

CZU [616-005.1:616-001.36]092+577.1+611-018

## DEREGLĂRILE PERFUZIONALE ÎN ȘOCUL HEMORAGIC ȘI CORECȚIA LOR

V. LUTAN, ANGELA BÎTCA

*Universitatea de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*

**Abstract.** The present study has been undertaken in order to establish the characteristic traits of the structural disorders in the vital organs (liver, heart, kidney, intestines) during a period of 90 min of hemorrhagic shock reproduced on rabbits. Likewise, the effect of hyaluronic acid has been evaluated when glycoaminoglycane was administered for the shock resuscitation by the infusion of Ringer solution and hyaluronic acid.

In the case of administration during infusional therapy the hyaluronic acid has improved the evolution of the reperfusion syndrome leading to less expansion of the structural damages. Hence, this

glycoaminglycane can be an additional support for the resuscitation efficacy based on its availability to fortify the antioxidant potential, to attenuate the inflammatory response and to optimize the endothelium dependent on vascular reactivity. Being an important component of extracellular matrix the hyaluronic acid reduces the risk of cell degradation, of the interstitial proteins and of the apoptosis induced caspases activities improving likewise the phenomena linked with blood flow redressing such as reperfusion syndrome and non reflow reperfusion.

**Key words:** Blood enzymes, Hemorrhagic shock, Histological traits, Hyaluronic acid, Infusional therapy, Resuscitation.

## INTRODUCERE

Șocul hemoragic continuă să rămână o sarcină dificilă a preocupărilor medicinei de urgență, fapt determinat în fond de incertitudini patogenetice, diagnostic clinico-funcțional și biochimic ce necesită perfectări, eficiență precară a terapiei infuzionale, care se prezintă axială în cadrul măsurilor de resuscitare (D. Latsman, 2001; P. Gatterhiel et al., 2003). De aceea s-a estimat efectul protector al premedicației cu acid hialuronic, precum și eficiența terapeutică a acestuia în cadrul terapiei de infuzie (G. Weidl, M. Schaller et al., 2004; M. Tammi, A. Day, E. Tully, 2002; G. Gutierrez, H. Reines, M. Wulf-Gutierrez, 2004).

Resuscitarea șocului hemoragic urmărește în fond drept oportunitate cheie redresarea cât mai rapidă și adecvată a volumului circulant, a presiunii sângelui și evident a presiunii de perfuzie intraorganică pentru a ameliora aprovizionarea celulelor cu oxigen, nutrienți și drenajul țesuturilor compromise prin impact „toxic” (Li J.G., Hu Z.G., Zhou A. et al., 2005; S. Guarini, M. Cainazze, D. Giuliani et al., 2004; R. Anaya-Preda, L. Toledo-Pereira, J. Walsh et al., 2004, R. Ceimbra, H. Melbesta et al., 2005). Modalitatea și aderența curativă clasică în acest sens se bazează pe terapia de infuzie, care însumă utilizarea soluțiilor cristaloide izotonice și/sau coloide hiperosmotice. Prioritatea uneia sau alteia din acestea rămâne o problemă de alertă a medicinei de urgență și un subiect de discuție și cercetare. Dilema infuziei cristaloide sau coloidale nu este nici astăzi rezolvată (I. Asiedu-Gyokye, A. Vektorovich, 2003; И. Молганов, А. Буланов, Е. Шлутко, 2004).

Totodată, sunt valorificate diferite modalități de potențare a eficienței terapiei infuzionale, primordial în condiții experimentale, prin administrarea remediilor ce ameliorează variate componente ale hemostazei. În acest context se prezintă importante rezultatele obținute pe modele de ȘH reprodus la iepuri, care au scos în evidență beneficiile opțiunilor de micșorare a vâscozității sângelui și de ameliorare a reologiei sangvine prin Poloxomer 188 sau heparină, de creștere a ratei aprovizionării organelor cu sânge prin utilizarea veziculelor cu hemoglobină, precum și de atenuare a răspunsului inflamator mediat de citokine și a stresului oxidativ prin administrarea anticorpilor monoclonali contra P-Selectinei și a glutaminei. Activarea citokinelor și a moleculelor de adeziune este o repercusiune nu numai a impactului hemoragic, dar se decelează și în cadrul fenomenului de reperfuție, practic inevitabil la reinfuzie de lichide, prin ce se declanșează un nou viraj de augmentare a răspunsului inflamator, asociat de antrenarea celulelor sangvine și mezenchimele. În careul de acțiune a celor din urmă se includ în manieră catalizatoare și radicalii liberi de oxigen (G. Gutierrez, H. Leines, M. Wulf-Gutierrez, 2004; Asildu-Gyekyl, A. Vektorovich, 2003). Deci, toate încercările de atenuare a stresului oxidativ, a răspunsului inflamator local și general, a procesului de labilizare a aparatului lizosomal întru asigurarea unei cirtoprotecții adecvate, de îmbunătățire a microcirculației pe fundalul restabilirii reactivității vasculare endotelium-dependente și, respectiv a accesului celulei la oxigen, sunt măsuri de corecție patogenetică a ȘH, care vizează sporirea eficacității terapiei de infuzie.

Electia AH în calitate de remediu cu potență de ameliorare a terapiei infuzionale a ȘH a reieșit în fond din capacitatea glucozaminoglicanului de a stabili membranele celulare și barierele tisulare, de a se opune acțiunii agresive a speciilor reactive de oxigen și azot, de a modula schimbul de apă în direcția favorizării menținerii ei în celulă și spațiul interstițial (G. Weidl, M. Scheller et al., 2004; V. Lutan, O. Galburg, 2002; O. Galburg, 2001). Ultima, cu referință la patogenia șocului hemoragic, are o importanță deosebită, deoarece în cadrul progresiei hipovolemiei, deshidratarea tisulară (difuzia lichidului în vase) este un mecanism compensator de restituire a pierderilor de sânge din patul vascular. Prin urmare se tulbură sever metabolismul intermediar, bazal, energetic, iar datorită creșterii exagerate a gradientului coloido-osmotic se poate produce o extravasare pronunțată a sângelui. În condiția redresării volumului circulant în special prin infuzia de soluții

cristaloide izoosmotice acest gradient facilitează pierderi de proporții a lichidului instilat în detrimentul restabilirii presiunii sângelui și a presiunii de perfuzie a organelor vitale.

### MATERIAL ȘI METODĂ

Experiențele au fost efectuate pe iepuri de laborator cu masa corporală 2,1-2,2 kg, fără pedigriu, întreținuți în condiții standarde de vivariu at libitum.

Șocul hemoragic a fost reprodus după C.Wiggers (1950) Hemoragia a fost efectuată fracționat, în 3 prize de 15-20 min la volume de circa 10-20 ml până când presiunea arterială finală s-a stabilit la nivele „de șoc”: 40-45 mm Hg presiunea a fost menținută prin efuzii suplimentare și prin reinfuzia sângelui pe o perioadă de 90 min. Sub anestezie locală cu soluție Novocaină 10%-5ml a fost preparată artera femurală, în care a fost introdusă o canulă plastică sterilă conectată prin rele dublu la manometrul de mercur.

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

- **Lotul I (n=8)** – evaluarea șocului hemoragic pe perioada de 90 min.
- **lotul II (n=7)** – animale șocate timp de 90 min și resuscitate prin terapia de infuzie *via* soluția Ringer.
- **lotul III (n=7)** – animale șocate timp de 90 min și resuscitate prin terapia de infuzie *via* soluție de acid hialuronic (0,05%, i/a).

Acidul hialuronic a fost obținut din cordoane ombelicale umane, după metoda brevetată de V.Lutan și colab. (2001) [Procedeu de obținere a acidului hialuronic. BI MD 1617 G 2; BOPI, 2001, N2].

La finele experiențelor animalele au fost sacrificate prin eutanazie și au fost prelevate organele interne pentru studiul histologic. Țesuturile au fost fixate cu formalină 10% în soluție-tampon de fosfat, incluse în parafină, secționare, care au fost colorate cu hematoxină-eozină, după metoda Van-Geison. Preparatele histologice au fost studiate și fotografiate la microscopul „Axiolob” în diapazonul de amplificare 120x - 480x - 1200x. Datele obținute au fost prelucrate computerizat, cu aplicarea setului de programe statistice Microsoft Excel.

### REZULTATE ȘI DISCUȚII

De menționat, că rezultatele investigațiilor histologice la 24 ore după resuscitare cu soluție Ringer, demonstrează o agravare a perturbărilor structurale, comparativ cu perioada de 90 min, fapt ce în fond confirmă riscul complicațiilor impactului de infuzie (efectuată fără sânge și fără ameliorarea vehiculării oxigenului). Această exacerbare a fost estimată mai mult prin creșterea incidenței și expansiunii focarelor de alterare decât prin a profunzimii lor.

Remarcabil, că în lotul III, la resuscitarea cu acid hialuronic 0,05%, gradul injuriilor tisulare a fost mai inferior în special ceea ce privește vascularizarea intraorganică și edemul interstițial.

Astfel, pentru lotul II a fost mai semnificativ prezența în preparatele histologice a vaselor spasmate, aproape lipsite de sânge, asociate de un edem perivascular și interstițial manifest în organele vitale (ficat – fig.1; cord – fig.2; rinichi – fig.3).

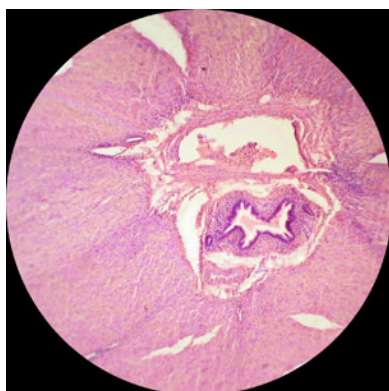


Fig. 1. Inerențe histologice ale ficatului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Ringer (Ampl. 120x): venă interlobulară dilatată cu mase trombotice proaspete, edem perivascular și periductular pronunțat.

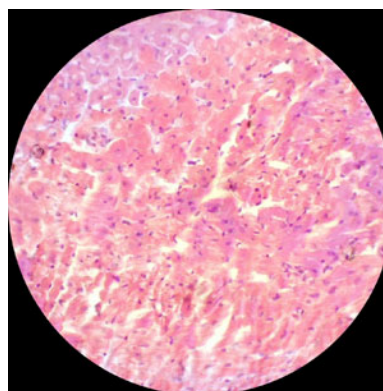


Fig. 2. Inerențe histologice ale miocardului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Ringer (Ampl. 480x): focar de necroză, edem interstițial.

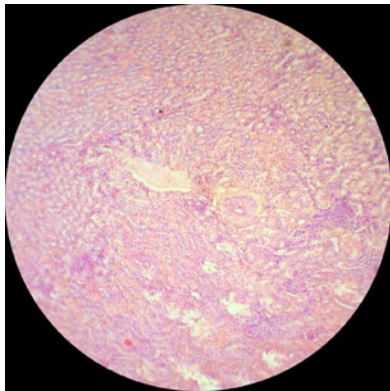


Fig. 3. Inerențe histologice ale rinichiului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Ringer (Ampl. 120x): arteră arcuată spasmată, venă dilatată, edem interstițial cu infiltrație celulară

În cadrul asocierii terapiei infuzionale cu acid hialuronic se constată prevalența unui careu circulator sangvin intraorganic prezervat cu un edem perivascular și interstițial mai puțin pronunțat decât cel documentat în lotul II (ficat – fig.4; cord – fig.5; ren– fig.6).

În rest, multe particularități histologice (tumefiere, distrofie, dezintegrare și decomplexare celulară, apoptoză, liză, necroză) au fost consemnate și în lotul III, doar puțin accentuate.

Așadar, redresarea volumului sângelui circulant și a presiunii de perfuzie intraorganică poate evolua cu elemente de răspuns vascular endotelial dependent afectat (prezența vaselor spasmate) la impactul prin stres hemodinamic, dacă se infuzează numai soluție izotonică Ringer. Acest fenomen poate echivala cu sindromul „no reflow”, estimat drept o consecință apreciabilă a terapiei infuzionale. Originea acestuia se consideră a fi reactivitatea joasă a vasului, care nu răspunde prin dilatare mediată prin NO la creșterea volumului și a presiunii sangvine. În plus, desfășurarea continuă a unui proces inflamator sub acțiunea citokinelor și pe fundalul congestiei și

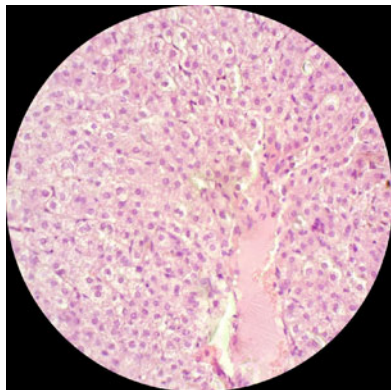


Fig. 4. Inerențe histologice ale ficatului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Acid hialuronic 0,05% (Ampl. 480x): venă interlobulară dilatată, distrofie hidropică a hepatocitelor

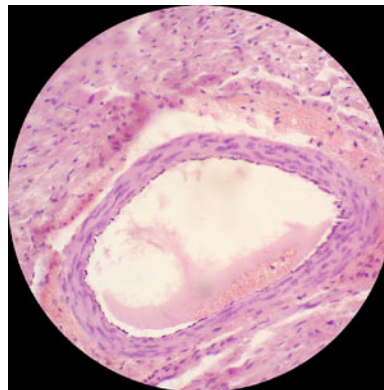


Fig. 5. Inerențe histologice ale miocardului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Acid hialuronic 0,05% (Ampl. 480x): arteră subepicardială dilatată, hemoliză intravasculară și edem perivascular moderat

permeabilității vasculare crescute amplifică edemul perivascular și interstițial în detrimentul circulației regionale adecvate. Deci, în așa condiții pot fi instalate focare noi de alterare tisulară caracteristice doar impactului infuzional și, respectiv, surse noi de enzimemie.

Pe fundalul aplicării AH, cu excepția efectelor circulatorii benefice și a unui edem mai limitat, modificările structurale poartă un caracter similar lotului II, dar mai puțin accentuate și, de asemenea, urmează să fie estimate drept inerențe ale șocului hemoragic (90 min) sau sunt induse de impactul infuzional. Iar bariera inestinală se notează a fi mai alterată la finele perioadei de resuscitare *versus* lotul II (fig. 7; 8).

De menționat în acest context că acidul hialuronic posedă de sine stătător acțiune antioxidantă și asigură protecție organică în impactul toxico-chimic acut. Aceste proprietăți ale acidului hialuronic ar explica efectul terapeutic al acestuia în resuscitarea șocului hemoragic.

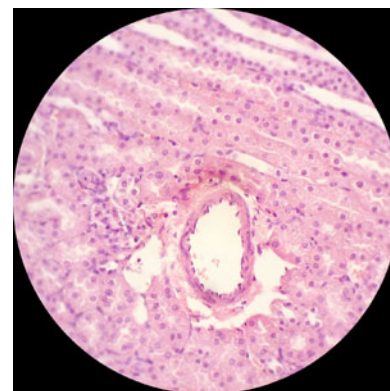
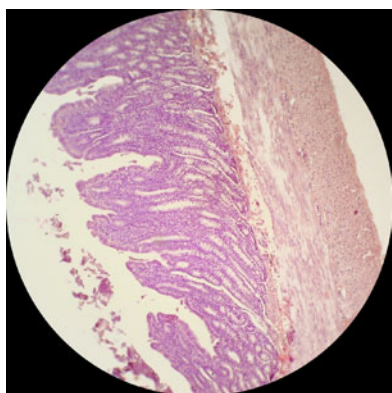
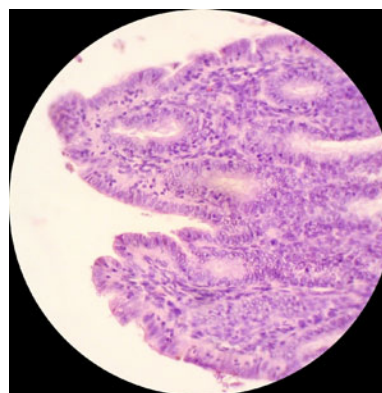


Fig. 6. Inerențe histologice ale rinichiului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Acid hialuronic 0,05% (Ampl. 480x): arteră arcuată dilatată, edem perivascular și distrofie hidropică moderată a nefrocitelor



**Fig. 7. Inerențe histologice ale ileonului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Ringer (Ampl. 120x): dezintegrarea vilozităților cu infiltrație leucocitară și edem perivascular**



**Fig. 8. Inerențe histologice ale ileonului după 24 ore de resuscitare a ȘH prin infuzie de Acid hialuronic (Ampl. 480x): microvilozități cu deranjamente structurale și infiltrație leucocitară moderată**

### CONCLUZII

1. Resuscitarea animalelor cu șoc hemoragic prin metoda tradițională cu soluție Ringer conduce la extinderea leziunilor celulare și incrementul activității plasmatică de 12-18% a enzimelor intracelulare. Histologic, se impune importantă extinderea „pe orizontală”, dar nu în profunzime, a injuriilor structurale, semnificând astfel apariția leziunilor induse prin impactul infuzional – “paradoxul reinfuziei” (“reflow paradox”, “no-reflow syndrom”).

2. Formula combinată de resuscitare a animalelor cu șoc hemoragic prin infuzia de soluție Ringer, suplimentată cu acid hialuronic, atenuează gradul leziunilor post-infuzionale a organelor vitale concomitent cu preservarea microcirculației în organe (prezența predilectă a vaselor dilatate pe fondalul unui edem diminuat), ceea ce se manifestă prin micșorarea semnificativă cu circa 40% a activității ALAT și LDH1 și circa 30% a ASAT și CK-MB și păstrarea *clearance*-ului renal adecvat (redresarea la valori bazale a ureei și creatininei).

3. Acidul hialuronic poate fi de utilitate clinică certă în potențarea eficienței terapiei de infuzie în cadrul resuscitării șocului hemoragic, beneficiile cărora s-ar baza pe proprietățile lui antioxidante, citoprotectoare, de restabilire a reactivității vasculare endoteliale dependente în condiție de stres hemodinamic crescut inerent redresării volumului sângelui circulant și respectiv a presiunii de perfuzie.

### BIBLIOGRAFIE

1. Anaya-Prado, R, Toledo-Pereyra, L.H, Walsh, J. et al. Exogenous nitric oxide donor and related compounds protect against lung inflammatory response after hemorrhagic shock and resuscitation. *J Trauma*, 2004, 57(5): 980-9.
2. Altavilla, D., Saitta, A., Guarini, S. et al. Nuclear factor-kappaB as a target of cyclosporine in acute hypovolemic hemorrhagic shock. *Cardiovasc Res*, 2001, 52(1): 143-52.
3. Akmal, M., Singh, A., Anand, A. et al. The effects of hyaluronic acid on articular chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br*, 2005, 87(8): 1143-9.
4. Asiedu-Gyekye, I.J., Vektorovich, A. The “no-reflow” in cerebral circulation. *Med Sci Monit*, 2003, 9(11): 394-7.
5. Blais, V, Rivest, S. Inhibitory action of nitric oxide on circulating tumor necrosis factor-induced NF-kappaB activity and COX-2 transcription in the endothelium of the brain capillaries. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2001, 60(9): 893-905.
6. Coimbra, R., Melbostad, H., Loomis, W. et al. Phosphodiesterase inhibition decreases nuclear factor-kappaB activation and shifts the cytokine response toward anti-inflammatory activity in acute endotoxemia. *J Trauma*, 2005, 59(3): 575-82.
7. Feng, J.H., Lai, W.Y., Ou WC et al. Role of platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa receptor activation in “no-reflow” after myocardial reperfusion. *Di Bao*, 2003, 23(9): 888-91.
8. Galburg, O., *Terapia experimentală a șocului combusional cu acid hialuronic și compoziții medicamentoase în baza acidului hialuronic. Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2001.*
9. Ghattahiee, P.K, Patel NSA, Sivarajah A et al. GW274150, a potent and highly selective inhibitor of NOSi, reduces experimental renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int*, 2003, 63: 853-65.
10. Guarini, S, Cainazzo, M.M, Giuliani D. et al. Adrenocorticotropin reverses hemorrhagic shock in anesthetized rats through the rapid activation of a vagal antiinflammatory pathway. *Cardiovasc res*, 2004, 63(2): 357-65.
11. Gutierrez, G, Reines, H.D., Wulf-Gutierrez, M.E. Clinical review: hemorrhagic shock. *Critical care*, 2004, 8: 373-81.
12. Latchman, D.S. Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovasc Res*, 2001, 51: 637-46.



13. Li, J.G, Hu, Z.H, Zhou, Q. et al. Protective effect of the cholinergic anti-inflammatory pathway against hemorrhagic shock in rats. *Zhongguo Wei Zhong bing Ji Jiu Yi Xue*, 2005, 17(1): 24-7.

14. Lutan, V., Galburg, O. Metodă de tratament al bolii arșilor în perioada șocului combustional. Brevet de Invenție, 2002, MD 1568 G2.

15. Tammi, M.I., Day, A.J., Turley, E.A. Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *J Biol Chem*, 2002, 277(7): 4581-4.

16. Weindl, G., Schaller, M., Schafer-Korting, M. et al. Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular biological, pharmaceutical and clinical aspects. *Skin Pharmacology and Physiology*, 2004, 17(5): 207-13.

17. Молчанов, И.В., Буланов, А. Ю., Шулутко, Е. М. Некоторые аспекты безопасности инфузионной терапии. *Клин Анестезиол и Реаниматол*, 2004, 1(3): p. 19-24.

Data prezentării articolului - **01.11.2007**