

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LVIII

2011

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova, St. Titeva, I.
Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎(+359 2) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>I. Манолов.</i> Синтез, структурни изследвания и свойства на някои производни на 4-хидроксикумарина.....	3
<i>A. Златков, B. Цветкова, Л. Андонова и П. Пейков.</i> Синтез, структурен анализ и определяне на лекарствено подобие на някои имидазолови производни.....	18
<i>M. Георгиева, A. Бижев и И. Ненчева.</i> Изолитране и характеризирание на пиролови хидразони с евентуална туберкулостатична активност. сравняване на методи за сепарирание.....	26
<i>И. Манолов, Ч. Майхле-Мьосмер, E. Нике, Г. Момеков и X.-Ю. Махула.</i> Синтез, структура и цитотоксична активност на производно на 2-нитрофенилаланина.....	32
<i>B. Николова-Младенова, Г. Момеков и Д. Иванов.</i> Синтез на физикохимична характеристика на нов дериват на салицилалдехид бензол хидразона с висока цитотоксична активност.....	41
<i>Л. Пейкова, И. Пенчева, М. Манова и Г. Петрова.</i> Изследване с високоефективна течна хроматография на двойни и тройни смеси, съдържащи Venlafaxine, Citalopram, Sibutramine.....	45
<i>M. Манова, И. Пенчева, П. Пейков, Г. Петрова и B. Цветкова.</i> Валидиране на течнохроматографски метод за количествено определяне на HMG Co-A редуктазни инхибитори.....	50
<i>A. Тачев.</i> Бързи методи за количествено определяне на флавоноиди и танини в козметични продукти.....	55
<i>B. Костова, P. Попова и Д. Рачев.</i> Получаване и оптимизиране на матрични системи с включено лекарствено вещество със слабобазични свойства на база Kollidon® Sr.....	59
<i>C. Георгиева и Я. Колева.</i> Естрогенна активност на метаболитите на някои съединения, действащи върху ендокринната система.....	65
<i>C. Лазаров, P. Николов, A. Момчилова и E. Янев.</i> Ефекти на Nimesulide върху фосфолипидния състав на алвеоларния сърфактант при плъхове с модел на септичен респираторен дистрес синдром.....	77
<i>A. Стоименова, A. Савова, M. Манова, Г. Драганов, Г. Петрова и A. Златков.</i> Взаимодействия на Ginkgo biloba с лекарствени продукти.....	83
<i>E. Кожухарова, П. Михнев, Pier-Luigi Nimis.</i> Проектът „Ключ към природата“ – интерактивно електронно пособие за изучаване и разпознаване на лечебни растения.....	91
<i>X. Лебанова, E. Григоров и И. Гетов.</i> Материовигиланс – основни понятия и законодателна рамка.....	98
<i>B. Кирилов, E. Григоров и И. Гетов.</i> Проучване на приложението на витамини с антиоксидантни свойства и анализ на пазара в България.....	104
Обзори	
<i>Д. Обрешкова.</i> Аналитично проучване и качествен контрол на български продукти от растителен произход с антиоксидантна активност.....	108
Инструкции към авторите	115

CONTENTS

Original articles

<i>I. Manolov.</i> Synthesis, structure investigations and properties of some 4-hydroxycoumarin derivatives.....	3
<i>Al. Zlatkov, B. Tsvetkova, L. Andonova and P. Peykov.</i> Synthesis, structural analysis and drug-likeness estimation of some imidazole derivatives.....	18
<i>M. Georgieva, A. Bijev and I. Nenchewa.</i> Isolation and characterization of isomers of pyrrole-hydrazones with possible tuberculostatic activity. comparison of methods for separation.....	26
<i>I. Manolov, C. Maichle-Mössmer, E. Niquet, G. Momekov and H.-J. Machulla.</i> Synthesis, structure and cytotoxic activity of a 2-nitrophenylalanine derivative.....	32
<i>B. Nikolova-Mladenova, G. Momekov and D. Ivanov.</i> Synthesis and physicochemical characterization of new salicylaldehyde benzoyl hydrazone derivative with high cytotoxic activity.....	41
<i>L. Peykova, I. Pencheva, M. Manova and G. Petrova.</i> HPLC study of binary and triple mixtures containing venlafaxine, citalopram and sibutramine.....	45
<i>M. Manova, I. Pencheva, P. Peikov, G. Petrova and B. Tsvetkova.</i> Validation of hplc method for determination of HMG Co-A reductase inhibitors.....	50
<i>A. Tachev.</i> Rapid methods for quantitation of flavonoids and tannins in cosmetic products.....	55
<i>B. Kostova, R. Popova and D. Rachev.</i> Obtaining and optimization of matrix systems which contain drug with weak basic properties based on Kollidon® SR.....	59
<i>S. Georgieva and Y. Koleva.</i> Metabolic estrogenic activity of some endocrine disruptor chemicals.....	65
<i>S. Lazarov, R. Nikolov, A. Momtchilova and E. Yanev.</i> Effects of nimesulide on the phospholipid composition of the alveolar surfactant in rats with model of the septic respiratory distress syndrome.....	77
<i>A. Stoimenova, A. Savova, M. Manova, G. Draganov, G. Petrova and A. Zlatkov.</i> Medicine interactions with Ginkgo biloba.....	83
<i>E. Kozuharova, P. Mihnev and Pier-Luigi Nimis.</i> The Key-to-Nature Project – interactive e-tool for studying and identification of medicinal plants.....	91
<i>H. Lebanova, E. Grigorov and I. Getov.</i> Materiovigilance – Basic Concepts And Legislative Framework.....	98
<i>B. Kirilov, E. Grigorov and I. Getov.</i> Study on the use of antioxidant vitamins on the bulgarian market.....	104
Reviews	
<i>Д. Обрешкова.</i> Analytical study and quality control of bulgarian drugs with antioxidant activity.....	108
Instructions To Authors	118

ФАРМАЦИЯ 1-4/2011

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар *Св. Цветанова*
Стилова редакция *Св. Цветанова и д-р Б. Станчева (на англ. ез.)*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 09.01.2011 г.

Печатни коли 15, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски“ № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

ЕФЕКТИ НА NIMESULIDE ВЪРХУ ФОСФОЛИПИДНИЯ СЪСТАВ НА АЛВЕОЛАРНИЯ СЪРФАКТАНТ ПРИ ПЛЪХОВЕ С МОДЕЛ НА СЕПТИЧЕН РЕСПИРАТОРЕН ДИСТРЕС СИНДРОМ

С. Лазаров¹, Р. Николов², А. Момчилова³ и Е. Янев¹

¹Катедра по патологична физиология, Медицински университет – София

²Катедра по фармакология и токсикология, Медицински университет – София

³Институт по биофизика, БАН– София

Резюме. Респираторният дистрес синдром при възрастни (РДСВ) е проява на остро увреждане на белите дробове, която най-често се наблюдава при сепсис, травма и тежки белодробни инфекции. РДСВ се характеризира с необратими увреждания в структурата и функцията на белодробната сърфактантна система. Най-широко изследваните лекарства за лечение на РДСВ са глюкокортикоиди, циклооксигеназни инхибитори и антиоксиданти. В настоящото изследване са проучени ефектите на преференциалния COX-2 инхибитор Nimesulide върху фосфолипидния състав на алвеоларния сърфактант (АС) при експериментален модел на септичен РДСВ. Изследвахме общото количество на фосфолипидите, процентното съотношение на сърфактантните фосфолипиди и количественото разпределение на основните фосфолипидни фракции в АС. Прилагането на нимезулид при плъхове с модел на септичен респираторен дистрес синдром предизвиква повишаване на тоталните фосфолипиди, както и на някои фосфолипидни фракции на алвеоларния сърфактант.

Ключови думи: респираторен дистрес синдром при възрастни, алвеоларен сърфактант, нимезулид, сепсис, сърфактантни фосфолипиди

EFFECTS OF NIMESULIDE ON THE PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF THE ALVEOLAR SURFACTANT IN RATS WITH MODEL OF THE SEPTIC RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

S. Lazarov¹, R. Nikolov², A. Momtchilova³ and E. Yanev¹

¹Department of Pathophysiology, Medical University – Sofia

²Department of Pharmacology and Toxicology, Medical University – Sofia

³Institute of Biophysics, Bulgarian Academy of Science

Summary. The respiratory distress syndrome in adults (ARDS) is a manifestation of acute injury to the lung, commonly resulting from sepsis, trauma, and severe pulmonary infections. ARDS is characterized by irreversible structural and functional injuries in the lung surfactant system. The most studied drugs for the treatment of ARDS are glucocorticoids, cyclooxygenase inhibitors, and antioxidants. The present study investigated the effects of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor on the phospholipid composition of the alveolar surfactant (AS) in experimental model of septic RDS. We studied the total quantity of the phospholipids, the percent ratio of the surfactant phospholipids, and the quantity ratio of the basic phospholipid fractions of the AS. Administration of nimesulide in rats with model of septic respiratory distress syndrome caused increase of the total phospholipids, as well as of some fractions of the alveolar phospholipid surfactant.

Key words: adult respiratory distress syndrome, alveolar surfactant, nimesulide, sepsis, surfactant phospholipids

Увод

Респираторният дистрес синдром при възрастни (РДСВ) (от 1994 г. по-често се използва термина остър респираторен дистрес синдром) се проявява с диспнея, тежка хипоксемия и двустранни дифузни белодробни инфилтрати. Основно патогенетично нарушение при острия респираторен дистрес синдром е необратимото увреждане на алвеоларните тип I клетки и на сърфактант-продуциращите тип II клетки [1, 7, 8, 9, 21, 22, 23].

Рисковите фактори за развитие на РДСВ могат да бъдат обобщени в две основни групи: директно увреждане на белите дробове (пневмония, аспирация на стомашно съдържимо, белодробна травма и др.) и индиректно увреждане на белите дробове (сепсис, тежка травма, остър панкреатит, кардиопулмонален байпас, масивни трансфузии, предозиране на лекарства) [21]. РДСВ се наблюдава най-често при пациенти с Грам-негативен сепсис и септичен шок, които са усложнение на острия фекален перитонит. В около 20% от случаите фекален перитонит се причинява от патологични процеси на дебелото черво като дивертикулит, хроничен улцерохеморагичен колит, цекален и колонен вътрелуменен карцином, инкарцерирана херния, волвулус и др. с последваща перфорация на червото [10, 11, 13, 16, 19, 20].

Циклооксигеназните метаболити на арахидоновата киселина са медиатори на възпалението, които участват в патогенезата на сепсиса, септичния шок и РДСВ. От основно значение са тромбоксан А₂ (ТхА₂) – като вазоконстриктор и промотор на тромбоцитната агрегация; простагландин I₂ (P_gI₂) – като вазодилатор и антиагрегант; и простагландините E₁ и E₂ (P_gE₁ и P_gE₂), като вазодилатори с имunosупресорни ефекти и левкотриенови антагонисти. При прилагането на нестероидни противовъзпалителни средства (НСПВС), като ибупрофен, индометацин и меклофенат при болни със сепсис се наблюдава понижаване на нивата на простагландин-ергичните медиатори и тромбоксан [17, 19, 22, 23].

Досега са изолирани три изоформи на ензима СОХ – СОХ-1 (конститутивна), СОХ-2 (възпалителна) и СОХ-3, намираща се предимно в мозъка на някои видове. СОХ-1 се експресира физиологично в почти всички клетки (с изключение на тромбоцитите, ендотелните и бъбречните тубуларни клетки). СОХ-2 се експресира в клетките под действието на различни възпалителни медиатори, включително ендотоксин (LPS), ту-

морнекротизиращ фактор алфа (TNF α), интерлевкин-1бета (IL-1 β), интерлевкин-6 (IL-6), ТхА₂, серотонин (5-НТ), ендотелин-1 (ЕТ-1) и др. Провъзпалителните медиатори активират каскади от сигнал-предаващи вътреклетъчни фосфопротеинкинази (Ras/Rac1/МЕКК-1/JNK, PKC/ p42/p44 MAPK, p38 MAPK), които стимулират редица транскрипционни фактори (NF-kB, NF-IL-6, AP-2, PEA-3, Sp-1, GATA-1) и повишават многократно експресията на гена за СОХ-2.

Нимезулидът се отнася към преференциалните СОХ-2 инхибитори (Meloxicam, Nabumetone), които инхибират предимно СОХ-2 и слабо СОХ-1. Предполага се, че противовъзпалителното и антиоксидантното действие на Nimesulide може да бъде използвано в терапията на сепсис, септичен шок и РДСВ [2, 18].

Целта на настоящото изследване е да проучим ефектите на преференциално селективния СОХ-2 инхибитор Nimesulide при модел на септичен респираторен дистрес синдром върху експериментален модел на остър фекален перитонит у плъхове. В това проучване бяха изследвани количествените промени във фосфолипидните фракции (сфингомиелин – СМ, фосфатидилхолин – ФХ, фосфатидилсерин – ФС, фосфатидилинозитол – ФИ, фосфатидилетаноламин – ФЕ и фосфатидилглицерол – ФГ), процентното съотношение и промяната в количеството на тоталните фосфолипиди (ТФЛ) на алвеоларния сърфактант (АС).

Материали и методи

Експериментални животни

Експериментите бяха проведени върху 50 мъжки бели плъха от порода Wistar със средно тегло 180 \pm 20 g. Животните бяха разделени в 4 групи – I контролна (K1) (5 плъха, изследвани на 8-ия час), II контролна (K2) (5 плъха, изследвани на 12-ия час), I експериментална (E1) (10 плъха, изследвани на 8-ия час) и II експериментална (E2) (10 плъха, изследвани на 12-ия час). III експериментална (E3) (10 плъха, третирани с Nimesulide и изследвани на 8-ия час) и IV експериментална (E4) (10 плъха, третирани с nimesulide и изследвани на 12-ия час).

При планиране и провеждане на експериментите стриктно бяха спазвани Международните насоки и принципи за експерименти с животни (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals).

Фармакологични вещества

На животните от експерименталните групи Е3 и Е4 беше прилаган Nimesulide (Sigma-Aldrich, Germany). Веществото беше въведено интраперитонеално в доза 10 mg/kg.

Експериментален модел на остър фекален перитонит

Ние използвахме модел на остър експериментален фекален перитонит, описан от Шалимов и съавт. (1989) [8, 10, 11], като вместо цекална лезия извършихме лезия на colon descendens. Този модел е максимално сходен с човешката патология, поради което е най-подходящ за експериментално моделиране на сепсис, септичен шок и септичен РДСВ [13, 16, 20, 21].

Животните бяха оставени на глад 18 часа преди оперативната интервенция, като имаха свободен достъп до вода. След обща анестезия с Nembutal в доза 30 mg/kg т.м. i.p. на опитните животни беше извършена долна срединна лапаротомия с големина на разреза 2-2.5 cm [8, 10, 11]. След отваряне на коремната кухина и откриване на colon descendens се извърши лезия на колона с размер 1-1.5 cm. Оперативната интервенция приключи с последващо послойно възстановяване на коремната стена. На контролните животни се направи „лъжлива лапаротомия“ – разрез с последващо послойно възстановяване на коремната стена без лезия на колона. След операцията животните бяха оставени на свободен режим.

На 4-ия час след хирургичната интервенция на животните от експерименталните групи Е3 и Е4 въведохме Nimesulide в доза 10 mg/kg телесна маса i.p.

На 8-ия и 12-ия час след обща анестезия с Nembutal в доза 30 mg/kg т.м. i.p. животните от контролните и експерименталните групи бяха трахеотомирани. След анестезия в трахеята на плъховете се фиксира пластмасова канюла, през която беше извършен бронхоалвеоларен лаваж (БАЛ) с леден физиологичен серум четирикратно по 5 ml. Бронхоалвеоларната лаважна течност (БАЛТ) събрахме в предварително силиконизирани стъклени съдове за избягване полепването на БАЛТ компонентите към техните стени.

Биохимично изследване на лаважната течност

Екстрахирахме липидите по метода на Folch и др. [15]. Количественото определяне на сърфактантните фосфолипиди се извърши по мето-

да на J. Stewart. Екстинцията беше определяна на спектрофотометър Specol. Фосфолипидните фракции на БАЛ определяхме чрез тънкослойна хроматография на Silica gel-тънкослойни плаки (Merck). Като разтворител използвахме смес хлороформ/метанол/изопропанол/0.25% KCl/ триетиламин (30/9/25/6/18).

Статистически методи

Експерименталните резултати бяха обработени статистически и представени като средни стойности \pm S.E.M посредством методите на дисперсионния анализ (one-way ANOVA). Статистическата достоверност бе установена с помощта на t-test на Student. За статистически достоверни се отчитаха резултатите с $P < 0.05$.

Резултати

Всички изследвани биохимични параметри на контролните животни от I и II група показаха сходни резултати, поради което двете контролни групи животни бяха обединени в една обща контролна група (К).

Получените резултати от количественото изследване на фосфолипидния състав и ТФЛ на АС са представени в табл. 1. Резултатите показват статистически значимо понижение на ТФЛ, СМ, ФХ, ФС, ФЕ и ФГ при опитните животни от групи Е1 и Е2. Увеличено е количеството на ФИ при опитните животни от група Е1. При животните от групи Е3 и Е4 се наблюдава статистически значимо повишаване на ТФЛ, СМ, ФС, ФЕ и ФГ. При група Е3 се наблюдава покачване на ФХ, но при група Е4 той рязко се понижава. ФИ намалява статистически при животните от група Е3, но се увеличава при Е4.

Получените резултати от изследването на процентното разпределение на фосфолипидните фракции на АС са представени в табл. 2. Резултатите показват понижение на СМ и ФГ и повишаване на ФХ при опитните животни от групи Е1 и Е2. ФС не се променя при Е1, но се понижава при Е2. ФИ се повишава при Е1, но спада при Е2. При животни от групи Е3 и Е4 се наблюдава понижаване на ФХ. СМ и ФС не се променят при Е3, но се повишават при Е4. ФИ се понижава при Е3, но се повишава при Е4. ФЕ не се променя и при животните от Е3 и Е4. ФГ се повишава при Е3, но спада при Е4.

Получените резултати от изследване на количественото съотношение на фосфолипидните

Таблица 1. Ефекти на Nimesulide върху фосфолипидния състав (mg ФЛ / mg протеин; $x \pm Sx$) на алвеоларния сърфактант при плъхове със септичен РДСВ. **СМ** – сфингомиелин, **ФХ** – фосфатидилхолин, **ФС** – фосфатидилсерин, **ФИ** – фосфатидилинозитол, **ФЕ** – фосфатидилетаноламин, **ФГ** – фосфатидилглицерол, **ТФЛ** – тотални фосфолипиди. Статистическа значимост спрямо контролата: * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$

Фосфолипидни фракции на АС	Контролни плъхове (n = 10)	Опитни плъхове I група (n = 10)	Опитни плъхове II група (n = 10)	Опитни плъхове III група (n = 10)	Опитни плъхове IV група (n = 10)
СМ	75.60 ± 1.20	53.58 ± 1.40**	32.16 ± 1.15**	58.34 ± 1.20*	41.33 ± 1.25**
ФХ	1137.60 ± 20.00	1068.10 ± 18.50*	1050.40 ± 19.20*	1076.80 ± 17.21*	996.60 ± 19.23
ФС	65.20 ± 0.90	52.80 ± 1.30	38.98 ± 0.52**	57.60 ± 1.25*	99.40 ± 1.33**
ФИ	31.15 ± 0.80	41.00 ± 0.95*	7.80 ± 0.40**	32.23 ± 0.32*	24.50 ± 0.20**
ФЕ	70.24 ± 2.20	39.85 ± 1.29*	37.17 ± 1.90**	43.56 ± 2.20**	39.50 ± 1.30
ФГ	187.42 ± 0.70	158.40 ± 0.70**	125.02 ± 2.20**	186.12 ± 0.23**	120.40 ± 1.60
ТФЛ	1567.21 ± 25.80	1413.73 ± 24.33**	1274.53 ± 26.22**	1454.65 ± 22.41*	1321.73 ± 24.91*

Таблица 2. Процентно разпределение на фосфолипидните фракции на алвеоларния сърфактант при плъхове със септичен РДСВ. **СМ** – сфингомиелин, **ФХ** – фосфатидилхолин, **ФС** – фосфатидилсерин, **ФИ** – фосфатидилинозитол, **ФЕ** – фосфатидилетаноламин, **ФГ** – фосфатидилглицерол, **ТФЛ** – тотални фосфолипиди

Фосфолипидни фракции на АС	Контролни плъхове (n = 10)	Опитни плъхове I група (n = 10)	Опитни плъхове II група (n = 10)	Опитни плъхове III група (n = 10)	Опитни плъхове IV група (n = 10)
СМ	5	4	2	4	3
ФХ	73	75	81	74	76
ФС	4	4	3	4	7
ФИ	2	3	1	2	2
ФЕ	4	3	3	3	3
ФГ	12	11	10	13	9
ТФЛ	100	100	100	100	100

Таблица 3. Количествено съотношение между основните фосфолипидни фракции (mg ФЛ / mg протеин; $x \pm Sx$) на алвеоларния сърфактант при плъхове със септичен РДСВ. Статистическа значимост спрямо контролата: * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$

Съотношения между фосфолипидните фракции на АС	Контролни плъхове (n = 10)	Опитни плъхове I група (n = 10)	Опитни плъхове II група (n = 10)	Опитни плъхове III група (n = 10)	Опитни плъхове IV група (n = 10)
ФХ/СМ	15.05 ± 1.66	19.93 ± 1.36**	32.66 ± 1.68**	18.46 ± 1.23**	24.11 ± 1.56**
ФГ/ФИ	6.02 ± 0.87	3.86 ± 0.73*	16.03 ± 0.55**	5.77 ± 0.67*	4.91 ± 0.57**
ФЕ/ФС	1.08 ± 0.23	0.75 ± 0.51*	0.95 ± 0.63*	0.76 ± 0.32	0.40 ± 0.36*

фракции на АС (ФХ/СМ, ФГ/ФИ и ФЕ/ФС) са представени в табл. 3. Резултатите показват статистически значимо повишаване на съотношението ФХ/СМ и понижаване на съотношението ФЕ/ФС при опитните животни от групи E1 и E2. Съотношението ФГ/ФИ се понижава при животните от група E1, но рязко се повишава при тези от E2. Наблюдава се статистически достоверно понижаване на съотношението ФХ/СМ при животните от групи E3 и E4. Съотношението ФГ/ФИ се повишава при животните от група E3, но спада при тези от E4. Съотношението ФЕ/ФС не се променя при E3, но се понижава при E4.

Обсъждане

В изследването установихме динамични промени (на 8-ия и 12-ия час) в биохимичния състав на сърфактантните фосфолипиди при плъховете със септичен РДСВ. Установи се прогресивно намаление на ТФЛ както на 8-ия, така и на 12-ия час за сметка на намаленото количество на СМ, ФХ, ФС, ФЕ и ФГ (на 8-ия и 12-ия час). Успоредно с това се наблюдава повишаване на ФИ на 8-ия час и значително понижаване на ФИ на 12-ия час. Настъпват промени и в процентното разпределение на фосфолипидните фракции на АС, които

са свързани с описаните по-горе биохимични нарушения. Намалява относителният дял на СМ и ФГ (на 8-ия и 12-ия час), ФИ (само на 8-ия час) и на ФС (само на 12-ия час). Беше наблюдавано повишаване на относителния дял на ФХ (на 8-ия и 12-ия час) и ФИ (само на 12-ия час).

Промените в количеството и процентното разпределение на сърфактантните фосфолипиди водят до нарушения и в количественото съотношение на фосфолипидните фракции. ФХ/СМ се повишава, а ФЕ/ФС се понижава като на 8-ия, така и на 12-ия час. ФГ/ФИ се понижава на 8-ия, но рязко се повишава на 12-ия час.

Патогенетичен ключов механизъм за развитие на описаните промени е директното увреждане на сърфактантните фосфолипиди. При РДСВ се наблюдава повишено образуване на токсични метаболити на кислорода (RO-S) и азота (RNS) от белодробните макрофаги (интерстициални и алвеоларни) и неутрофилните сегментоядрени гранулоцити. Образуваните свободни радикали отключват процес на неензимна автопероксидация на полиненаситените мастнокиселинни остатъци на сърфактантните фосфолипиди и бързо разрушаване на сърфактантните фосфолипиди [1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 22, 23].

Ензимното разграждане на сърфактантните фосфолипиди е друг важен механизъм в патогенезата на РДСВ. Фосфолипаза А2 е ключовият липолитичен ензим, който хидролизира фосфолипидните молекули на АС. Образуваните бактериални продукти (LPS и формираните олигопептиди), С5а факторът на комплемента, различни цитокини (IL-1 α и IL-1 β , IL-8, TNF α и др.) активират алвеоларните макрофаги. Това води до повишена секреция на секреторната изоформа на фосфолипаза А2 и повишена активност на вътреклетъчните изоформи на фосфолипаза А2. В резултат на повишената активност на фосфолипаза А2 се засилва процесът на хидролиза (деацилиране) на мастнокиселинните остатъци на позиция SN-2 в молекулите на сърфактантните фосфолипиди [1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 22, 23].

Прилагането на преференциално селективния СОХ-2 инхибитор Nimesulide предизвиква характерни промени в биохимичния състав на сърфактантните фосфолипиди на АС при плъховете със септичен РДСВ (на 8-ия и 12-ия час). Наблюдава се повишаване на ТФЛ, СМ, ФС, ФЕ и ФГ както на 8-ия, така и на 12-ия час. При група ЕЗ ФХ се покачва на 8-ия, но рязко се пони-

жава на 12-ия час. ФС се повишава в динамика с пик на 12-ия час, което може да се разглежда като компенсаторно явление. ФИ намалява както на 8-ия, така и на 12-ия час. Повишаването на ТФЛ се запазва в динамика, като на 8-ия час се дължи предимно на повишените СМ, ФХ, ФС, ФЕ и ФГ, а на 12-ия час ТФЛ са повишени за сметка на СМ, ФС, ФИ и ФЕ.

Под действието на Nimesulide настъпва промяна в процентното разпределение на сърфактантните фосфолипиди. Относителният дял на СМ и ФС не се променя на 8-ия, но се повишава на 12-ия час. Относителният дял на ФЕ не се променя (на 8-ия и 12-ия час). ФИ спада на 8-ия, но се покачва на 12-ия час. ФГ обаче се повишава на 8-ия, но се понижава на 12-ия час.

Предизвикваните от Nimesulide ефекти върху белодробната сърфактантна система водят до промени и в количественото съотношение на фосфолипидните фракции. Настъпва понижаване на ФХ/СМ както на 8-ия, така и на 12-ия час. ФГ/ФИ се повишава на 8-ия, но спада на 12-ия час. ФЕ/ФС не се променя на 8-ия, но се понижава на 12-ия час. Проучваният от нас СОХ-2 инхибитор Nimesulide проявява мощен противовъзпалителен ефект, като инхибира предимно провъзпалителната СОХ-2 (> 70%) и в по-малка степен конститутивната СОХ-1 (< 30%). По този начин Nimesulide инхибира ексцесивния синтез на провъзпалителните медиатори (TxA $_2$, Pgf 2α), образувани по индуцируемия СОХ-2 метаболитен път на арахидоновата киселина. Нимезулидът инхибира началните процеси на вазоконстрикция, вазодилатация, повишен съдов пермеабилитет и тромбоцитна агрегация. В по-малка степен се засягат протективните за редица органи, включително и за белия дроб и въздухоносните пътища, простагландини (Pgl $_2$, Pge $_2$ и Pge $_2$), образувани по индуцируемия СОХ-1 метаболитен път. По този начин Nimesulide косвено регулира тонуса на артериалните съдове на микроциркулацията. Наличието на известна, макар и минимална, СОХ-1 активност на този препарат е от полза в началната терапия на сепсис, септичен шок и РДСВ поради факта, че тромбоцитите имат само СОХ-1.

Нимезулидът блокира действието на редица провъзпалителни и химиотаксични цитокини, включително IL-1 α и IL-1 β , IL-8 и TNF α . Инхибирайки матриксните металопротеинази (ММР), включително интерстициалната колагеназа

(ММР-1), стромелизин (ММР-3), матрилизин (ММР-7), желатиназа В (ММР-9) и макрофагеална еластаза (ММР-12), той протектира извънклетъчния матрикс на интерстициума. Обсъжат се също и други ефекти на Nimesulide, като инхибиране на дегранулацията на базофилните сегментоядрени гранулоцити и мастоцитите и освобождаването на хистамин, инхибиране на експресията и активацията на клетъчни адхезионни молекули в левкоцитите и ендотела, инхибиране на образуването на ROS и RNS и потенциране на действието на ендогенните глюкокортикоиди.

Заклучение

Нашите резултати показват, че Nimesulide е най-ефективен в началния, ексудативен стадий на РДСВ (8-ия час). Ефектите на нимезулид се изразяват в повишаване на ТФЛ, СМ, ФХ, ФС, ФЕ и ФГ. Описаните ефекти се дължат на инхибиране на вазомоторните процеси, повишения съдов пермеабилитет, тромбоцитната агрегация, синтеза на провъзпалителни медиатори и образуването на неутрофилен инфилтрат. Минималната СОХ-1-блокираща активност на нимезулид е от значение поради инхибиране на тромбоцитната агрегация и незначителното намаляване на нивата на протективните простагландини, които са мощни стимулатори на секрецията и синтеза на АС. Ефектът на Nimesulide се запазва на 12-ия час, като се характеризира с компенсаторно повишаване на СМ, ФС, ФИ и ФЕ.

Библиография

1. Драганов, В. и С. Лазаров. Респираторен дистрес синдром при възрастни. – *Вътрешни болести*, **32**, 2000, № 3, 19-28.
2. Драганов, В. и др. Сепсис и септичен шок. – *Обща медицина*, **3**, 2001, № 1, 15-32.
3. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Ролята на бактериалните ендотоксини, техните рецептори и цитокините в патогенезата на септичния (ендотоксинов) шок. – *Българска медицина*, **8**, 2000, №4, 7-14.
4. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Ролята на клетъчните адхезионни молекули и провъзпалителните медиатори в патогенезата на ендотоксиновия респираторен дистрес синдром. – *Вътрешни болести*, **32**, 2000, № 4, 18-24.
5. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Пулмонална репарация след респираторен дистрес синдром при възрастни. – *Вътрешни болести*, **32**, 2000, № 4, 39-44.
6. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Белодробна сърфактантна система. – *Вътрешни болести*, **33**, 2001, № 1, 5-32.
7. Лазаров, С., Р. Николов и Е. Янев. Респираторен дистрес синдром у възрастни - етиология и патогенеза. – *Вътрешни болести*, **33**, 2001, № 2-3, 14-27.
8. Янев, Е. Проучвания върху белодробната сърфактантна система в експерименталната медицина. – *Хабилитационен труд*, С., 1996.
9. Янев, Е. и М. Балуцов. Илюстрирана патологична физиология. С., МИ "Арсо", 2000, 913-928.
10. Шалимов, А. А., В. И. Шапошников, М. Г. Пинчук. Остры перитонит, Киев, 1981, 265-270.
11. Шалимов, С. А., А. П. Радеховский и Л. В. Кейсевич. Руководство по экспериментальной хирургии. Москва, Медицина, 1989.
12. Artigas, A. et al. The American-European Consensus Conference on ARDS, Part 2. Ventilatory, Pharmacologic, Supportive Therapy, Study Design Strategies, and Issues Related to Recovery and remodeling. – *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **157**, 1998, 1332-1347.
13. Bartlett, J. et al. Therapeutic efficacy of 29 antimicrobial regimens in experimental intraabdominal sepsis. – *Rev. Infect. Dis.*, **3**, 1981, 535-542.
14. van Blitterswijk, M. J., R.P. van Hoven et B.M. van der Meer. Lipid structure order parameter (reciprocal of fluidity) in biomembranes derived from steady-state fluoropolarization measurement. – *BBA*, **664**, 1981, 322-333.
15. Folch, J., M. Olees et G. H. Slooane-Stanley. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. – *J. Biol. Chem.*, **226**, 1947, 497-509.
16. Gorbach, S. L. Intestinal microbial. – *Gastroenterol.*, **60**, 1971, 1110-1117.
17. Hudson, L. D. New Therapies for ARDS. – *Chest*, **108**, 1995, №2, 79-87.
18. Mitchell, J. A., T. D. Warner. Cyclo-oxygenase-2: pharmacology, physiology, biochemistry and relevance to NSAID therapy. – *Br. J. Pharmacol.*, **128**, 1999, 1121-1132.
19. Schwartz, S.L. et al. – *Principles of Surgery*. New York, McGraw-Hill, **1999**, 1521-1531.
20. Taylor, M.B. – *Gastrointestinal emergencies*. Baltimore, Williams & Williams, 1992, 713-723.
21. Udobi, K. F., E. Childs, K. Touijer. – *Am Fam Physician*, **67**, 2003, №2, 315-22.
22. Ware, L.B., M.A. Matthay. Acute Respiratory Distress Syndrome. – *New England J. Med.*, **342**, 2000, №18, 1337-1349.
23. Wiedemann, H. P., D.Y. Tai. Adult respiratory distress syndrome (ARDS): current management, future directions. – *Clevel. Clin. J. Med.*, **64**, 1997, №7, 365-373.

✉ Адрес за кореспонденция:

д-р Симеон Лазаров
Катедра по патологична физиология
Медицински Факултет
Медицински университет
ул. "Здраве" №2
1431 София

☎ 0897 751 493

✉ Address for correspondence:

Simeon Lazarov, M.D., Ph.D.
Department of Pathophysiology
Medical Faculty
Medical University
2 "Zdrave street"
1431 Sofia

☎ +359 897 751 493