

Fig. 4 Raportul LF/HF la subiecți cu anxietate joasă (în stînga) și ridicată (în dreapta) în timpul respirației spontane, abdominale, toracice și dirijate (\* -  $p < 0.05$  pentru compararea în interiorul lotului, □ -  $p < 0.05$  pentru compararea între loturi)

### Concluzii

1. Subiecții cu anxietate mai înaltă prezintă valori mai joase a puterii densității spectrale.
2. Respirația lentă (6/min) mărește componeta de frecvențe joase a variabilității ritmului cardiac, deoarece acest component este modulată de interacțiunile simpatico-vagale.

### Bibliografie

1. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology, *Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use*, Circulation, vol. 93, 1996, pp. 1043–1065
2. W. Fhiele, *Psycho-vegetative syndrome*, Ment. Welt., vol. 1, 1966, pp. 9-13
3. V. I. Minyaev, V. G. Davydov, *The role of the thoracic and abdominal components of the respiratory system during hyperventilation combined with chemoreceptor stimulation of various intensities*, Human Physiology, vol. 26, n. 4, 2000, pp. 451-455.

## CORELAȚII DINTRE ACTIVITATEA SISTEMULUI CITOKINIC ȘI PROTEINA C-reactivă PE PARCURSUL ȘOCULUI HEMORAGIC

Victoria Rotaru, Eleonora Borș, Corneliu Hangan, Veronica Cernit  
Catedra Fiziopatologie și fiziopatologie clinică

### Summary

#### *Causal correlation between systemic activity of cytokines and C-reactive protein during hemorrhagic shock*

Hemorrhagic shock takes place by local and systemic inflammatory processes. A pathogenetic factor of systemic inflammation is acute-phase response. During the acute-phase response, the liver dramatically increases the synthesis of acute-phase proteins, such as fibrinogen and C-reactive protein (CRP). CRP is recognized as a true marker of local and diffuse inflammatory process. Elevated levels of this protein of acute inflammation during hemorrhagic shock are caused by elevated concentrations of cytokines IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ .

### Rezumat

Șocul hemoragic se desfășoară prin procese inflamatorii locale și sistemice. Un factor patogenetic al inflamației sistemice este Răspunsul Fazei Acute (RFA). În timpul RFA în ficat crește corelativ sinteza proteinei C- reactive (PCR), fibrinogenului, precum și nivelul citokinelor în sânge. PCR este recunoscută drept un marker fidel al procesului inflamator local și difuz. Valorile crescute ale acestei proteine a fazei acute a inflamației pe perioada șocului hemoragic sunt determinate de concentrațiile elevate ale citokinelor IL-1- $\alpha$ , IL-6 și TNF- $\alpha$ .

### **Actualitatea**

Șocul hemoragic se caracterizează prin modificarea concentrației proteinelor fazei acute cauzate de alterările primare și/sau secundare a celulelor, precum și a structurilor extracelulare [1]. Proteina C reactivă (PCR) este o proteină plasmatică sintetizată de ficat și de adipocite. Ea este un marker al inflamației sistemice a organismului, ce participă la eliminarea substanțelor necrotice din organism, fixând lipoproteinele cu densitate mică și foarte mică. Manifestând funcție imunomodulatoare, interacționează cu Fc-receptorii de pe suprafața celulelor imunocompetente - monocite, T-killeri, T-supresori și participă la fixarea ligandului cu activarea complementului. Proteina C-activă inhibă eliberarea citokinelor proinflamatorii prin mecanism de fixare a fosfolipidelor membranare.

Citokinele markeri ai inflamației IL-1 $\alpha$ , IL-6 și TNF- $\alpha$ , sunt sintetizate preponderent de către monocite și macrofage [3]. IL-1 modulează diverse procese protective în organism, activate în leziuni celulare, din care cauză este considerată mediator proinflamator, sintetizat primar la locul leziunii. Sinteza IL-1 în inflamație crește provocând reacții sistemice, ceea ce o determină ca important mediator a reacției fazei acute [2].

IL-6 se consideră principalul stimulator al sintezei și secreției proteinelor fazei acute de către hepatocite. Cu toate că rolul IL-6 constă în activarea proceselor restabilirii homeostaziei dereglate, sinteza exagerată a acesteea induce lezarea țesuturilor. Există o corelație între gradul creșterii nivelului IL-6 și procesul inflamator sistemic [4].

TNF posedă un efect proinflamator marcat, ce se depistează inițial în locul eliberării acestuia. Acesta activează leucocitele, exprează moleculele de adeziune celulară pe membrana celulelor endoteliale la nivelul patului microcirculator, astfel condiționând migrarea leucocitelor din sânge în matricea extracelulară; stimulează elaborarea speciilor active de oxigen de către leucocite; induce secreția citokinelor proinflamatoare, inclusiv IL-1, IL-8, IL-6 și interferoni. Creșterea concentrației TNF- $\alpha$  induce sinteza proteinelor fazei acute [6].

Obiectivul actualei lucrări este estimarea corelației dintre activitatea sistemului citokinic și proteinei C -reactive pe parcursul șocului hemoragic.

### **Material și metode**

În experiențele proprii șocul hemoragic a fost reprodus la iepuri masculi de laborator (masa corporală 2,3-2,5 kg), utilizând modelul clasic [5].

Aplicând anestezie locală cu Sol. Novocaină 5%-10 ml, a fost preparată vena femurală. Sângele a fost exfuzat în 3 prize (câte 15-20 ml la fiecare) la intervale de 15-20 min, volumul de sânge pierdut fiind de circa 45-55 ml (5-7% din masa corpului), ceea ce constituie aproximativ 40% din volumul total de sânge. Presiunea sanguină finală a fost menținută la nivel de șoc sever - 40 $\pm$ 5 mm Hg. Aceste valori au fost menținute prin efuzii și reinfuzii repetate de sânge pe o perioadă până la 24 ore. Estimările biochimice ale sângelui s-au efectuat inițial, la sfârșitul perioadelor de 90 min, 5 ore și 24 ore ale evoluției șocului hemoragic.

Primele 5 ore animalele rămâneau fixate pe măsuțe. După aceasta animalele erau eliberate și întreținute în condiții identice la temperatura de 25-30°C cu acces liber la apă și hrană pentru a studia durata vieții animalelor din fiecare lot. Pe tot parcursul vieții se studia starea generală a animalelor. La finele experiențelor animalele au fost sacrificate prin eutanazie.

Concentrația proteinei C-reactive plasmatice (*mg/dl*) a fost determinată prin metoda Slide-format (latex).

Concentrația interleukinelor plasmatice (*IL-1 $\alpha$* , *IL-6*, *TNF $\alpha$* - *pg/ml*) a fost cantitativ determinată în ser, utilizând metoda imunoenzimatică ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbant Assay*).

### Rezultatele și discuții

Valorile markerilor inflamației sistemice pe parcursul șocului hemoragic sunt redată în tabelul 1 și figura 1.

Tabelul 1. Variațiile concentrației serice ale markerilor inflamatori pe perioada șocului hemoragic

Indice	Iniția	Perioada șocului hemoragic		
		90 min	5 ore	24 ore
IL-1 $\alpha$ n=8	7,6 $\pm$ 0,65	11,2 $\pm$ 1,0 + 47% p<0,05	12,1 $\pm$ 1,1 +59% p<0,01	12,5 $\pm$ 1,2 +64% p<0,001
IL-6 n=8	32,4 $\pm$ 2,6	41,6 $\pm$ 3,8 +28% p>0,05	56,1 $\pm$ 4,1 +73% p<0,01	60,4 $\pm$ 5,5 +86% p<0,001
TNF $\alpha$ n=8	96,7 $\pm$ 8,1	119,8 $\pm$ 10 +24% p>0,05	178,7 $\pm$ 14,5 +85% p<0,01	192,5 $\pm$ 16,3 +99% p<0,001
PCR n=8	48,2 $\pm$ 3,2	61,2 $\pm$ 3,6 + 27% p<0,05	70,5 $\pm$ 4,8 +46% p<0,05	40,2 $\pm$ 2,3 -17% p>0,05

Notă:

p – valoarea semnificației comparativ cu indicele inițial;

% - diferența relativă a indicelui față de valoarea lui inițială (până la hemoragie);

\* - discrepanță semnificativă (p<0,01) versus valoarea indicelui la sfârșitul perioadei de 5 ore și 24 ore a ȘH.

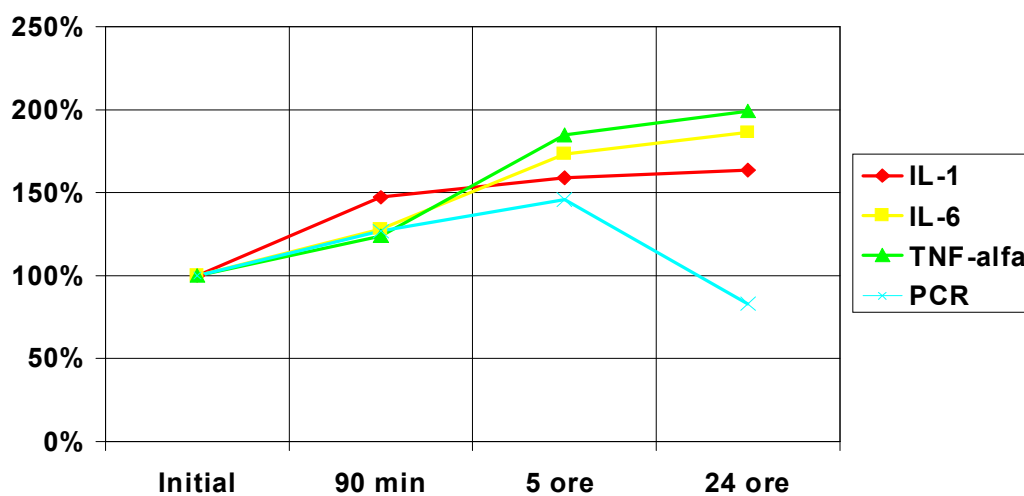


Fig. 1. Corelații PCR și Citokine în ȘH

La cea mai timpurie perioadă evaluată a ȘH (90 min) s-a constatat creșterea semnificativă doar a IL-1 $\alpha$ . Incrementul relativ al acesteia în serul sanguin comparativ cu valorile inițiale a constituit în medie 47% ( $p < 0,05$ ). IL-6 s-a majorat cu 28%, iar TNF- $\alpha$  a atins cote cu 24% peste valoarea inițială. La perioada de 5 ore a ȘH creșterea sanguină a citokinelor a continuat. IL-1 $\alpha$  a realizat un spor cantitativ mai limitat cu 59% ( $p < 0,01$ ) mai mari *vis-a-vis* de nivelul inițial. IL-6 a crescut până la o diferență de 73% ( $p < 0,01$ ) comparativ cu valoarea inițială, iar TNF- $\alpha$  – și mai considerabil, cu aproximativ 85% ( $p < 0,01$ ). Estimarea probelor sanguine la sfârșitul perioadei de 24 ore a ȘH a pus în evidență unele particularități ale dinamicii citokinelor în ser. De menționat în acest context o creștere neînsemnată a IL-1 $\alpha$  față de valoarea atestată la 5 ore, care a măsurat 3,3%, iar comparativ cu nivelul inițial decalajul a constituit în medie 64%. Atât IL-6, cât și

TNF- $\alpha$  au avut un spor de circa 7,7% pe perioada 5-24 ore a ȘH, ceea ce comparativ cu IL-1 este mai mult ca dublu. Față de valoarea inițială IL-6 a crescut pe perioada de 24 ore a ȘH cu 86% ( $p < 0,001$ ), iar TNF- $\alpha$  cu 99% ( $p < 0,01$ ).

Așadar, evaluarea dinamicii citokinemiei pe perioada de 24 ore de desfășurare a ȘH evidențiază creșterea mai rapidă în serul sanguin a IL-1 $\alpha$ , aceasta fiind decelată semnificativ la sfârșitul perioadei de 90 min. Ulterior, până la perioada tardivă de 24 ore, IL-1 $\alpha$  a elevat numai cu 11,6% și a demonstrat către acest timp un increment de circa 64%.

IL-6 și TNF- $\alpha$  s-au impus printr-o creștere concludentă după perioada de 90 min, acestea atingând nivele circulante cu 73% și, respectiv, cu 85% peste platoul inițial la perioada de 5 ore a ȘH. Această majorare este mai concludentă decât rata creșterii a IL-1 $\alpha$  documentată la sfârșitul perioadei de 24 ore a ȘH. Către acest timp TNF- $\alpha$  a avut valori practic dublate *vis-a-vis* măsurărilor inițiale.

Concentrația proteinei C reactive a crescut statistic semnificativ cu 27% deja la perioada de 90 min a ȘH.

Incrementul acestei proteine a continuat până în perioada de 5 ore, demonstrând un surplus de 46% comparativ cu valorile inițiale. În continuare, către 24 ore de ȘH s-au consemnat valori cantitative reduse, chiar comparativ cu platoul inițial (-17%,  $p > 0,05$ ). În raport cu valoarea atestată la min 90 a ȘH s-a decelat un recul de circa 32%, iar față de valoarea perioadei de 5 ore discrepanța a constituit 41%.

Dinamica acestui indice denotă modificări atât în geneza stimulilor necesari pentru sinteza proteinei C-reactive, cât și modificări în capacitatea ficatului de a răspunde la acești stimuli.

Din datele obținute se evidențiază următorul tablou. Inițial hipoperfuzia generalizată a organelor, indusă de hipotensiunea șocogenă a generat leziuni celulare și a indus sinteza și elaborarea de factori stimulatori (fosfolipidele membranare, IL-6), care la nivelul ficatului au declanșat sinteza de proteină C-reactivă. Ficatul a continuat să sintetizeze activ această proteină pe parcursul perioadei de 5 ore a ȘH, când valoarea circulantă a acesteia s-a estimat cu 46% peste nivelul inițial.

Declinul proteinei C-reactive la 24 ore de șoc poate fi explicat prin două fenomene: fie că ficatul în această perioadă este compromis și nu sintetizează proteina la nivel adecvat solicitării, fie că proteina sintetizată de ficat nu este lansată în circulație din cauza dereglărilor microcirculatorii din organ, fiind stocată local în cantități considerabile. În acest caz stocul de proteină C-reactivă ar putea fi lansat în circulația sistemică pe parcursul resuscitării și reperfuziei ficatului, ceea ce ar avea impact în patogenia sindromului postinfuzional.

## Concluzii

1. Valorile crescute a PCR pe perioada de 5 ore a șocului hemoragic sunt determinate de concentrațiile elevate ale IL-1- $\alpha$ , IL-6 și TNF- $\alpha$ .

2. Pe parcursul a 5 ore de șoc hemoragic are loc diminuarea *clearance*-ului PCR, perioada de înjumătățire a acesteia constituind 19 ore.
3. Declinul nivelului circulant al PCR depistat după 24 ore de ȘH se datorează afecțiunii parenchimului hepatic, cauzat de hipoperfuzia hipovolemică.
4. Inflamația sistemică pe fondal de ȘH se caracterizează prin creșterea corelativă a citokinelor IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$  și proteinei C reactive

## **Bibliografie**

1. DUTTON R. Current concepts of hemorrhagic shock. *Anesthesiology Clinic*, 2007, 25: 23-34.
2. CHAPMAN M. Hemorrhagic shock. *Critical Care*, 2004, 8: 373-84.
3. KLABUNDE RE. The pathophysiology of hemorrhagic shock. PPT, 2004.
4. LIU LL, Dubick MA. Hemorrhagic shock-induced vascular hyporeactivity in the rat: Relationship to gene expression of nitric oxide synthase, endothelin-1, and select cytokines in corresponding organs. *The Journal of surgical research*. 2005, 125(2): 128-136.
5. MAURITZ JL, Renedo J, Barrion JP et al. Experimental models of hemorrhagic shock. *Nutr Hosp*, 2007, 22: 190-8.
6. HIROAKI S, Kentaro K, Toshiko T et al. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta on lung dysfunction following hemorrhagic shock in rats. *Inter Med J Exp Clin Res*, 2008, 14(5): 63-69.

## **REFLECTIONS ABOUT ESTIMATIVE METHOD OF THE ISOLATE PORTAL VEIN CONTRACTILITY**

**Aurel Saulea, Victor Rotaru, Victor Ojog**

Department of Physiology and Biophysics, State University of Medicine and Pharmacy,  
Chisinau, R. Moldova

### **Summary**

The current investigation intended to determine the conditions of portal vein contractions in rats in isometric regime. The proceeding of object preparation as well as experimental phases was described. Main parameters of contractility were highlighted, also the importance of portal vein muscle reactivity at different concentrations of Ca ions. Hypotheses about the origin and mechanism of portal vein muscle contraction were enounced.

### **Rezumat**

Prezenta investigație determină condițiile contracțiilor venei porte la șobolan în regim izometric. A fost descrisă desfășurat manopera de preparare de obiectului de studiu precum și etapele experimentale. S-au evidențiat indicii principali ai contractilității, cât și importanța reactivității mușchiului venos portal la diferite concentrații a ionilor de Ca<sup>2+</sup>. Au fost expuse ipoteze privind originea și mecanismul contracției venei porte izolate.

Keywords - Cajal cells, portal vein, smooth muscle

The present study was done on a group of 200 white male rats, Wistar line with about 180-200 g weight. All the painful manipulations were done under anesthesia, by using Nembutal in dose of 50 mg/kg of the animal's weight or thiopental of Na (0,1g/kg).

In fixed terms and after finishing the experiments the animals were slaughtered through beheading. In anaesthetized rat the thoracic cavity has been opened, was found the vena portae, after which nearby of the liver's entrance was applied the first tweezers which compressed plainly the vena (vein). In this way the vessel is stuffed with blood, becoming larger and comfortable for the manipulations. Then the second tweezers is applied in the lower part of the vessel a little bit higher of confluence of one of its ramification in vena portae. Then with ophthalmic scissors an excision is done below the first tweezers (just near by). The excision continues along the vein's route (longitudinal) making a concrete separation of the conjunctive tissue, without any harm to the vessel wall itself. The vein's excision is done just after tweezers.