S-997S.
19. Iikuni N, Lam QLK, Lu L et al. Leptin and Inflammation. *Curr Immunol Rev*. 2008; 4(2): 70–79.
20. Brennan AM, Mantzoros CS. Leptin and adiponectin: their role in diabetes. *Curr Diab Rep* 2007; 7: 1–2.
21. Blüher S, Mantzoros CS. Leptin in reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007; 14: 1–7.
22. Brennan AM, Mantzoros CS. Drug insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology: emerging clinical applications in leptin deficient states. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2: 318–327.
23. Chan JL, Matarese G, Shetty GK, Raciti P, Kelesidis I, Aufiero D, De Rosa V, Perna F, Fontana S, Mantzoros CS. Differential regulation of metabolic, neuroendocrine, and immune function by leptin in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(22): 8481–8486.
24. Kelesidis T, Mantzoros CS. The emerging role of leptin in humans. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006; 3: 239–248.
25. Chan JL, Mantzoros CS. Role of leptin in energy-deprivation states: normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa. *Lancet* 2005; 366: 74–85.
26. Lee JH, Chan JL, Sourlas E, Raptopoulos V, Mantzoros CS. Recombinant methionyl human leptin therapy in replacement doses improves insulin resistance and metabolic profile in patients with lipoatrophy and metabolic syndrome induced by the highly active antiretroviral therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2605–2611.
27. Carlson GL, Saeed M, Little RA, Irving M. Serum leptin concentrations and their relation to metabolic abnormalities in human sepsis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1999; 276(4 Pt 1): 658-662.
28. Otero M, Lago R, Gomez R, Dieguez C, Lago F, Gómez-Reino J, Gualillo O. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)*. 2006; 45(8): 944-950.
29. Mancuso P, Gottschalk A, Phare SM, Peters-Golden M, Lukacs NW, Huffnagle GB. Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia. *J Immunol* 2002; 168: 4018-4024.
30. Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3686-3895.
31. Langouche L, Vander Perre S, Frystyk J, Flyvbjerg A, Hansen TK, Van den Berghe G. Adiponectin, retinol-binding protein 4, and leptin in protracted critical illness of pulmonary origin. *Crit Care*. 2009; 13(4): R112.
32. Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Haluzik M. Serum leptin levels in septic men correlate well with C-reactive protein (CRP) and TNF α but not with BMI. *Physiol Res* 2001; 50(6): 589-594.

33. Yousef AAE, Amr YM, Suliman GA. The diagnostic value of serum leptin monitoring and its correlation with tumor necrosis factor- α in critically ill patients: a prospective observational study. *Crit Care* 2010; 14: R33.
34. Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Rosicka M. Ghrelin and leptin elevation in postoperative intra-abdominal sepsis. *Eur Surg Res.* 2005; 37(6): 354-359.
35. Tzanela M, Orfanos SE, Tsirantonaki M, Kotanidou A, Sotiropoulou Ch, Christophoraki M, Vassiliadi D, Thalassinos NC, Roussos Ch. Leptin alterations in the course of sepsis in humans. *In Vivo.* 2006; 20(4): 565-570.
36. Maruna P, Gürlich R, Fried M, Frasko R, Chachkhiani I, Haluzik M. Leptin as an acute phase reactant after non-adjustable laparoscopic gastric banding. *Obes Surg.* 2001; 11(5): 609-614.
37. Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Haluzik M. Serum leptin levels in septic men correlate well with C-reactive protein (CRP) and TNF-alpha but not with BMI. *Rozhl Chir.* 2001; 50(6): 589-594.
38. Torpy DJ, Bornstein SR, Chrousos GP. Leptin and interleukin-6 in sepsis. *Horm Metab Res* 1998; 30: 726-729.
39. Maruna P, Gürlich R, Frasko R, Haluzik M. Increased leptin expression in mice with bacterial peritonitis is partially regulated by tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun* 1998; 66(4): 1800-1802.
40. Koch A, Weiskirchen R, Zimmermann HW, Sanson E, Trautwein C, Tacke F. Relevance of Serum Leptin and Leptin-Receptor Concentrations in Critically ill Patients. *Mediators Inflamm.* 2010;pii: 473540.
41. Bornstein SR, Licinio J, Tauchnitz R, Engelmann L, Negrão AB, Gold P, Chrousos GP. Plasma leptin levels are increased in survivors of acute sepsis: associated loss of diurnal rhythm, in cortisol and leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(1): 280-283.
42. Bracho-Riquelme RL, Loera-Castañeda V, Torres-Valenzuela A, Loera-Castañeda GA, Sánchez-Ramírez JP. Leptin and leptin receptor polymorphisms are associated with poor outcome (death) in patients with non-appendicular secondary peritonitis *Crit Care.* 2011; 15(5): R227.
43. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, Schols AM, Pichard C; Composition of the ESPEN Working Group. Bioelectrical impedance analysis-part I: review of principles and methods. *Clin Nutr.* 2004; 23(5): 1226-1243.
44. Matthie JR. Bioimpedance measurements of human body composition: critical analysis and outlook. *Expert Rev Med Devices* 2008; 5: 239-261.
45. Mattsson S, Thomas BJ. Development of methods for body composition studies. *Phys Med Biol* 2006; 51: R203-228.
46. Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992; 11(2): 199-209.