

WSTĘPNE BADANIA NAD NIEKTÓRYMI ODCZYNAMI SEROLOGICZNYMI U KRÓLIKÓW OPARZONYCH NAPALMEM, LECZONYCH HIPERBARIĄ TLENOWĄ

Kazimierz Ulewicz¹⁾, Przemysław Michniewski¹⁾, Brunon Kierznikowicz¹⁾, Bogdan Łokucijewski¹⁾,
Jan Stencel²⁾

¹⁾ Katedra Medycyny Morskiej Wojskowej Akademii Medycznej, Gdynia

²⁾ Zakład Patomorfologii 8 Szpital Marynarki Wojennej, Gdańsk

STRESZCZENIE

Metoda leczenia hiperbaryą tlenową znajduje zastosowanie także w terapii różnego pochodzenia oparzeń. W przedstawionej pracy zastosowano tę metodę, w leczeniu oparzeń napalmem zwierząt doświadczalnych. Badaczy interesowały reakcje immunologiczne zachodzące w organizmach zwierząt, a także wpływ tej metody terapeutycznej na proces leczenia oparzenia.

Dwie grupy znieczulonych ewipanem królików, wcześniej uodpornionych bakteriami *S. typhi*, poparzone napalmem. Grupę badaną poddano serii zabiegów leczniczych 100% tlenem przy ciśnieniu 2 atm, w grupie kontrolnej nie zastosowano tej metody. U wszystkich zwierząt wykonywano 6- krotne badania aktywności dopełniacza metodą 50% hemolizy, oraz odczyn hemaglutynacji z antygenami O i H *S.typhi* typ F₇. W celu kontroli procesu leczniczego przeprowadzono również szereg badań histopatologicznych ran oparzeniowych w obydwu grupach królików.

W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano wzrost aktywności dopełniacza u wszystkich badanych zwierząt, przy czym w grupie badanej wzrost nastąpił później. Badania histopatologiczne potwierdziły wydawniejszy proces gojenia ran w grupie leczonej metodą hiperbarii tlenowej.

Słowa kluczowe: metoda leczenia hiperbaryą tlenową, odczyn aktywności dopełniacza, odczyn hemaglutynacji, badania histopatologiczne ran oparzeniowych.

ARTICLE INFO

PolHypRes 2015 Vol. 50 Issue 1 pp. 55 - 60

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.1515/phr-2015-0005

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

Praca pierwotnie opublikowana w Roczniku Służby
Zdrowia Marynarki Wojennej 1973

Zatwierdzono do druku w PolHyp Res.: 2.03.2015r.

WSTĘP

Zastosowanie tlenu w nadciśnieniu znajduje w ostatnich latach coraz szersze zastosowanie w leczeniu szeregu spraw chorobowych.

Wprawdzie wedle ostatnich poglądów hiperbaria tlenowa jest metodą leczniczą z wyboru jedynie w leczeniu zatruc tlenkiem węgla, zgorzeli gazowej czy częściowo choroby ciśnieniowej [7,8], tym niemniej przy zastosowaniu tejże metody leczniczej uzyskuje się zachęcające rezultaty w leczeniu i innych spraw chorobowych, jak niektórych ropnych zakażeń, stanów niedokrwienia tętniczego obwodowego, niektórych nowotworów, które stają się bardziej wrażliwe na radioterapię po zastosowaniu hiperbarii tlenowej itp. [7,8].

Oprócz powyższych stanów chorobowych uzyskiwano pozytywne efekty lecznicze w leczeniu różnego pochodzenia oparzeń [13, 7, 5, 8], czy też oparzeń prądem elektrycznym [12].

Brak własnych spostrzeżeń na ten temat, a ponadto prowadzone od szeregu lat badania nad wpływem hiperbarii tlenowej na reakcje immunologiczne ustroju [1, 9, 10, 11] skłoniły do przeprowadzenia wstępnych, orientacyjnych badań na temat zachowania się niektórych odczynów serologicznych u zwierząt doświadczalnych oparzonych, leczonych hiperbarią tlenową.

MATERIAŁ I METODA

Przeprowadzono badania na serii 7 królików, średniej wagi 2,5 kg, płci męskiej i żeńskiej, uodpornionych uprzednio drobnoustrojami *S. typhi* fagowego F₇ w myśl schematu jak w poprzednich badaniach [10,11].

Zwierzęta po 2-tygodniowej od ostatniego szczepienia depilowano na grzbiecie i oparzone napalmem na powierzchni 4,5 x 5 cm², przy czym płomień utrzymywano przez okres 45 sek. Podczas zabiegu króliki były znieczulone ewipanem podanym dożylnie w dawce 40 mg/kg wagi ciała.

Zwierzęta podzielono na dwie grupy, z których pierwszą liczącą cztery króliki leczono 100% tlenem przy ciśnieniu 2 ata dwukrotnie po 60 minut w odstępach 6-cio godzinnych.

Leczenie powtarzano pięciokrotnie, zachowując ten sam reżim leczniczy. Druga grupa w liczbie trzech zwierząt stanowiła kontrolę.

U wszystkich badanych zwierząt wykonywano oznaczenie aktywności dopełniacza metodą 50% hemolizy, jak w poprzednich badaniach [10], odczyn hemaglutynacji z antygenem O i H użytym do uodporniania zwierząt [11], immunoelektroforezę immunoglobulin IgG mikro wedle Scheideggera [10] oraz oznaczano miano antystaphylolizyn stosując odczynniki firmy BEHRING-WERKE.

Badania te wykonywano przed oparzeniem oraz po oparzeniu po 12, 24 godzinach oraz po 2, 3, 4 i 6 dniach od urazu termicznego. W każdym przypadku kontrolowano stan kliniczny zwierząt.

Dla kontroli procesu patologicznego oparzenia, dodatkowo, w identyczny sposób oparzone 6 królików, które z kolei przeznaczono do badań histopatologicznych.

U tych zwierząt pobierano próby materiału z rany oparzeniowej, utrwalono je w formalinie 10%, zatopiono w parafinie, skrawano i barwiono hematoksyliną z eozyną, metodą Massona na kolagen oraz Verhoeffa na włókna sprężyste.

Badania histopatologiczne wykonywano bezpośrednio po oparzeniu, po 24 godzinach, po 8 dniach i po 40 dniach od urazu termicznego. Należy dodać, że w tym materiale uwzględniono również zwierzę leczone hiperbarią tlenową, uprzednio oparzone napalmem.

WYNIKI

Uzyskane wyniki oznaczeń miana aktywności dopełniacza metodą 50% hemolizy przedstawiono w tabeli nr I, zaś zestawienie oznaczeń mian w odczynie hemaglutynacji dla antygeny O i H. typhi F₇ w tabeli nr II.

Tab. 1.

Zestawienie oznaczeń miana aktywności dopełniacza.

Zwierzę	Grupa oparzona - leczona hiperbarią tlenową						
	Oznaczenie przed oparzeniem	12 godzin po oparzeniu	24 godz. po oparzeniu	2 dni po oparzeniu	3 dni po oparzeniu	4 dni po oparzeniu	6 dni po oparzeniu
1	2	3	4	5	6	7	8
Królik nr I	17 j.	12,9 j.	13,5 j.	13,5 j.	15,5 j.	15,2 j.	17,8 j.
Królik nr IV	18,2 j.	16,6 j.	15,2 j.	15,2 j.	19,1 j.	18,8 j.	20,5 j.
Królik nr V	14,2 j.	12,9 j.	12,6 j.	12,6 j.	17,8 j.	15,9 j.	15,5 j.
Królik nr VI	13,5 j.	13,5 j.	13,0 j.	13,0 j.	17,4 j.	16,3 j.	17,4 j.
	15,7 j.	13,9 j.	13,5 j.	13,5 j.	17,4 j.	16,6 j.	17,8 j.
Grupa oparzona - kontrolna							
Królik nr VII	15,2 j.	15,9 j.	17,4 j.	17,4 j.	15,9 j.	18,2 j.	18,0 j.
Królik nr IX	15,2 j.	12,9 j.	16,3 j.	16,2 j.	17,4 j.	17 j.	16,8 j.
Królik nr XI	19,6 j.	17,4 j.	18,2 j.	21,4 j.	19,1 j.	18,2 j.	18,3 j.
	16,6 j.	15,4 j.	17,3 j.	18,3 j.	17,4 j.	17,8 j.	17,7 j.

Zestawienie oznaczeń mian hemaglutynacji z *S.typhi* F₇.

Zwierzę	Grupa oparzona – leczona hiperbarią tlenową							
	Przed oparzeniem	12 godz. po oparzeniu	24 godz. po oparzeniu	2 dni po oparzeniu	3 dni po oparzeniu	4 dni po oparzeniu	6 dni po oparzeniu	8 dni po oparzeniu
1	2	3	4	5	6	7	8	
Królik nr I	O - 1:50	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:500	O - 1:200	O - 1:200	
	H - 1:50	H - 1:50	H - 1:100	H - 1:100	H - 1:500	H - 1:400	H - 1:400	
Królik nr IV	O - 1:800	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:200	
	H - 1:6400	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:3200	
Królik nr V	O - 1:400	O - 1:50	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:200	
	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:3200	H - 1:3200	
Królik nr VI	O - 1:200	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:100	
	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:1600	
Grupa oparzona - kontrolna								
Królik nr VII	O - 1:100	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:200	O - 1:200	
	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:1600	H - 1:3200	H - 1:3200	
Królik nr IX	O - 1:400	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:50	O - 1:400	O - 1:100	O - 1:100	
	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:3200	H - 1:1600	H - 1:1600	
Królik nr XI	O - 1:50	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	O - 1:100	
	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	H - 1:3200	

W uzupełnieniu do powyższego należy dodać, że u 5 badanych zwierząt (2 grupy leczonej hiperbarią tlenową oraz 3 z grupy kontrolnej) stwierdzono po 24 godzinach i po 6 dniach wzrost ilościowy immunoglobuliny IgG, podczas gdy u jednego królika z grupy leczonej hiperbarią tlenową immunoglobuliny IgG pozostawały bez zmian a u drugiego z tej samej grupy po uprzednim spadku w czasie 24 godzin, po 6 dniach zaobserwowano wzrost ich stężenia.

U wszystkich zwierząt miano w odczynie ASTA pozostawało w granicach 0,5 do 2 j przez cały okres obserwacji, podczas gdy u jednego zwierzęcia (królik nr IV) – leczonego hiperbarią tlenową- miano w 6 dniu obserwacji wzrosło do 4 j antystaphylolizyn.

Badane zwierzęta zniosły dość dobrze uraz termiczny, nie wykazano u nich w przebiegu obserwacji powikłań pod postacią wtórnych zakażeń. Miejsce urazu termicznego pokrywało się strupem, który w miarę postępu leczenia ulegał stopniowo oddzielaniu.

Z przeprowadzonych badań histopatologicznych wynika, że w następstwie oparzenia napalmem martwica dotyczyła naskórka, skóry właściwej wraz z przydatkami, mięśnia skórnoo oraz tkanki podskórnej, jednak największe zmiany martwicze dotyczyły naskórka i powierzchniowej warstwy skóry.

U królików badanych bezpośrednio po oparzeniu spostrzegano oddzielanie się powierzchniowych warstw naskórka, przypominające pęcherze śródskórne i podskórne.

W wielu miejscach jądra komórek naskórka były bardzo wydłużone, podobne do widywanych w martwicy naskórka wywołanej prądem elektrycznym. U królików badanych w 8 dniu po oparzeniu stwierdzano brak pokrywy naskórkowej, obfity nacisk granulocytów obojętnochnych na pograniczu zmian martwiczych i tkanek głębokich, co przypomina proces demarkacyjny. Charakterystyczne były ogniskowe nacieki zapalne w głębokiej warstwie skóry właściwej i mięśni.

W 40 dniu po oparzeniu obserwowano zaawansowane gojenie się rany oparzeniowej pod strupem. Jej powierzchnię stanowiła ziarnina, a od obwodu ranę pokrywał napęczający naskórek.

W miejscu ziarniny powstała ubogonaczyniowa tkanka łączna, obfitująca w grube włókna kolagenowe, przy czym w pojedynczych miejscach stwierdzano nieliczne fragmenty włókien sprężystych i mięśnia gładkiego.

W innych miejscach obserwowano w tym okresie skąpe nacieki zapalne, złożone głównie z komórek jednojądrzastych. W mięśni podskórnym natomiast stwierdzono ogniskowe lub rozlane włóknienie a w głębokiej warstwie skóry właściwej i tkanki podskórnej liczne grubościenne naczynia tętnicze i żyłne o szerokim świetle.

Przy porównywaniu obrazów mikroskopowych skóry zwierząt oparzonych, leczonych hiperbarią tlenową z grupą kontrolną wydawało się, że u zwierzęcia leczonego hiperbarią tlenową było bardziej zaawansowane oddzielanie się strupa, uprzątnięcie tkanek martwiczych, ziarninowanie oraz powstawanie bliznowatej tkanki łącznej.

DYSKUSJA I WNIOSKI

Przedstawiony materiał jest zbyt skąpy dla wyciągnięcia bardziej wiążących wniosków, orientacyjnie może jednak służyć jako punkt wyjścia do dalszych badań.

Z powyższych badań wynika, że u zwierząt oparzonych leczonych hiperbarią tlenową, jak i nie leczonych, stwierdza się zmiany w aktywności dopełniacza w surowicy krwi, polegające na wzroście tegoż, podobnie jak obserwowano to we wcześniejszych badaniach [9, 10], przy czym wzrost ten obecnie był poprzedzony spadkiem aktywności (błąd metody 10%). Należy dodać, że u zwierząt nieleczonych, wzrost ten był szybszy, już po 24 godzinach, zaś u leczonych dopiero po 3 dniach.

W zakresie odczynu hemaglutynacyjnego nie dało się zauważyć wyraźnie ukierunkowanych przesunięć, podczas gdy zasadniczo obserwowano w obu grupach zwierząt wzrost immunoglobuliny IgG.

Wyniki badań odczynu ASTA nie wskazywały na powikłania w postaci zakażenia gronkowcowego badanych zwierząt (4).

Uzyskane wyniki przesunięć w zakresie miana aktywności dopełniacza oraz immunoglobulin IgG można tłumaczyć w myśl teorii Selye'go odpowiedzią ustroju zwierzęcego na uraz termiczny i hiperbarię tlenową, podczas której w pierwszym okresie reakcji alarmowej obserwuje się pobudzenie układu sympatycznego.

Pociąga to za sobą podwyższenie mianiałopornościowych sympatycznych (np. dopełniacz, opsoniny) przy równoczesnym spadku parasympa-tergicznych (aglutyniny, hemaglutyniny). Podobne obserwacje poczyniono uprzednio u zwierząt poddanych działaniu hiperbarii tlenowej [1, 9, 10, 11].

Na podstawie przebadanego materiału nie podobna wytłumaczyć spadku mian aktywności dopełniacza u zwierząt oparzonych leczonych hiperbarią tlenową, bowiem spadek ten u oparzonych królików (zarówno leczonych jak i nie leczonych hiperbarią) wydaje się być reakcją ustroju na uraz termiczny.

To samo odnosi się do immunoglobulin IgG w obu grupach badanych zwierząt, których wzrost w późniejszym okresie wydaje się być charakterystyczny dla urazu termicznego.

Wyniki badań histopatologicznych potwierdzają dość znaczne rozmiary uszkodzenia termicznego u badanych zwierząt, przy czym charakterystycznym jest, że proces gojenia się był raczej wydatniejszy u zwierzęcia leczonego hiperbarią tlenową, co potwierdzałyby dane z piśmiennictwa [7, 8].

Powyższe badania wymagają jednak potwierdzenia na liczniejszym materiale oraz przy uwzględnieniu także innych odczynów serologicznych.

BIBLIOGRAFIA

1. Doboszyński T., Ulewicz K., Łokucijewski B., Michniewski P.: Ann.Immunol. 1970.4:245.
2. Dolatowski A., Ulewicz K., (ed.): Zarys fizjopatologii nurkowania. PZWL. Warszawa 1973.
3. Harter F.: Arzl.Mitt. 1962.47/59;2503.
4. Ingestad R., Winblad A.: Acta path.microb.scand. 1963.57;455.
5. Moretti G., Fontanesi S., Chittoni L.: Annali di Med. Navale. 1973.48.1;11.
6. Niedworok J.: Badania doświadczalne nad zjawiskami odpornościowymi w przebiegu choroby oparzeniowej, wywołanej napalmem. Łódź 1973.
7. Proceedings of the Fourth International Congress on of Hyperbaric Medicine. Ed.Brown J.Jr., Cox B.Washington 1966.
8. Proceedings of the Fourth International Conference on Hyperbaric Medicine. Ed.Wada J., Iwa T. Tokyo. 1970.
9. Ulewicz K.: Ann.Immunol.Hung. 1971.15;121.
10. Ulewicz K., Michniewski P.: Ann.Immunol.Hung. 1971.15;129.
11. Ulewicz K., Michniewski P., Łokucijewski B., Doboszyński T.: Przegl.Lek. 1971.9;581.
12. Zanini D., Bogetti B., Arkel F.: Lav.e Med. 1966.20;4;175.
13. Zenini D., Bogetti B., Viotti G.: Lav.e Med. 1967.21.5;177.

Kazimierz Ulewicz

Katedra Medycyny Morskiej Wojskowej Akademii Medycznej,
Gdynia