

INERENTE INFLAMATOARE ALE ȘOCULUI HEMORAGIC PÎNĂ ȘI DUPĂ RESUSCITAREA PRIN INHIBITORUL NOS- DIFETUR

Nadejda Todiraș, Victor Frumusachi, Sergiu Vișnevschi

(Conducător științific – conferențiar universitar- Anatol Vișnevschi)

Catedra Fiziopatologie și fiziopatologie clinică

Summary

Inflammatory markers of hemorrhagic shock before and after resuscitation with NOS inhibitor - Difetur

Hemorrhagic shock (HS) leads to an exaggerated production of inflammatory mediators, such as cytokines and chemokines, which may play a significant role in the development of multiple organ failure (MOF) under those conditions. In HS the level of pro- and anti-inflammatory cytokines (TNF α , IL-1, IL-6, IL-10) increases. Difetur inhibits iNOS induction, decreasing level of proinflammatory and antiinflammatory cytokines which may contribute to its inflammatory-reducing effects.

Rezumat

Impactul hemoragic declanșează producerea exagerată de mediatori inflamatori așa ca citokinele și chemokinele cu rol semnificativ în dezvoltarea sindromului de disfuncție poliorganică. În cadrul ȘH experimental crește nivelul seric al citochinelor pro- și antiinflamatoare (TNF α , IL-1, IL-6, IL-10). S-a stabilit că administrarea inhibitorului NO sintazei - Difetur conduce la micșorarea nivelului citokinemiei limitând leziunile celulare și ameliorând funcțiile sistemelor de organe.

Actualitatea temei

Șocul hemoragic (ȘH) este cea mai dificilă problemă a medicinei de urgență privind elaborarea unei strategii patogenetice de resuscitare. Multitudinea verigilor patogenetice implicate în declanșarea și dinamica ȘH impune căutarea unor noi remedii cu efect antihipotensiv, citoprotector și antiinflamator care ar atenua gradul leziunilor celulare.

Derivații izotioureici ce posedă acțiune antihipotensivă includ compuși cu lanț scurt de hidrocarbură, cum sunt S-metilzotiuroniu (metiron), S-etilizotiuroniu (izoturon) și derivați ce conțin fosfor, așa ca dietilfostatul – S-etilizotiuroniu (difetur), izopropilfosfitul- S-izopropilzotiuroniu (profetur) (3). Aceste remedii au fost propușie pentru tratament și resuscitare în cadrului ȘH (1). Mai mult ca atât sa stabilit experimental că preparatele acestui grup inhibă efectele relaxante ale L-argininei prin intermediul blocării nitric-oxid-sintetazei (NOS), element indispensabil în sinteza NO (3). Există trei posibilități de sinteză a NO din L-arginină : endotelială, neuronală și macrofagală (inductibilă). Creșterea sintezei NO în cele mai dese cazuri este datorată majorării NOS inductibile. Ultima deține un rol fiziopatologic decisiv în realizarea funcției citotoxice a macrofagelor activate, care pot produce NO de 10- 100 ori mai mult decât endoteliocitele vasculare. TNF α și IL -1 rezultate din procesul inflamator, activează NOS-inductibilă determinând o sinteză sporită de NO (7). NO eliberat pe cale inductibilă (macrofage) are o durată de viață de 10 ori mai mare decât NO format pe cale constitutivă (4). Impactul hemoragic declanșează sindromul generalizat inflamator care induce sindromul de disfuncție poliorganică, verigile patogenetice de bază ale cărui sunt efectele radicalilor liberi (inclusiv NO) produși de stresul oxidativ, efectele acțiunii chemo- și citochinelor, dereglări endoteliu dependente ale reactivității vasculare e t c .

Scopul prezentului studiu constă în aprecierea nivelului de citokine pro și antiinflamatoare în cadrul șocului hemoragic experimental pînă și după resuscitarea cu inhibitorul NO sintazei – “Difetur”.

Materiale și metode

Pentru realizarea experimentelor au fost utilizați 30 șobolani albi. Animalele au avut condiții standarde de întreținere: temperatura mediului constantă (21-22°C), umiditatea aerului stabilă, regimul întineric-lumină (12:12 ore), plasate solitar în cușcă. Pentru obținerea aclimatizării, cu o săptămână înainte de efectuarea experimentului, animalele au fost plasate în camera de carantină. Șobolanii au fost aneșteziți (administrare i/p) cu soluție de cloral hidratat 4% (350mg/kg). Prin abord inghinal pe dreapta au fost detectate artera și vena femurală, care au fost separate și legate distal. Cateterele folosite pentru canulare au fost confecționate din tub de polietilena PE 20 inserat în PE 50 (Sigma) și heparinizate (10 IU/ml). După ce au fost introduse în arteră și venă, capătul distal al cateterelelor, prin tunel subcutanat a fost exteriorizat în aria interscapulară.

Șocul hemoragic a fost reprodus prin efuzia a 30% din volumul total de sânge din artera femurală. În funcție de sarcinile abordate au fost delimitate 3 loturi:

- **Lotul I (n=10)** – martor;
- **Lotul II (n=10)** - șoc hemoragic pe perioada 120 min;
- **Lotul III (n=10)** - șoc hemoragic pe perioada 120 min. resuscitat cu Difetur (20mg/kg).

Nivelul IL-1 α , IL-6, IL-10 și TNF- α în serul sanguin a fost determinat prin metoda imunoenzimatică (ELISA; R&D Systems).

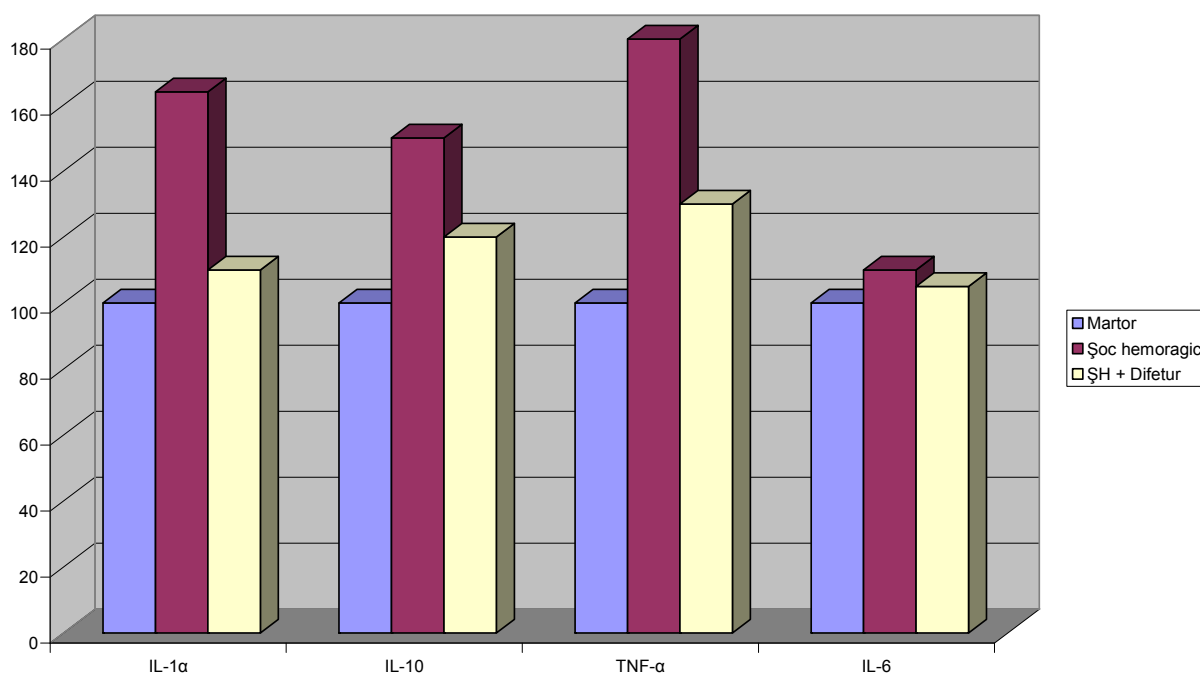
Datele obținute au fost prelucrate computerizat, cu aplicarea setului de programe statistice Microsoft Excel. Probabilitatea mai mare de 95%, când $p < 0,05$, s-a considerat drept discrepanță statistică.

Rezultatele obținute

Conform rezultatelor experimentelor (vezi figura), în cadrul ȘH experimental nivelul citochinelor proinflamatoare a crescut comparativ cu lotul martor : a IL-1 cu 64% ($p < 0,01$), a TNF α cu 80% ($p < 0,001$) cu o tendință de augmentare a nivelului IL-6. Nivelul citochinelor antiinflamatoare IL-10 s-a majorat cu 50%.

La resuscitarea prin inhibitorul NO-sintazei „Difetur”, nivelul citochinelor atât pro cât și antiinflamatoare a descrescut comparativ cu nivelul acestora în cadrul ȘH – a IL-1 cu 54% ($p < 0,05$); a TNF α cu 50% ($p < 0,05$), a IL-10 cu 30% ($p < 0,01$).

Nivelul citochinemiei în ȘH pînă și după resuscitare cu Difetur



Discuții

Citokinele sunt proteine solubile produse de un mare număr de tipuri celulare hematopoietice și nonhematopoietice. Acestea sunt esențiale pentru funcția normală a sistemului imunitar și expresia lor poate fi perturbată în diferite stări patologice, inclusiv ȘH (5). Citokinele sunt implicate în reglarea creșterii, în dezvoltarea și activarea celulelor sistemului imunitar și în medierea răspunsului inflamator. În general, diferite citokine au funcții similare, în plus, multe citokine sunt pleotropice prin faptul că ele sunt capabile de acțiune pe multe tipuri celulare. Acest pleotropism rezultă din expresia pe multiple tipuri celulare a receptorilor pentru aceleași citokine, contribuind la formarea „rețelei de citokine”. Acțiunea citokinelor poate fi: autocrină, când celula țintă este aceeași celulă care secretă citokina; paracrină, când celula țintă este în apropiere- și endocrina, când citokina este secretată în circulație și acționează distal de sursă. O altă clasificare împarte citokinele în citokine imunoreglatorii, care sînt implicate în activarea, creșterea și diferențierea limfocitelor și monocitelor, de exemplu interleukina (IL)-2, IL-4 și factorul beta de transformare a creșterii (TGF β); citokine proinflamatoare care sunt produse predominant de fagocitele mononucleare, de exemplu IL-1, factorul alfa de necroză tumorală (TNF α), IL-6 și familia de chemokine ale citokinelor inflamatoare care includ IL-8, proteine chemotactice pentru monocite (MCP)-1, MCP-2, MCP-3, proteine inflamatoare pentru macrofage (MIP)-1a, MIP-1 și citokine care reglează creșterea și diferențierea leucocitelor imature, de exemplu IL-3, IL-7 și factorul de stimulare al coloniilor granulocite-macrofage (GM-CSF). Printre produsele de secreție ale monocitelor-macrofagelor se numără enzimele hidrolitice, produși oxidativi TNF α , IL-1, -6, -12, -15, și un număr de citokine de chemotactism (chemokine) implicate în orchestrarea răspunsului imunitar în țesuturi (9).

Interleukina 10 a fost identificată ca „factor inhibitor al secreției de citokine”. Efectele biologice ale IL-10 pot fi sistematizate în efecte imunosupresoare, antiinflamatorii și imunostimulatoare. Efectele antiinflamatorii ale IL-10 se datorează inhibiției altor funcții ale macrofagului, cum este cea a sintezei de citokine proinflamatoare de tipul IL-1, 6, 8, TNF-alfa precum și de radicali liberi ai oxigenului și derivați nitrici, indusă de activarea antigenică în cadrul răspunsului inflamator (8). Efectul inhibitor al IL-10 asupra sintezei citokinelor proinflamatorii are loc la nivel posttranscripțional și necesită stimularea unei ribonucleaze (7).

În afară de acțiunea alterativă desinestătătoare asupra celulelor, citokinele proinflamatoare în ȘH activează celulele polimorfonucleare (neutrofilele care sunt o sursă importantă de specii reactive de oxigen) și stimulează sinteza de NO inductibil prin activarea NO sintezei. Conceptual se vehiculează afirmația unei legături directe între nivelele de NO inductibil și gradul citochimiei (5;10). Surse informaționale (5,11) relevă că inhibiția selectivă a NOS, expresia căreia a fost considerabilă în cadrul ȘH modelat la șobolani, se asociază cu diminuarea cantitativă a nivelului de IL-6, ICAM-1, G-CSF. Pe fondalul reducerii NO inductibile s-a observat diminuarea activității NF-kappa B și micșorarea de ARNm pentru diferite citokine (7).

În concluzie, ȘH experimental conduce la creșterea nivelului seric al citochinelor pro- și antiinflamatoare. Administrarea derivatului izotioureic (Difetur) în resuscitarea animalelor cu ȘH conduce la diminuarea nivelului seric de citokine prin inhibiția NOS.

Bibliografie

1. Cojocaru V., Ghicavii V., Sofronie S., Todiraș M. Utilizarea derivatului izotioureic (Difetur) în terapia șocului hemoragic. Jurnalul Societății Române de Anestezie Terapie Intensivă, mai 2001: p.75.
2. Gibot S, Massin F, Alauzet C, Derive M, Montemont C, Collin S, Fremont S, Levy B. Effects of the TREM-1 pathway modulation during hemorrhagic shock in rats. Shock. 2009 Mar 27.
3. Ghicavii V., Stratu E., Todiraș M. Noi argumente referitoare la mecanismul de acțiune a derivaților izotioureici. Conferința anuală a USMF “N.Testemițanu” “Probleme medico biologice și fundamentale” 19 octombrie 2000; vol. I: p.182-187.

4. Hierholzer C, Harbrecht B, Menezes JM, et al: Essential role of induced nitric oxide in the initiation of the inflammatory response after hemorrhagic shock. *J Exp Med* 187:917–928, 1998.
5. Kan WH, Hsu JT, Schwacha MG et al. Selective inhibition of iNOS attenuates trauma-hemorrhage/resuscitation-induced hepatic injury. *J Appl Physiol*. 2008 Oct;105(4):1076-82.
6. Kleinert H, Pautz A, Linker K, Schwarz PM: Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 500: 255-66, 2004.
7. Kobbe P, Schmidt J, Stoffels B, Chanthaphavong RS, Bauer AJ, Pape HC. IL-10 administration attenuates pulmonary neutrophil infiltration and alters pulmonary iNOS activation following hemorrhagic shock. *Inflamm Res*. 2009 Mar;58(3):170-4.
8. Kobbe P, Stoffels B, Schmidt J, Tsukamoto T, Gutkin DW, Bauer AJ, Pape HC. IL-10 deficiency augments acute lung but not liver injury in hemorrhagic shock. *Cytokine*. 2009 Jan;45(1):26-31.
9. Meng ZH, Dyer K, Billiar TR, et al: Essential role for IL-6 in postresuscitation inflammation in hemorrhagic shock. *Am J Physiol Cell Physiol* 280:C343–C351, 2001.
10. Sato H, Kasai K, Tanaka T, Kita T, Tanaka N. Role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta on lung dysfunction following hemorrhagic shock in rats. *Med Sci Monit*. 2008 May;14(5):BR79-87.
11. Subeq YM, Peng TC, Hsu BG, Lin NT, Chao YF, Hu TM, Lee RP. Effects of different fluid resuscitation speeds on blood glucose and interleukin-1 beta in hemorrhagic shock. *J Trauma*. 2009 Mar;66(3):683-92.

PREDISPOZIȚIA EREDITARĂ ÎN PATOGENIA HIPERTENSIUNII ARTERIALE ESEȚIALE (HTAE)

Ana Cumpănă

(Conducător științific: dr în medicină, prof. univ. Andrei Iarovoi)

Catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie clinică

Summary

Hereditary predisposition in the pathogenesis of essential hypertension

Blood circulation is due to a difference of pressure between the arterial system with high pressure and the venous system with low pressure. The difference of pressure is created by heart's pump activity. The last one, when increased, exerts an influence on the peripheral resistance, which is another component implicated in the development of hypertension.

The circulation resistance can be explained by the multitude of muscular fibres in the walls of the arterioles; these ones can be in a state of contraction or dilatation, the "basic tonus" of the arterioles being controlled by the vegetative nervous system, by different metabolic substances and hormones.

Of course, the revealing of a high blood pressure doesn't necessarily indicate a permanent hypertension. In the majority of cases (more than 90 per cent), the cause of hypertension can not be defined – this is the so-called "essential hypertension" (hypertensive disease). Essential hypertension is determined by the action of hereditary and vascular factors, repeated emotional states, some hormonal disturbances (related to the adrenal glands, for example) and environment factors. Studying the action of these factors allows us to explain why hypertension occurs in some families.

Untreated hypertension is known to be a factor of risk, which favours the localization and the worsening of atherosclerosis, altogether with associated heart complications (ischaemic heart disease), cerebral accidents, stenoses of the carotid arteries or of the lower limbs' arteries (arteritis).