

TO THE MECHANISMS OF OXIDANTS EFFECT IN THE RESPIRATORY TRACT

STRAPKOVA A, NOSALOVA G, FRANOVA S, ADAMICOVA K

K MECHANIZMU PÔSOBENIA OXIDANTOV NA DÝCHAČÍ SYSTÉM

Abstract

Strapkova A, Nosalova G, Franova S, Adamicova K:
To the mechanisms of oxidants effect in the respiratory tract
Bratisl Lek Listy 1999; 100 (10): 541–547

Background: It is known that oxidants may evoke changes of respiratory tract functions. The precise mechanisms of these changes are yet unknown.

Main purpose: In this study possible participation of eicosanoids, cytochrome P-450 and reactive oxygen species in the changes of airways reactivity evoked by toluene exposure as the source of free radicals was followed up by an indirect method.

Methods: Used drugs – naproxen (50 mg/kg b.w.), cimetidine (50 mg/kg b.w.) and N-acetylcysteine (300 mg/kg b.w.) were administered in two doses (first 30 minutes before exposure to toluene, second six hours after first dose). After exposure to toluene (2 hours in each of 3 consecutive days) was followed up reactivity of tracheal and lung smooth muscle to histamine in “in vitro” conditions. The studied substances were not administered in the control group of animals.

Results: In pretreated animals exposed to toluene the administration of naproxen, cimetidine and N-acetylcysteine does not provoke pronounced changes of tracheal smooth muscle reactivity compared to control group. More pronounced effect of these drugs with decrease contraction amplitude was detected on lung smooth muscle reactivity.

Conclusion: According to our results it is not possible to determine the precise mechanisms which participate in changes of airways reactivity. There are probably multifactorial in nature. (Tab. 3, Fig. 3, Ref. 39.)

Key words: toluene, hyperreactivity, naproxen, cimetidine, N-acetylcysteine.

Pôsobenie oxidantov na dýchací systém vyvoláva zmeny, ktoré môžu vyústiť do porušenia jeho funkcií. Jedným z prejavov zmeny funkcie je i zmena reaktivity hladkých svalov dýchacích ciest. Dosať pritom nie je jasné, či voľné radikály, ktoré sa považujú za príčinu týchto zmien, pôsobia samy, alebo je to dôsledok

Abstrakt

Strapková A., Nosáľová G., Fraňová S., Adamicová K.:
K mechanizmu pôsobenia oxidantov na dýchací systém
Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 10, s. 541–547

Úvod do problematiky: Pôsobenie oxidantov môže podmieniť zmeny funkcií dýchacieho systému. Dosať nie je objasnená otázka mechanizmov vzniku týchto zmien.

Cieľ práce: Snažili sme sa zistiť nepriamou metódou možný podiel účasti eikosanoidov, cytochrómu P-450 a reaktívnych foriem kyslíka na zmenách reaktivity dýchacích ciest vyvolaných expozíciou toluénu ako zdroja voľných radikálov.

Metódy: Sledované látky – naproxén (50 mg/kg hmotnosti), cimetidín (50 mg/kg hmotnosti) a N-acetylcysteín (300 mg/kg hmotnosti) sme podávali v dvoch dávkach (prvá 30 minút pred expozíciou toluénu, druhá 6 hodín po prvej dávke). Po expozícii toluénu 3 dni po 2 hodiny sme v podmienkach in vitro sledovali reaktivitu hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva na histamín. Kontrolnej skupine zvierat sme sledované látky neaplikovali.

Výsledky: Aplikácia naproxénu, cimetidínu a N-acetylcysteínu nevyvolala výrazné zmeny reaktivity hladkého svalu trachey u predliečených zvierat exponovaných toluénu v porovnaní s kontrolnou skupinou. Výraznejšie bol ovplyvnený hladký sval pľúcneho tkaniva, kde možno pozorovať pokles amplitúdy kontrakcie.

Záver: Z výsledkov nemožno jednoznačne určiť, ktorý zo sledovaných systémov ovplyvňuje zmeny reaktivity. Ide pravdepodobne o multifaktoriálne ovplyvnenie. (Obr. 3, tab. 3, lit. 39.)

Kľúčové slová: toluén, hyperreaktivita, naproxén, cimetidín, N-acetylcysteín.

uvoľnených, prípadne aktivovaných mechanizmov alebo mediátorov (Coleridge a spol., 1993).

V našich podmienkach sme modelovali oxidatívny stres a zistili sme zmeny reaktivity dýchacích ciest mačiek a morčiat po expozícii toluénu, ako aj po hyperoxii (Strapková a spol., 1995, 1996).

Institute of Pharmacology, Jessenius Medical Faculty, Comenius University, Martin. nosalova@dean4.jfmed.uniba.sk

Institute of Pathological Anatomy, Jessenius Medical Faculty, Comenius University, Martin

Address for correspondence: A. Strapkova, RND, PhD, Institute of Pharmacology, JLF UK, Sklabinska 26, SK-037 53 Martin, Slovakia.
Phone: +421.842.32535, Fax: +421.842.34807

Ústav farmakológie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Martine a Ústav patologickej anatómie Jesseniovej lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Martine

Adresa: Doc. RNDr. A. Strapková, CSc., Ústav farmakológie JLF UK, Sklabinská 26, 037 53 Martin.

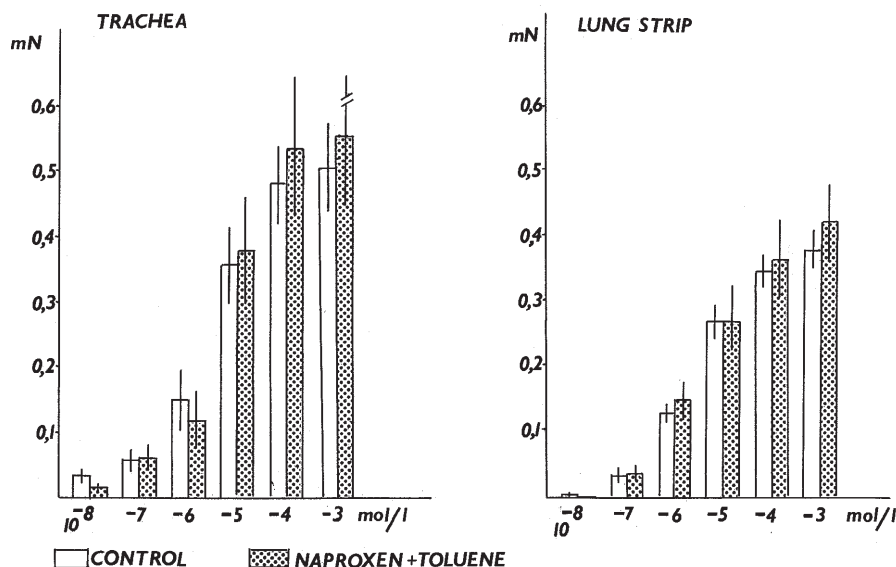


Fig. 1. The effect of the pretreatment with naproxen (dotted columns) on the tracheal and lung smooth muscle reactivity to histamine after exposure to toluene compared to control group (white columns). The columns represent average values of the contraction amplitude with mean error of average \pm SEM. Axis x — the concentration of histamine in mol/l, axis y — amplitude of the contraction in mN.

Obr. 1. Vplyv predliečby naproxénom (bodkované stĺpce) na reaktivitu hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva po expozícii toluénu v porovnaní s kontrolnou skupinou (biele stĺpce). Stĺpce predstavujú priemerné hodnoty amplitúdy kontrakcie v mN so strednou chybou priemeru \pm SEM. Os x — koncentrácie histamínu v mol/l, os y — amplitúda kontrakcie v mN.

Preto sme sa snažili analyzovať, ktoré mechanizmy, resp. mediátory sa na týchto zmenách zúčastňujú. Expozíciu toluénu u morčiat sme zvolili preto, že toluén je oxidant, ktorý vyvoláva peroxidáciu membránových lipidov s následnými histologickými a funkčnými zmenami postihnutých tkanív a orgánov (Mattia a spol., 1991). Na sledovanie možných mechanizmov vzniku zmien reaktivity hladkého svalu dýchacích ciest u zvierat exponovaných tomuto organickému rozpúšťadlu sme použili nepriamu metódu založenú na predliečbe vybranými látkami, ktoré by mohli určitým spôsobom modifikovať zistené zmeny.

Z literatúry vyplýva, že mechanizmus vzniku hyperreaktivity dýchacích ciest možno dať do súvislosti s niekoľkými faktormi. Reaktívne formy kyslíka nevyvolávajú len poškodenie tkaniva, ale môžu zvýšiť aj bunkový metabolizmus kyseliny arachidónovej a viesť k tvorbe lipidových mediátorov (Canning a spol., 1991; Lansing a spol., 1991; McKinnon a spol., 1993). Niektorí autori považujú za dôležitú úlohu systému cytochrómu P-450, aktivita ktorého sa dokázala v epitelových bunkách niektorých živočíšnych druhov (Raeburn, 1990). O úlohe reaktívnych foriem kyslíka a aktivity antioxidantných mechanizmov pri vyvolaní zmien funkcie respiračného systému pôsobením oxidantov rôzneho pôvodu sa hovorí vo viacerých prácach (Heffner a Repine, 1989; Pryor, 1994; Kelly a spol., 1995). V experimentoch sme preto použili látky pôsobiace na týchto úrovniach.

Z inhibítorov cyklooxygenázy a inhibíciu syntézy prostaglandínov sme vyvolali použitím naproxénu – látky patriacej k nesteroidovým antiflogistikám-antireumatikám zo skupiny derivátov kyseliny propiónovej. Cimetidín okrem antihistaminového účinku preukazuje inhibičnú aktivitu cytochrómu P-450, ktorý sa tiež považuje za dôležitý faktor schopnosti dýchacieho systé-

mu modifikovať pôsobenie oxidantov. Ďalšou látkou, ktorú sme použili, bol N-acetylcysteín (NAC), ktorý sa považuje za významný zdroj prekursora glutatiónu ako najdôležitejšieho prirodzeného antioxidantu epitelovej tekutej vrstvy (Kelly a spol., 1995).

Materiál a metóda

Na pokusy sme použili morčatá—samce s hmotnosťou 300—400 g. Použité látky sme aplikovali v dvoch dávkach. Prvú dávku dostali zvieratá vždy polhodinu pred každou expozíciou toluénu, druhú dávku šesť hodín po prvej. Látky sme podali v týchto dávkach – naproxén 50 mg/kg intramuskulárne, cimetidín 50 mg/kg subkutánne a N-acetylcysteín 300 mg/kg subkutánne. Kontrolná skupina vdychovala pary toluénu bez predliečby vybranými farmakami. Zvieratá boli vystavené pôsobeniu pár toluénu 3 dni po 2 hodiny. Po expozícii sme sledovali odpoveď hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva na stúpajúce koncentrácie histamínu v podmienkach in vitro. Použili sme metódu Bánovčína a spol. (1986). Podrobný postup expozície toluénu a sledovania zmien reaktivity uvádzame v práci Strapkovej a spol. (1995). Okrem toho sme sledovali histologické zmeny vyvolané expozíciou použitého organického rozpúšťadla, ako aj predliečbou vybranými farmakami.

Výsledky

Na obrázku 1 sú zmeny odpovede hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva v kontrolnej skupine a po predliečbe naproxénom. Ani pri jednom z preparátov sme nepozorovali štatisticky významné zmeny reaktivity. Histologický obraz trachey bol bezo

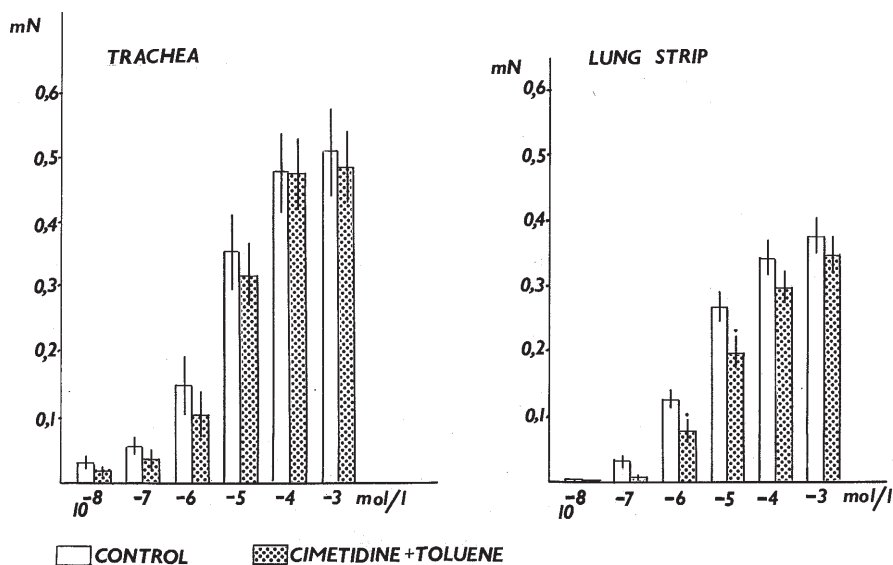


Fig. 2. The effect of the pretreatment with cimetidine on the trachea and lung smooth muscle reactivity after toluene exposure. Significance $p < 0.05$ — one dot.

Obr. 2. Vplyv predliečby cimetidínom na reaktivitu hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva po expozícii toluénu. Štatistická významnosť $p < 0,05$ je vyznačená jednou bodkou.

zmien, tabuľku preto neuvádzame. V pľúcnom tkanive sme u všetkých zvierat zaznamenali emfyzém, v 25 % granulomatózný zápal a v 37,5 % hemorágiu (tab. 1).

Predliečba cimetidínom nevyvolala štatisticky významné zmeny odpovede tracheálneho hladkého svalu, i keď možno pozorovať tendenciu poklesu amplitúdy kontrakcie (obr. 2). V predliečenej skupine zvierat sme však zaznamenali zníženie reaktivity hladkého svalu pľúcneho tkaniva v porovnaní s kontrolnou skupinou,

pri koncentráciách histamínu 10^{-6} mol/l a 10^{-5} mol/l bolo toto zníženie štatisticky významné (obr. 2). Trachea bola u polovice zvierat bez histologických zmien a u ostatných sa pozorovala deskvamácia epitelu (37,5 %) a hemorágie (12,5 %). Obraz histologických zmien pľúcneho tkaniva bol pestrejší. U 75 % zvierat sme pozorovali emfyzém, u 62,6 % granulomatózný zápal a u 50 % hemorágie (tab. 1).

Zaujímavý obraz zmien sme pozorovali u zvierat predliečených NAC. V hladkom svale trachey sme zaznamenali pri vyšších koncentráciách histamínu vzostup amplitúdy kontrakcie (obr. 3). Amplitúda kontrakcie hladkého svalu pľúcneho tkaniva sa v skupine zvierat predliečených NAC voči kontrolnej skupine znížila, pri koncentráciách 10^{-7} — 10^{-5} mol/l bol pokles štatisticky významný (obr. 3). V tejto skupine zvierat bola trachea bez zmien u 44 % zvierat, deskvamáciu epitelu vidieť v 55,5 %. U všetkých zvierat sme pozorovali emfyzém, u 33,3 % granulomatózný zápal a u 33,3 % hemorágie (tab. 1).

Hodnoty EC_{50} hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva v skupine zvierat, ktoré inhalovali čistý vzduch, u zvierat, ktoré inhalovali toluén, ale neboli predliečené vybranými farmakami, a v skupinách zvierat predliečených pred expozíciou toluénu naproxénom, cimetidínom a N-acetylcysteínom sú v tabuľke 2. Hodnota EC_{50} predstavuje efektívnu koncentráciu histamínu, ktorá vyvolala pokles amplitúdy kontrakcie na polovicu v porovnaní s hodnotami kontrakcie vyvolanej najvyššou použitou koncentraciou histamínu. Použité látky neovplyvnili výraznejšie hodnoty EC_{50} v tracheálnom hladkom svale. Hodnoty EC_{50} hladkého svalu pľúcneho tkaniva sa zvýšili, čo poukazuje na zníženie reaktivity u predliečených zvierat.

Ďalej uvádzame pomer mokrej hmotnosti pľúcneho tkaniva k suchej hmotnosti, ktorú sme získali sušením preparátu 24 hodín pri teplote 60 °C. Získaný koeficient umožňuje posúdiť prítom-

Tab. 1. Histological changes of lung tissue in control group and in animals after pretreatment with naproxen, cimetidine and N-acetylcysteine.

Tab. 1. Histologické zmeny pľúcneho tkaniva v kontrolnej skupine a u zvierat predliečených naproxénom, cimetidínom a N-acetylcysteínom.

Histological changes	Lung tissue Pľúcne tkanivo			
	Toluene Toluén	Naproxen Naproxén	Cimetidine Cimetidín	NAC
Histologické zmeny		+	+	+
		Toluene Toluén	Toluene Toluén	Toluene Toluén
	n = 7	n = 8	n = 8	n = 9
Emphysema				
Emfyzém	100%	100%	75%	100%
Inflammation				
Zápal	75%	25%	62,5%	33,3%
Haemorrhage				
Hemorágie	14,3%	37,5%	50%	33,3%

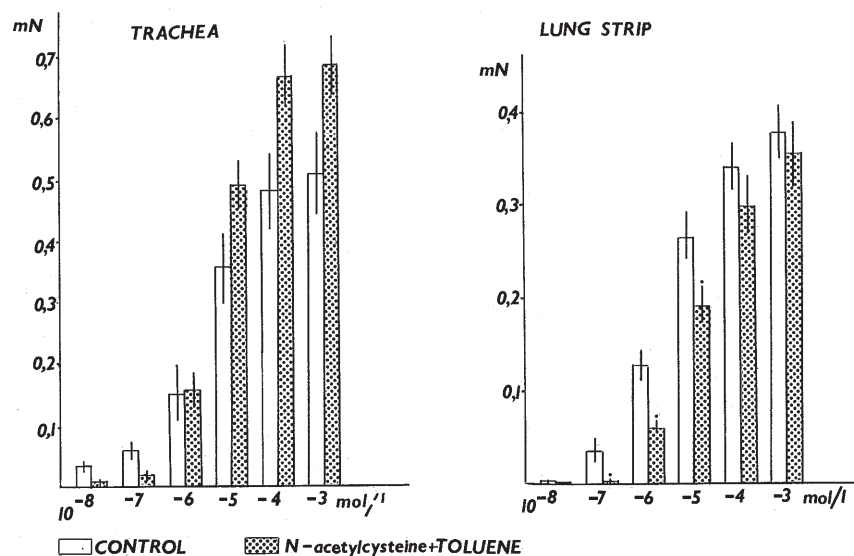


Fig. 3. The effect of the pretreatment with N-acetylcysteine on the trachea and lung strip smooth muscle reactivity after the toluene exposure.

Obr. 3. Vplyv predliečby N-acetylcysteinom na reaktivitu hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva po expozícii toluénu.

nosť zvýšeného množstva tekutiny v pľúcach. Uvedený pomer uvádzame v tabuľke 3 v skupine zvierat inhalujúcej čistý vzduch, toluén bez predliečby farmakami a u zvierat, ktorým sa pred expozíciou toluénu aplikovali vybrané látky. U zvierat exponovaných toluénu vidieť zvýšenie hodnoty tohto koeficientu. Predliečbou použitými látkami sa jeho hodnoty v prípade naproxénu a cimetidínu znížili a, hoci neklesli na hodnotu skupiny zvierat inhalujúcich vzduch, vidieť tu tendenciu priaznivého pôsobenia uvedených látok.

Tab. 2. EC_{50} values in trachea and lung smooth muscle in animals inhaling air, toluene and toluene after pretreatment with naproxen, cimetidine and N-acetylcysteine.

Tab. 2. Hodnoty EC_{50} v hladkom svale trachey a pľúcneho tkaniva u zvierat vdychujúcich vzduch, toluén a toluén po predliečbe naproxénom, cimetidínom a N-acetylcysteinom.

Drug Látka	EC_{50}	
	Trachea	Lungs Pľúca
air vzduch	11,42	22,90
toluene toluén	9,37	9,02
naproxen + toluene naproxén + toluén	8,01	11,58
cimetidine + toluene cimetidín + toluén	6,89	12,68
NAC + toluene NAC + toluén	5,79	12,60

Tab. 3. Ratio wet weight/dry weight of lung tissue in animals inhaling air, toluene and toluene after pretreatment with naproxen, cimetidine and N-acetylcysteine.

Tab. 3. Pomer mokrá hmotnosť/suchá hmotnosť pľúcneho tkaniva u zvierat vdychujúcich vzduch, toluén a toluén po predliečbe naproxénom, cimetidínom a N-acetylcysteinom.

Drug Látka	Wet weight Mokrá hmotnosť
	Dry weight Suchá hmotnosť
air vzduch	3,81
toluene toluén	5,11
naproxen + toluene naproxén + toluén	4,07
cimetidine + toluene cimetidín + toluén	4,24
NAC + toluene NAC + toluén	5,30

Diskusia

Paleta mediátorov zúčastňujúcich sa na poškodení dýchacích ciest oxidantmi zahŕňa produkty metabolizmu kyseliny arachidónovej, cytokíny, neuropeptidy a ďalšie mediátory (Devlin a spol., 1994; Kaneko a spol., 1995; Koto a spol., 1995). Podľa niektorých autorov sa za kľúčový mediátor pôsobenia oxidantov na respirač-

ný systém považujú produkty metabolismu kyseliny arachidónovej najmä jeho cyklooxygenázovej cesty (Friedman a spol., 1992; Joad a spol., 1994). Potvrdením toho sú aj zistenia Janssena a spol. (1991), ktorí predpokladajú, že expozícia ozónu vyvoláva hyperreaktivitu dýchacích ciest zvýšením syntézy excitačných metabolitov kyseliny arachidónovej (TXA₂), ktoré potencujú cholinergickú neurotransmisiu, pričom sa znižuje syntéza inhibičných metabolitov (PGE₂), ktoré cholinergickú neurotransmisiu inhibujú. Podobne Mapp a spol. (1993) zistili toluyléndiizokyanátom vyvolanú kontrakciu hladkých svalov dýchacích ciest spojenú so zvýšením hladín prostanooidov.

Látky, ktoré syntézu alebo účinky prostanooidov inhibujú, by teda mali priaznivo ovplyvňovať reaktivitu hladkých svalov dýchacích ciest. Tento fakt dokumentujú viaceré práce. Flurbiprofén inhiboval bronchokonstrikciu vyvolanú adenosín-5-monofosfátom pravdepodobne inhibíciou tvorby produktov cyklooxygenázy (Phillips a Holgate, 1989). Predliečba ibuprofénom zabránila poškodeniu pľúc expozíciou fosgénu (Kennedy a spol., 1990). Inhalovaný indometacín a najmä lyzínacetylsalicylát mali protektívny účinok na bronchokonstrikciu vyvolanú nebulizovanou destilovanou vodou. Tento efekt je pravdepodobne sprostredkovaný inhibíciou lokálnej syntézy prostaglandínov v dýchacích cestách (Bianco a spol., 1992).

Naproxén je látka, ktorá tlmí syntézu prostaglandínov, stabilizuje bunkové membrány, tlmí uvoľňovanie lyzozómových enzýmov, bráni migrácii neutrofilov do zápalového ložiska a znižuje agregáciu krvných doštičiek (Trnavský, 1994). V našich podmienkach predliečba naproxénom nemenila štatisticky významne reaktivitu hladkého svalu trachey a pľúcneho tkaniva zvýšenú po expozícii toluénu. Pri vyšších koncentráciách histamínu možno pozorovať určitú tendenciu vzostupu amplitúdy kontrakcie najmä v tracheálnom hladkom svale, i keď štatisticky nevýznamnú. Tento jav môže súvisieť so znížením syntézy cytoprotektívnych prostaglandínov a následným zvýšením tvorby leukotriénov (Gill a Kroeger, 1990).

Za dôležitý fakt považujú niektorí autori i druh použitého zvierata a prítomnosť a stav epitelu (Fedan a Frazer, 1992; Buckner a spol., 1993; Crimi a spol., 1995). Zvýšená reaktivita po expozícii ozónu bola viac inhibovaná nesteroidovými antiflogistikami u psov a ľudí, ale nie natoľko u morčiat (Fouke a spol., 1991). Odstránenie alebo poškodenie epitelu ako jedného zo zdrojov produkcie cytoprotektívnych prostaglandínov má za následok zvýšenie reaktivity dýchacích ciest (Folkerts a Nijkamp, 1998).

Dôležitá je rôzna schopnosť inhibície dvoch typov cyklooxygenázy (COX) i spôsob podania inhibítorov cyklooxygenázy. Väčšina tzv. klasických nesteroidových antiflogistik inhibuje skôr konštitutívnu (COX-1) ako indukčnú (COX-2) cyklooxygenázu. Na inhibíciu COX-2 sú potrebné vyššie koncentrácie týchto farmák, ktoré možno dosiahnuť napr. inhalačným podaním. Preto napr. indometacín podaný perorálne nezabránil bronchokonstrikciu vyvolanej metabisulfitom na rozdiel od inhalačne podaného indometacínu (Pavord a spol., 1994). Nižšie koncentrácie tejto látky v dýchacích cestách po perorálnej aplikácii pravdepodobne nestačili na inhibíciu COX-2 (Meade a spol., 1993). Je možné, že podanie špecifických inhibítorov COX-2 by doplnilo údaje súvisiace s mechanizmami vyvolania zmien funkcie dýchacieho systému v podmienkach oxidatívneho stresu, ako aj s možnosťami ich ovplyvnenia (Wang a spol., 1996).

Predpokladá sa, že pri vývoji toxicity kyslíka v pľúcach je dôležitý cytochróm P-450, ale úloha tohto enzymatického systému v odpovedi respiračného traktu k ostatným inhalovaným oxidantom nie je zatiaľ jasná. Aktivity cytochrómu P-450 možno rozdeliť do troch oblastí. Monooxidázová aktivita katalyzuje oxidáciu substrátov, pričom elektróny získava z NADPH. Oxidázová aktivita katalyzuje tvorbu superoxidového aniónu, ktorý je enzýmom superoxiddismutáza zmenený na peroxid vodíka. Jeho zvýšené množstvo však môže spôsobiť toxické poškodenie pľúcneho poškodenia. Peroxidázová aktivita katalyzuje oxidáciu substrátu na zodpovedajúci aldehyd. Táto aktivita je spojená s degradáciou lipo-hydroperoxidov a môže napr. zmierniť toxické pôsobenie hyperoxie. Hyperoxia však indukuje skôr oxidázovú aktivitu, ktorá potencuje tvorbu nových reaktívnych foriem kyslíka (Sprong a spol., 1991).

Názory na podiel účasti týchto aktivít na zmenách po rôznych oxidantoch sa líšia. Niektoré údaje hovoria o mediácii poškodzujúceho efektu vysokých koncentrácií kyslíka práve cytochrómom P-450 (Todd a spol., 1992). Podľa Thibeaulta a spol. (1991) chráni cytochróm P-450 pľúca proti toxickému pôsobeniu kyslíka. Redukcia akútnej pľúcnej toxicity 100 % kyslíka cimetidínom závisí pritom od druhu a veku použitého zvierata. Cimetidín nezabránil poškodeniu pľúc kyslíkom u dospelých potkanov, naproti tomu mal protektívny účinok u novorodených jahniat a potkanov. Tento jav pravdepodobne súvisí s indukciou antioxidantných enzýmových systémov. Okrem toho sa cimetidín spolu s ranitidínom a famotidínom považujú za účinné zhasáče hydroxylového radikálu a kyseliny chlórnej. Na jeho priaznivom účinku sa teda môže podieľať i priama antioxidantná aktivita (Lapenna s spol., 1994).

V našich podmienkach sme nezaznamenali výraznejší efekt predliečby cimetidínom na reaktivitu hladkého svalu trachey, i keď pri nižších koncentráciách vidieť určitú tendenciu poklesu amplitúdy kontrakcie. V hladkom svale pľúcneho tkaniva amplitúda kontrakcie klesla, pri koncentráciách 10⁻⁶ mol/l a 10⁻⁵ mol/l histamínu bol tento pokles štatisticky významný. Získané výsledky možno pripísať tomu, že cimetidín nie je univerzálny inhibítor cytochrómu P-450. Izoenzým, ktorý sprostredkuje toxicitu kyslíka, nie je z tých, ktoré sú inhibované cimetidínom (Thibeault a spol., 1991). Je možné, že podobne je to aj v podmienkach expozície organickému rozpúšťadlu, ktoré sme použili.

Ďalšou látkou, ktorú sme použili, je mukolytikum N-acetylcystein (NAC). Poznatky z posledných rokov poukazujú na jeho antioxidantné vlastnosti. Je to látka obsahujúca tiol, ktorá neenzymaticky detoxikuje reaktívne formy kyslíka. Antioxidantná aktivita sa realizuje dvoma mechanizmami. Prvým je priama redukcia peroxidu vodíka, superoxidového aniónu a hydroxylového radikálu na menej reaktívne formy. Rýchlosť reakcie s týmito radikálmi je pritom rozdielna. NAC reaguje veľmi rýchlo s hydroxylovým radikálom, pomalšie s hydroperoxidmi a takmer nereaguje so superoxidovým radikálom (Heffner a Repine, 1989).

Druhý mechanizmus antioxidantného pôsobenia NAC súvisí s jeho deacetyláciou na cysteín — prekurzor biosyntézy glutatiónu. Glutatión a jeho redoxné enzýmy sa považujú za hlavné antioxidanty v dýchacom systéme (Kelly a spol., 1995). Glutatiónpoxidáza so štyrmi atómami selénu v molekule má hlavnú úlohu pri detoxikácii peroxidu vodíka, ale aj väčších molekúl lipidových peroxidov a katalyzuje reakcie za vzniku oxidovaného glutatiónu,

ktorý je potom redukovaný glutatiónteruktázou. Oba enzýmy sú lokalizované najmä v cytosóle, v menšej miere v mitochondriách, čo zabezpečuje ich vyššiu využiteľnosť a lepší kontakt s oxidantmi (Heffner a Repine, 1989). V epitelovej tekutej vrstve sa nachádza v 100-krát vyššej koncentrácii ako v plazme (Kelly a spol., 1995). Pri niektorých ochoreniach respiračného traktu (intersticiálna pľúcna fibróza, fibrotizujúca alveolitída) sa práve deficit glutatiónu považuje za príčinu ochorenia (MacNee a Rahman, 1995).

V našich podmienkach sme pozorovali po predliečbe NAC zvýšenie amplitúdy kontrakcie hladkého svalu trachey, ale zníženie reaktivity hladkého svalu pľúcneho tkaniva. Ovplyvnenie tracheálneho hladkého svalu môže súvisieť so známou skutočnosťou, že NAC zvyšuje nebezpečie bronchokonstrikcie s menším rizikom pri inhalačnom podaní (Korpáš a Nosálová, 1991). Štúdie so systémovým podaním poskytujú pomerne rozporné výsledky (Gallon, 1996).

Záver

Možno konštatovať rozdielny účinok použitých látok na rôznych úrovniach respiračného systému. Látky, ktoré sme použili v podmienkach nami vyvolaného oxidatívneho stresu, nevyvolali výraznejšie zmeny reaktivity hladkého svalu trachey v porovnaní so skupinou neliečených zvierat. Zníženie reaktivity vidieť v hladkom svale pľúcneho tkaniva u zvierat, ktorým bol pred expozíciou toluénu podaný cimetidín a N-acetylcysteín. Faktorov, ktoré mohli podmieniť tento stav, je niekoľko. Prvým je rozdielna citlivosť rôznych oblastí dýchacieho systému na oxidanty, čo môže súvisieť s rozdielnou hladinou a aktivitou endogénnych antioxidantných mechanizmov. Dôležitý je druh použitého zvierata, pretože sú známe druhové rozdiely v reaktivite dýchacieho systému na pôsobenie škodlivín. Dôležitú úlohu má aj použitá dávka a doba terapie. Pri ich voľbe sme však vychádzali z údajov literatúry. Získané výsledky naznačujú pôsobenie multifaktoriálnych mechanizmov.*

Literatúra

Bánovčin P., Vrlík M., Višňovský P.: Reaktivita hladkých svalov dýchacích ciest mačiek po opakovanej aplikácii aerosólu krotónového oleja na podanie histamínu a acetylcholínu in vitro. Bratisl. lek. Listy, 86, 1986, s. 324–331.

Bianco S., Vaghi A., Pieroni M.G., Robuschi M., Refini R.M., Sestini P.: Protective activity of inhaled nonsteroidal antiinflammatory drugs on bronchial responsiveness to ultrasonically nebulized water. J. Allergy Clin. Immunol., 90, 1992, s. 833–839.

Buckner C.K., Fishleder R.I., Conklin R., Will J.A., Doran O., Graziano F.M.: Pharmacologic modulation of the influence of the epithelium on immunologic- and nonimmunologic-induced histamine release and contraction in guinea pig superfused tracheal strips. J. Pharmacol. Exp. Ther., 264, 1993, s. 717–725.

Canning B.J., Hmieleski R.R., Spannhake E.W., Jakab G.J.: Ozone reduces murine alveolar and peritoneal macrophage phagocytosis: the role of prostanoids. Amer. J. Physiol., 261, (Lung Cell. Mol. Physiol. 5), 1991, s. L277–L282.

Coleridge, J.C.G., Coleridge H.M., Schelegle E.S., Green J.F.: Acute inhalation of ozone stimulates bronchial C-fibres and rapidly adapting receptors in dogs. J. appl. Physiol., 74, 1993, s. 2345–2352.

Crimi N., Polosa R., Magri S., Prosperini G., Milazzo V.L., Santonoci G., Mistretta A.: Inhaled lysine acetylsalicylate (L-ASA) attenuates the bronchoconstrictor response to adenosine 5-monophosphate (AMP) in asthmatic subjects. Europ. Resp. J., 8, 1995, s. 905–912.

Devlin R.B., McKinnon K.P., Noah T., Becker S., Koren H.S.: Ozone-induced release of cytokines and fibronectin by alveolar macrophages and airway epithelial cells. Amer. J. Physiol., 266, 1994, s. L612–L619.

Fedan J.S., Frazer D.G.: Influence of epithelium on the reactivity of guinea pig isolated, perfused trachea to bronchoactive drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther., 262, 1992, s. 741–750.

Folkerts G., Nijkamp F.P.: Airway epithelium: more than just a barrier! TIPS, 19, 1998, s. 334–341.

Fouke J.M., Wolin A.D., McFadden Jr. E.R.: Effects of ozone on lung mechanics and cyclooxygenase metabolites in dogs. Prostaglandins, 42, 1991, s. 343–353.

Friedman M., Madden M.C., Samet J.M., Koren H.S.: Effects of ozone exposure on lipid metabolism in human alveolar macrophages. Environ. Health Perspect., 97, 1992, s. 95–101.

Gallon A.M.: Evaluation of nebulised acetylcysteine and normal saline in the treatment of sputum retention following thoracotomy. Thorax, 51, 1996, s. 429–432.

Gill K., Kroeger E.A.: Effects of indomethacin on neural and myogenic components in equine airway smooth muscle. J. Pharmacol. Exp. Ther., 252, 1990, s. 358–364.

Heffner J.E., Repine J.E.: Pulmonary strategies of antioxidant defense. Amer. Rev. Resp. Dis., 140, 1989, s. 531–554.

Janssen L.J., O'Byrne P.M., Daniel E.E.: Mechanism underlying ozone-induced in vitro hyperresponsiveness in canine bronchi. Amer. J. Physiol., 261, (Lung Cell. Mol. Physiol. 5), 1991, s. L55–L62.

Joad J.P., McDonald R.J., Giri R.J., Bric J.M.: Ozone effects and arachidonic acid metabolite concentrations in isolated rat lung. Environ. Res., 66, 1994, s. 186–197.

Kaneko T., Ikeda H., Fu L., Nishiyama H., Okubo T.: Platelet-activating factor mediates the ozone-induced increase in airway microvascular leakage in guinea pigs. Europ. J. Pharmacol., 292, 1995, s. 251–255.

Kelly F.J., Mudway I., Krishna T.M., Holgate S.T.: The free radical basis of air pollution: focus on ozone. Resp. Med., 89, 1995, s. 1–10.

Kennedy T.P., Rao N.V., Noah W., Michael J.R., Jafri Jr. M.H., Gurtner G.H., Hoidal J.R.: Ibuprofen prevents oxidant lung injury and in vitro lipid peroxidation by chelating iron. J. Clin. Invest., 86, 1990, s. 1565–1573.

Korpáš J., Nosálová G.: Farmakoterapia kašľa. Martin, Osveta 1991, 335 s.

Koto H., Aizawa H., Takato S., Inoue H., Hara N.: An important role of tachykinins in ozone-induced airway hyperresponsiveness. Amer. J. Resp. Crit. Care Med., 151, 1995, s. 1763–1769.

Lansing M.W., Mansour E., Ahmed A., Cortes A., Garcia L., Lauredo, I.T., Wanner A., Abraham W.M.: Lipid mediators contribute to oxygen-radical-induced airway response in sheep. Amer. Rev. Resp. Dis., 144, 1991, s. 1291–1296.

*Práca je výsledkom riešenia fakultného grantu 02/98.

- Lapenna D., DeGioia S., Mezzetti A., Grossi L., Festi D., Marzio L., Cuccurullo F.:** H₂-receptor antagonists are scavengers of oxygen radicals. *Europ. J. Clin. Invest.*, 24, 1994, s. 476—481.
- MacNee W., Rahman I.:** Oxidants/antioxidants in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax*, 50, 1995, Suppl. 1, s. S53—S58.
- Mapp C.E., Boniotti A., Masiero M.:** Toluene diisocyanate-stimulated release of arachidonic acid metabolites in the organ bath of isolated guinea-pigs airways. *Europ. J. Pharmacol. Environ. Toxicol. Pharmacol. Section*, 248, 1993, s. 277—280.
- Mattia C.J., LeBel C.P., Bondy S.C.:** Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem. Pharmacol.*, 42, 1991, s. 879—882.
- McKinnon K.P., Madden M.C., Noah T.L., Devlin R.B.:** In vitro ozone exposure increases release of arachidonic acid products from a human bronchial epithelial cell line. *Toxicol. appl. Pharmacol.*, 118, 1993, s. 215—223.
- Meade E.A., Smith W.L., DeWitt D.L.:** Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal antiinflammatory drugs. *J. Biol. Chem.*, 268, 1993, s. 6610—6614.
- Pavord I.D., Wisniewski A., Tattersfield A.F.:** Refractoriness to inhaled sodium metabisulphite in subjects with mild asthma. *Europ. Resp. J.*, 7, 1994, s. 50—54.
- Phillips G.D., Holgate S.T.:** The effect of oral terfenadine alone and in combination with flurbiprofen on the bronchoconstrictor response to inhaled adenosine 5-monophosphate in nonatopic asthma. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 139, 1989, s. 463—469.
- Pryor W.A.:** Mechanisms of radical formation from reactions of ozone with target molecules in the lung. *Free Rad. Biol. Med.*, 17, 1994, s. 451—465.
- Raeburn D.:** Eicosanoids, epithelium and airway reactivity. *Gen. Pharmac.*, 21, 1990, s. 11—16.
- Sprong C., Janssen Y.M.W., Borm P.J.A.:** The role of reactive oxygen species, cytokines and cytochrome P450 in pulmonary damage due to hyperoxia. *Med. Hypotheses*, 34, 1991, s. 296—299.
- Strapková A., Nosálová G., Bánovčín P., Giačová D.:** Zmeny reaktivity hladkého svalu dýchacích ciest po expozícii toluénu. *Stud. pneumol. phtiseol.*, 55, 1995, s. 263—271.
- Strapková A., Nosálová G., Hanáček J.:** Effects of irritants on airways reactivity. *Centr. Europ. J. Publ. Hlth.*, 4, 1996, s. 54—56.
- Thibeault D.W., Downing G., Reddy N., Sonderfan A.J., Parkinson A.:** Oxygen-induced lung damage in newborn rats, potentiated by 3-methylcholanthrene, a P-450 inducer, and lack of protection by cimetidine, a P-450 inhibitor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 259, 1991, s. 444—451.
- Todd N.W., Hunt Ch.M., Kennedy T.P., Piantadosi C.A., Whorton A.R.:** Effects of inhibition and induction of cytochrome P-450 isozymes on hyperoxic lung injury in rats. *Amer. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, 7, 1992, s. 222—229.
- Trnavský K.:** Příručka farmakoterapie revmatických chorob. Praha, Grada Avicenum 1994, 128 s.
- Wang M., Wisniewski A., Pavord I., Knox A., Tattersfield A.:** Comparison of three inhaled non-steroidal anti-inflammatory drugs on the airway response to sodium metabisulphite and adenosine 5-monophosphate challenge in asthma. *Thorax*, 51, 1996, s. 799—804.

Received April 4 1999.

Accepted September 10, 1999.