Aleksander Olejnik[1], Mitro Korobko[2], Samvel Sawczuk[2], Anna Ślifirczyk[1], Tatiana Potupalowa[2]

[1] Katedra Zdrowia, Wydział Nauk o Zdrowiu i Nauk Społecznych, Państwowa Szkoła Wyższa im. Papieża Jana Pawła II w Białej Podlaskiej
[2] Uniwersytet Medyczny w Tarnopolu, Ukraina

Zaburzenia homeostazy tlenowej w przypadku eksperymentalnego ostrego zespołu niewydolności oddechowej u szczurów i ich korekcja z pomocą teofiliny i cytoflawinu

Streszczenie: Cel pracy: Zespół ostrej niewydolności oddechowej jest zagrażającym życiu zapalnym uszkodzeniem płuc, charakteryzowanym rozlanym naciekiem i ciężką hipoksemią. Zespół ostrej niewydolności oddechowej powstaje na skutek bezpośredniego lub pośredniego uszkodzenia płuc. Pośrednie wpływy realizują się przez ogólny odczyn zapalny w przypadku chorób pozapłucnych. Wiadomo, że środki antyhipoksyczne pomagają zwalczyć objawy niedotlenienia. Wcześniej dla leczenia eksperymentalnego zespołu ostrej niewydolności oddechowej wykorzystywano korwitynę, która także ma właściwości antyhipoksyczne. Cel pracy polegał na porównaniu efektywności cytoflavinu i teofiliny w przypadku eksperymentalnego zespołu ostrej niewydolności oddechowej.
Materiał i metody badawcze: Porównawcza analiza antyhipoksycznego efektu cytoflavinu i teofiliny przeprowadzona została na modelu zespołu ostrej niewydolności oddechowej u szczurów. Zbadano 40 dojrzałych szczurów średnio wrażliwych na niedotlenienie z masą 200 ± 15 gramów. W pierwszej grupie (20 szczurów) w ciągu czterech dni dootrzewnowo podawano cytoflavin w dawce 0,15 ml/kg, w drugiej (20 szczurów) w ciągu czterech dni dootrzewnowo podawano teofilinę w dawce 1 mg/kg. W ciągu eksperymentu u każdego szczura wyznaczano saturacje krwi tętniczej (SaO_2) i żylnej (SvO_2), zużycie tlenu VO_2 i dostarczanie tlenu do tkanek DO2 .
Wyniki: Antyoksydacyjne działanie badanych substancji zmniejszało niedotlenienie. Dodatkowo także obserwowaliśmy antyoksydacyjne działanie cytoflavinu.
Wnioski. Teofilina i cytoflavin mają wiarygodny efekt antyoksydacyjny i są skutecznymi środkami w walce z niedotlenieniem, spowodowanym zespołem ostrej niewydolności oddechowej, modelowanym w eksperymencie.

Słowa kluczowe: zespół ostrej niewydolności oddechowej, teofilina, cytoflavin

Wstęp

Zespół ostrej niewydolności oddechowej ma liczne przyczyny, związane z bezpośrednim lub pośrednim wpływem na płuca i bardzo często powoduje zgon

pacjenta, najczęściej po mechanicznej wentylacji płuc na oddziale intensywnej terapii. Po raz pierwszy objawy kliniczne zostały opisane w 1967 i wtedy właściwie zastosowano termin zespołu ostrej niewydolności oddechowej w stosunku do osób dorosłych. W ciągu następnych lat wielokrotnie wykorzystywano też inne nazwy: niekardiogenny obrzęk płuc, „wilgotne płuco", a także ciężkie płuco i „płuco we wstrząsie" (Villar i in., 2014).

W 1994 w trakcie wspólnej amerykańsko - europejskiej konferencji zaproponowano definicje zespołu ostrej niewydolności oddechowej – ostrego stanu, charakteryzowanego dwustronnym naciekiem płuc, ciężką hipoksemią i brakiem objawów kardiogennego obrzęku płuc.

W Stanach Zjednoczonych rejestruje się około 190 000 przypadków rocznie. Ostatnio śmiertelność spowodowana tą chorobą, wysoka w poprzednich latach, obniżyła się do około 35 - 40% (Narula, 2014). Około 10% wszystkich pacjentów OIT ma ostrą niewydolność oddechową, a 20% z tych chorych kwalifikowanych jest jako pacjenci z zespołem ostrej niewydolności oddechowej (Narula, 2014).

Zespół ostrej niewydolności oddechowej powstaje na skutek bezpośredniego lub pośredniego uszkodzenia płuc. Pośrednie wpływy realizują się przez ogólny odczyn zapalny w przypadku chorób pozapłucnych. Najczęściej jako przyczyny zespołu ostrej niewydolności oddechowej występują sepsa i/lub zapalenie płuc (w tym zachłystowe), a także ciężkie urazy. Zespół ostrej niewydolności oddechowej jest dość ciężkim powikłaniem sepsy, powstaje u 20-40% pacjentów na tle wstrząsu, najczęściej w przypadku, kiedy zakażenie ma lokalizację płucną. Charakteryzuje się poszerzeniem zmian zapalnych w płucach (skutek ogólnej dysfunkcji edotelium), zaburzeniami przepuszczalności bariery pęcherzykowo-włośniczkowej, migracją komórek zapalnych i mediatorów, obrzękiem śródmiąższowym i pęcherzykowm, które powodują zwłóknienie i zabliźnienie. Ciągle otwarcie i zamknięcie pęcherzyków w trakcie sztucznej wentylacji także kojarzy się z rozwojem zespołu ostrej niewydolności oddechowej (Villar i in., 2014).

Możemy więc zadeklarować, że współczesne metody leczenia nie są do końca odpowiedzią na wszystkie pytania w przypadku zespołu ostrej niewydolności oddechowej, ponieważ nie gwarantują optymalnego dostarczania tlenu do narządów i dlatego ciągłe badania wymiany gazowej w przypadku tej patologii są tak ważne (Marino, 2008).

Wiadomo, że środki antyhipoksyczne pomagają zwalczyć objawy niedotlenienia. Wcześniej dla leczenia eksperymentalnego zespołu ostrej niewydolności oddechowej wykorzystywano korwitynę, która także ma właściwości antyhipoksyczne (Oliynyk, 2011).

Cel pracy polegał na porównaniu efektywności różnych antyhipoksantów w przypadku eksperymentalnego zespołu ostrej niewydolności oddechowej.

Materiał i metody

Porównawcza analiza antyhipoksycznego efektu cytoflavinu i teofiliny przeprowadzona została na modelu zespołu ostrej niewydolności oddechowej u szczurów. Ponieważ w populacji najwięcej szczurów wykazuje się średnią wrażliwością na niedotlenienie, badanie zostało przeprowadzone na właśnie tych zwierzętach.

Zbadano 40 dojrzałych szczurów średnio wrażliwych na niedotlenienie z masą 200 ± 15 gramów. W pierwszej grupie (20 szczurów) w ciągu czterech dni dootrzewnowo podawano cytoflavin w dawce 0,15 ml/kg, w drugiej (20 szczurów) w ciągu czterech dni dootrzewnowo podawano teofilinę w dawce 1 mg/kg. Dodatkowo 20 szczurów wyznaczono jako grupę kontrolną (bez podawania żadnych leków).

Na 4 dzień u każdego zwierzęcia modelowano zespół ostrej niewydolności oddechowej (w 3 grupach) z pomocą wprowadzenia dotchawiczo 0,1 mol/l roztworu kwasu chlorowodorowego w dawce 0,5 ml/kg (Oliynyk, 2011), po czym w ciągu dwóch godzin przeprowadzano sztuczną wentylację płuc (wcześniej wykonano tracheostomię). Do wentylacji wykorzystywano aparat „Bryz" z objętością oddechową (OO) 3 ml i częstością 100 wdechów na minutę (przez otwór tracheostomijny wprowadzano rurkę intubacyjną w tchawicę; do znieczulenia wykorzystywano ketaminę). W dalszym ciągu eksperymentu u każdego szczura wyznaczano saturacje krwi tętniczej (SaO_2) pulsoksymetrem „Utas" i żylnej (SvO_2) oksymetrem „Unistat" (Marino, 2008). Akcja serca monitorowana była z pomocą elektrokardiografu. Ustalalono zużycie tlenu VO_2 i według wyników obliczano dostarczanie tlenu do tkanek DO_2, stopień niedotlenienia płucnego (SNP), stopień niedotlenienia krążeniowego (SNK) i integralnego wskaźnika niedotlenienia (IWN) według metody V.V. Gnativ (Gnativ, 2006). Dodatkowo wyznaczano wewnątrzpłucny przetok krwi (Oliynyk, 2011). O kondycji peroksydacji lipidów i przeciwutleniaczowej protekcji wnioskowano według koncentracji dialdehydu malonowego (MDA), koniugatów dienowych (KD), grup tiolowych (SH-grup), aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) w erytrocytach i katalazy (za pomocą standardowej metodologii).

Wyniki badań

Pozytywne zmiany badanych wskaźników biochemii krwi i metabolizmu tlenowego zostały potwierdzone obiektywnymi objawami u zwierząt: grupa szczurów niepoddawana żadnemu leczeniu (grupa kontrolna) zginęła w trakcie 2 godzin sztucznej wentylacji, natomiast pierwsza i druga grupa szczurów, którym poprzednio podawano leki, przeżyły eksperyment.

Zmiany wskaźników peroksydacji lipidowej korelują ze zmianami metabolizmu tlenowego. Wyniki przedstawiono w tabeli 1 (Tabela 1). Na przykład koncen-

tracja malonowego dialdehydu w przypadku eksperymentalnego ostrego zespołu niewydolności oddechowej jest 11 razy większa w porównaniu z normalnym poziomem (p<0,001). Koncentracja koniugatów dienowych przekracza normalny poziom o 8,42 razy(p<0,001).

Początek ostrego zespołu niewydolności oddechowej wywołał różnie skierowane zmiany enzymów przeciwutleniaczowych: katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej. Aktywność katalazy w przypadku ZONO zmniejszyła się o 3,83 razy (p<0,001), natomiast aktywność dysmutazy ponadtlenkowej zwiększyła się o 11,4 razy (p<0,001).

Teofilina i cytoflavin ulepszają metabolizm tlenowy we wszystkich badanych grupach szczurów (Tabela 1).

Tabela 1. Metabolizm tlenowy, peroksydacja lipidowa i enzymy przeciwutleniaczowe u szczurów na tle leczenia eksperymentalnego ostrego zespołu niewydolności oddechowej

Wyznaczone wskaźniki	**Grupa kontrolna**	**ARDS 30 min - 2 godziny od początku**	**ARDS+teofilina, 1 mg/kg, 30 min - 2 godz. od początku**	**ARDS+ cytoflavin 0,15 ml/kg, 30 min - 2 godz. od początku**
SaO_2, %	97,0±0.3	70,0±1,1	78,2±1.23	76,2±0.2
SvO_2, %	60,0±0.4	32,2±1.8*	42,1±0,46	56,3±1,1**
OO, ml	71,0±0.8	86,0±4,8	84,1±0.38	84,2±0,7
CAS/min	355,5±2.6	430,5±23.1	432,4±0.43	418,4±3.1
DO_2, ml/min/ 100 g	9,28±0.1	7,11±0.4	7,69±0,04	7,64±0,4
VO_2, ml/min/ 100 g	1,87 ± 0,0	2,72±0,2*	2,15±0,08	1,86±0,1**
VO_2 / DO_2, %	20,15±0,3	38,26±2,2*	27,96±0,17**	24,35±1.6**
Przetok, ml/min	6,5±0,2	15,5±0,9	10,4±0,13**	10,6±0,6**
SNP, %	0,0±0,0	29,2±1,4	20,2±0,34	22,2±0.4
SNC, %	0,0±0,0	–17,4±1,2	–17,1±0,15	–17,8±0,9
IIWN, %	0,0±0,0	11,8±1,0	3,1±0,06	4,4±0,3
Katalaza, mkat/l	0,98±0,0	0,256±0,0*	0,396±0,01 **	0,38±0,02 **
SOD, SJ/mg	0,060±0,0	0,686±0,0*	0,602±0,03	0,425±0,03**
MDA, mkmol/l	0,089±0,0	9,96±0,6*	6,927±0,08 **	4,63±0,4 **
KD, мкмоль/л	0,124±0,0	1,045±0,1*	0,765±0,0 **	0,689±0,07 **
SH-grupy, mkmol/l	0,49±0,02	1,48±0,04*	0,65±0,01 **	0,53±0,04 **

Uwagi: * - p <0,001 w stosunku do zwierząt poza eksperymentem
** - p <0,001 w stosunku do grupy kontroli

W rezultacie obserwujemy tendencję do zwiększenia nasycenia hemoglobiny krwi żylnej tlenem: na tle podania cytoflavinu – o 1,27 razy, na tle podania teofi-

liny – o 1,31 razy. Zużycie tlenu VO_2 na tle leczenia teofiliną zmniejszyło się o 1,26 razy, cytoflavinem – o 1,46 razy ($p < 0{,}001$). Wykorzystanie teofiliny wywołało obniżenie poziomu KD o 1,44 razy ($p < 0{,}001$). Podawanie teofiliny i cytoflavinu wiarygodnie zwiększyło aktywność katalazy i zmniejszyło aktywność dysmutazy ponadtlenkowej.

Otrzymane pozytywne wyniki wskazują na zmniejszenie niedotlenienia, co świadczy na korzyść antyhipoksycznego działania badanych substancji. Dodatkowo także otrzymujemy potwierdzenie antyoksydacyjnego działania cytoflavinu.

Dyskusja

Otrzymane wyniki można wytłumaczyć tym, że antyoksydacyjne działanie badanych substancji zmniejsza też niedotlenienie. Z drugiej strony, sądząc ze zmiany aktywności enzymów, to także bezpośredni antyoksydacyjny efekt teofiliny.

Wiadomo, że niedotlenienie jest typowym patologicznym procesem i powikłaniem wielu chorób zakaźnych i niezakaźnych. I chociaż mechanizm prowokujący powstanie niedotlenienia różni się, głównym skutkiem niedotlenienia występują zaburzenia procesów redukcji, utleniania i zabezpieczenia energetycznego tkanek (Marino, 2008).

Wiadomo także, że charakterystycznymi cechami zespołu niedotlenienia są nadmiar pośrednich produktów glikolizy, lipolizy, proteolizy, rozwój kwasicy metabolicznej z rozwojem wtórnych niespecyficznych zmian metabolicznych i funkcjonalnych, które komplikują chorobę podstawową (Korobko, 2006). Pod wpływem nadmiaru jonów H+ w warunkach niedotlenienia powstaje zwiększenie przepuszczalności błon lizosomów i konsekwentnie destrukcja tkanek enzymami lizosomalnymi. Ostatnie inicjują tworzenie eikozanoidów i prostanoidów, które transformując się tworzą wolne rodniki.

Przyczyną nadmiaru tworzenia wolnych rodników w warunkach niedotlenienia jest blokada terminalnego etapu utleniania na łańcuchu oddechowym wewnętrznej błony mitochondriów, ucieczka elektronów w drodze do oksydazy cytochromowej i wskutek tego powstanie reaktywnych form tlenu. Wiadomo, że w warunkach niedotlenienia przyśpiesza się transformacja dehydrogenazy ksantynowej w oksydazę ksantynową, co powoduje tworzenie anionorodnika ponadtlenkowego.

Jednocześnie aktywacja układu nadnerczowego, która typowo towarzyszy każdemu rodzajowi niedotlenienia, skutkuje aktywacją tworzenia reaktywnych form tlenu w trakcie utleniania adrenaliny (Marino, 2008, Shlomai, 2014). Poza tym w warunkach niedokrwienia, na tle antygenowej stymulacji makrofagów, włącza się leukocytarny mechanizm aktywacji peroksydacji lipidowej.

Eferentną częścią układowych funkcjonalnych i metabolicznych zaburzeń w przypadku niedotlenienia (różnego pochodzenia) jest aktywacja utleniania wol-

nych rodników, szczególnie peroksydacji lipidowej. To potwierdza ważność badań eksperymentalnych, skierowanych na wyznaczenie efektów metabolicznych różnych przeciwutleniaczy w warunkach ostrego niedotlenienia, zwłaszcza ostrego zespołu niewydolności oddechowej.

Wnioski

Teofilina i cytoflavin mają wiarygodny efekt antyoksydacyjny i są skutecznymi środkami w walce z niedotlenieniem, spowodowanym zespołem ostrej niewydolności oddechowej, modelowanym w eksperymencie.

Bibliografia

1. Villar J., Kacmarek R., Guérin C. (2014), Clinical trials in patients with the acute respiratory distress syndrome: Burn after reading , Intensive Care Med. Apr 10., p. 191-198.
2. Narula D. (2014), Use of an oscillatory PEP device to enhance bronchial hygiene in a patient of post-H1NI pneumonia and acute respiratory distress syndrome with pneumothorax, BMJ Case Rep. Mar 7, p. 63-67.
3. Korobko D.B., Oliynyk O.V. (2006), Substance with antyhypoxant and antyoxidant action № u 201015129, Patent № 59792, Ukraine A61K 31/205, A61K 31/52 (2006.01), G09B 23/28 (2006.01).
4. Gnativ V.V., Oliynyk O.V. (2010) Using of new antyhypoxant in treatment of experimental acute respiratory distress syndrome, Math. of conf. "Achievements of clinical and experiments medicine", Ternopil, p. 134-135.
5. Oliynyk O.V., Dobrorodniy A.V. (2011) Peculiarities of disturbances of oxygen homeostasis in rats with experimental acute respiratory distress syndrome Wiestnik naukowych badan. 2, p. 119 – 122.
6. Marino P. (2008), Intensive therapy Geotar, 634 p.
7. Shlomai G, Grossman E. (2014) Dyspnea, hypoxia and a confusional state a post-recovery diagnosis. Harefuah. Feb;153(2), p. 75-78.

Liczba znaków ze spacjami: 14 065