

STRESZCZENIE

Założenia:

Procesy hipoksji-reoksygenacji leżą u podłoża chorób obarczonych dużą śmiertelnością u noworodków i u osób dorosłych. Granulocyty obojętnochłonne biorą czynny udział w reakcji zapalnej w przebiegu hipoksji-reoksygenacji, a produkowane przez nie mediatory, m.in. reaktywne formy tlenu i azotu (RFTiA), w tym tlenek azotu (NO), uczestniczą w uszkodzeniu reoksygenacyjnym. Anestetyki lokalne modulują produkcję RFT i NO w granulocytach noworodka w stopniu porównywalnym lub niższym niż u osób dorosłych. Efekty te mogą występować już w stężeniach istotnych klinicznie, tj. obserwowanych w krążeniu noworodka po podaniu zewnątrzoponowo anestetyków matce podczas blokad centralnych w okresie porodu. W literaturze wskazano, że granulocyty noworodkowe mogą charakteryzować się większą odpornością na warunki hipoksji (zmieniony profil ekspresji cząstek adhezyjnych), z drugiej jednak strony anestetyki lokalne mogą odwrócić efekt reoksygenacji poprzez oddziaływanie na integralność granulocytarne. Nie wiadomo, czy anestetyki lokalne mogą wpływać na produkcję RFT i NO w granulocytach noworodka w warunkach hipoksji-reoksygenacji.

Cel:

Celem pracy była ocena (1) wpływu hipoksji reoksygenacji in vitro na produkcję RFT i NO przez granulocyty obojętnochłonne krwi pełnej pępowinowej w porównaniu z granulocytami dorosłych ochotników; (2) efektów bupiwakainy, lidokainy i ropiwakainy na te procesy.

Materiał i metody:

Pełną krew pępowinową (n=16) lub obwodową krew żylną (n=16) poddawano ekspozycji na atmosferę hipoksyczną 1% O₂ przez 60 min, a następnie inkubowano w atmosferze 21% O₂ przez 15 i 240 min. Część prób inkubowano z anestetykami lokalnymi w 4 równo potencjalnych stężeniach: 0,0005; 0,005; 0,05; 1 mM bupiwakainą, 0,002; 0,02; 0,2; 4 mM lidokainą oraz 0,0007; 0,007; 0,07; 1,4 mM ropiwakainą. Najniższe zastosowane stężenia były istotne klinicznie dla granulocytów noworodka. Wewnątrzkomórkową produkcję RFT i NO w granulocytach niestymulowanych i stymulowanych PMA mierzono metodą cytometryczną z wykorzystaniem odpowiednio dihydrorodaminy 123 (DHR123) i dwuocianu 4,5-diaminofluoresceiny (DAF-2DA). W opracowaniu statystycznym zastosowano metodę wieloczynnikowej analizy wariancji.

Wyniki:

Reoksygenowane granulocyty krwi pełnej wykazywały niższą produkcję RFT i NO niż inkubowane w warunkach kontrolnych (normoksycznych), porównywalną w obu badanych populacjach komórek. W miarę trwania czasu inkubacji produkcja RFT zmniejszała się, a produkcja NO wzrastała. Inkubacja z anestetykami lokalnymi wpływała na wzrost produkcji RFT i NO w reoksygenowanych granulocytach krwi pępowinowej i krwi dorosłych. W analizie wieloczynnikowej zaobserwowano następujące efekty globalne: (1) bupiwakaina, i w większym stopniu ropiwakaina, podwyższały produkcję RFT w granulocytach, (2) wszystkie badane anestetyki powodowały wzrost produkcji NO w stymulowanych granulocytach, efekt ropiwakainy dotyczył wszystkich badanych stężeń, (3) ekspozycja na anestetyki i lokalne nie wpływała na obserwowane trendy produkcji RFT i NO w dwóch zastosowanych czasach reoksygenacji, (4) w granulocytach inkubowanych z ropiwakainą produkcja RFT i NO była wyższa niż w przypadku bupiwakainy i lidokainy. W granulocytach krwi pępowinowej istotny efekt stymulacji zaobserwowano tylko odnośnie produkcji NO pod wpływem 4 mM lidokainy. Wnioski: (1) Hipoksja-reoksygenacja in vitro hamuje wewnątrzkomórkową produkcję RFT i NO w granulocytach obojętnochłonnych w mikrośrodku pełnej krwi pępowinowej oraz krwi dorosłych ochotników. (2) Zjawisko to występuje z różnym nasileniem w warunkach wczesnej i późnej reoksygenacji i jest porównywalne w obu badanych populacjach granulocytów. (3) Ekspozycja na bupiwakainę, lidokainę oraz ropiwakainę może modulować wpływ hipoksji-reoksygenacji, podwyższając produkcję RFT i NO w granulocytach krwi pępowinowej i krwi dorosłych. W granulocytach krwi pępowinowej efekty te nie mają znaczenia klinicznego.