

612.648:546.21

ODOLNOST MLÁDAT KE KYSLÍKU

V. DOLEŽAL, F. NÁDVORNÍK

Ústav leteckého zdravotnictví a Ústav soudního lékařství KU, Praha

Pro objasnění nepříznivého vedlejšího účinku kyslíku na organismus byly provedeny četné experimentální práce, avšak mechanismus jeho působení není dosud znám. Jistý klíč k této otázce nám může poskytnout studium toxicity kyslíku různých druhů zvířat na různém stupni zralosti. Extrémní rezistencí ke kyslíku se vyznačují studenokrevní (Faulkner, Binger, 1927). Také želvy vystavené teplotě 23–26 °C při tlaku 0,9 až 1,0 atm. kyslíku na dobu 10–23 dnů neměly na plicích zjištěné patologické změny. Jestliže se však vystavily teplotě 37–38 °C, projevila se u nich dyspnoe a želvy uhynuly během tří dnů. Na plicích bylo překrvení, hemorrhagie, dilatace kapilár a atelektázy. Z toho lze usuzovat, že přirozená rezistence živočichů ke kyslíku je závislá mimo jiné i na stupni biologické aktivity. Ptáci jsou ke kyslíku rovněž rezistentnější než savci (30). Dospělá pokusná zvířata

(krysy, myši, morčata, králíci a další) hynou v čistém kyslíku za normálního barometrického tlaku během 3–4 dnů (Karsner, 1916). Velká zvířata, např. opice, přežívala z 50 % 12denní expozici kyslíku při normálním barometrickém tlaku (18), avšak na plicích měla značně pokročilé zánětlivé a proliferativní změny. Nezralost organismu, alespoň u pokusných savců, je provázena zvýšenou odolností ke kyslíku (27, 29).

V minulých pokusech (12) jsme u krysích mládat, exponovaných nepřetržitě čistému kyslíku, zjistili, že ani po 8 dnech expozice kyslíku nedošlo k významným patologickým změnám na plicní tkáni těchto mládat. V této práci referujeme o patologických histologických změnách u krysích mládat exponovaných kyslíku při normálním barometrickém tlaku po dobu 288 hodin.

Metodika

Břeží krysí samice kmene Wistar byly umístěny do plexigázových akvárií, ventilovaných kyslíkem, den před očekávaným vrhem. Pokus byl uspořádán tak, že narozená mláďata nepřišla vůbec do styku se vzduchovou atmosférou. Břeží krysí samice, které v kyslíkové atmosféře vrhly, měly po 3 dnech těžké dyspnoe a byly vyměněny za jiné, které vrhly ve stejnou dobu ve vzduchu. Tato výměna samic u kryších mláďat v kyslíkové atmosféře byla provedena celkem čtyřikrát.

Po 288 hodinách nepřetržité expozice kyslíku bylo 50 % mláďat, která přežila, utraceno dekapitací a ostatní byla pozorována až do dospělosti. U utracených mláďat byl proveden patomorfologický rozbor orgánů, především plic. Řezy plicní tkáně pro histologické zpracování byly barveny hematoxilinem — eozinem, barvením PAS a Malloryho barvivem na fibrin.

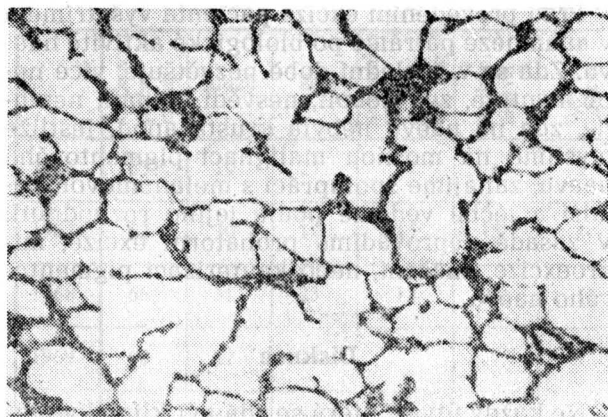
Výsledky

Břeží krysí samice, které vrhly v kyslíkové atmosféře, měly těžké dyspnoe, nebo uhynuly ke konci třetího dne expozice kyslíku. Na plicích byl typický nález otravy kyslíkem: ložiska hepatizované plicní tkáně, edém, atelektázy a exsudát pleurální dutiny. Kontrolní samice, které vrhly ve stejnou dobu ve vzduchu a které nahradily samice uhynulé v kyslíkové atmosféře u mláďat, byly vyměněny po dalších třech dnech za jiné kontrolní po tom, co se u nich projevila dyspnoe. Při všech výměnách nové samice mláďata přijaly.

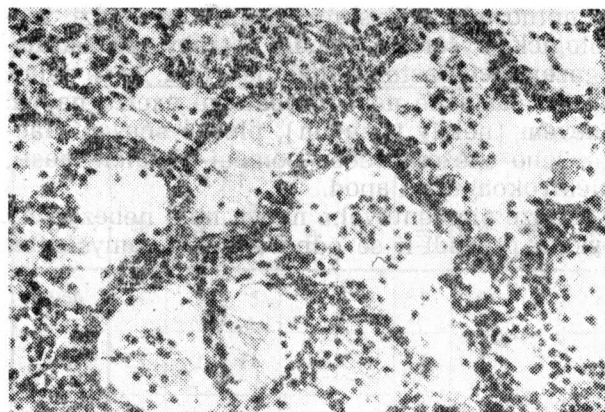
Z kryších mláďat narozených a žijících v kyslíkové atmosféře 288 hodin uhynulo 10 %, a to 10. a 11. den expozice. Uhynulá mláďata měla na plicích typický patomorfologický obraz otravy kyslíkem. Z ostatních mláďat, která přežila, bylo 50 % utraceno ihned po vynětí z kyslíkové atmosféry a ostatní, která byla pozorována až do dospělosti, se vzhledově ani váhově nelišila od ostatních krys kontrolních, stejně starých, žijících ve vzduchové atmosféře.

U dekapitovaných zvířat jsme nenalezli žádné známky otravy kyslíkem na plicích u 60 % zvířat. Jejich plicní tkáň byla, jak je patrné např. z obr. 1, intaktní. Na histologických řezech je patrná plicní tkáň se zachovalou vzdušností, interalveolární septa nejsou ztlustělá. U ostatních mláďat byly nalezeny počínající známky otravy kyslíkem (obr. 2 a 3). Na histologickém obrázku č. 2 jsou patrná ztlustělá interalveolární septa, se zvýšenou buněčností, překrvení kapilár s ojedinělými shluky leukocytů v alveolech.

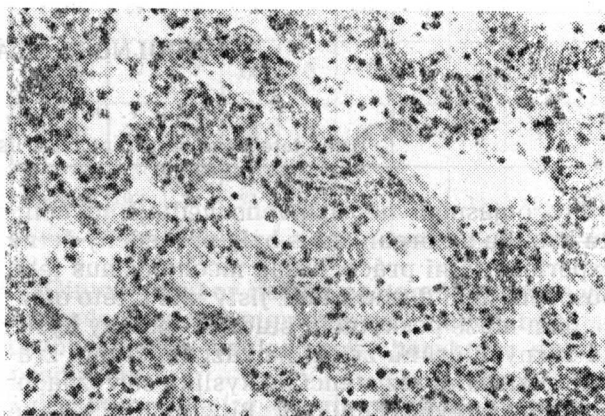
Na obr. 3 jsou ztlustělá septa, s výrazným zmnožením buněk a výskytem hyalinních membrán, ložiska bronchopneumonie a počínající edém alveolů. Hyalinní membrány dávaly negativní reakci na průkaz přítomnosti fibrinu.



Obr. 1. Řez plicní tkáně krysy žijící po narození nepřetržitě 288 hodin v prostředí čistého kyslíku. Plicní tkáň je intaktní, se zachovalou vzdušností, septa nejsou ztlustělá. Zvětšeno 50krát



Obr. 2. Dtto. Inter-alveolární septa jsou ztlustělá se zvýšenou buněčností, v alveolech jsou hojné leukocyty a ložiskový edém. Zvětšeno 120krát



Obr. 3. Dtto. Ztlustělá septa se zvýšenou buněčností a výskytem hyalinních membrán. Bronchopneumonická ložiska, v alveolech shluky erytrocytů a edém. Hyalinní membrány, bez přítomnosti fibrinu. Zvětšeno 120krát

Diskuse

Experimentální výsledky ukazují, že kryší mláďata, narozená a žijící po narození nepřetržitě v kyslíkové atmosféře, jsou ke kyslíku vysoce rezistentní. Překvapující je zejména nález

intaktní plicní tkáň u 60 % zvířat po 12denní expozici kyslíku, protože toxický účinek kyslíku se projevuje morfologicky u dospělých zvířat již po 2–3 dnech plicními změnami. Tyto změny měly všechny krysy samice uhynulé nebo vyměňované v kyslíku. U mláďat naproti tomu nebyly na mozku, ledvinách, játrech a myokardu nalezeny žádné patologické změny, jen malé změny na plicích po 288hod. expozici kyslíku, jak ukázal rozbor mikroskopické struktury. Nález ojedinělého rozšíření interalveolárních sept u některých živočichů by mohl svědčit pro počínající adaptační reakci, kdy prodloužením difúzní vzdálenosti pro kyslík z alveolů kapilární krve se částečně snížil přívod kyslíku do organismu.

Známky počínajícího poškození plic byly zjištěny u 40 % kryších mláďat a projevovaly se lokálním difúzním edémem, způsobeným poškozením endoteliálních buněk plicních kapilár; to se pokládá za hlavní příčinu exsudátu a edému při poškození plic kyslíkem (16, 21).

Je známo, že patomorfologický obraz kyslíkové toxicity se liší podle tlaku vdechovaného kyslíku. Při nižších tlacích kyslíku (0,5–0,8 ATA) dochází k proliferativním změnám v endotelu a epitelu. Tato „chronická“ forma kyslíkové toxicity zpravidla není letální. Naproti tomu změny vyvolané čistým kyslíkem při 1 ATA, označované jako „akutní otrava“, se dále dělí podle Wintera a spol. (1972) na fázi exsudativní, kterou vystřídá fáze proliferativní. Akutní formu kyslíkové otravy popsal již Smith (1899) a po něm celá řada autorů. Je charakterizována překrvením plicních kapilár, intersticiálním a alveolárním edémem, atelektázami, degenerativními změnami plicních kapilár a hemorragiemi. Vznik těchto změn závisí nejen na délce tlaku vdechovaného kyslíku, ale jsou také modifikovány individuální citlivostí a liší se u různých zvířecích druhů.

Podrobné histologické studie o postupu patologických změn v plicích při expozici pokusných živočichů kyslíku provedl Kistler a spol. (1967) na kryších vystavených 99% kyslíku při 1 ATA. Po 48 hodinách expozice našel změny na plicních kapilárách, ale ne na alveolárním epitelu. Došlo k ztlustění alveolárních sept, jako důsledek počínajícího edému a buněčné infiltrace. Po 72 hodinách došlo ke značnému rozšíření mezialveolárních sept, k destrukci kapilár a rozsáhlé buněčné infiltraci. Exsudát obliteroval 65 % alveolů. V našich pokusech (11) jsme našli u morčat vystavených kyslíku při 1 ATA již po 24 hodinách expozice počínající zánětlivé změny v plicích a infiltraci mezialveolárních sept polymorfonukleárními buňkami a atelektatická ložiska. V závislosti na době expozice kyslíku docházelo k výše popsaným změnám, avšak po 72 hodinách expozice jsme našli na stěnách alveolů také hyalinní membrány. Kapanci a spol. (1969), Kaplan a spol. (1969) zjistili na plicní tkáni u vyšších savců (opice, kozy) degenerativní změny na plicních kapilá-

rách a žádné nebo minimální změny alveolárního epitelu.

V nejdelší známé expozici pokusných zvířat 90–100% kyslíku při 1 ATA (18) provedené na opicích byla 12 dnů. Při tom došlo k 50% uhynutí zvířat do 7 dnů expozice kyslíku. Autoři postupně zvířata utráceli a zjistili, že po dvou dnech expozice kyslíku došlo k lehkému prosáknutí endoteliálních buněk a objevil se počínající edém plic. Po 4 dnech expozice pozorovali destrukci alveolárních buněk, ztlustění mezialveolárních sept a endotelu a vzestup intersticiální tekutiny. Edém zasahoval 40 % plic. Po 7 dnech expozice došlo k hyperplazii epitelálních buněk alveolů a jejich destrukci. Endotel byl v některých částech plic kompletně destruován, v jiných byl beze změn. Po 12 dnech expozice kyslíku našli u přežívajících zvířat bronchopneumonická ložiska, značně ztlustělé interalveolární prostory a ztlustění alveolárně kapilárních bariér. Ve srovnání s našimi pokusy na kryších mláďatech, u nichž jsme po 12denní expozici čistého kyslíku nenalezli žádné patologické změny na plicní tkáni u 60 % zvířat, je zřejmá jejich vysoká odolnost ke kyslíku.

Je známo, že velká zvířata (např. opice) přežívají v kyslíku delší dobu nežli zvířata malá (krysy, morčata), což se projevuje i v patologických změnách na plicích. Krysy a morčata (2, 11, 21) měly větší poškození plicních kapilár.

Řada autorů (1, 2, 3, 8, 9, 11, 22, 24, 25, 33) zjistila konsolidaci, edém a hypertrofii alveolárních buněk, jejich hyperplazii, degeneraci a deskvamaci, dále hyalinní membrány, které byly nalezeny i u lidí dlouhodobě léčených kyslíkem při normálním barometrickém tlaku (23). O vzniku hyalinních membrán u různých živočichů podrobně diskutuje Clark a spol. (1961). Při studiích ultrastrukturálních změn vyvolaných kyslíkem u krys (9) byly zjištěny vakuolární inkluze v mitochondriích buněk alveolárního epitelu.

Při expozici pokusných živočichů 95–100% kyslíku při 1 ATA probíhá tedy nejprve exsudativní fáze, trvající u opic (18) asi 4 dny, a přežijí-li tuto dobu, pak nastane stadium proliferativní, které u těchto zvířat končí kolem 12. dne.

Při vzniku patologických změn v plicích se významně uplatňuje aktivita endokrinního systému (4). Při stoupající sympatoadrenální aktivitě se toxicita kyslíku zvyšuje. Proto sympatikomimetika zhoršují projevy otravy kyslíkem, sympatikolytika částečně chrání pokusné živočichy proti kyslíkové toxicitě (3, 4, 5, 6, 7, 15, 17, 28, 32). Sympatoadrenální aktivita se významně uplatňuje i u lidí dýchajících kyslík při 3 ATA. Kyslík zde působí dvoufázově, zpočátku, asi do 2 hodin expozice, se aktivita tohoto systému potlačuje, později dochází k jeho zvýšené aktivitě a projevům otravy kyslíkem (13).

Adrenokortikální hormony (6) senzibilizují plicní tkáň ke kyslíku. Proto mláďata, která mají nevyzrálý neuroendokrinní systém, se vyzna-

čují značnou odolností ke kyslíku. Tento názor podporují i naše nálezy u krysích mláďat žijících po narození nepřetržitě v kyslíkové atmosféře 12 dnů. U 60 % krysat byla plicní tkáň intaktní a pouze u 40 % krysat byly nalezeny počínající známky toxického účinku, včetně hyalinních membrán.

Vysoká odolnost krysích mláďat ke kyslíku není neomezená a je ve srovnání s dospělými krysami 3–4krát větší. Dokazuje to skutečnost, že kyslík neovlivňuje plicní tkáň přímo, ale že k poškození plicních kapilár a alveolárního epitelu je třeba dalších faktorů, zejména neurohumorálních, které ji senzibilizují. Zdá se proto, že rozvoj patologických změn v plicích u dospělých zvířat závisí na stupni aktivace sympato-adrenálního systému a u mláďat na výzrálosti neuroendokrinního systému.

Souhrn

Autoři studovali vliv čistého kyslíku při normálním barometrickém tlaku na novorozené krysy, které se narodily a žily v kyslíkové atmosféře nepřetržitě 288 hodin. Ke konci expozice kyslíku uhynulo 10 % mláďat, ostatní, která přežila, byla z 50 % utracena, proveden histologický rozbor plicní tkáně a 50 % mláďat bylo pozorováno až do dospělosti. U utracených mláďat byly nalezeny patologické změny na plicích, způsobené kyslíkem jen u 40 % zvířat, 60 % mláďat měla plíce naprosto intaktní. Autoři diskutují o významu těchto nálezů ve světle údajů v písemnictví.

Literatura

- Adams, J. F., Ledingham, I., Jackson, J. M., Smith, G.: Combined nitrogen mustard and hyperbaric oxygen therapy in advanced malignant disease. *Brit. Med. J.*, 11, 1963, s. 314.
- Balachovsky, I. S., Manzurov, A. R., Yazdovsky, V. I.: Vliyanie dychaniya čistym kislorodom na legkie i serdce belych krys. *Biull. Exper. biol. Med.*, 53, 1962, s. 43.
- Bean, J. W.: Effects of oxygen at high pressure. *Physiol. Rev.*, 25, 1945, s. 1.
- Bean, J. W., Smith, C. W.: Hypophyseal and adrenocortical factors in pulmonary damage induced by oxygen at atmospheric pressure. *Amer. J. Physiol.*, 172, 1953, s. 169.
- Bean, J. W., Johnson, P., Smith, C. W.: Adrenocortical and medullary factors in O₂ at high pressure. *Fed. Proc.*, 13, 1954, s. 9.
- Bean, J. W., Johnson, P. C.: Epinephrine and neurogenic factors in the pulmonary edema and CNS reactions induced by O₂ at high pressure. *Amer. J. Physiol.*, 180, 1955, s. 438.
- Bean, J. W.: Reserpine, chlorpromazine and the hypothalamus in reactions to oxygen at high pressure. *Amer. J. Physiol.*, 187, 1956, s. 389.
- Bruns, P. D., Shields, I. V.: High O₂ and hyaline membranes. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 67, 1954, s. 1954.
- Cedergren, B., Gyllensten, L., Wersall, J.: Pulmonary damage caused by oxygen poisoning: Electron microscopic study in mice. *Acta Paediatr. Scand.*, 48, 1959, s. 477.
- Clark, J. M., Lambertsen, C. J.: Pulmonary oxygen toxicity: A review. *Pharmacol. Rev.*, 23, 1971, s. 37.
- Doležal, V., Nádvorník, F.: Některé patologické nálezy u experimentálních zvířat při dlouhodobé inhalaci kyslíku. *Voj. zdrav. Listy*, 31, 1962, s. 245.
- Doležal, V., Nádvorník, F., Nečas, E.: Effect of hyperoxia on pre- and postnatal development of young rats. *Physiol. Bohemoslov.*, 21, 1972, s. 223.
- Doležal, V., Luxa, J.: Vliv dýchání kyslíku na některé hormonální změny. *Vnitřní Lék.*, 18, 1972, s. 1155.
- Faulkner, J. M., Binger, C. A. L.: Oxygen poisoning in cold blooded animals. *J. Exp. Med.*, 45, 1927, s. 865.
- Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., et al.: Effects of autonomic drugs and of adrenal glands on oxygen poisoning. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 88, 1955, s. 617.
- Jamieson, D., Van Den Brenk, H. A. S.: Pulmonary damage due to high pressure oxygen breathing in rats. *J. Exper. Biol. Med. Sci.*, 40, 1962, s. 51.
- Johnson, P. C., Bean, J. W.: Effect of sympathetic blocking agents on the toxic action of O₂ at high pressure. *Amer. J. Physiol.*, 188, 1957, s. 593.
- Kapanci, Y., Weibel, E. R., Kaplan, H. P., et al.: Pathogenesis and reversibility of the pulmonary lesions of oxygen toxicity in monkeys. *Lab. Invest.*, 20, 1969, s. 101.
- Kaplan, H. P., Robinson, F. R., Kapanci, Y. et al.: Pathogenesis and reversibility of the pulmonary lesions of oxygen toxicity in monkeys. Clinical and light microscopic studies. *Lab. Invest.*, 20, 1969, s. 94.
- Karsner, H. T.: The pathological effects of atmospheres rich in oxygen. *J. Exper. Med.*, 23, 1916, s. 144.
- Kistler, G. S., Caldwell, P. R. B., Weibel, E. R.: Development of fine structural damage to alveolar and capillary lining cells in oxygenpoisoned rat lungs. *J. Cell. Biol.*, 32, 1967, s. 605.
- Liebow, A. A., Steer, A., Bilingsley, J. G.: Desquamative interstitial pneumonia. *Amer. J. Med.*, 39, 1965, s. 369.
- Nádvorník, F., Doležal, V.: Některé patomorfologické nálezy u pokusných zvířat a lidí vystavených přetlaku kyslíku. *Prakt. lék.*, 48, 1968, s. 844.
- Nash, G., Blenne-rhassett, J. B., Pontopidann, H.: Pulmonary lesions associated with oxygen therapy and artificial ventilation. *New. Engl. J. Med.*, 276, 1967, s. 368.
- Pariante, R., Legrand, M., Brouet, G.: Ultrastructural aspects of the lung in oxygen poisoning at atmospheric pressure in the rat. *Presse. Med.*, 77, 1969, s. 1073.
- Smith, J. L.: The pathological effects due to increase of oxygen tension in the air breathed. *J. Physiol.*, 24, 1899, s. 19.
- Sperling, D. R.: Hyperbaric oxygen toxicity in newborn and developing mice. *J. Appl. Physiol.*, 29, 1970, s. 472.
- Taylor, D. W.: Effects of adrenalectomy on oxygen poisoning in the rat. *J. Physiol.*, 140, 1958, s. 23.
- Tiisälä, R.: Endocrine response to hyperoxia and hypoxia in the adult and newborn rat. *Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. AV Med.*, 95, 1962, s. 1.
- Weiss, H. S., Wright, R. A., Beckman, D. L.: Delayed mortality in adult chickens exposed to 1 atm. oxygen. *Nature (London)*, 208, 1965, s. 1003.
- Winter, P. M., Smith, G.: The toxicity of oxygen. *Anesthesiology*, 37, 1972, s. 210.
- Wood, C. D., Perkins, G. F.: Factors influencing hypertension and pulmonary edema produced by hyperbaric oxygen. *Aerospace Med.*, 41, 1970, s. 869.
- Žironkin, A. G.: Kislород — fiziologicheskoe i toxičeskoe deystviye. 1. ed., Leningrad, Akad. Nauk SSSR, 1972.