

NIVELUL CITOCHINEMIEI ÎN ȘOCUL HEMORAGIC EXPERIMENTAL ASOCIAT CU ETANOLISM ACUT PINA ȘI DUPĂ RESUSCITARE PRIN DEXTRAN 70 ȘI RAVITEN (DIFETUR)

Anatol Vișnevschi, Stela Todiraș, Elena Balica

Catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie clinică USMF "Nicolae Testemițanu"

Summary

Cytokine levels in experimental hemorrhagic shock associated with acute ethanolism before and after resuscitation with Dextran 70 and Raviten (Difetur)

Administering the combination of colloid Dextran 70 solution with concomitant NOS-inhibitor Raviten (Difetur) to shocked animals with ethanol intoxication showed lowering of serum pro-inflammatory cytokines (IL-1; IL-6 and TNF- α) with considerable increase of IL-10 level (anti-inflammatory cytokine), phenomenon that would contribute to the reduction of systemic cellular injuries. Pathogenetic therapy of experimental hemorrhagic shock with ethanol intoxication consisting of Dextran and Difetur has resulted in decreased serum levels of pro-inflammatory cytokines, increased levels of anti-inflammatory cytokines, which confirms the opportunity of supplementing the basic therapy with NOS inhibitors.

Rezumat

Administrarea combinației soluției coloidale Dextran 70 concomitent cu inhibitorul NOS-Raviten (Difetur) animalelor șocate pe fondal de alcoolemie a atestat reducerea veridică în serul sanguin a nivelului citokinelor proinflamatoare (IL-1; IL-6 și TNF α) cu creșterea considerabilă a nivelului IL-10 (citokină antiinflamatoare) fenomen ce ar contribui la reducerea leziunilor celulare sistemice. Tratamentul patogenetic al ȘH experimental pe fondal de alcoolemie cu Dextran și Difetur a determinat reducerea nivelului de citokine proinflamatoare, creșterea nivelului citokinelor antiinflamatoare ceea ce confirmă oportunitatea suplینirii tratamentului de bază cu inhibitori ai NOS.

Actualitatea

Studierea mecanismelor patogenetice și a posibilităților de resuscitare a șocului hemoragic este determinată de faptul că aproximativ 40% din letalitatea persoanelor traumatizate revine dezvoltării acestei complicații. Actualmente, s-a constatat că prevalența șocului hemoragic în structura complicațiilor fatale este de 7-25% iar mortalitatea până la 15- 40%, fără tendință spre micșorare, în pofida multiplelor studii teoretice și implimentării metodelor și preparatelor noi în tratamentul șocului hemoragic. Aceste fenomene pot fi determinate de cunoașterea insuficientă a mecanismelor patogenetice de dezvoltare a șocului hemoragic, deoarece în pofida manevrelor de resuscitare se poate dezvolta insuficiența poliorganică care poate culmina cu moartea organismului [1, 3, 16, 17].

Un rol deosebit de important în creșterea incidenței și mortalității persoanelor cu diverse leziuni traumatice (în particular la persoanele tinere) este atribuit intoxicației cu alcool. Potrivit unui studiu realizat de compania Nielsen referitor la consumul de produse alcoolice pe plan mondial, republica Moldova se regăsește în topul țărilor cu o rată de consum de alcool ridicată pe locul al patrulea, cu o medie de 13,2 litri/cap locuitor matur. Aproximativ 25-40% din leziuni traumatice însoțite de șoc hemoragic sunt pe fondal de intoxicație acută cu etanol. Impactul intoxicației acute cu alcool asupra răspunsului organismului în cadrul leziunilor de diferită origine este studiat insuficient. Persoanele intoxicate cu alcool sunt predispușe de a prezenta leziuni mult mai severe [12] .

În condiții fiziologice nivelul citokinelor pro- și antiinflamatoare se află într-un echilibru care menține homeostazia biologică a organismului. Prin urmare, în cazul dereglării acestui echilibru prin producerea crescută de citokine proinflamatoare se dezvoltă SIS, iar când în organism este surplus de citokine cu efect antiinflamator se dezvoltă stări imunosupresive care reduc rezistența organismului față de agenții infecțioși [5, 6]. Atât SIS cât și stările cu

imunosupresie în cadrul șocului hemoragic pot culmina cu insuficiența poliorganică [4, 7, 9,14, 15].

Scopul prezentului studiu constă în aprecierea nivelului citochinemiei în cadru ȘH asociat cu alcoolemie acută pînă și după resuscitare prin infuzia soluției coloidale Dextran 70 și a inhibitorului nitricoxidsintazei Raviten (Difetur).

Materiale și metode

Pentru realizarea experimentelor au fost utilizați 50 șobolani albi. Animalele au avut condiții standarde de întreținere: temperatura mediului constantă (21-22°C), umiditatea aerului stabilă, regimul întuneric-lumină (12:12 ore), plasate solitar în cușcă.

În conformitate cu obiectivele studiului animalele de laborator au fost divizate în următoarele loturi:

- **Lotul I** (n=10)- lotul martor.
- **Lotul II** (n=10)- animalele supuse șocul hemoragic pe fondal de intoxicație acută cu alcool.
- **Lotul III** (n=10)- animalele supuse șocului hemoragic timp de 120 minute și resuscitate prin terapia de infuzie cu Dextran 70.
- **Lotul IV** (n=10) - animalele supuse șocului hemoragic timp de 120 minute și resuscitate prin terapia de infuzie cu inhibitorul nitic oxid sintazei.
- **Lotul V** (n=10) - animalele supuse șocului hemoragic timp de 120 minute și resuscitate prin terapia de infuzie cu inhibitorul nitic oxid sintazei + Dextran 70.

Șocul hemoragic (ȘH) a fost produs prin efuzia a 30% din volumul total de sânge din vena femurală. Volumul total de sânge a fost calculat conform formulei:

$$VTS = 0,06 \times MC + 0,77$$

VTS- volumul total de sânge ; MC- masa corporală.

Intoxicația acută cu alcool a fost modelată prin administrarea intraperitoneală a etanolului de 20% în doză de 3g/kg cu 60 minute pînă la hemoragie (nivelul alcoolemiei 170 +/- 50 mg/dL).

Cantitatea IL1, IL6, TNF-alfa, IL-10 în serul sanguin a fost determinată prin metoda imunoenzimatică cu utilizarea chitului de reactive R&D System (SUA), Rat , conform instrucției manufacturate.

Difetur (Raviten) și Dextran 70 s-a administrat intravenos în doză de 20 mg și 15 ml -kg masa corporală.

Rezultate

Infuzia combinației Dextran - Difetur animalelor cu șoc hemoragic și alcoolemie a condus la creșterea nivelului IL-6 cu 53% (p<0,05) (fig. 1) comparativ cu nivelul seric al acesteia la animalele din lotul martor și o creștere ne semnificativă cu 8% în raport cu nivelul acesteia la animalele cu șoc hemoragic cu alcoolemie resuscitate cu Difetur. În raport cu valoarea din lotul cu șoc hemoragic și etanolism fără resuscitare, IL-6 prezintă o micșorare semnificativă cu 18% (p<0,05) iar în raport cu valoarea din lotul cu șoc hemoragic și alcoolemie resuscitat cu Dextran- o reducere cu 26% (p<0,05).

Valoarea IL-1α la animalele cu șoc hemoragic și alcoolemie resuscitate prin combinația Dextran -Difetur a prezentat o creștere cu 30% (p<0,05) în raport cu valorile serul sanguin la animalele din lotul martor și cu 67% (p<0,05) și 25% (p<0,05) respectiv, versus nivelul din loturile resuscitate cu Dextran și Difetur separat.

Cantitatea TNFα în serul sangiun a crescut cu 27% (p<0,05) versus concentrația din lotul martor, dar s-a micșorat veridic cu 12% (p<0,05) și 13% (p<0,05) în raport cu valoarea apreciată în lotul cu șoc hemoragic și alcoolemie și șoc hemoragic resuscitat cu Difetur.

La resuscitarea animalelor prin combinația Dextran- Difetur, IL-10 a prezentat valori crescute cu 38% (p<0,05) versus valorile din lotul martor și cu 152% (p<0,05) în raport cu

nivelul din lotul cu șoc hemoragic cu alcoolemie fără resuscitare. Aceiași tendință semnificativă de creștere cu 230 % ($p < 0,05$) și 38% ($p < 0,05$) a fost apreciată și în comparație cu nivelul din loturile resuscitate cu Dextran și resuscitate cu Difetur.

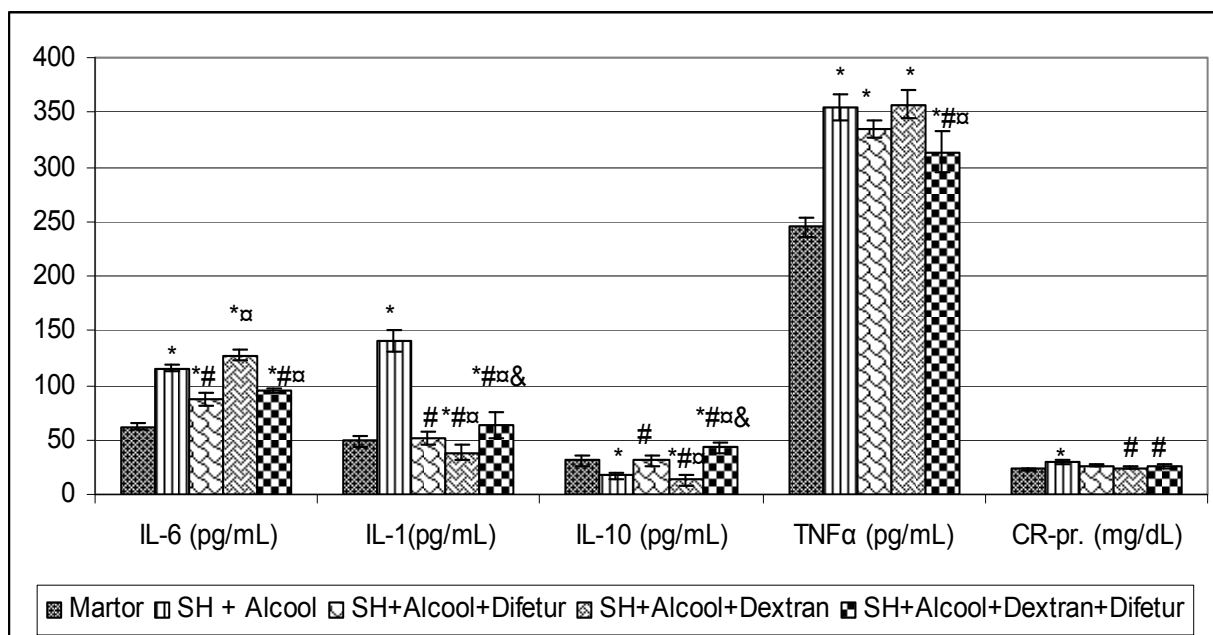


Figura 1. Cantitatea citokinelor pro- și antiinflamatoare în serul sângiun în șocul hemoragic cu alcoolemie resuscitat prin combinația Dextran + Difetur.

Legendă: *- discrepanță semnificativă comparativ cu valoarea din lotul martor; α- discrepanță semnificativă comparativ cu valoarea din lotul cu șoc hemoragic cu alcoolemie; #- discrepanță semnificativă comparativ cu valoarea din lotul cu șoc hemoragic cu alcoolemie resuscitat cu Difetur; &- discrepanță semnificativă comparativ cu valoarea din lotul cu șoc hemoragic cu alcoolemie resuscitat cu Dextran.

Discuții

Citokinele proinflamatorii dețin rolul cheie de mesager intercelular în procesul de inițiere, amplificare și perpetuare a răspunsului inflamator local și cel sistemic. Șocul hemoragic declanșează un răspuns inflamator, caracterizat prin eliberarea sistemică rapidă a factorului necrozei tumorale (TNF- α). Este stabilit, că în cadrul șocului hemoragic are loc și activarea factorului nuclear-kB (NF-kB) prin mecanismul stresului oxidativ [2]. În cadrul ischemiei crește sinteza oxiradicalilor care sporesc transcripția NF-kB, rezultând creșterea nivelului de TNF- α . La rândul său, TNF- α stimulează leucocitele polimorfonucleare, care sporesc producția oxiradicalilor, care măresc transcripția NF-kB, astfel inițiindu-se un cerc vicios. Factorul de activare al plachetelor (platelet- activating factor (PAF)) de asemenea prezintă nivel crescut în ȘH și poate contribui la creșterea sintezei de TNF- α și IL-1 [8,11].

Factorul unificator pentru dezvoltarea insuficiențelor de organ este alterarea metabolismului celular. Sub acțiunea IL-1; IL-6 și TNF se realizează o stare hipercatabolică reflectată în creșterea consumului de O₂. Celulele nu sunt însă capabile să extragă cantități adecvate de O₂ din circulație. Funcția de oxidare a substanțelor energetice de către celulă este alterată, iar producția inadecvată de energie contribuie la dezvoltarea leziunilor celulare urmate de moartea celulară. Prognosticul bolnavului depinde de numărul și gravitatea organelor afectate. Șansele de supraviețuire se apropie de zero când sunt afectate patru sau mai multe organe. Administrarea combinației soluției coloidale și inhibitorului iNOS animalelor șocate pe fondal de alcoolemie a modificat și statutul imun, manifestat prin reducerea veridică în serul sângiun a nivelului citokinelor proinflamatoare (IL-1; IL-6 și TNF α) cu creșterea considerabilă a nivelului IL-10 (citokină antiinflamatoare) fenomen ce ar contribui la reducerea leziunilor celulare.

În cadrul șocului hemoragic citokinele proinflamatoare (IL-1; TNF- α , IL-6, și al) sunt eliberate în exces. Paralel cu eliberarea excesivă a citokinelor proinflamatoare, în fazele inițiale ale șocului hemoragic se atestă o amplificare în procesul de sinteză și eliberare a citokinelor antiinflamatoare (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) [128,193,203]. Rolul citokinelor antiinflamatoare constă în inhibiția producerii excesive de citokine care posedă efect proinflamator

Expresia NOS inductibile este reglată de către citokine și primar este determinată de sinteza *de novo* a iNOS mRNA și a proteinelor. NO de sine stătător exercită efect bifazic asupra procesului de sinteză al iNOS. Concentrațiile joase de monoxid de azot activează NF- κ B și crește sinteza de iNOS (feedback pozitiv). Concentrațiile crescute de NO au efect antitetic, prevenind supraproducerea de monoxid de azot. Eliberarea masivă de NO pe calea inductibilă (de macrofage), care se impune printr-o durată de viață de 10 ori mai mare decât NO format pe calea constitutivă, suprimă esențial sinteza NO-endotelial. Repercusiunile patologice ale tulburării secreției de NO sunt legate de creșterea sau micșorarea sintezei acestuia.

Augmentarea sintezei NO în cele mai dese cazuri este datorată majorării NOS-inductibile. Ultima joacă un rol patogenetic decisiv în realizarea funcției citotoxice a macrofagelor activate, care pot produce de 10-100 ori mai mult NO decât endoteliocitele vasculare. Funcția de bază a NO derivat din macrofage, este acțiunea citostatică și citotoxică asupra celulelor-țintă, reprezentate de virusuri, bacterii, microorganisme, precum și de celulele oncogene. Ea se realizează în baza interacțiunii dintre NO și fierul din componența diferitor enzime, responsabile de funcțiile mitocondriale și proliferative celulare. O altă funcție a NO macrofagale constă în vasodilatarea locală și inhibarea mecanismelor de trombogeneză [68]. Acest proces determină declanșarea cascadelor de reacții inflamatorii regionale, amplificând astfel funcția macrofagelor. TNF- α și IL-1, rezultate în cadrul răspunsului imun celular din focarul inflamator, activează NOS inducibilă în miocitele netede vasculare determinând o sinteză sporită de NO, care servește cauza nemijlocită a manifestărilor colaptoide [10].

În șocul hemoragic este indusă sinteza nitricoxidsintazei inducibile cu menținerea de durată a acesteia în forma activă și producția excesivă de monoxid de azot, iar activarea NF- κ B dependentă de NO, promovează expresia citokinelor inflamatorii

Concluzie

Tratamentul patogenetic al ȘH experimental pe fondal de alcoolemie cu Dextran și Difetur a determinat reducerea nivelului de citokine proinflamatoare, creșterea nivelului citokinelor antiinflamatoare ceea ce confirmă oportunitatea suplínirii tratamentului de bază cu inhibitori ai NOS.

Bibliografie

1. Lutan V., Bîtea A. Contribuții la studierea patogeniei șocului hemoragic. Materialele Congresului VI al fiziologilor din Moldova cu participare internațională. Chișinău, 2005, p.59-60
2. Altavilla D, Saitta A, Guarini S, Galeano M, Squadrito G, Cucinotta D. Oxidative stress causes nuclear factor kappa B activation in acute hypovolemic hemorrhagic shock. În: Free Radic Biol Med. 2001, vol 30(10), p. 1055-1066.
3. Angele Martin K, Schneider Christian P and Chaudry Irshad. Bench-to bedside review: Latest results in hemorrhagic shock. În: Critical Care. 2008, vol. 12, p. 218.
4. Angele MK, Chaudry IH: Surgical trauma and immunosuppression: pathophysiology and potential immunomodulatory approaches. În: Langenbecks Arch Surg. 2005, vol. 390, p.333-341.
5. Angele MK, Faist E: Clinical review: Immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection. În: Crit Care. 2002, vol 6, p. 298-305.
6. Ayala, A., Lehman, D. L., Herdon, C. D., & Chaudry, I. H. Mechanism of enhanced susceptibility to sepsis following hemorrhage. Interleukin- 10 suppression of T-cell response is mediated by eicosanoid-induced interleukin-4 release. În: Arch Surg. 1994, vol. 129, p. 1172-1178.

7. Baue AE: MOF, MODS, and SIRS: what is in a name or an acronym? În: Shock. 2006, vol. 26, p.438- 449.
8. Colletti LM, Green M: Lung and liver injury following hepatic ischemia/reperfusion in the rats is increased by exogenous lipopolysaccharide which also increases hepatic TNF production in vivo and in vitro. În: Shock. 2001, vol.16, p.312–319.
9. Durham RM, Moran JJ, Mazuski JE, Shapiro MJ, Baue AE, Flint LM: Multiple organ failure in trauma patients. În: J Trauma. 2003, vol. 55p.608-616.
10. Emily J. Swindle, Dean D. Metcalfe. The role of reactive oxygen species and nitric oxide in mast cell dependent inflammatory processes. În: Immunological Reviews. 2007, vol. 217, p. 186–205.
11. Giannoudis P.V. Current concepts of the inflammatory response after major trauma: an update. În: Injury, Int. J. Care Injured. 2003, vol.34, p.397–404.
12. Kauvar DS, Lefering R, Wade CE: Impact of hemorrhage on trauma outcome: an overview of epidemiology, clinical presentations, and therapeutic considerations. În: J Trauma 2006, vol. 60, p.S3-S11.
13. Lang CH, Silvis C, Deshpande N, Nystrom G, Frost RA: Endotoxin stimulates in vivo expression of inflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, -6, and high-mobility-group protein-1 in skeletal muscle. În: Shock. 2003, vol. 19, p.538-546.
14. Maier B, Lefering R, Lehnert M, Laurer HL, Steudel WI, Neugebauer EA, Marzi I. Early versus late onset of multiple organ failure is associated with differing patterns of plasma cytokine biomarker expression and outcome after severe trauma. În: Shock. 2007, vol. 46, p. 668-674.
15. Napolitano LM, Ferrer T, Mc Carter RJ, et al. Systemic inflammatory response syndrome score at admission independently predicts mortality and length of stay in trauma patients. În: J Trauma. 2000, vol. 49, p.647–52.
16. Offner PJ, Moore EE. Risk factors for MOF and pattern of organ failure following severe trauma. In: Baue AE, Faist E, Fry DE, editors. Multiple organ failure. New York: Springer-Verlag; 2000. p. 30–43.
17. Sauaia A, Moore EE, Johnson JL. Validation of postinjury multiple organ failure scores. În: Shock. 2009, vol.36, p.438-447.
18. Stahel PF, Smith WR, Moore EE. Role of biological modifiers regulating the immune response after trauma. În: Injury, 2007, vol. 38, p.1409–22.
19. Tayal V, Kalra BS. Cytokines and anti-cytokines as therapeutics—an update. În: Eur J Pharmacol. 2008, vol. 579, p. 1–12.

STUDIU FIZIOPATOLOGIC AL EFECTELOR ÎNCĂLZIRII GLOBALE ASUPRA PERSOANELOR SĂNĂTOASE ȘI CU DIVERSE PATOLOGII

Valentin Ștepa

(Conducător științific: Vasile Lutan, d.h.ș.m., prof. univ.)

Catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie clinică USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

A physiopathological study on the effect of global warming on healthy people and with different pathologies

Global warming is a term widely used to describe a potentially dramatic rise in the annual average global surface temperature of the Earth. If such a change in temperature occurs it is most likely that there will be other alterations to our climate. The rainfall distribution might change and the frequency of severe weather events, such as hurricanes and typhoons, might increase. All the variables that we use to describe the weather and climate might undergo a profound alteration.