



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



SAMORZĄD WOJEWÓDZTWA
WIELKOPÓLSKIEGO
WOJEWÓDZKI URZĄD PRACY
W POZNANIU

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Karolina Kulińska

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Zakład Anestezjologii Doświadczalnej

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Wpływ anestetyków lokalnych na wewnątrzkomórkową produkcję tlenu azotu w granulocytach obojętnochłonnych krwi pępowinowej in vitro z uwzględnieniem roli syntaz tlenu azotu.

Uśmierzanie bólu porodowego jest dziś stosowane na całym świecie na szeroką skalę. Znieczulenie zewnątrzoponowe stanowi „złoty standard” analgezji porodu, będąc najskuteczniejszą i, uznaną za bezpieczną, metodą walki z bólem porodowym. Postępowanie to nie jest jednak pozbawione pewnych kontrowersji, dotyczących między innymi jego wpływu na płód i noworodka. Środki podawane matce do przestrzeni zewnątrzoponowej przechodzą do jej krążenia układowego i, dyfundując przez łożysko, także do krążenia płodu [1,2,3]. Wyjaśnienia domaga się bezpośredni efekt środków podawanych matce w odniesieniu do komórek dziecka.

Anestetyki lokalne, poza efektem analgetycznym związanym z czasowym blokowaniem przewodzenia w komórkach nerwowych, mają zdolność hamowania reakcji zapalnej w niskich stężeniach istotnych klinicznie [4,5].

Do komórek uczestniczących w procesach zapalenia, których czynność jest potencjalnie zmieniana przez środki znieczulenia miejscowego należą granulocyty obojętnochłonne, stanowiące główny składnik nieswoistej odpowiedzi immunologicznej. Niezależnie od kluczowej roli tych komórek w procesach obronnych ustroju, mogą one również uczestniczyć w uszkodzeniu tkanek za pośrednictwem uwalnianych mediatorów, m.in. reaktywnych form tlenu (RFT).

Wielokrotnie wskazywano na znaczenie granulocytów i stresu oksydacyjnego w patofizjologii ciężkich schorzeń noworodka [6]. Skądinąd istnieją pewne istotne różnice czynnościowe między granulocytami płodu, noworodka i osób dorosłych [7].

Jednym z czynników, które wpływają modulująco na produkcję RFT przez granulocyty obojętnochłonne jest tlenek azotu (NO), produkowany w dużych ilościach w tych komórkach [8]. Tlenek azotu, jako cząsteczka sygnałowa odgrywa kluczową rolę w regulacji procesów zapalenia, m.in. w wygaszaniu reakcji zapalnej [7]. Wewnątrzkomórkowa produkcja NO

opiera się na reakcji enzymatycznej katalizowanej przez syntazę NO (NOS, EC 1.14.13.39) występującą w granulocytach w dwóch izoformach: iNOS oraz nNOS [8,9,10].

Wpływ anestetyków lokalnych na granulocyty płodu i noworodka jest jak dotąd niepoznany. Nie wiadomo również czy w aspekcie produkcji NO przez granulocyty obojętnochłonne istnieją różnice między komórkami płodu i noworodka a komórkami osób dorosłych.

Wyniki badań pilotowych przeprowadzonych do tej pory w Zakładzie Anestezjologii Doświadczalnej wskazują na spadek produkcji NO w granulocytach obojętnochłonnych krwi pępowinowej pod wpływem bupiwakainy w stężeniu 1000 μM , natomiast w przypadku lidokainy obserwowano tendencję wzrostową produkcji NO w najniższym stężeniu - 2 μM – odpowiadającym stężeniu anestetyku we krwi pępowinowej w warunkach analgezji zewnątrzoponowej porodu. Zakład Anestezjologii Doświadczalnej (ZAD) Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, jako jedyny w kraju, zajmuje się badaniem wpływu środków znieczulenia regionalnego na komórki płodu, noworodka.

Dzięki zastosowaniu techniki cytometrii przepływowej możliwe jest jednoczesowe i przyżyciowe badanie procesów zachodzących w pojedynczej komórce.

Praca doktorska ma na celu zbadanie mechanizmu produkcji wewnątrzkomórkowego tlenu azotu – mediatora reakcji zapalnej – w granulocytach płodowych oraz osób dorosłych w odpowiedzi na działanie anestetyków lokalnych: bupiwakainy, lidokainy oraz ropiwakainy. Cele szczegółowe obejmują: analizę ekspresji genów poszczególnych izoform NOS: nNOS i iNOS pod wpływem anestetyków lokalnych oraz analizę poziomu NO po zahamowaniu aktywności syntaz NO przy użyciu inhibitorów: L-NAME (wszystkie izoformy enzymu) oraz 1400W (inhibitor specyficzny dla izoformy iNOS).

Wyniki badań mają na celu wzbogacenie oraz upowszechnienie wiedzy dotyczącej wpływu środków znieczulenia miejscowego stosowanych rutynowo do analgezji porodu (blokady centralne na żądanie rodzącej) na komórki krwi dziecka. Współpraca ze Szpitalem Ginekologiczno-Położniczym daje możliwość zaprezentowania wyników w środowisku lekarzy anestezjologów, pediatrów, neonatologów. Z kolei współpraca z Uniwersytetem Przyrodniczym pozwala rozwinąć warsztat, wzbogacając badanie o metody biologii molekularnej (oznaczenie ekspresji genów syntaz tlenu azotu w granulocytach płodowych).

Piśmiennictwo:

1. Agakidis C i in., J Mat Fet Neonat Med 2011, 24(9): 1128-1132.
2. Greenwell EA i in., Pediatrics 2012, 129(2):e447-54.
3. Reynolds F, Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2010, 24: 289–302.
4. Cassuto J i in., Acta Anaesthesiol Scand 2006, 50(3): 265-282.
5. Billert H i in., Anest Intens Ter 2011, 43(3 supl. 1): 89-90.
6. Celik IH i in., Pediatr Res 2012, 71(1): 121-5.
7. Chudgar i in., Pediatr Blood Cancer 2005, 45: 311–7.
8. Saini R i in., J Leukoc Biol 2006, 79(3): 519-28.
9. Greenberg SS i in., Nitric Oxide 1998, 2(3): 203-12.
10. Wallerath T i in., Thromb Haemost 1997, 77(1): 163-7.