

BADANIA NAD WPLYWEM HIPERBARII TLENOWEJ NA INDEKS OPSONINOWY, ORAZ OBRAZ HEMATOLOGICZNY KRWI U KRÓLIKÓW

Tadeusz Doboszyński, Kazimierz Ulewicz, Bogdan Łokucijewski, Przemysław Michniewski

Katedra Medycyny Morskiej Wojskowej Akademii Medycznej w Gdyni

STRESZCZENIE

Badania toksyczności tlenu hiperbarycznego prowadzono na królikach za pomocą określania indeksu opsoninowego. Badanie przeprowadzono na 15-u zwierzętach, u których przed poddaniem hiperbarii tlenowej zbadano indeks opsoninowy. Następnie poddano je godzinnej ekspozycji na tlen hiperbaryczny o nadciśnieniach 1,8, 2,4 i 3,1 atm w grupach po 5 zwierząt. Po ekspozycji indeks opsoninowy badano ponownie po 1, 2 i 10 dobach.

Równolegle badano obraz morfologiczny krwi.

Stwierdzono istotne statystycznie podwyższenie indeksu w pierwszych dwóch dobach po ekspozycji, niezależne od wartości nadciśnienia tlenu. W 10 dobie wartość indeksu zbliżała się do wyjściowej.

Słowa kluczowe: hiperbaria, tlen, toksyczność, opsoniny.

ARTICLE INFO

PolHypRes 2018 Vol. 63 Issue 2 pp. 45 - 50

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.2478/phr-2018-0012

Strony: 6, rysunki: 0, tabele: 2

page **www of the periodical:** www.phr.net.pl

Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

Typ artykułu: oryginalny

**Opublikowano w Roczniku Służby Zdrowia Marynarki
Wojennej 1967 r.**

Termin zatwierdzenia do druku w PHR 09.03.2017 r.



WSTĘP

Zagadnienie wpływu hiperbarii tlenowej i toksyczności tlenu na zwierzęta doświadczalne i człowieka jak również przebieg reakcji immunologicznych w tych warunkach było już przedmiotem naszych zainteresowań [13,4,5,8,10] a obecnie skłoniło nas do podjęcia próby określenia toksyczności tlenu w oparciu o indeks opsoninowy. W przeciwieństwie do szeregu publikacji dotyczących zmiany indeksu fagocytarnego jako wyrazu odczynowości w ustroju na działanie czynnika toksycznego [9,11], w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych co do zastosowania indeksu opsoninowego dla określenia wpływu hiperbarii tlenowej na ustrój. Zastosowanie indeksu opsoninowego do tego rodzaju badań wydawało się celowym ze względu na możliwość wyeliminowania z eksperymentu leukocytów badanego zwierzęcia, a tym samym uniknięcia bezpośredniego oddziaływania na nie hiperbarii tlenowej.

O wyborze metody immunologicznej zdecydował również między innymi fakt, że hiperbaria tlenowa wywiera wpływ na czynność osi przysadka - kora nadnerczy [1,6,2], która z kolei oddziałuje na procesy immunogenezy [3]. Procesy te są stymulowane przez mineralokortykoidy, a wyrażają się zwiększeniem aktywności fagocytów, co potwierdza możliwość zahamowania stymulacji, a tym samym fagocytarnej aktywności leukocytów w krwi przez usunięcie kory nadnerczy [12]. Dane te podkreślają rolę układu hormonalnego w procesach odpornościowych, podobnie jak obserwuje się to odnośnie układu nerwowego [3] w procesach regulacji syntezy przeciwciał.

MATERIAŁ I METODA

Przeprowadzone badania na królikach płci obojga, dorosłych, wagi 2,0 - 2,5 kg, hodowanych w warunkach standardowych, u których w pierwszej fazie badań (15 zwierząt) określono indeks opsoninowy według metodyki podanej przez Zabłockiego [16] przy użyciu leukocytów świnki morskiej oraz szczepu gronkowca hemolizującego (hemoliza alfa), enterotoksycznego (enterotoksyna A), koagulazododatniego numer 264 przy zastosowaniu zawiesiny bakteryjnej o stężeniu około 300 milionów drobnoustrojów w jednym ml³. Następnie te same zwierzęta poddano działaniu hiperbarii tlenowej przy ciśnieniu 1,8 atm, 2,4 atm, 3,1 atm O₂, stosując to nadciśnienie w komorze przez jedną godzinę (dla każdego ciśnienia użyto 5 zwierząt). Następnie u każdego zwierzęcia określono ponownie indeks opsoninowy w próbkach krwi pobranych przed ekspozycją, w jedną godzinę po ekspozycji, po 24 i 48 godzinach po ekspozycji, oraz po 10 dniach.

Równoległe do tych badań wykonywano badania hematologiczne krwi (hemoglobina, erytrocyty, leukocyty, indeks, retikulocyty oraz hematokryt), a także dokonywano rozdziału białek w surowicy krwi królików badanych stosując elektroforezę bibułową przy użyciu aparatu KWE - 3 i buforu medialowego.

WYNIKI

Uzyskane wyniki dotyczące indeksu opsoninowy u zwierząt poddanych działaniu hiperbarii tlenowej ilustruje tabela 1.

Analiza wyników zamieszczonych w tej tabeli opracowana testem studenta dla sprawdzenia znamienność i statystycznej przy $P = 99,9$ wykazała, że istnieje znamienność statystyczna w wynikach indeksów od Soni nowego dla grupy kontrolnej (x)=0, 6 oraz zwierząt badanych po ekspozycji hiperbarii tlenowej 1,8, 2,4, i 3,1 w okresie po jednej godzinie, 24 godzinach, 48 godzinach oraz dziesięciu dniach.

Materiały dotyczące badań hematologicznych, ze względu na małą ilość, skłoniły do łącznego opracowania wyników uzyskanych dla ciśnień od 1,8 do 3,1 atm. Dane te zamieszczono w tabeli 2.

Tab. 1

Zestawienie wyników oznaczeń indeksu opsoninowego u królików poddanych działaniu hiperbarii tlenowej.

Okres badania	Grupa	Ciśnienie 1,8 atm O ₂					Ciśnienie 2,4 atm O ₂					Ciśnienie 3,1 atm O ₂					Analiza statystyczna			
		I królik	II królik	III królik	IV królik	V królik	I królik	II królik	III królik	IV królik	V królik	I królik	II królik	III królik	IV królik	V królik	/x̄/	≤/x̄/	Ocena znam. Przy P=99,9 grupy t	
Przed komorą	I	0,6	0,4	0,7	0,8	1,4	0,3	0,3	0,5	0,5	0,7	0,7	0,4	0,6	0,6	0,5	0,6	0,26		
1 h po komorze	II	4,8	2,3	2,3	2,8	2,3	0,5	2,8	3,8	2,1	4,5	1,6	3,0	2,0	2,8	2,3	2,66	1,08	I;II	7,1>t
24h po komorze	III	1,5	2,0	3,8	2,3	2,3	1,1	3,0	3,1	2,5	4,6	1,8	4,1	3,0	4,3	3,8	2,89	0,99	I;III	8,5>t
48 h po komorze	IV	1,8	3,0	4,6	2,3	2,1	1,8	3,3	3,1	1,8	Nie badano	2,3	3,1	3,0	4,1	3,1	2,81	0,82	I;IV	9,3>t
10 dni po komorze	V	1,1	1,0	0,8	1,5	2,0	2,3	0,8	1,1	1,0	1,1	1,3	0,8	1,3	2,3	1,3	1,31	0,50	I;V	5,0>t

Zestawienie wyników oznaczeń hematologicznych krwi królików poddanych działaniu hiperbarii tlenowej.

Oznaczenia	Po komorze w ciśnieniu 1,8-3,1 atm O ₂										Ocena znamienności próby przy P=99,9			
	Przed komorą		Grupa I kontrola		Grupa II po 1 godz.		Grupa III po 24 godz.		Grupa IV po 48 godz.				Grupa V po 10 dniach	
	/x̄/	Σ/x̄/	/x̄/	Σ/x̄/	/x̄/	Σ/x̄/	/x̄/	Σ/x̄/	/x̄/	Σ/x̄/	/x̄/	Σ/x̄/	Grupy	t
Erytrocyty x/ (4,006)	4,906	183	4,782	377	4,677	696	4,866	165	4,737	423			I;IV	0,7>t
Hb	69,2	1,15	66,4	3,77	63,1	9,88	62,2	8,78	64,8	7,40			I;IV	2,39>t
Indeks	0,94	0,06	0,93	0,06	0,91	0,1	0,85	0,12	0,92	0,12			I;IV	0,3>t
Leukocyty x/	5,9	1,0	6,9	1,9	6,0	2,9	6,5	4,1	5,8	2,4			I;IV	1,43>t
Retikulocyty	18	5,94	17	4,5	17	5	20	5,2	18	5,1			I;IV	0,97>t

Analiza statystyczna danych tejże tabeli opracowana testem studenta dla P=99,9 nie wykazała znamiennych różnic.

DYSKUSJA I WYNIKI

Z przedstawionej tabeli wynika, że u badanych "normalnych" królików indeks opsoninowy wahał się w granicach 0,3 do 1,4 (średnia 0,6). Przy czym w jednym tylko przypadku wynosił on 1,4. U wszystkich zwierząt poddanych działaniu hiperbarii tlenowej (1,8 atm., 2,4 atm., i 3,1 atm) zaobserwowano podwyższenie indeksu opsoninowego, niekiedy nawet do wartości 4,8 przy czym nie stwierdzono znamiennych różnic zarówno co do wysokości indeksu, i jak i czasu jego podwyższenia się zależnie od okresu pobrania krwi do badania, jak i ciśnienia parcjalnego tlenu. W większości przypadków indeks opsoninowy po 10 dniach miał tendencję do normalizacji.

Jak wynika z przytoczonych powyżej danych nie stwierdzono znamiennych przesunięć w zakresie obrazu hematologicznego krwi u królików poddanych działaniu hiperbarii tlenowej. Obserwowane bowiem przesunięcia mieszczą się w granicach wahań wartości uzyskiwanych u zwierząt "normalnych".

Podobnie w zakresie badań elektroforetycznych w surowicy badanych zwierząt nie stwierdzono znamiennych różnic w poszczególnych frakcjach u tych samych zwierząt przed i po doświadczeniu, jak również w późniejszych okresach obserwacji. Spostrzegane różnice nie miały stałego charakteru i nie przekraczały błędu metody.

Z przytoczonych powyżej danych wynikałoby, że hiperbaria tlenowa w granicach 1,8 do 3,1 atm.O₂ powoduje wzrost indeksu opsoninowego, będącego wyrazem może toksycznego działania tlenu na ustrój zwierzęcy, przy czym na podstawie przedstawionych wyników trudno się wypowiedzieć jaki jest mechanizm tego zjawiska. Wydaje się, że mogłyby wchodzić tutaj w grę zarówno mechanizmy immunologiczne [15,14,7], jak również mechanizmy działania osi przysadka-kora nadnerczy [3], czy wreszcie może mechanizm działania uwarunkowany obecnością dodatkowych metabolitów [11] a może łączne działanie tych mechanizmów. W każdym razie dalsze badania w tym kierunku są konieczne dla wyjaśnienia tego zjawiska. Należy wreszcie dodać, że naszym zdaniem zastosowanie indeksu opsoninowego do badań nad wpływem hiperbarii tlenowej na ustrój jest obiecującym, jednakże wymaga dodatkowego przebadania na większym materiale i w różnych warunkach doświadczenia (w tym również in vitro przy zastosowaniu hodowli tkankowej - podobnie [17]).

REFERENCES

1. Aschan G. – Acta Soc.Med.Upsal.:1953.58.265;
2. Bean W. – Am.J.Physiol.:1961.201.737;
3. Cypin A., Malcow W. – Patolog.Fiz. i Eksp.Terap.:1967.5.83;
4. Doboszyński T., Łokucijewski B. – Biul.Inst.Med.Mor.:1966.3.311;
5. Doboszyński T., Łokucijewski B. – Przegl.Lek.:1966.3.291;
6. Gerschman R., Fenn W. – Am.I.Physiol.:1954.176.726;
7. Grzybek-Hryniewicz K. – Powst.Hig. i Med.Dośw.:1967.21.611;
8. Łokucijewski B., Doboszyński T. – Med.Pracy: 1967.5.484;
9. Ryłowa W. – Metody issledowanija chroniczeskogo dejstwija wrednyh faktorow średy w eksperimencie. Medicina. 1964;
10. Meyer J., Doboszyński T., Łokucijewski B. – Biul.WAM.:1966.3.209;
11. Sirotnin N. – Patolog.Fiz.i Eksp.Terap.: 1967.5.18;
12. Ter-Markarian H. - Patolog.Fiz.i Eksp.Terap.: 1967.3.55;
13. Ulewicz K. – Biul.Inst.Med.Mor.:1958.1/2.59;
14. Slopek S. – Immunology.Warsaw. 1963;
15. WiltfUhr G. – Medizinische Mikrobiologia, Immunologie und Epidemiologie. Teil.I.Leipzig 1959;
16. Zabłocki B. – Zarys immunologii. Warsaw 1959;
17. Zuckerman A. – J.Inf.Dis.: 1945.77.28.