

Hipoksja – stan badań nad możliwością zastosowania preparatów roślinnych w prewencji i terapii

ANNA KRAJEWSKA-PATAN^{1*}, PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK^{1,2}, MARIOLA DREGER¹,
BOGUSŁAW CZERNY^{1,3}, PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ¹

¹Institut Roślin i Przetworów Zielarskich,
ul. Libelta 27
61-707 Poznań,

²Katedra i Zakład Farmakologii
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego,
ul. Rokietnicka 5a
60-806 Poznań,

³Samodzielna Pracownia Toksykologii Leków i Farmakoeconomiki
Pomorska Akademia Medyczna
ul. Żołnierska 48
70-204 Szczecin

* autor, do którego należy kierować korespondencję: tel.: +4861 6659540,
faks: +4861 6659551, e-mail: akp@iripz.pl

Streszczenie

Niedotlenienie narządów i tkanek występuje w przebiegu wielu chorób, np. w przewlekłej niewydolności krążenia pochodzenia sercowego, w niewydolności krążenia pochodzenia obwodowego czy w chorobie wieńcowej. Obecnie duży nacisk kładzie się na metody prewencji wtórnej i poszukiwanie sposobów zwiększania tolerancji komórek i tkanek na zmniejszone dostarczanie tlenu. Autorzy dokonali próby podsumowania zastosowania leków roślinnych w prewencji i terapii na tle teorii wyjaśniających zmiany patofizjologiczne w hipoksji. Omówiono perspektywy zastosowania surowców roślinnych do zapobiegania stanom hipoksji.

Słowa kluczowe: hipoksja, ischemia, stres oksydacyjny, rośliny lecznicze, Rhodiola Kirilowii

Hipoksja jako problem terapeutyczny

Zjawisko niedotlenienia narządów i tkanek występuje w przebiegu wielu chorób, np. w przewlekłej niewydolności krążenia pochodzenia sercowego, w niewydolności krążenia pochodzenia obwodowego, w chorobie wieńcowej, a także w takich stanach jak ostra choroba wysokogórska i chroniczne zmęczenie [1]. Do leczenia stanów związanych z występowaniem hipoksji stosuje się preparaty syntetyczne. Prowadzone są też badania nad substancjami pochodzenia roślinnego, które można by stosować w tych przypadkach. Rozwijane do tej pory strategie pierwszorzędowe zapobiegające zmianom ischemicznym w chorobach serca mają ograniczone zastosowanie [2] i z tego powodu obecnie duży nacisk kładzie się na metody prewencji wtórnej oraz poszukiwanie sposobów zwiększania tolerancji komórek na zmniejszone dostarczanie tlenu. Wykonano wiele obiecujących doświadczeń, które wskazują, że możliwa jest adaptacja komórek i tkanek do chronicznej hipoksji poprzez zwiększenie tolerancji na ischemię [2, 3]. Kolář i Ostadal stwierdzili, że adaptacja do stanu hipoksji może zwiększać tolerancję sercową na zjawisko ostrego niedoboru tlenu w komórkach serca [2]. Jednakże dotychczas nie poznano dobrze czynników, które odgrywałyby rolę w powstawaniu zjawiska kardioprotekcji. W terapii schorzeń związanych z hipoksją, oprócz leków syntetycznych, można stosować leki pochodzenia roślinnego, których niewątpliwą zaletą (przy często występującej konieczności długotrwałego podawania leków w tym typie schorzeń) jest niewielka liczba działań niepożądanych, niska toksyczność i dobra tolerancja przez pacjenta.

Przyjmuje się, że udział reaktywnych form tlenu (RFT – ang. *reactive oxygen species*, ROS), tlenku azotu, kanałów potasowych K_{ATP} różnych kinaz białkowych, endogennych opioidów czy erytropoetyny jest ważny w powstawaniu tolerancji na objawy hipoksji. Wiele z tych czynników uczestniczy też w mechanizmie pre-kondycjonowania serca, sugerując aktywację wielu wspólnych szlaków [4]. Istnieje możliwość wpływania związkami, również pochodzenia roślinnego, na objawy niedotlenienia mięśnia sercowego na drodze farmakologicznej, co tym samym poprawia wydolność serca [5]. Jednakże należy też wspomnieć, że przewlekłe podawanie związków o działaniu przeciwutleniającym odgrywa niejednoznaczną rolę w adaptacji do hipoksji, co czasem prowadzi do zaskakujących, przeciwstawnych wniosków [2]. Wiadomo, że stosowanie związków przeciwutleniających nie daje jednoznacznych wyników [6], co prawdopodobnie spowodowane jest faktem, że udział poszczególnych związków przeciwutleniających w funkcjonowaniu serca, włączając w to generowanie wolnych rodników i ekspresję genów za to odpowiedzialnych, nie jest jasny. Biorąc pod uwagę opisane powyżej niejasności i zastrzeżenia, uznaje się, że zmiany w układzie sercowo-naczyniowym indukowane hipoksją wymagają dalszych badań.

Jednym z ważnych mechanizmów związanych z powstawaniem hipoksji jest ich związek ze wzrostem prawdopodobieństwa wystąpienia stresu oksydacyjnego, co dowiedziono przez badanie np. procesów peroksydacji lipidów [4]. Wzrost wytwarzania reaktywnych form tlenu wydaje się być ważny w patogenezie wielu

chorób związanych z zaburzeniami układu krążenia. Uważa się, że wzrost ilości ROS uczestniczy w powstawaniu uszkodzeń np. kardiocytów, ale wiadomo też, że ten mechanizm jest włączony w działanie protekcyjne powstające podczas chronicznej hipoksji [6]. Ważne miejsce wśród środków o działaniu przeciwutleniającym zajmują substancje pochodzenia roślinnego, a zwłaszcza związki polifenolowe – flawonoidy i kwasy fenolowe obecne w roślinach leczniczych [7, 8], jak również w owocach i warzywach [9, 10].

Podczas intensywnego wysiłku fizycznego dochodzi również do stanów hipoksji, co prowadzi do nasilenia glikolizy mleczanowej i rozpadu AMP (adenozynomonofosforanu). Powstający kwas mlekowy zmienia przepuszczalność błon komórkowych, co objawia się zaburzeniami funkcjonowania całego organizmu. Rozpad AMP powoduje między innymi wzrost stężenia w komórkach i we krwi hipoksantyny, ksantyny i kwasu moczowego, zmiany ilości kreatyny i fosfokreatyny. Biorąc udział w przekształcaniu hipoksantyny w ksantynę dehydrogenaza ksantynowa w warunkach hipoksji przechodzi w formę oksydazową, czego wynikiem jest produkcja wolnych rodników tlenowych i późniejszy ich negatywny wpływ na organizm [11]. Hipoksja występuje również w zespole chronicznego zmęczenia, ponieważ we krwi pacjentów z tym zespołem stwierdzono wzrost poziomu parametrów kojarzonych z powstawaniem wolnych rodników na drodze stresu oksydacyjnego [12]. Spadek utlenowania tkanek indukowany przez hipoksję może zmieniać również funkcjonowanie mózgu poprzez wpływ na krążenie mózgowe i patologiczne uwalnianie się szeregu neurotransmiterów w neuronach. Udowodniono, że zależnie od stopnia uszkodzenia hipoksemicznego, funkcjonowanie mózgu w sytuacjach ekstremalnych może być zaburzone ze względu na powstawanie nekrozy kory mózgu [9]. Prowadzi to w konsekwencji do pogorszenia procesów mózgowych, wyrażających się osłabieniem procesów poznawczych związanych z przekaźnictwem glutaminianergicznym, cholinergicznym czy dopaminergicznym. Może to doprowadzić również do obrzęku mózgu, encefalopatii hipoksemicznej czy indukowanej hipoksją retinopatii. Stąd ważna jest możliwość kontrolowania lub osłabienia zmian w ośrodkowym układzie nerwowym indukowanych hipoksją [13].

W leczeniu stanów związanych z występowaniem hipoksji stosuje się głównie leki syntetyczne: np. w zapobieganiu i leczeniu ostrej choroby wysokogórskiej stosuje się acetazolamid i glikokortykosterydy [14]. Jednak, przy obecnym wzrastającym zainteresowaniu lekiem pochodzenia naturalnego, oczywistym wydaje się dążenie do znalezienia również preparatów roślinnych, które miałyby zastosowanie w tych stanach. Zgodnie ze współczesnymi trendami w nauce o roślinnych środkach leczniczych i ich zastosowaniu w leczeniu badania te muszą wyjaśniać mechanizmy działania substancji czynnych i bezpieczeństwo stosowania otrzymanych preparatów. Uzyskane perspektywicznie w ramach tych prac preparaty pochodzenia roślinnego ze względu na zalety charakterystyczne dla większości preparatów z roślin zielarskich: niską toksyczność, małą liczbę działań ubocznych, możliwość długotrwałego podawania – będą mogły być stosowane zwłaszcza w stanach prewencji hipoksji.

Modele badań hipoksji

Badanie hipoksji w warunkach *in vivo* nastęrcza wiele trudności. Znacznie łatwiejsze jest zastosowanie do tych badań modeli *in vitro*, co jednak nie zawsze odzwierciedla stan *in vivo*. Jednym z ciekawszych modeli eksperymentalnych stosowanych w badaniach hipoksji jest obniżenie ciśnienia tlenu i badanie jego wpływu na działanie organizmu. Wiadomo bowiem, że wpływ tlenu na organizm jest uzależniony od ciśnienia cząstkowego tlenu (pO_2) w powietrzu wdychanym, a zmiany tego ciśnienia mają istotny wpływ na przebieg procesów metabolicznych w komórkach. Przy obniżeniu tego stężenia, co prowadzi do stanu hipoksji, dochodzi do licznych zaburzeń w przemianach tlenowych organizmu na tle niedotlenienia. Ten rodzaj hipoksji występuje, gdy w miarę zwiększania wysokości nad poziomem morza obniża się ciśnienie cząstkowe tlenu. Są na to szczególnie narażeni ludzie przebywający na dużej wysokości (powyżej 5500 m n.p.m.), którzy nie przeszli procesu adaptacyjnego przy wchodzeniu na tę wysokość [15]. Powoduje to chwilową ostrą hipoksję i spowodowane tym ryzyko wystąpienia ostrej choroby wysokogórskiej (AMS, *acute mountain sickness*). Model choroby wysokogórskiej jest często wykorzystywany do badania zjawiska hipoksji. Objawy AMS to ból głowy, nudności, brak apetytu, zmęczenie, znużenie [16]. Według niektórych badaczy zaburzenia te związane są ze zmianą przepuszczalności naczyń krwionośnych spowodowaną indukowanym przez hipoksję wytwarzaniem wolnych rodników. Powstające wówczas wolne rodniki mogą uczestniczyć m.in. w osłabieniu funkcjonowania mięśni, zmniejszeniu przepływu włóscznikowego, a także w wywoływaniu wielu objawów neurologicznych, takich jak obrzęk mózgu, drgawki czy obrzęki [16]. Jednocześnie w tych warunkach następuje wzrost liczby czerwonych krwinek, stężenia hemoglobiny, wzrost krzepliwości krwi. Wykładnikami wzrostu ilości wolnych rodników mogą być zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej zależnej od selenu i powstawanie malonyldialdehydu [16, 17]. Opisany powyżej model badawczy autorzy niniejszej pracy stosują do badania wpływu wyciągów roślinnych na zwiększenie odporności tkanek na stany niedotlenienia narządów i tkanek występujące w przewlekłej niewydolności krążenia i chorobie wieńcowej.

Perspektywy zastosowania leków roślinnych w hipoksji

Do leczenia stanów związanych z występowaniem hipoksji w dużej mierze stosowane są preparaty syntetyczne, niemniej istnieją też doniesienia nad prowadzeniem badań dotyczących zastosowania wyciągów z żeń-szenia i miłorzębu [18] – tak w modelach zwierzęcych w różnych rodzajach hipoksji (np. hipoksji związanej z działaniem niskiej temperatury), jak również doniesienia o stosowaniu wyciągu z miłorzębu w zapobieganiu AMS u ludzi [19]. Zastosowanie to być może można wytłumaczyć efektem działania na metabolizm tlenu azotu [21].

Istnieją też jednak badania nie potwierdzające tego pozytywnego wpływu miłorzębu w profilaktyce AMS [22]. Berg i współpracownicy [20] badali również zastosowanie miłorzębu w wysokościowym obrzęku płuc (HAPE, *high altitude pulmonary edema*) na modelu zwierzęcym, dowodząc, że jego stosowanie może zapobiegać rozwojowi wczesnych objawów HAPE na skutek narażenia na przebywanie na dużych wysokościach. Badano też na szczurach protekcyjne działanie ekstraktu z zielonej herbaty, stwierdzając jego pozytywny wpływ na zespół chronicznego zmęczenia, w którym również występuje zjawisko stresu oksydacyjnego [23]. Istnieją też doniesienia o pozytywnym działaniu *Radix Astragali* (korzeń traganka) w doświadczeniach na szczurach poddanych działaniu chronicznej hipoksji [24]. Działanie tych wyciągów jest być może związane z właściwościami adaptogennymi zawartych w nich związków czynnych. Stąd poszukiwania nowych surowców pochodzenia roślinnego, których charakterystyka działania jest podobna. Uważa też się, że suplementy diety o działaniu antyoksydacyjnym mogą korzystnie wpływać na znoszenie stresu oksydacyjnego [16].

Została również opublikowana praca wykonana w modelu zwierzęcym na temat zastosowania wyciągów z dalekowschodniej rośliny *Rhodiola Kirilowii* (*Crassulaceae*) do zwalczania objawów hipoksji [25]. Istnieją też doniesienia o używaniu tej rośliny w azjatyckiej medycynie tradycyjnej do redukcji ciężkości związanych ze zmianą wysokości nad poziomem morza [26], jednak tylko jednoznaczne udokumentowanie tych badań i dokładne poznanie składu chemicznego tej rośliny mogłoby w przyszłości stanowić podstawę do zastosowania otrzymywanych z niej preparatów w stanach hipoksji.

Dotychczasowe wyniki badań nad zastosowaniem wyciągów z roślin w stanach związanych z występowaniem hipoksji są obiecujące, choć obecnie nie są jeszcze wystarczająco udokumentowane. Istnieje więc pilna potrzeba ich kontynuacji w celu zaprojektowania w przyszłości suplementu diety lub wspomagającego produktu leczniczego stosowanego w zapobieganiu lub zmniejszaniu szkodliwych objawów hipoksji towarzyszących przewlekłej niewydolności krążenia i chorobie wieńcowej. Pozwoliłoby to na etapie profilaktyki oraz w łżejszych postaciach chorób zmniejszyć stosowane dawki leków syntetycznych i ograniczyć ich znaczne skutki uboczne. Produkt taki mógłby być również stosowany podczas wysiłku fizycznego o dużej intensywności w celu zmniejszenia objawów niedotlenienia tkanek oraz przy leczeniu pacjentów cierpiących na zespół przewlekłego zmęczenia.

Praca była finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu badawczego nr N405 025 32/1687.

PIŚMIENNICTWO

1. Ostadal B, Ostadalova I, Dhalla NS. Development of cardiac sensitivity to oxygen deficiency: comparative and ontogenetic aspects. *Physiol Rev* 1999; 79:635-59.

2. Kolář F, Ostadal B. Molecular mechanisms of cardiac protection by adaptation to chronic hypoxia. *Physiol Res* 2004; 53(Suppl. 1):3-13.
3. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74:1124-36.
4. Kosieradzki M. Mechanisms of ischemic preconditioning and its application in transplantation. *Ann Transplant* 2002; 7:12-20.
5. Das S, Alagappan VK, Bagchi D, Sharma HS, Maulik N, Das DK. Coordinated induction of iNOS-VEGF-KDR-eNOS after resveratrol consumption: a potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart. *Vascul Pharmacol* 2005; 42(5-6):281-9.
6. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005; 115:500-8.
7. Croft KD. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann New York Acad Sci* 1998; 854:435-42.
8. Rao YK, Geethangili M, Fang SH, Tzeng YM. Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: a comparative study. *Food Chem Toxicol* 2007; 45:1770-6.
9. Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J Agric Food Chem* 2002; 50:7449-54.
10. Rahman I, Biswas SK, Kirkham PA. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochem Pharmacol* 2006; 72:1439-52.
11. Kowalczyk K, Andrzejewski M, Michalak E, Chmura J, Rychlewski T. Aktywność wybranych enzymów, stężenie oksypuryn oraz kwasu moczowego u młodych zawodników piłki nożnej. *Medycyna Sportowa* 2006; 3:151-5.
12. Kennedy G, Spence VA, McLaren M, Hill A, Underwood C, Belch JJ. Oxidative stress levels are raised in chronic fatigue syndrome and are associated with clinical symptoms. *Free Radic Biol Med* 2005; 39:584-9.
13. Wittner M, Říha P. Transient hypobaric hypoxia improves spatial orientation in young rats. *Physiol Res* 2005; 54:335-40.
14. Coote JH. Medicine and mechanisms in altitude sickness. Recommendations. *Sports Med* 1995; 20:148-59.
15. Vann RD, Pollock NW, Pieper CF, Murdoch DR, Muza SR, Natoli MJ, Wang LY. Statistical models of acute mountain sickness. *High Alt Med Biol* 2005; 6:32-42.
16. Askew EW. Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. *Toxicol* 2002; 180:107-19.
17. Siu-Po Ip, Chun-Tao Che Po-Sing Leung. Association of free radicals and the tissue renin-angiotensin system: prospective effects of *Rhodiola*, a genus of chinese herb, on hypoxia induced pancreatic injury. *JOP J Pancreas* 2001; 2:16-25.
18. Ramachandran U, Dyvekar HM, Grover SK, Srivastava KK. New experimental model for the evaluation of adaptogenic products. *J Ethnopharmacol* 1990; 29:275-81.
19. Moraga FA, Flores A, Serra J, Esnaola C, Barriento C. *Ginkgo biloba* decreases acute mountain sickness in people ascending to high altitude at Ollague (3696 m) in Northern Chile. *Wilderness Environ Med* 2007; 18:251-7.
20. Berg JT. *Ginkgo biloba* extract prevents high altitude pulmonary edema in rats. *High Alt Med Biol* 2004; 5:429-34.
21. Jowers C, Shih R, James J, Deloughery TG, Holden WE. Effects of *Ginkgo biloba* on exhaled nasal nitric oxide during normobaric hypoxia in humans. *High Alt Med Biol* 2004; 5:445-9.
22. Chow T, Brovne V, Helleeson HL, Wallace D, Anholm J, Green SM. *Ginkgo biloba* and acetazolamide prophylaxis for acute mountain sickness; a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Intern Med* 2005; 165:296-301.
23. Signal A, Kaur S, Tirkey N, Chopra K. Green tea extract and catechin ameliorate chronic fatigue-induced oxidative stress in mice. *J Med Food* 2005; 8:47-52.
24. Liu JC, An CS, Wang JF, Li FY, Li JH. Influence of *Radix Astragali* on nitric oxide and endothelin-1 in pulmonary tissue in hypoxemic pulmonary hypertension in rats. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2006; 44:46-8.
25. Zhang Z, Wang L, Chen Q, Feng S, Cao Z, Zhou X, Hu G, Jiang P, Cao Y. Electron microscopic observation of the effects of *Rhodiola Kirilowii* (Regel.) Maxim. in preventing damage of the rat viscera by a hypoxic high altitude environment. *China J Chin Mat Med* 1990;15:177-81, 192.
26. Zhang ZH, Feng SH, Hu GD i współ. Effect of *Rhodiola Kirilowii* (Regel.) Maxim. on preventing high altitude reactions. A comparison of cardiopulmonary function in villagers at various altitudes. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* 1989; 14:687-90, 704.

HYPOXIA – THE PRESENT STATUS AND FUTURE PERSPECTIVES OF APPLICATION
OF HERBAL PRODUCTS

ANNA KRAJEWSKA-PATAN^{1*}, PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK^{1,2}, MARIOLA DREGER¹,
BOGUSŁAW CZERNY^{1,3}, PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ¹

¹Research Institute of Medicinal Plants

Libelta 27

61-707 Poznań, Poland

²Chair and Department of Pharmacology

Poznań University of Medical Sciences

Rokietnicka 5a

60-805 Poznań, Poland

³Department of Drug Toxicology and Pharmacoeconomics

Pomeranian Medical Academy

Żołnierska 48

70-204 Szczecin, Poland

*corresponding author: tel.: +48 61 6659540, fax: +48 61 6659551, e-mail: akp@iripz.pl

S u m m a r y

The organ and tissue hypoxia appears in course of many diseases: chronic myocardial failure/insufficiency, peripheral circulatory and coronary failure. Nowadays the prevention methods and searching the ways of increasing the heart tolerant for oxygen deficiency become focus of the interest. Authors summarize the theories elucidating/explaining the hypoxia phenomenon. The paper contains the aspect of herbal drugs implementation in prevention of hypoxia.

Key words: hypoxia, ischemia, antioxidative stress, medicinal plants, Rhodiola Kirilowii