

14. Zamboni WA, Roth AC, Russell RC, Graham B. Morphologic analysis of the microcirculation during reperfusion of ischemic skeletal muscle and the effect of hyperbaric oxygen. *Plast Reconstr Surg.* 1993; 91: 1110-1123.

## **ROLUL CITOKINELOR PROINFLAMATOARE ÎN PATOGENIA ȘOCULUI HEMORAGIC**

**Victoria Rotaru**

Catedra Fiziopatologie și fiziopatologie clinică

### **Summary**

#### **The role of proinflammatory cytokines in the pathogenesis of hemorrhagic shock**

The blood serum concentration of the proinflammatory cytokines IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF $\alpha$  was studied in experiments in the rabbits with untreated hemorrhagic shock; also a group at animals resuscitated with Ringer's solution and hyaluronic acid has been investigated. In hemorrhagic shock elevation of the cytokines level in the blood takes place, Resuscitation with Ringer's solution is characterized by the increase in the blood concentration of IL-1 $\alpha$ , IL-6 in comparison with untreated shock. Resuscitation with hyaluronic acid enables blood cytokines concentration to decrease in comparison with untreated shock and resuscitation with Ringer's solution. The role of proinflammatory cytokines in the pathogenesis of hemorrhagic shock and post transfusion syndrome is discussed.

### **Rezumat**

În experiențe pe iepuri de laborator cu șoc hemoragic netratat și la animalele resuscitate cu soluție Ringer și acid hialuronic a fost studiată concentrația în serul sanguin al citokinelor proinflamatoare IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF $\alpha$ . Pe parcursul șocului hemoragic are loc creșterea nivelului citokinelor studiate în sângele circulant. Resuscitarea cu soluție Ringer conduce la sporirea nivelului IL-1 $\alpha$ , IL-6 comparativ cu șocul netratat. La resuscitarea cu acid hialuronic nivelul citokinelor în sânge scade comparativ cu șocul netratat și cu resuscitarea cu soluție Ringer. Se discută rolul citokinelor proinflamatoare în patogenia șocului hemoragic și a sindromului postinfuzional.

### **Actualitatea temei**

Șocul hemoragic continuă să rămână o regoare a medicinei de urgență, determinată în fond de incertitudini patogenetice, diagnostic clinico-funcțional și biochimic ce necesită perfectări, precum și de eficiență precară a terapiei infuzionale, care se prezintă axială în cadrul măsurilor de resuscitare.

Reprezentând un răspuns de schimbări sistemice în volumul circulant și în sistemele de organe nonvitale, însoțite de conservarea funcțiilor organelor vitale, hemoragia acută cauzează scăderea frecvenței cardiace, scăderea presiunii arteriale (PA). Aceste schimbări sensibilizează baroreceptorii din arcul aortal și atriile și induc reflexe neurale, manifestate prin creșterea vitezei cardiace, vasoconstricție, centralizarea hemocirculației pe contul organelor nonvitale (piele, tractul gastrointestinal, rinichi).

Sistemele hormonale răspund în șoc hemoragic competitiv: CRH (*corticotropin releasing hormon*) facilitează eliberarea glucocorticoizilor și  $\beta$ -endorfinelor; vasopresina cauzează reabsorbția apei în tubii distali; renina induce creșterea nivelului aldosteronului și eventual reabsorbția ionilor de sodiu (Na<sup>+</sup>) și apei. Hiperglicemia asociată șocului hemoragic acut se datorează acțiunii glucagonului și GH (growth hormone), precum și catecolaminelor circulante.

Cordul posedă autoreglare remarcabilă, întreținând presiunea cerebrală constantă în șocul hemoragic pe o perioadă semnificativă de timp. Rinichii tolerează 90% de scădere a

PA doar pe o perioadă foarte scurtă. O scădere semnificativă a volumului sângelui circulant produce vasoconstricție splanhnică.

Șocul hemoragic inițiază o serie de procese inflamatoare locale și sistemice, prin producerea de citokine proinflamatoare: factorii de necroză tumorală -  $TNF\alpha$  și  $TNF\beta$ , interleukine (IL-1 și IL-6), provocând leziuni tisulare în organele-țintă: ficat, plămâni, intestine, rinichi, creier, cord. Leziunile tisulare ușoare extinse contribuie semnificativ la inițierea răspunsului inflamator sistemic, prin eliberarea mediatorilor (citokinelor, eucosanoidelor), modularea moleculelor expresiei de adeziune leucocitară, influxul celulelor polimorfonucleare în interiorul țesuturilor lezate.

Citokinele sunt o familie de proteine-mediatori solubili ai inflamației, imunității, diferențierii și proliferării unor linii celulare precum și ai procesului de reparație tisulară, prin acțiune specifică asupra unor celule țintă (2).

Sursele celulare ale IL-1 sunt celulele sistemului mononuclear-fagocitar și limfocitele.

IL-1 acționează pe monocite și macrofage cu efect chemotactic, stimulează fagocitoza și producția de mediatorii ai inflamației, îndeosebi de prostaglandine, dar și de citokine ca IL-6, IL-8 și TNF. IL-1 stimulează proliferarea leucocitelor neutrofile, au efect chemotactic, stimulează fagocitoza, expresia moleculelor de adeziune și producția de mediatorii. La fel crește forța de adeziune a leucocitelor la celulele endoteliale, expresia moleculelor HLA, producția de tromboxani și activitatea procoagulantă a endotelocitelor. Pe hepatocite stimulează sinteza și eliberarea „proteinelor de fază acută” prin stimularea transcripției genelor codificatoare a sintezei acestor proteine.

IL-6 este produsă de limfocite, celule fagocitare, celule epiteliale și endoteliale, astrocite, fibroblaști și celule ale măduvei hematogene. În cadrul răspunsului inflamator, IL-6 stimulează producția „proteinelor de fază acută” prin sinteză hepatică (factor hepatocito-stimulator, HSF). Crește producția de proteină C-reactivă,  $\alpha 1$ -chemotripsina,  $\alpha 1$ -glicoproteină acidă și inhibă sinteza de albumine și prealbumine. Stimulează activitatea fagocitară a leucocitelor și participarea acestora la citotoxicitatea celulară-anticorp dependentă (ADCC).

$TNF\alpha$  este produs de celule mononuclear-fagocitare, limfocitele T-antigen activate, neutrofile, mastocite, celule endoteliale și astrocite.  $TNF\beta$  este produs de limfocitele T helper activate. TNF stimulează producția de citokine inflamatorii (IL-1, IL-6, IL-8) și mediatorii ai inflamației - prostaglandine, crește capacitatea citocidă a mononuclearelor activate în cursul inflamației; intervine în procesele de biosinteză la nivelul hepatocitului prin alterarea sau stimularea transcripției genelor care codifică sinteza „proteinelor de fază acută”; crește concentrația de proteină C-reactivă, producția de  $\alpha 2$ -macroglobulină, protein-amiloid A și scade concentrația de albumină și siderofilină(2).

Factorul nuclear NF-kB, activat în ficat, proteina-1 activate sunt reglatori ale citokinelor-IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 și TNF în șocul hemoragic și resuscitare( 5).

Activarea citokinelor este o repercursiune nu numai a impactului hemoragic, dar și a fenomenului de reperfuzie, inevitabil la reinfuzia de lichide, prin ce se declanșează un nou val a răspunsului inflamator.

Acidul hialuronic (AH) cu rol potențial de ameliorare a terapiei infuzionale a ȘH stabilizează membranele celulare, barierele tisulare, posedă acțiune antioxidantă, favorizează menținerii apei celulă și spațiul interstițial (6). În patogenia șocului hemoragic AH are o importanță deosebită, deoarece odată cu aprofundarea hipovolemiei deshidratarea tisulară (translocarea lichidului interstițial în vase) este un mecanism compensator de restituire a pierderilor de sânge. Infuzia de soluții cristaloidice izoosmotice facilitează pierderi de proporții a lichidului instilat în detrimentul restabilirii presiunii sângelui și a presiunii de perfuzie a organelor vitale.

Toate cele expuse mai sus dictează necesitatea stidiului de mai departe a rolului patogenetic al citokinelor în șocul hemoragic și în terapia infuzională.

**Obiectivul** actualei lucrări constă în estimarea dinamicii citokinelor circulante pe parcursul șocului hemoragic și în terapia infuzională cu soluție Ringer și acid hialuronic.

#### **Material și metode de investigație**

Experiențele au fost efectuate pe iepuri de laborator cu masa corporală 2,1-2,2 kg, fără pedigriu, întreținuți în condiții standarte de vivariu cu acces liber la hrană și apă potabilă.

Șocul hemoragic a fost reprodus după C. Wiggers (1950). Sub anestezie locală cu soluție Novocaină 10%-5ml a fost preparată vena femurală, în care a fost introdusă o canulă plastică sterilă conectată la o seringă pentru efuzii de sânge, infuzii sau reinfuzii. Hemoragia a fost efectuată fracționat, în 3 prize câte 10-20 ml de sânge peste fiecare 15-20 min până când presiunea arterială finală s-a stabilit la nivel „de șoc” - 40-45 mm Hg. Presiunea șocogenă a fost menținută pe o perioadă de 90 min prin efuzii suplimentare sau prin reinfuzia sângelui. După 90 minute animalele au fost eliberate de pe masa de operații și menținute în condiții igienice optime cu acces la hrană și apă potabilă. Ulterior de la aceste animale au fost prelevate probe de sânge pentru investigații biochimice la 5 și 24 ore de șoc. La finele experimentului acut (24 ore) animalele au fost sacrificate prin eutanazie (exfuzie letală de sânge).

Resuscitarea animalelor șocate a fost efectuată prin infuzia intravenoasă de soluție Ringer în volum de 3:1 în raport cu volumul sângelui exfuzat sau cu soluție de acid hialuronic de 0,05% în soluție Ringer în același volum de 3:1.

În conformitate cu scopul cercetărilor animalele au fost divizate în 3 loturi:

- lotul I (n=8) – animale cu șoc hemoragic;
- lotul II (n=10) - animale cu șoc hemoragic resuscitate cu soluție Ringer;
- lotul III (n=10) - animale cu șoc hemoragic resuscitate cu soluție de acid hialuronic.

În experiențe a fost utilizat acidul hialuronic obținut din cordoanele ombilicale umane, după metoda brevetată de V. Lutan și colab. (7,8).

Concentrația citokinelor a fost determinată prin metoda imunoenzimatică cu seturi de reagenți IMMUNOTECH (BECKMAN COULTER COMPANY) conform metodei anexate la seturi. Investigațiile au fost efectuate în laboratorul Centrului Diagnostic Republican al Republicii Moldova.

Rezultatele obținute au fost prelucrate statistic cu aplicarea setului de programe statistice Microsoft Excel.

#### **Rezultatele obținute**

Nivelul IL-1 $\alpha$  în serul sanguin la iepurii supuși hemoragiei „de șoc” a fost determinat inițial (până la hemoragie), la 90 minute după hemoragie (perioada timpurie a șocului), la 5 și 24 ore de șoc (perioada tardivă a șocului). Rezultatele obținute sunt reprezentate în tabelul 1.

Nivelul inițial a IL-1 $\alpha$  la iepurii intacti constituie  $7,63 \pm 1,56$  pg/ml. În perioada timpurie a șocului (90 minute) concentrația interleukinei cercetate nu se modifică esențial, rămânând practic la nivelul inițial.

În perioada tardivă a șocului (5 ore) se observă o creștere a nivelului citokinei până la  $12,95 \pm 6,88$  pg/ml, ceea ce constituie o creștere cu cca 70 % comparativ cu nivelul inițial și cu 76% față de 90 min. Ulterior, la 24 ore de șoc, concentrația interleukinei continuă să crească până la  $16,29 \pm 8,80$  pg/ml, ceea ce depășește nivelul inițial cu 113%, la 90 min cu 121%, iar pe cel de la 5 ore – cu 25%.

Or, pe parcursul șocului hemoragic are loc o creștere progresivă a nivelului IL-1 $\alpha$ , cu valoarea maximă la 24 ore de șoc.

Resuscitarea animalelor cu șoc hemoragic a fost efectuată cu soluție Ringer injectată intravenos în volum de 3:1 față de volumul sângelui exfuzat. Resuscitarea s-a realizat la 90 minute de șoc, iar probele de sânge pentru evaluarea concentrației IL-1 $\alpha$  au fost prelevate la 5 și 24 ore de șoc.

Modificările concentrației IL-1 $\alpha$  la animalele șocate și resuscitate cu soluție Ringer (lotul II) sunt reprezentate în tabelul 1. La animalele din lotul II concentrația IL-1 $\alpha$  crește

către 90 min de șoc cu cca 70% referitor cu valorile inițiale. În perioada tardivă a șocului(5 ore) concentrația citokinei crește cu 113% față de valorile inițiale. Comparativ cu perioada de 90 minute creșterea concentrației IL-1 $\alpha$  a constituit 26%. La 24 ore de șoc nivelul IL-1 $\alpha$  depășește cel inițial cu cca 216%, iar dată de 5 ore – cu 48%.

Analiza comparativă a dinamicii concentrației IL-1 $\alpha$  în lotul II demonstrează faptul, că resuscitarea cu soluție Ringer conduce la o creștere mai pronunțată a acestui indice în perioada tardivă a șocului.

Animalele din lotul III au fost resuscitate cu soluție de acid hialuronic (0,05%), administrată intravenos în volum de 3:1 față de volumul sângelui exfuzat la 90 min de șoc. Probele de sânge au fost prelevate până la resuscitare, la 5 și 24 ore de șoc.

Modificările concentrației IL-1 $\alpha$  la animalele șocate și resuscitate cu soluție de acid hialuronic (lotul III) sunt reprezentate în tabelul 1. La animalele din lotul III concentrația IL-1 $\alpha$  crește către 90 min de șoc de la 17,80  $\pm$  3,13 pg/ml până la 20,05  $\pm$  10,62 pg/ml, ceea ce constituie o majorare cu cca 13%. În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația citokinei scade până la 7,14  $\pm$  1,18 pg/ml, ceea ce constituie 40 % față de valorile inițiale, iar comparativ cu 90 minute de șoc – 36%. La 24 ore de șoc nivelul IL-1 $\alpha$  constituie 55% din nivelul inițial. Comparativ cu perioada de 5 ore nivelul interleukinei a crescut cu 38%.

Or nivelul IL-1 $\alpha$  la animalele șocate și resuscitate cu acid hialuronic demonstrează o dinamică diferită de cea descrisă la animalele resuscitate cu soluție Ringer. Spre deosebire de resuscitarea cu soluție Ringer, care conduce la o creștere a nivelului IL-1 chiar mai pronunțată decât la animalele cu șoc netratat, resuscitarea cu soluție de acid hialuronic antrenează o scădere absolută a nivelului interleukinei către 5 ore de șoc. La 24 ore de șoc, deși concentrația IL-1 $\alpha$  crește față de nivelul la 5 ore, totuși ea rămâne sub nivelul inițial.

Tabelul 1

Nivelul IL-1 $\alpha$  (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic netratat (I lot), la resuscitarea cu soluție Ringer (II lot) și cu acid hialuronic (III lot).

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>	P <sub>1-4</sub>
I lot	7,63 $\pm$ 1,56	7,35 $\pm$ 1,91	12,95 $\pm$ 6,88	16,29 $\pm$ 8,80	>0,05	>0,05	>0,05
II lot	6,01 $\pm$ 0,66	10,16 $\pm$ 0,98	12,82 $\pm$ 2,81	18,98 $\pm$ 13,88	<0,01	<0,05	>0,05
III lot	17,80 $\pm$ 3,13	20,05 $\pm$ 10,62	7,14 $\pm$ 1,18	9,86 $\pm$ 2,56	>0,05	<0,01	>0,05
P <sub>I-II</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>I-III</sub>	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>II-III</sub>	<0,01	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;  
 II lot – șoc hemoragic tratat cu soluție Ringer ;  
 III lot – șoc hemoragic tratat cu soluție de acid hialuronic;  
 P<sub>I-II, I-III, II-III</sub> - veridicitatea statistică a modificărilor indicelui cercetat în diferite loturi;  
 P<sub>1-2, 1-3, 1-4</sub> – veridicitatea statistică a modificărilor indicelui cercetat în diferite perioade ale șocului

Rezultatele sunt veridice la valoarea P < 0,05 și <0,01

Nivelul IL-6 a fost determinat inițial (până la hemoragie), la 90 minute după hemoragie, la 5 și 24 ore de șoc după resuscitare. Rezultatele obținute sunt reprezentate în tabelul 2.

Nivelul inițial a IL-6 constituie 32,35  $\pm$  8,78 pg/ml. În perioada timpurie a șocului (90 minute) concentrația interleukinei cercetate scade, ceea ce constituie 71% din nivelul inițial.

În perioada tardivă a șocului (5 ore) nivelul citokinei continuă să scadă nesemnificativ până la 21,07 $\pm$ 2,09 pg/ml, ceea ce alcătuiește 65% comparativ cu valoarea inițială și 92% față de 90 min. Ulterior, la 24 ore de șoc, concentrația interleukinei crește până la 24,40  $\pm$  3,06 pg/ml, ceea ce constituie 75%, la 90 min- 6%, la 5 ore – 15%.

Or, pe parcursul șocului hemoragic are loc o scădere marcată a nivelului IL-6 la 90 min și 5 ore, atingând valoare majorată la 24 ore de șoc.

Resuscitarea animalelor cu soluție Ringer s-a realizat la 90 minute de șoc după aceleași principii, iar probele de sânge pentru evaluarea concentrației IL-6 au fost recoltate la 5 și 24 ore de șoc.

Modificările concentrației IL-6 la animalele supuse șocului și resuscitate cu soluție Ringer (lotul II) sunt reprezentate în tabelul 2. La animalele din lotul II concentrația IL-6 descrește către 90 min de șoc neînsemnat până la 97% din valorile inițiale. În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația citokinei crește cu 19% față de valorile inițiale. Comparativ cu perioada de 90 min creșterea concentrației IL-6 a constituit 23%. La 24 ore de șoc nivelul IL-6 scade cu 17% față de nivelul de 5 ore.

Astfel, pentru lotul II se constată scăderea nivelului IL-6 la 90 min și o creștere a valorilor ei pe perioada șocului tardiv.

În cadrul asocierii terapiei infuzionale cu acid hialuronic se constată creșterea nivelului IL-6 la 90 min de la  $17,34 \pm 3,84$  pg/ml până la  $21,24 \pm 2,30$  pg/ml, ce constituie 23%.

În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația interleukinei cercetate nu se modifică esențial, rămânând practic la același nivel. La 24 ore de șoc nivelul IL-6 constituie 118% din nivelul inițial, iar comparativ cu perioada de 5 ore nivelul interleukinei a scăzut doar cu 4%.

Analiza comparativă a dinamicii concentrației IL-6 în lotul II demonstrează o alternanță de scădere la 90min și 24 ore a șocului cu creștere a nivelului citochinei la 5 ore față de 90min.

Tabelul 2

Nivelul IL-6 (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic netratat (I lot), la resuscitarea cu soluție Ringer (II lot) și cu acid hialuronic (III lot).

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>	P <sub>1-4</sub>
I lot	$32,35 \pm 8,78$	$22,97 \pm 2,07$	$21,07 \pm 2,09$	$24,40 \pm 3,06$	>0,05	>0,05	>0,05
II lot	$19,62 \pm 2,14$	$18,98 \pm 0,92$	$23,44 \pm 2,77$	$19,48 \pm 1,28$	>0,05	>0,05	>0,05
III lot	$17,34 \pm 3,84$	$21,24 \pm 2,30$	$21,41 \pm 1,88$	$20,50 \pm 1,29$	>0,05	>0,05	>0,05
P <sub>I-II</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>I-III</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>II-III</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;

II lot – șoc hemoragic tratat cu soluție Ringer ;

III lot – șoc hemoragic tratat cu soluție de acid hialuronic;

P<sub>I-II, I-III, II-III</sub> - veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite loturi;

P<sub>1-2, 1-3, 1-4</sub> – veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite perioade ale șocului

Rezultatele sunt veridice la valoarea  $P < 0,05$  și  $< 0,01$

Nivelul TNF $\alpha$  a fost determinat inițial, la 90 minute (perioada timpurie) după hemoragie, la 5 și 24 ore (perioada tardivă) de șoc după resuscitare. Probele de sânge au fost recoltate respectiv inițial, la 90min, 5 ore și 24 ore pentru fiecare lot. Rezultatele obținute sunt reprezentate în tabelul3.

Devierea nivelului TNF $\alpha$  în lotul I (animale șocate fără tratament) atestă o creștere cu 13% la 90 min de șoc comparativ cu inițial, dar o tendință de scădere cu 22 % la 5 ore și cu cca 36 % de la valoarea inițială la 24 ore.

La animalele din lotul II concentrația TNF $\alpha$  crește neînsemnat către 90 min de șoc cu cca 8% comparativ cu valorile inițiale. În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația citokinei scade cu circa 37% față de valorile inițiale. Comparativ cu perioada de 90 minute

scăderea concentrației TNF $\alpha$  a constituit 42%. La 24 ore de șoc nivelul TNF $\alpha$  a fost mai mic decât cel inițial cu cca 37%, iar față de 5 ore nu se modifică semnificativ.

Analiza comparativă a dinamicii concentrației TNF $\alpha$  în lotul II demonstrează faptul, că resuscitarea cu soluție Ringer conduce la o creștere a acestui indice în perioada precoce a șocului și o scădere menținută în perioada tardivă a șocului.

La animalele din lotul III concentrația TNF $\alpha$  descrește către 90 min de șoc de la 162,85  $\pm$  29,08pg/ml până la 80,44  $\pm$  18,25 pg/ml, ceea ce constituie o scădere cu cca 50%. În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația citokinei scade până la 60,75  $\pm$  15,34 pg/ml, ceea ce constituie 37 % din valorile inițiale, iar comparativ cu 90 minute de șoc – 76%. La 24 ore de șoc nivelul TNF $\alpha$  constituie 27% din nivelul inițial. Comparativ cu perioada de 5 ore nivelul interleukinei a crescut cu cca 240%.

Or nivelul TNF $\alpha$  la animalele șocate și resuscitate cu acid hialuronic demonstrează o dinamică diferită de cea descrisă la animalele resuscitate cu soluție Ringer. Spre deosebire de resuscitarea cu soluție Ringer, care conduce la o creștere a nivelului TNF $\alpha$ , resuscitarea cu soluție de acid hialuronic antrenează o scădere absolută a nivelului interleukinei către 5 ore de șoc. La 24 ore de șoc, concentrația TNF $\alpha$  crește față de nivelul la 5 ore, și rămâne majorat chiar comparativ cu nivelul inițial.

Tabelul 3

Nivelul TNF $\alpha$  (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic netratat (I lot), la resuscitarea cu soluție Ringer (II lot) și cu acid hialuronic (III lot)

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>	P <sub>1-4</sub>
I lot	98,57 $\pm$ 20,66	110,86 $\pm$ 22,92	77,07 $\pm$ 19,83	62,74 $\pm$ 23,02	>0,05	<0,05	>0,05
II lot	70,95 $\pm$ 17,27	76,88 $\pm$ 16,83	44,39 $\pm$ 10,47	44,77 $\pm$ 13,74	>0,05	>0,05	>0,05
III lot	162,85 $\pm$ 29,08	80,44 $\pm$ 18,25	60,75 $\pm$ 15,34	206,52 $\pm$ 130,46	<0,05	<0,05	>0,05
P <sub>I-II</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>I-III</sub>	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			
P <sub>II-III</sub>	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;

II lot – șoc hemoragic tratat cu soluție Ringer ;

III lot – șoc hemoragic tratat cu soluție de acid hialuronic;

P<sub>I-II, I-III, II-III</sub> - veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite loturi;

P<sub>1-2, 1-3, 1-4</sub> – veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite perioade ale șocului

Rezultatele sunt veridice la valoarea P < 0,05 și <0,01

## Discuții

Citochinele prezintă substanțe biologice active (oligopeptide) sintetizate de celulele de origine mezenchimală (celule limfoide și nonlimfoide) cu acțiune autocrină (asupra însăși celulelor secretoare), paracrină (asupra celulelor limitrofe prin lichidul interstițial) și endocrină (asupra celulelor-țintă îndepărtate prin intermediul limfei și sângelui. Stimulenți fiziologici pentru sinteza și secreția citokinelor sunt antigenele și flogogenele. În șocul hemoragic acestea sunt antigenele eliberate din celulele lezate sau pătrunse în mediul intern prin barierele histohematice compromise (de ex., din tractul digestiv). Pe lângă aceasta în șoc are loc activarea sistemului proinflamator (de ex., prin factorul NF-kB) și inducția sintezei de citokine.

Prezența citokinelor este ubicvutară, iar efectul acestora depinde de reactivitatea și specificul celulelor – țintă. Spectrul activității biologice a citokinelor este extrem de vast: modularea răspunsului inflamator, imun, reglarea hematopoezei, efecte hematopoetice.

Datorită labilității acestor substanțe, perioada lor de înjumătățire este foarte scurtă (minute), din care cauză efectele acestora se manifestă predominant local prin dezvoltarea reacției inflamatoare locale. În investigațiile histologice a fost demonstrată dezvoltarea reacțiilor inflamatorii locale în majoritatea organelor vitale – miocard, rinichi, intestine, ficat (A.Bîtca).

Secretate în exces citokinele pătrund în circulația sistemică, acționând asupra celulelor-țintă îndepărtate de locul sintezei acestora, întreținând efecte generalizate (efect sistemic de tip endocrin). Majoritatea acestor efecte poartă caracter defensiv – imunostimulare, efect antiinflamator, antitumoral. Concentrațiile excesive de citokine în sângele circulant exercită acțiune persistentă și antrenează astfel fenomene patologice întrunite în sindromul inflamator sistemic (pasajul și infiltrația cu celule hematogene a spațiilor interstițiale, migrarea neutrofilelor în spațiul tisular, expresia moleculelor de adeziune pe endoteliului vascular). Inflamația locală cu insuficiența multiplă a organelor vitale în asociație cu sindromul inflamator sistemic determină evoluția extrem de gravă a șocului hemoragic cu numeroase complicații și pronostic fatal.

Concentrația citokinelor în circulația sistemică este rezultanta a câtorva procese: vitezei de sinteză și secreție a citokinelor, vitezei de diseminare, care este funcție a perfuziei de organ și de *clearance*-ul acestor substanțe pe cale renală sau prin degradare chimică. Aceasta explică caracterul neunivoc al dinamicii concentrației citokinelor în sângele circulant: concentrația IL-1 și TNF crește la 90 minute de șoc, în timp ce concentrația IL-6 scade. Ulterior, la 5 și 24 ore concentrația IL-1 crește în valoare absolută, pe când concentrația IL-6 – doar relativ cu perioada de 5 ore. Concentrația TNF crește la 90 minute, dar scade în perioadele tardive ale șocului.

O altă problemă a șocului hemoragic prezintă sindromul postinfuzional.

În condiții de hipoperfuzie în șocul decompensat are loc acumularea în organe și țesuturi a cataboliților, produselor de dezintegrare celulară, a substanțelor biologice active, inclusiv a citokinelor. La restabilirea perfuziei prin infuzii lichidiene, aceste produse sunt diseminate în circulația sistemică, antrenând efecte generalizate. Invadarea circulației sistemice cu citokine produce sindromul inflamației generalizate. Aceasta necesită respectarea regimului optim de reperfuzie, pentru ca gradul de toxinemie, citokinemie să corespundă *clearance*-lui - capacității organismului de epurare.

Resuscitarea cu soluție Ringer conduce la creșterea concentrației de IL-1 și IL-6 în sânge, ceea ce poate fi explicat prin ameliorarea perfuziei organelor și diseminarea mai intensă a citokinelor din locul sintezei în circulația sistemică. De menționat totuși, că dinamica creșterii nivelului IL-1 în rezultatul restabilirii perfuziei este mai pronunțată decât cea a IL-6.

Concentrația TNF după infuzia soluției Ringer scade esențial, comparativ cu perioada de 90 minute, rămânând la acest nivel scăzut până la 24 ore.

Acidul hialuronic reprezintă substanța de bază a matricei intercelulare, a membranelor bazale, a barierelor histohematice și a glicocalixului celulelor. Acidul hialuronic determină în mare măsură permeabilitatea membranelor biologice, schimbul citoplasmatic-interstițial și transcapilar. În investigațiile efectuate de O.Galbur (6) aplicarea locală și administrarea parenterală a acidului hialuronic a demonstrat efect benefic în tratamentul experimental al șocului combustional. Mai mult, acidul hialuronic posedă efecte antiinflamatorii, antioxidante. Aceste proprietăți au servit premize pentru utilizarea acidului hialuronic în terapia infuzională experimentală a șocului hemoragic.

Infuzia soluției de 0,05% de acid hialuronic la 90 minute de șoc hemoragic a redus substanțial concentrația IL-1 în sânge chiar mai jos de nivelul inițial. Concentrația IL-6 după infuzia acidului hialuronic s-a stabilizat la nivelul înregistrat la 5 ore de șoc, fără tendință de creștere. Concentrația TNF succesiv administrării acidului hialuronic scade la 5 ore, dar înregistrează o creștere față de nivelul inițial la 24 ore de șoc.

Explicație a dinamicii concentrației în sânge a citokinelor pot servi efectele antiinflamatoare, antioxidante ale acidului hialuronic, cât și capacitatea acestuia de a consolida membranele celulare și barierele biologice.

### **Concluzii**

1. Pe parcursul șocului hemoragic are loc intensificarea sintezei și secreției citokinelor IL-1 $\alpha$  și TNF cu creșterea concentrației acestora în sângele periferic.
2. Resuscitarea cu soluție Ringer conduce la creșterea concentrației de IL-1 și IL-6 în sângele circulant.
3. Resuscitarea cu soluție de acid hialuronic scade concentrația în sânge a IL-1 și TNF la 5 ore de șoc și stabilizează nivelul de IL-6.

### **Bibliografia**

1. Chaudry IH, Ayala A: Immunological Aspects of Hemorrhage, Austin TX: RG Landes Company, 1992, pp.69-71
2. Gluhovschi G. Actualități în imunologia clinică, Timișoara, 1994
3. Chan MM-J: Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin: a phytochemical. Biochem Pharmacol 49:1551-1556; 1995
4. Baldwin AS: The NF- $\kappa$ B and I $\kappa$ B proteins: new dimensions and insights. Annu Rev Immunol 14: 649-681, 1996
5. Xu YX Pindolia KR, Janakiram N, Chapman RA, Gautam SC: Curcumin inhibits IL-1 $\alpha$  and NF- $\kappa$ B DNA-binding activity in bone marrow stromal cells. Hematopathol Mol 11:49-62, 1998
6. Galbur O., Terapia experimentală a șocului combustional cu acid hialuronic și compoziții medicamentoase în baza acidului hialuronic. Teza de doctor în științe medicale, Chișinău, 2001;
7. Lutan V. Galbur O. Brevet de invenție 204/NP/06/A/7/Z N3465 din 29.09.2000 Metodă de tratament a bolii arșilor în perioada șocului combustional .2001
8. Lutan V, Galbur O. Metodă de tratament al bolii arșilor în perioada șocului combustional. Brevet de Invenție, 2002, MD 1568 G2
9. Weindl G., Scheller M. et al., (2004).
10. Savage SA, Fitzpatrick CM, Kashyap VS, et al Endothelial dysfunction after lactated Ringer's solution resuscitation for hemorrhagic shock. J Trauma. 2005 Aug; 59(2):284-90.

## **PARTICULARITĂȚILE PATOGENETICE ALE SINDROMULUI POSTINFUZIONAL ÎN ȘOCUL HEMORAGIC LA RESUSCITAREA CU ACID HIALURONIC**

**Victoria Rotaru, Vasile Lutan**

Catedra Fiziopatologie și fiziopatologie clinică

### **Summary**

#### **Pathogenetic peculiarities of the post infusion syndrom in hemorrhagic shock in conditions of resuscitation with hyaluronic acid**

Intravenous administration of hyaluronic acid(AH) was effectuated in the infusion therapy of hemorrhagic shock. Resuscitation with HA leads to decrease in the blood concentration of IL-1 $\alpha$ , and TNF $\alpha$ , in comparison with untreated shock. The role of HA in the evolution of post infusion syndrome is discussing.

### **Rezumat**

Terapia infuzională a șocului hemoragic a fost efectuată prin administrarea intravenoasă a acidului hialuronic. Resuscitarea cu AH scade nivelul IL-1 $\alpha$  și TNF $\alpha$  în sânge comparativ cu șocul netratat. Se discută rolul AH în evoluția sindromului postinfuzional.