

DYNAMIKA ZMIEN KONCENTRÁCIE PARAMETRA ICAM U VYBRANÝCH OCHORENÍ VPLYVOM HYPERBARICKEJ OXYGENOTERAPIE *DYNAMICS OF CONCENTRATION CHANGES OF THE PARAMETER ICAM IN SELECTED DISEASES DUE TO HYPERBARIC OXYGENE THERAPY*

KRAJČOVIČOVÁ Zdenka, BABIAK Juraj, MELUŠ Vladimír, KAŠLÍKOVÁ Katarína

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

ABSTRAKT

Laboratórne metódy disponujú množstvom laboratórnych parametrov, ktoré detailne a veľmi špecificky popisujú, mechanizmus vybraných dejov v organizme. Jedným z nich je aj parameter ICAM - intercelulárna adhézna molekula (*z angl.* Intercellular Adhesion Molecule), ktorá patrí do skupiny imunoglobulínov a zohráva dôležitú úlohu pri zápalovom procese, pri imunitnej odpovedi ako aj pri intracelulárnych signalizačných dejoch. Skupina ICAM sa skladá z piatich členov ICAM 1-5. Tieto molekuly sa viažu na leukocytové integríny CD11 alebo CD18 počas zápalu a počas imunitnej odpovede. Využitie tohto parametra v spojení s modernou terapeutickou metódou ako je hyperbarická oxygenoterapia (HBOT) poskytuje nové možnosti pre analýzu mechanizmu účinku viacerých ochorení. Zvýšený parciálny tlak kyslíka ovplyvňuje všetky tkanivá viacerými mechanizmami účinku vrátane modifikácie zápalovej odpovede. Vo všeobecnosti možno konštatovať, že liečba HBOT ukázala sľubné výsledky v niektorých modeloch ischemie, hlavným účinkom bolo zníženie lokálneho ischemického poškodenia, a tým aj zníženie koncentrácie parametra ICAM. Čo svedčí o tom, že tento parameter sa javí ako perspektívny, avšak výskum v danej oblasti je neustále potrebný.

Kľúčové slová: ICAM. Hyperbarická oxygenoterapia

ABSTRACT

Laboratory methods have a number of laboratory parameters that describe in detail and very specifically the mechanism of selected events in the organism. One of these is the ICAM - Intercellular Adhesion Molecule parameter, which belongs to the group of immunoglobulins and plays an important role in the inflammatory process, in the immune response as well as in intracellular signaling events. The ICAM group consists of five molecules ICAM 1-5. These molecules bind to leukocyte integrins CD11 or CD18 during inflammation and during immune response. Using this parameter in conjunction with a modern therapeutic method such as hyperbaric oxygen therapy (HBOT) provides new ways to analyze the mechanism of the effect of multiple diseases. Increased partial oxygen pressure affects all tissues by multiple mechanisms of action, including modification of inflammatory response. In general, HBOT treatment has shown promising results in some ischemic models, with the main effect being to reduce local ischemic damage and thereby reduce the ICAM parameter concentration. This suggests that this parameter appears to be perspective, but research in the field is still needed.

Key words: ICAM. Hyperbaric oxygene therapy

ÚVOD

Hyperbarická oxygenoterapia (HBOT) je terapeuticko-liečebná metóda pri ktorej pacient inhaluje 100% medicínsky kyslík pri tlaku vyššom ako je 1 atmosféra (1 atm; 101,3 kPa; 760 torr; 1 ATA). Počas terapie kyslík preniká do všetkých telesných tekutín a medzibunkových priestorov a postupne preniká aj do ischemických oblastí hlbšie ako pri normobarických podmienkach [1, 2].

Zvýšenie koncentrácie kyslíka v organizme spolu s vyšším tlakom pôsobia komplexne. Podporuje sa tým aeróbnym metabolizmus, t.j. tvorba molekúl adenosíntrifosfátu (ATP), znižuje tvorbu laktátu, eliminuje lokálnu acidózu, zvyšuje väčšiu difúziu do tkanív, má negatívny účinok na anaeróbne baktérie, obnovuje poškodené nervové bunky, redukuje edém a má veľa ďalších účinkov. Závisí to napr. od použitého tlaku, dĺžky a počtu expozícií, od zdravotného stavu pacienta, biologickej variability organizmu a mnoho ďalších faktorov [3]. HBOT sa využíva ako liečebný doplnok štandardných liečebných metód a má mnohé fyziologické a farmakologické účinky [2, 4, 5]. Medzi indikačné účinky patrí napr. dekompresná choroba, otrava oxidom uhoľnatým plynová gangréna, ale využíva sa aj pri popáleninách, omrzlinách, pri liečbe nehojajúcich sa rán a mnohých iných. Liečbu v HBOT v niektorých klinických prípadoch nie je možné nahradiť žiadnym iným lekárskeym postupom. Predstavuje ťažko doplnkovú terapeutickú metódu u viacerých diagnóz [4-6]. Počet expozícií sa pohybuje v rozmedzí od 10-20, v závislosti od indikácie lekára. Počas liečby je pacient monitorovaný prostredníctvom kamier, v prípade nevoľnosti či z dôvodu zhoršeného zdravotného stavu je možné terapiu prerušiť.

Adhézne molekuly

Adhézne molekuly sú fylogeneticky najstaršie nástroje medzibunkovej komunikácie. Niektoré sú konštitutívne (integrín β 2), iné sú ako konštitutívne, tak up-regulovateľné v prípade stimulácie (L-selektín), ďalšie zvyšujú rádovo svoju expresiu najmä pri

cytokínovej a prokoagulačnej aktivácií (vaskulárne selektín E a P, endoteliálny ICAM-1, ICAM-2 a VCAM-1). Koordinovaná expresia adhézných molekúl na endoteliách a cirkulujúcich zápalových elementoch spôsobuje spomalenie prúdu najmä monocitov (rolling) a následne ich príľnutie k aktivovanej cievnnej výstelke. Selektíny E, L, a P sú upregulované v cirkulujúcich elementoch predovšetkým lipopolysacharidov, TNF- α , IL-1 β , INF- γ a trombínom. Významnú úlohu tu má tiež PAF, tvorený prevažne trombocytmi po stimulácii histamínom a trombínom. Na strane endotelu sú hlavnými ligandami adhézných molekúl triedy imunoglobulínových molekúl ICAM a VCAM. Zvýšené koncentrácie adhézných molekúl v biologických tekutinách sú teda signálom interakcie endotelu so zápalovými elementami, avšak ide o nešpecifický fenomén. Diagnosticky majú značný význam u chronicky prebiehajúcich zápalov (vaskulitídy, autoimunitné procesy), v medicíne kritických stavov potvrdzujú vcelku očakávanú prítomnosť rôzne intenzívnych endoteliálnych aktivácií a dysfunkcií. Ich dynamika pre stanovenie prognózy prežitia neprináša v rozvinutej sepe zásadnejšiu informáciu [7].

ICAM

Intercelulárna adhézna molekula (z *angl.* Intercellular Adhesion Molecule, ICAM) patrí do veľkej skupiny imunoglobulínov, je dôležitá pri zápaloch, imunitnej odpovedi a aj pri intracelulárnych signalizačných dejoch. Skupina ICAM sa skladá z piatich členov ICAM 1, ICAM 2, ICAM 3, ICAM 4 a ICAM 5. Tieto molekuly sa viažu na leukocytové integríny CD11 alebo CD18 počas zápalu a počas imunitnej odpovede. Okrem toho sa ICAM môže nachádzať aj v rozpustnej forme v krvnej plazme, a v dôsledku aktivácie a proteolýzových mechanizmov aj na povrchu buniek. Môže sa indukovať bunkovo špecifickým spôsobom niekoľkými cytokínmi, napr. TNF- α , IL-1 a interferónom-gama, je inhibovaný glukokortikoidmi. Hrá úlohu pri zápalových procesoch a v obrannom systéme hostiteľa sprostredkovanom T-bunkami. Funguje ako kostimulačná molekula na antigén prezentujúcich bunkách na aktiváciu T-buniek obmedzených na MHC triedy II a na iné bunkové typy v spojení s MHC triedy I na aktiváciu cytotoxických T-buniek. ICAM-1 na endotelu hrá dôležitú úlohu pri migrácii (aktivovaných) leukocytov na miesta zápalu. ICAM-1 je prenesená do bunky a detegovaná v plazme ako sICAM-1 [7].

CIEĽ

Cieľom predkladaného príspevku bolo na základe dostupných vedeckých publikácií sumarizovať vplyvu hyperbarickej oxygenoterapie na koncentráciu parametra ICAM pri vybraných ochoreniach.

Vybrané štúdie sledovania vplyvu HBOT na ICAM

Hyperbarický kyslík sa skúma ako terapeutická intervencia pri ischemicko/reprfúznom (I/R) poškodení. Indukcia ICAM-1 z pupočnej žily a bovinnej aortálnej endotelovej bunky na skúmanie hypoxie a hypoglykémie sa stanovuje pomocou testu ELISA, Western blotom a konfokálnou laserovou skenovacou mikroskopiou. Výskumy ukázali že liečba pomocou HBOT znížila expresiu ICAM-1 na kontrolné hodnoty. Zistenia naznačujú, že priaznivé účinky HBOT pri liečbe I/R poškodenia môžu byť čiastočne sprostredkované inhibíciou expresie ICAM-1 indukciou endoteliálnych buniek oxidu dusnatého (eNOS). Ischémiá a reperfúzia môžu spôsobovať až závažné ochorenia ako sú cievná mozgová príhoda, infarkt myokardu, syndrómu komôr a pod. ICAM-1 sa v týchto stavoch podieľala na poškodení I/R náborom polymorfonukleárných leukocytov (PMNs) exprimujúcich CD11/CD18 [8, 9].

Oxid dusnatý (NO) zohráva úlohu pri I/R poškodení. Inhibícia syntézy NO pochádzajúcej z endotelových buniek podporuje expresiu ICAM-1 a adhéziu PMN v niekoľkých modeloch [10, 11]. Expozičia kyslíku pri tlaku vyššom ako 1 atmosféra sa použila ako prídavná terapia pre niekoľko zranení I/R vrátane akútnej periférnej ischémiie a infarktu myokardu. Posledné štúdie ukázali že terapia HBOT zlepšuje výsledok po experimentálnom poškodení I/R. Ukázalo sa, že predbežná liečba HBOT znižuje adhéziu leukocytov a zlepšuje postischemickú mikrovaskulárnu rýchlosť toku a hladiny ATP v tkanive po I/R v modeli pečene na hlodavce [12].

Vedecké štúdie naznačujú, že expresia proteínu ICAM-1 nie je vyvolaná samotnou hypoxiou a vyžaduje iné stimuly. Skúmalo sa, či hypoglykémia je schopná indukovať samotný ICAM-1 alebo modifikovať produkciu ICAM-1 v kombinácii s hypoxiou/reoxygenáciou. Ľudská endotelová bunka z pupočnej žily (HUVEC, z *angl.* Human Umbilical Vein Endothelial Cell) boli vystavené 4 hodinám hypoxie, hypoglykémie, potom nasledovalo 20 hodín normoxie a normoglykémie. Na stanovenie indukcie ICAM-1 bola použitá analýza CLSM.

CLSM demonštruje nízke hladiny proteínu ICAM-1 v neošetrených kontrolných HUVEC. Štyri hodiny hypoxie/hypoglykémie samotne nedokázali indukovať ICAM-1 po 24 hodinách. V kombinácii 4 hodín hypoxie a hypoglykémie bola dostatočná na vyvolanie expresie proteínu ICAM-1 po dobu 24 hodinách. Expresia ICAM-1 po hypoxii/hypoglykémii bola podobná hladine po stimulácii LPS. Po definovaných podmienkach *in vitro* vedúcich k indukcii ICAM-1 sa autori štúdiu snažili určiť, či liečba endotelovými bunkami HBOT by mohla inhibovať indukciiu proteínov ICAM-1. Falošný protokol I/R bol modifikovaný tak, aby zahŕňal 90 minút HBOT pri 2,5atm po hypoxickom/hypoglykemickom období a pred normotoxickým/normoglykemickým obdobím. HUVEC, ktoré boli podrobené samotnej hypoxii/hypoglykémii, boli prenesené priamo do normoxických/normoglykemických podmienok počas 90-minútového obdobia. Po celkovom čase 24 hodín boli bunky zozbierané a analyzované na expresiu proteínu ICAM-1 prostredníctvom CLSM. HBOT liečba endotelových buniek ošetrovaných hypoxiou/hypoglykémiou znížila expresiu proteínu ICAM-1 na kontrolné hladiny. Samotná expozícia HBOT neovplyvnila expresiu ICAM-1. Podobné výsledky boli získané použitím BAEC a identického imunohistochemického farbiaceho protokolu. Po vystavení hypoxii/hypoglykémii, spracovanie buniek s normálneho tlaku 100% kyslíka alebo N₂/O₂ zmes plynov ekvivalentné vzduchu na 2,5 atm neznížila/hladiny ICAM-1 hypoglykémii hypoxiou indukovanú. Boli vykonané ďalšie experimenty, aby sa zistilo, či je potrebný prahový tlak na potlačenie indukcie ICAM-1. Po vystavení hypoxie/hypoglykémii boli bunky ošetrované HBOT pri zvýšených tlakoch 1,5, 2,0 a 2,5 atm, po ktorých nasledovala normoxia/normoglykémia. Analýza ICAM-1 pomocou CLSM ukázala, že pre maximálnu inhibíciu ICAM-1 indukovanej hypoxiou/hypoglykémiou je potrebný tlak 2,5 atm. Zvyšujúci sa tlak ukázal prírastkové potlačenie expresie ICAM-1, najväčšie zníženie sa však vyskytlo medzi 2,0 a 2,5 atm. HUVEC boli vystavené hypoxii / hypoglykémii počas 4 hodín s alebo bez pôsobenia HBOT pri 2,5 atm. V rastúcich intervaloch po návrate do normoxie/normoglykémii boli bunky fixované a analyzované pomocou CLSM pre expresiu ICAM-1. Zvýšenie expresie ICAM-1 sa najskôr zaznamenalo 4 hodiny po hypoxii/hypoglykémii, pričom hladiny sa zvyšovali počas 24 hod. obdo-

bia. HUVEC ošetrované HBOT vykazovali tlmený nárast expresie ICAM-1 s malým, ale významným zvýšením pozorovaným iba 8 hodín po hypoxii/ hypoglykémii [13].

Kendal A.C. so spol. [14] robili výskum o rôznych tlakoch na expresiu zápalových génov v ľudských endotelových bunkách. Autori zistili, že hyperbarický kyslík sa ukázal ako užitočná liečba chronických rán. Endotelové bunky boli vystavené chronickému modelu poranenia, ktorý obsahoval hypoxiu v prítomnosti 0,5 mikrog/ml lipopolysacharidu a 1 ng/ml TNF-alfa počas 24 hodín, potom sa pôsobilo normobarickým kyslíkom (NBO₂, 95 % O₂ / 5 % CO₂ pri tlaku 1,0 atm, pO₂ približne 96,3 kPa), hyperbarickým kyslíkom (HBOT) pri 1,5 atm (1,5 HBO₂, 96,7 % O₂/ 3,3 % CO₂, pO₂ približne 147kPa) a HBOT pri 2,4 atm (2,4 HBO₂, 97,9 % O₂ / 2,1 % CO₂ pri 2,4 atm, pO₂ približne 238kPa). Expresia mRNA 92 zápalových génov sa potom analyzovala, a identifikovali zmeny v génoch, ktoré sa podieľajú na expresii adhezívnych molekúl, angiogenéze a remodelácii tkaniva, intracelulárnej signalizácii a reakciách bunkového kyslíka a redoxovej signalizácii. Autori zaznamenali rozdiely v prejave medzi rôznymi liečebnými tlakmi, zdôrazňujúc potrebu ďalšieho výskumu použitia rôznych terapeutických protokolov pri liečbe zápalových stavov, ako sú chronické rany.

Ye X. so spol. [15] robili výskum v oblasti HBOT a možných doplnkových terapiách pre orálne potenciálne malígne poruchy. Zistili že, ICAM-1 je konštitutívne exprimovaná endotelovými bunkami a rýchlo sa reguluje rýchlo počas zápalu, čo má za následok zvýšenú adhéziu buniek leukocytov a endotelových buniek. Na štúdium vplyvu HBOT na expresiu adhézie ICAM-1 a polymorfonukleárných neutrofilov vyvinula výskumná skupina *in vitro* model endotelových buniek I/R poškodenia a zistili, že liečba HBOT znižuje expresiu ICAM-1 na kontrolnú úroveň.

Fildisis G. a kol. [16] sa zamerali na prítomnosť protizápalových cytokínov, ktoré reguluje určité faktory vrátane adhezívnych molekúl, a ktoré zohrávajú významnú úlohu pri účinkoch HBOT. Autori štúdie konštatovali, že účinok HBOT je protizápalový a indukuje uvoľnenie cytokínov TNF- α , IL-6 a IL-8 a reguláciu adhezívnych molekúl sICAM-1 a sVCAM. Bol spracovaný celkový počet 64 vzoriek rozdelených do štyroch skupín: skupina A - nestimulovaná LPS a nevystavená HBOT, skupina B - stimulácia LPS a bez HBOT, skupina C - bez LPS

a bez HBOT, skupina D - stimulovaná LPS a vystavená HBOT. Stimulačná dávka LPS bola 100 ug/ml pre 0,1 ml plnej krvi zriedenej 1:10. Po inkubácii boli vzorky vystavené pôsobeniu HBOT so 100 % O₂ pri absolútnej hodnote 2,4 ATA po dobu 90 minút. TNF- α , IL-6, IL-8 a sICAM-1, hladiny sVCAM boli stanovené v supernatante kultúry pomocou ELISA. Autori pozorovali zvýšený účinok stimulácie LPS po expozícii HBOT, ktorý spôsobil zvýšenie produkcie cytokínov (TNF- α , IL-6, IL-8), zníženie sICAM a žiadnu zmenu sVCAM, zatiaľ čo ich hladiny bez stimulácie zostal takmer nezmenený. Pokles hladín sICAM by mohol súvisieť so zvýšenou hladinou IL-8, pretože produkcia tohto chemokínu je zahrnutá do regulácie adhézných molekúl [17].

Van den Blink so spol. [18] pozoroval, že expozícia HBOT zvyšuje uvoľňovanie cytokínov *in vitro* ako makrofágmi, ktoré nie sú stimulované, tak aj LPS. Hladiny TNF- α významne vzrástli počas a po jedinej expozícii HBOT u zdravých dobrovoľníkov, zatiaľ čo hladiny IL-6 a IL-1 β sa významne nezmenili. V štúdiách zdravých jedincov po stimulácii LPS autori skúmali vplyv HBOT na expresiu cytokínov (TNF- α , IL-6 a IL-8) a adhézných molekúl (sICAM-1, sVCAM) vo vzorkách zdravých jedincov. ICAM-1 je konštitutívne exprimovaný endotelovými bunkami a rýchlo sa reguluje rýchlo počas zápalu, čo má za následok zvýšenú adhéziu buniek leukocytov a endotelových buniek. LPS a zápalové cytokíny, vrátane TNF- α , IL-1 a IFN- γ , stimulujú akumuláciu ICAM-1 a VCAM mRNA a expresiu bunkového povrchu, aj keď tento mechanizmus predpokladá, že podporuje zápal tkanív. Up-regulácia génovej expresie adhézičných molekúl v mikrovaskulárnych endoteliálnych bunkách je dôležitým krokom pre migráciu a akumuláciu leukocytov v mieste zápalu, ktoré zohrávajú rozhodujúcu úlohu pri poškodení orgánov počas sepsy. Zvýšenie napätia kyslíka za normálnych, ale nie hyperbarických podmienok, stimuluje expresiu ICAM-1 a VCAM v ľudských mikrovaskulárnych a makrovaskulárnych endotelových bunkách, čo môže prispieť k adhézii a migrácii rôznych populácií leukocytov pri I/R poraneniach. ICAM-1 sa podieľa na poškodení indukovanom sepsou pri nábore PMN/CD18 exprimujúcich PM11. Schopnosť HBOT potlačiť uvoľňovanie sICAM-1, môže pomôcť vysvetliť priaznivý protizápalový účinok HBOT pri liečbe poškodenia I/R. Zvýšené hladiny

cytokínov uvoľňovaných za HBOT po LPS stimulácii a najmä IL-8 môžu sprostredkovať pokles sICAM-1. Chemotaktický cytokín IL-8 spôsobuje konformačné zmeny v štruktúre integrínov. Vyššie hladiny IL-8 uvoľňované pod HBOT, sprostredkujúce zmeny štruktúry receptorov adhézných molekúl, zvyšujú väzobnú kapacitu rozpustných molekúl ICAM-1 a detekované hladiny sICAM-1 sa znížili. Tento mechanizmus je posilnený, ako v prípade HBOT bez stimulácie, pozorované zmeny hladín IL-8 alebo sICAM-1 neboli významné. Avšak sVCAM zostal nezmenený pod HBOT, post-LPS. Možno, že väzba sVCAM na jeho receptor je neskorší proces ako sICAM-1. Zistenie supresívneho účinku HBO na hladiny sICAM-1 je v súlade s podobnými publikovanými výsledkami.

Experimentálne štúdie

Shinomiya N. so spol. [13] študovali účinok hyperbarického kyslíka na expresiu ICAM-1 v myších pľúcach a zistili, že pľúca sú jedným z najcitlivejších orgánov toxického účinku vysokotlakového kyslíka. Avšak prínos bunkových adhézných molekúl a zápalových leukocytov pri pľúcnej kyslíkovej toxicite, najmä v akútnej exudatívnej fáze, nie je dobre pochopený. Autori skúmali toxický účinok hyperbarického kyslíka vyjadrený analýzou koncentrácie ICAM-1 na pľúcne cievy endotelové bunky a funkciu leukocytov. Myši boli vystavené pôsobeniu HBOT pri 3 ATA pO₂ počas 3, 4 alebo 6 hodín. Expresia ICAM-1 bola sériovo pozorovaná imunohistochemickou analýzou. Po expozícii HBOT sa pozoroval nárast počtu pľúcnych intersticiálnych leukocytov (PIL) a bronchoalveolárnej laváže (BAL) po 72 a 48 hod. Expresia ICAM-1 bola výrazne zvýšená ihneď po expozícii HBOT a zotrvala po dobu 24 hod. To naznačuje dôležitosť zvýšenej expresie adhézných molekúl pri tvorbe pľúcnej kyslíkovej toxicity. Nebolo však možné zistiť zvýšenú chemiluminiscenčnú aktivitu v počiatočnej fáze buniek BAL a PIL. Z toho plynie, že expresia ICAM-1 bola zvýšená už od veľmi raného štádia po HBOT, ale v tejto fáze sa nepozorovala ani akumulácia leukocytov v pľúcach ani zvýšenie chemiluminiscenčnej aktivity. Preto aktivácia zápalových leukocytov v pľúcnej kyslíkovej toxicite sa môže vyskytnúť až po predĺženej (viac ako 4 hod.) alebo opakovanej expozícii HBOT.

Kayvan T. so spol. [19] uskutočnili štúdiu o reperfúzne indukovanvej polarizácii neutrofilov CD18

vo vzťahu k HBOT. Zistili, že HBOT inhibuje adhéziu neutrofilov indukovanú I/R na endotel prostredníctvom neznámeho mechanizmu. Táto štúdia hodnotí vplyv HBOT na I/R-stimulovanú adhéziu neutrofilov a polarizáciu exprimovaných adhézných molekúl CD18 s použitím nového *in vitro* adhézneho testu a konfokálnej mikroskopie. Neutrofilové zvierat sa izolovali z plnej krvi a inkubovali s plazmou z chlopni svaly s krysami gracilis na krycích línách, ktoré boli predbežne ošetrované ICAM. Percento adhézie k polarizácii ICAM a CD18 bolo hodnotené v nasledujúcich piatich skupinách: 1. neischemická kontrola, $n = 15$; 2. 4 hod. ischemia (I/R, $n = 15$); 3. 4 hod. ischemia s liečbou HBOT (100% kyslík pri absolútnej hodnote 2,5 ATA (I/R + HBOT, $n = 15$)); 4. 4 hod. ischemia so 100% kyslíkom pri izbovej teplote a tlaku (RTP) (I/R + normobarická hyperoxia, $n = 5$); a 5. 4 hod. ischemie s 8% kyslíka pri absolútnej hodnote 2,5 ATA (I/R + hyperbarická normoxia, $n = 5$). Bola tiež hodnotená priama liečba neutrofilmi HBOT. Výsledok bol, že neutrofilové vystavené I/R plazme vykazovali v porovnaní s kontrolami signifikantné zvýšenie percentuálnych adherentných a polarizovaných buniek. Hyperbarický kyslík významne znížil adhéziu a polarizáciu. Normobarická hyperoxia a hyperbarická normoxia neovplyvnili adhéziu neutrofilov alebo polarizáciu CD18 po I/R. Priama HBOT liečba neutrofilov nezmenila percento polarizovaných buniek v I/R. Výskum zistil, že hyperbarický kyslík inhibuje I/R-indukovanú adhéziu neutrofilov blokovaním povrchovej polarizácie CD18 a vyžaduje plazmovú expozíciu voči HBOT. Liečba samotným kyslíkom alebo tlakom nie je účinná. Test bol vyvinutý s ICAM a bez neho, aby sa zabezpečilo, že adhézia PMN nie je len náhodná. Pretože sa ukázalo, že HBOT znižuje expresiu ICAM [20], táto premenná bola riadená tým, že koncentrácia ICAM bola udržiavaná konštantná tak, aby bol izolovaný účinok HBOT na CD18.

DISKUSIA A ZÁVER

ICAM je sľubná molekula v laboratórnej diagnostike, ktorá sa v súčasnej dobe využíva predovšetkým vo vedecko-výskumnej činnosti. Nakoľko je parameter ICAM ukazovateľom predovšetkým protizápalovej aktivity, zaujímala nás ako sa správa v súvislosti s HBOT.

Hyperbarický kyslík (HBOT), zvýšené dodávanie kyslíka do tkanív dýchaním 100%-ného kyslíka v okolitom tlakovom prostredí, väčšieho ako

1 ATA, indukuje kompresiu akýchkoľvek vyvinutých bublín, farmaceutický účinok na niektoré baktérie, stimuláciu imunitných odpovedí, zvrat otravy oxidom uhoľnatým (CO) a hypoxiu tkaniva a zrýchlené hojenie poranení a rán. Zvýšený parciálny tlak kyslíka (pO_2) ovplyvňuje všetky tkanivá niekoľkými rôznymi mechanizmami vrátane modifikácie zápalovej odpovede. Vo všeobecnosti možno konštatovať, že liečba HBOT ukázala sľubné výsledky v niektorých modeloch ischemie, hlavným účinkom bolo zníženie lokálneho ischemického poškodenia. Ukázalo sa, že HBOT inhibuje adhéziu neutrofilov na vaskulárny endotel a znižuje celkový obsah PMN v ischemickom tkanive po traume. Ďalšie štúdie s použitím rôznych zvieracích modelov naznačujú, že nábor neutrofilov je významne znížený pomocou HBOT po I/R poranení pečene, čreva a gracilového svaly. Klinických štúdií s využitím parametrom ICAM je v dostupných vedeckých databázach iba obmedzené množstvo [14-18], oveľa viac štúdií sa vykonáva experimentálne na zvieratách alebo bunkových kultúrach [19, 20]. Thom so spol. [21] vo svojej štúdií konštatovali, že HBOT účinne reguluje expresiu ICAM-1 v *in vitro* modeli poškodenia endotelálnych buniek I/R a toto zníženie regulácie môže byť sprostredkované čiastočne aktívou endotelovej syntázy oxidu dusnatého (eNOS). Larson so spol. [22] študovali vplyv hyperbarického kyslíka na zvieracom modeli I/R poškodenia. Vystavenie HBOT plnej krvi zo zdravých jedincov predtým vyvolaných LPS zvyšoval uvoľňovanie cytokínov a potlačil hladiny sICAM-1. Tieto najnovšie zistenia môžu podporiť potenciálny priaznivý účinok HBOT na adhéziu PMN na endotel prostredníctvom modulácie expresie proteínu ICAM-1. Ďalšie vyšetrenia môžu umožniť jasnejšie pochopenie mechanizmov, ktorými HBOT ovplyvňuje expresiu cytokínov.

Vo všeobecnosti možno na základe dostupných vedeckých publikácií vplyvu HBOT na parameter ICAM konštatovať, že liečba HBOT ukázala sľubné výsledky v niektorých modeloch ischemie. Hlavným mechanizmom účinku bolo zníženie lokálneho ischemického poškodenia. Ukázalo sa, že HBOT inhibuje adhéziu neutrofilov na vaskulárny endotel a znižuje celkový obsah PMN v ischemickom tkanive po traume. Väčšina štúdií potvrdzuje predpoklad, že HBOT pomáha pacientom tým, že prekrvuje tkanivá a tým znižuje koncentráciu parametra ICAM.

Pod'akovanie

Tento príspevok vyšiel s podporou projektu „Dobudovanie technickej infraštruktúry pre rozvoj vedy a výskumu na Trenčianskej univerzite Alexandra Dubčeka prostredníctvom hyperbarickej oxygenoterapie“ ITMS kód 26210120019 Operačného programu Výskum a vývoj.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] KRAJČOVIČOVÁ Z., MELUŠ V. Proposed mechanism of action of selected antioxidant defenses induced by hyperbaric oxygen therapy. *University review*. 2014; 8 (1-2): 2-8.
- [2] JAIN K.K. *Textbook of hyperbaric medicine*. Hogrefe and Huber Publishers, Gottingen, 2009, 578s., ISBN 978-0-88937-361-7.
- [3] BARCAL R., EMMEROVÁ M., HADRAVSKÝ M. *Hyperbarie a hyperbarická oxygenoterapie*. Kuna, Plzeň, 2000, 1.vyd., ISBN 80-902017-7-6.
- [4] GERLICOVÁ K., MATIŠÁKOVÁ I., POLIAKOVÁ N. The role of nurse in hyperbaric oxygen therapy. *University review*. 2014; 8 (1-2): 14-20.
- [5] KRAJČOVIČOVÁ Z., ZIGO R., MIŠINOVÁ M., et al. Posúdenie vplyvu hyperbarickej oxygenoterapie na subjektívne vnímanie kvality života pacientov s tinnitom. *Zdravotnícké listy*. 2016; 4 (1): 7-12.
- [6] HÁJEK M., a kol. *Hyperbarická medicína*, Mladá fronta a.s., 2017, 1. vyd., 453 s., ISBN 978-80-204-4235-2.
- [7] ZIMA T. a kol. *Laboratorní diagnostika*, Galén, Praha, 2007, 2. vyd., 906 s., ISBN 978-80-7262-372-3.
- [8] MA X.L., LEFER D.J., LEFER A.M., et al. Coronary endothelial and cardiac protective effects of monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*. 1992; 86: 937-946.
- [9] SMITH C.W., ENTMAN M.L., LANE C.L., et al. Adherence of neutrophils to canine cardiac myocytes in vitro is dependent on intercellular adhesion molecule-1. *J. Clin. Invest.* 1991; 88: 1216-1223.
- [10] DE CATERINA R., LIBBY P., PENG H.B., et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 60-68.
- [11] KUBES P., SUZUKI M., GRANDER D.N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991; 88: 4651-4655.
- [12] CHEN M.F., CHEN M.H., UENG S.W., et al. Hyperbaric oxygen pretreatment attenuates hepatic reperfusion injury. *Liver*. 1998; 18: 110-116.
- [13] SHINOMIYA N., SUZUKI S., HASHIMOTO A., et al. Effect of hyperbaric oxygen on intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in murine lung. *Aviat Space Environ Med*. 1998; 69 (1): 1-7.
- [14] KENDALL A.C., WHATMORE J.L., HARRIES L.W., et al. Different oxygen treatment pressures alter inflammatory gene expression in human endothelial cells. *Undersea Hyperb Med*. 2013; 40 (2): 115-123.
- [15] YE X., ZHANG J., LU R., et al. HBO: a possible supplementary therapy for oral potentially malignant disorders. *Med Hypotheses*. 2014; 83 (2): 131-136.
- [16] FILDISSIS G., VENETSANO K., MYRIANTHEFS P., et al. Whole blood pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules post-lipopolysaccharides exposure in hyperbaric conditions. *Eur. Cytokine Netw*. 2004; 15 (3): 217-221.
- [17] KHIABANI K.T., STEPHENSON L.L., GABRIEL A., et al. A quantitative method for determining polarization of neutrophil adhesion molecules associated with ischemia reperfusion. *Plast Reconstr Surg*. 2004; 114: 1846.
- [18] VAN DEN BLINK B., VAN DER KLEIJ A.J., VERSTEEG H.H., et al. Immunomodulatory effect of oxygen and pressure. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2002; 132: 93.
- [19] KAYVAN T. KHIABANI, M.D., SETH A., et al. Reperfusion-Induced Neutrophil CD18 Polarization: Effect of hyperbaric oxygen. *Journal of Surgical Research*. 2008; 150 (1): 11-16.
- [20] BURAS J.A., STAHL G.L., SVOBODA K.S., et al. Hyperbaric oxygen down-regulated ICAM-1 expression induced by hypoxia and hypoglycemia: the role of eNOS. *Am J Physiol*. 2000; 278: C292.
- [21] THOM S.R. Functional inhibition of leukocyte B2 integrins by hyperbaric oxygen in carbon monoxide-mediated brain injury in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 123: 248.
- [22] LARSON J.L., STEPFENSON L.L., ZAMBONI W.A. Effect of hyperbaric oxygen on neutrophil CD18 expression. *Plast. Reconstr. Surg*. 2000; 105: 1375.