

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 α 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- κ B and I κ 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 α and NF- κ B DNA-binding activity in bone marrow stromal cells. Hematopathol Mol 11:49-62, 1998
6. Galbur O., Terapie experimentale 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 α , and TNF α , in comparison with untreated shock. The role of HA in the evolution of post infusion syndrome is discussing.

Rezumat

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

Actualitatea temei

Actualmente terapia infuzională a șocului hemoragic reprezintă metoda optimă de redresare a circulației sanguine și a indicilor hemodinamici respectivi în scopul restabilirii aportului de oxigen și substanțe nutritive pentru organele vitale și înlăturării reziduurilor catabolice toxice.

Terapia infuzională urmărește următoarele obiective:

-corecția adecvată a hipovolemiei, revenirea homeostazei circulatorii și a nivelului de perfuzie a organelor vitale (cord și creier);

-ameliorarea aprovizionării celulelor cu oxigen;

-corecția electrolică, a acidozei și a echilibrului hidric în spațiul intracelular și extracelular;

-atenuarea sindromului „no-reflow” ischemic (1).

Un dezavantaj al terapiei infuzionale reprezintă sindromul postinfuzional.

Patogenia sindromului postinfuzional include următoarele componente: 1) sindromul „no-reflow” (lipsa perfuziei); 2) leziunile celulare; 3) dereglările volemiei, hemodinamicii intraorganice și homeostaziei.

Fenomenul „no-reflow” reprezintă perfuzia inadecvată a organelor datorată spasmului arteriolar durabil, instalat după o perioadă de ischemie critică în rezultatul afecțiunii endoteliului vascular și dereglării reactivității, dereglării hemostazei și a proprietăților reologice ale sângelui. Astfel, în cadrul șocului hemoragic se crează condiții pentru instalarea sindromului „no-reflow” nu numai în faza de hipovolemie, dar și în terapie infuzională. Lipsa efectului terapiei de infuzie este explicat prin vasospasm pasiv (edem endoteliocitar și interstițial), vasospasm activ (alterare și disfuncție endotelială pe fundalul creșterii răspunsului vascular la stimuli adrenergici, endotelinici, angiotensinici), tulburări ale hemostazei și reologiei sângelui (reacție inflamatorie), activarea stresului oxidativ(3).

Consecințele sindromului postinfuzional sunt:

-hipoperfuzia regională a organului aflat îndelungat în ischemie și hipoxie profundă;

-redistribuirea intraorganică inadecvată a circulației sanguine;

-reținerea în organe a produselor metabolice toxice pe fundal de ischemie și hipoxie cu menținerea pH local acid;

-creșterea riscului expansiunii edemului interstițial proporțional cu majorarea presiunii hidrostatice (în infuzii de soluții cristaloide izotonice), ceea ce mărește zona de necroză celulară.

Cele expuse dictează necesitatea selectării ingredientilor infuzionali, care ar atenua sindromul postinfuzional. O substanță potențial favorizantă pentru terapia infuzională poate servi acidul hialuronic.

Acidul hialuronic(AH) demonstrează proprietăți fizico-chimice distincte, evidentă fiind capacitatea de a forma în apă soluții vâscoase, care facilitează funcția de lubrifiere și de filtrare. Cantitatea lui sporește în inflamație sub acțiunea citokinelor proinflamatoare (TNF α , IL-1, IL-2). În focarul inflamator acidul hialuronic din matricea extracelulară reține celulele emigrate din sânge, stimulează celulele endoteliale, procesele reparative tisulare și angiogeneza. Acidul hialuronic inhibă adeziunea trombocitelor, ameliorând astfel proprietățile reologice ale sângelui; diminuează pasajul plachetelor în stratul intim al peretelui vascular; realizează efect membranostabilizator și antioxidant. Administrat intravenos induce hematopoieză prin stimularea sintezei IL-1 și IL-6(4,5).

Efectele respective au servit suport pentru implementarea AH în terapia postinfuzională a șocului hemoragic.

Materiale 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 cu soluție de acid hialuronic de 0,05% în volum de 3:1 la 90 min.

În conformitate cu scopul cercetărilor animalele au fost divizate în 2 loturi:

- lotul I (n=8) – animale cu șoc hemoragic;
- 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.

Rezultate obținute

Nivelul IL-1 α 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 α 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 până la 70% comparativ cu nivelul inițial. 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 87%, iar cel de la 5 ore – cu 25%.

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

Animalele din lotul II 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 la animalele șocate și resuscitate cu soluție de acid hialuronic (lotul II) sunt reprezentate în tabelul 1. La animalele din lotul II concentrația IL-1 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 12%. În perioada tardivă a șocului (5 ore) concentrația citochinei scade până la 7,14 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 constituie 55% din nivelul inițial. Comparativ cu perioada de 5 ore nivelul interleuchinei a crescut cu 38%.

Or nivelul IL-1 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 interleuchinei către 5 ore de șoc. La 24 ore de șoc, deși concentrația IL-1 crește față de nivelul la 5 ore, totuși ea rămâne sub nivelul inițial. 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.

Tabelul 1

Nivelul IL-1 α (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic la resuscitarea cu soluție acid hialuronic (II lot)

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₁₋₄
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	$17,80 \pm 3,13$	$20,05 \pm 10,62$	$7,14 \pm 1,18$	$9,86 \pm 2,56$	>0,05	<0,01	>0,05
P _{I-II}	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;

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

P_{I-II} - veridicitatea statistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite loturi;

P_{1-2, 1-3, 1-4} – veridicitatea statistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite perioade ale șocului

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

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.

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%.

Tabelul 2

Nivelul IL-6 (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic la resuscitarea cu soluție acid hialuronic (II lot)

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₁₋₄
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	$17,34 \pm 3,84$	$21,24 \pm 2,30$	$21,41 \pm 1,88$	$20,50 \pm 1,29$	>0,05	>0,05	>0,05
P _{I-II}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;

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

P_{I-II} - veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite loturi;

P_{1-2, 1-3, 1-4} – veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite perioade ale șocului

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

Nivelul TNF α 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 tabelul 3.

Devierea nivelului TNF α 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 α 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 α constituie 27% din nivelul inițial. Comparativ cu perioada de 5 ore nivelul interleukinei a crescut cu cca 240%.

Or 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 α crește față de nivelul la 5 ore, și rămâne majorat chiar comparativ cu nivelul inițial.

Tabelul 3

Nivelul TNF α (picograme la mililitru; pg/ml) în serul sanguin pe parcursul șocului hemoragic la resuscitarea cu acid hialuronic (II lot)

Lotul	1 Inițial	2 90min	3 5ore	4 24ore	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₁₋₄
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	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 _{I-II}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05			

Notă: I lot – șoc hemoragic;

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

P_{I-II} - veridicitatea statistică a modificărilor indiciului cercetat în diferite loturi;

P_{1-2, 1-3, 1-4} – veridicitatea ststistică a modificărilor indiciului cercetet în diferite perioade ale șocului

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

Procesul inflamator sistemic a fost apreciat în dependență de determinarea nivelelor IL-1, IL-6, TNF.

Rezultatele de testare a efectului AH în vederea unui posibil impact asupra activității IL-1, IL-6, TNF în sângele animalelor de laborator sunt reprezentate respectiv în tabelele 1,3.

Remarcabil, că în lotul II, la resuscitarea cu acid hialuronic 0,05%, nivelul IL-1 a fost mai inferior, explicat probabil prin capacitatea glucozaminoglicanului de a stabili membranele celulare și barierele tisulare.

În cadrul asocierii terapiei infuzionale cu acid hialuronic se constată prevalența răspunsului în sensul înhibării, blocării producției de mediatorii ai inflamației precum și a scăderii expresiei moleculelor de adeziune intercelulară.

Discuții

Una din problemele terapiei infuzionale a șocului hemoragic prezintă sindromul postinfuzional.

În condiții de hipoperfuzie în șocul decompensat are loc acumularea în organe și țesuturi a cataboliților, produșilor de dezintegrare celulară, a substanțelor biologice active, inclusiv a citokinelor. La restabilirea perfuziei prin infuzii lichidiene, acești produși sunt diseminați 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, citochinemie să corespundă *clearence*-lui - capacității organismului de epurare.

Acidul hialuronic reprezintă substanța de bază a matricei intercelulare, a membranelor bazale, a barierei 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 (2) 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

4. Pe parcursul șocului hemoragic are loc intensificarea sintezei și secreției citokinelor IL-1 α și TNF cu creșterea concentrației acestora în sângele periferic.
5. 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.

Bibliografie

1. Bîncă A. Corelații morfo-biochimice în patogenia șocului hemoragic. Teza de doctor în științe medicale, Chișinău-2007.
2. Galbur O. Terapia experimentală șocului combustional cu acid hialuronic și compoziții ștmedicamentoase în baza acidului hialuronic. Teza de doctor în științe medicale, Chișinău, 2001.
3. Marzi I. Hemorrhagic shock: update in pathophysiology and therapy, Acta Anaesthesiol Scand Suppl, 1997, 111:42-4.
4. Magder S, Cernacek P. Role of endothelins in septic, cardiogenic, and hemorrhagic shock. Can J Physiol Pharmacol, 2003, 81(6):696-43.
5. Papakonstantinou E, Karakiulakis G, Roth M, Block L. Platelet-derived growth factor stimulates the secretion of hyaluronic acid by proliferating human vascular smooth muscle cells. Proc Natl Acad Sci, 1995, 92:9881-85.

INTERPRETAREA SPECTRELOR DE ÎMPRĂȘTIERE COMBINATĂ ÎN COMPUȘII $Zn_xIn_2S_{3+x}$

Efim Aramă*, **Vasile Jitari****, **Tatiana Șemeacova****, **Valentina Pântea*****

* Catedra Biofizică, Informatică și Fiziologia Omului;

** Institutul de Fizică Aplicată al AȘ RM

***Univeritatea Tehnică din Moldova

Summary

Raman spectra in $Zn_xIn_2S_{3+x}$ single crystals

Raman spectra were studied in layered $Zn_xIn_2S_{3+x}$ single crystals ($x = 1, 2, 3$) in the range of $10 \div 400 \text{ cm}^{-1}$ under the laser excitation using several laser frequencies. Polarized spectra were obtained for $ZnIn_2S_4$ at the temperatures of 77 and 300 K. The results were interpreted taking the proper account of the data of X-ray analysis. The peculiarities of vibration spectra were elucidated on the basis of various structural location of In and Zn atoms in the voids of tetrahedral and octahedral packages in the three studied materials.