

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

РОЛЯТА НА НИСКОМОЛЕКУЛНИЯ АНТИОКСИДАНТ N-АСЕТИЛ-L-CYSTEINE ВЪРХУ ФОСФОЛИПИДНИЯ СЪСТАВ НА АЛВЕОЛАРНИЯ СЪРФАКТАНТ ПРИ СЕПТИЧЕН РЕСПИРАТОРЕН ДИСТРЕС-СИНДРОМ, ПРЕДИЗВИКАН ОТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ФЕКАЛЕН ПЕРИТОНИТ

С. Лазаров¹, Р. Николов², Е. Янев¹, А. Момчилова³ и Р. Панков⁴

¹Катедра по патологична физиология, Медицински университет – София

²Катедра по фармакология и токсикология, Медицински университет – София

³Институт по биофизика, БАН

⁴Биологичен факултет при СУ "Св. Климент Охридски"

THE ROLE OF LOW MOLECULAR ANTIOXIDANT N-ACETYL-L-CYSTEINE ON THE PHOSPHOLIPID COMPOSITION OF THE ALVEOLAR SURFACTANT IN SEPTIC RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME CAUSED BY EXPERIMENTAL FECAL PERITONITIS

S. Lazarov¹, R. Nicolov², E. Yanev¹, A. Momtchilova³ and R. Pankov⁴

¹Department of Pathophysiology, Medical Faculty – Sofia

²Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty – Sofia

³Institute of Biophysics, Bulgarian Academy of Sciences

⁴Department of Biology, Sofia University "Sv. Kliment Ohridski"

Резюме: Фекалният перитонит е голям проблем в клиничната практика. Той предизвиква Gram-негативен сепсис, който при 40-45% от хоспитализираните пациенти се усложнява със септичен шок и синдром на мултиорганна недостатъчност, водещи до неизбежен фатален край, който се дължи в над 90% на респираторния дистрес-синдром при възрастни (РДСВ). Той се развива поради необратими увреждания в структурата и функцията на белодробната сърфактантна система и най-вече на алвеоларния сърфактант (АС). Ето защо проведохме проучване върху АС на пълхове с експериментален модел на септичен РДСВ. Въпреки големите подобрения в терапията и поддържащите грижи за болните с РДСВ смъртността е около 50-60% за изминалото десетилетие. Сред най-широко изследваните лекарства за лечение на РДСВ са различните антиоксиданти. В настоящото проучване изследвахме АС на пълхове с експериментален модел на септичен РДСВ, третиран с нискомолекулни неензимни антиоксидант *N-acetyl-L-cysteine*. Изследвахме общото количество и процентното съотношение на сърфактантните фосфолипиди и количественото съотношение между основните фосфолипидни фракции в АС. Установихме статистически достоверни благоприятни промени в изследваните показатели на третираните с *N-acetyl-L-cysteine* животни.

Ключови думи: остър фекален перитонит, сепсис, септичен шок, респираторен дистрес-синдром, алвеоларен сърфактант, сърфактантни фосфолипиди, липидни трансферни протеини, *N-acetyl-L-cysteine*

Адрес за кореспонденция: Д-р Симеон Лазаров, Катедра по патологична физиология, Медицински факултет, МУ – София, Група по белодробна патология и сърфактантология, бул. "Св. Георги Софийски" 1, 1341 София, GSM: 0897 75 14 93

Summary: The acute fecal (bacterial) peritonitis represents a major problem in the clinical practice. It causes Gram-negative sepsis, resulting in septic shock and multiple organ dysfunction syndrome leading to death in 40-45% of hospitalized patients. It is due to the respiratory distress syndrome in adults (ARDS) in over 90% of the patients. It is developed because of irreversible structural and functional injuries in the lung surfactant system and meanly in the alveolar surfactant (AS). Despite of serious improvements in both the therapy and the intensive care for patients with ARDS, the mortality is about 50-60% for the last ten years. Different antioxidants are between the most studied drugs for the treatment of ARDS. In the present study, we investigated the AS of

rats in experimental model of sepsis ARDS, treated by a low molecular non-enzyme antioxidant N-acetyl-L-cysteine. We studied the total quantity and the percent ratio of the surfactant phospholipids and the quantity ratio between the main phospholipid fractions in the AS. We found statistically significant favorable changes in the studied indicators of the treated with N-acetyl-L-cysteine.

Key words: acute fecal peritonitis, sepsis, septic shock syndrome, adult respiratory distress syndrome, alveolar surfactant, surfactant phospholipids, lipid transfer proteins, N-acetyl-L-cysteine

Address for correspondence: Simeon Lazarov, MD, Department of Pathophysiology, Group of Lung Pathology and Surfactants, Medical Faculty, Medical University – Sofia, 1 Sv. G. Sofiyski str., Bg-1431 Sofia, GSM: 0897 75 14 93

УВОД

Острият фекален перитонит в резултат на вътрекоремни инфекции е един от основните проблеми на спешната коремна хирургия. При около 20% от случаите той се причинява от патологични процеси на дебелото черво (дивертикулит, хроничен улцерохеморагичен колит, цекален и колонен вътрелуменен карцином, инкарцерирана херния, волвулус и др.) с последваща перфорация. Най-честите бактериални причинители при септичен перитонит са Грам-негативни (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter*), анаеробни (*Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Clostridium* spp.) и Грам-позитивни (*Enterococci*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.) [13, 17, 23, 24].

Неизбежно усложнение на острия фекален перитонит е Грам-негативният сепсис. Той засяга повече от 1% от хоспитализираните в хирургичните отделения пациенти. При 40-45% от болните Грам-негативният сепсис се усложнява със септичен шок и със синдром на многоорганна недостатъчност (СМН). Те се характеризират с тежки и необратими патологични промени в органите и тъканите, резистентност към терапия и висока смъртност. За това основна роля играе респираторният дистрес-синдром при възрастни (РДСВ). Той се характеризира с тежки нарушения в дихателните функции (вентилация, перфузия, газова обмяна и дихателна механика). Всичко това води до възникване на остра дихателна недостатъчност (ОДН), която най-често е с фатален край [1, 2, 3, 9, 13, 17, 23, 24].

РДСВ е широко разпространен клиничен синдром на остра дихателна недостатъчност (средно около 100 000-200 000 случая в САЩ и средно около 3-4/100 хил. в Европа). Той възниква вследствие на тежки дифузни белодробни лезии с различна етиология и патогенеза при пациенти с първично неувредени бели дробове. Често пъти РДСВ е асоцииран с подчертано катастрофална вътрешна или хирургична патология и мултиорганни увреждания. Всеобщото мнение сега е, че РДСВ представлява най-тежката форма на остро белодробно увреждане (ОБУ). То може да се дефинира като “динамич-

на промяна в структурата на алвеолите, водеща до увреждане обмяната на газовете” [1, 2, 8, 9, 25, 26].

Патогенезата на РДСВ е възпалителна и протича в три стадия: ексудативен стадий, стадий на увреждане на алвеоло-капилярната стена и белодробната сърфактантна система и пролиферативен (хроничен) стадий. Ключово звено в патогенезата на РДСВ е увреждането на структурата и функцията на белодробната сърфактантна система (БСС) – пневмоцити тип I и II, осмиефилни ламеларни телца, тубуларен миелин, миелинови фигури и алвеоларен сърфактант (АС) [1, 2, 8, 9, 25, 26].

Въпреки големите подобрения в терапията и поддържащите грижи за болните с РДСВ смъртността е около 50-60% за изминалото десетилетие. Около 15-20% от смъртните случаи произтичат от неуправляеми трудно излечими белодробни увреждания. Почти всички смъртни случаи настъпват в рамките на 30 дни след началото на РДСВ [1, 9, 12, 16, 20, 22].

Терапията на РДСВ е комплексна и включва: 1. Класическа радикална терапия; 2. Класическа поддържаща терапия; 3. Терапия за пълно прекъсване на механизмите на възпаление и ОБУ; и 4. Терапия за възстановяване към нормата на увредените физиологични функции на белите дробове. Все още не е открит “вълшебният курсум” за лечение на сепсис, септичен шок и РДСВ. Поради това проучванията, свързани с нови медикаменти за лечение на сепсиса, септичния шок и РДСВ, са от важно значение за клиничната практика [1, 9, 12, 16, 20, 22].

При експерименталните и клиничните проучвания са осъществявани различни подходи за елиминиране или намаляване на токсичните ефекти на високореактивните метаболити на кислорода (ROS) {водороден прекис (H_2O_2), супероксиден анион-радикал (O_2^{\ominus}), хидроксилен радикал (HO^\ominus), пероксиден радикал (ROO^\ominus), хидропероксид ($ROOH$)} при ОБУ и РДСВ. Фармакологичната стратегия за повишаване на белодробната антиоксидантна защита включва повишаване на запасите от антиоксидантни ензими (супероксиддизмутаза и каталаза), уве-

личаване на запаса от глутатион (N-acetyl-L-cysteine, глутатион и др.) и прибавяне на нискомолекулни "прихващачи" (вит. Е, вит. С, Ambroxol и др.) [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

N-acetyl-L-cysteine (NAC) е полусинтетичен препарат, синтезиран през 1970 г. Той е N-ацетилов дериват на L-цистеина, който притежава една редуцирана сулфхидрилна група и има потенциална способност да реагира с оксидантите. Въведен в човешкия организъм, NAC функционира като предшественик на клетъчния глутатион (GSH) и изглежда, че той е обещаващ и достъпен за повишаване на антиоксидантната защита на белите дробове. Прилагането на съединения, които имат свойствата на GSH предшественици, предизвиква дълготрайно увеличаване (дни) на интрацелуларните нива на GSH. В този контекст NAC е проучван като източник на глутатион, който действа като "прихващач" на свободни радикали. Той събира директно H_2O_2 и реагира с HO^{\bullet} и $HOCl$, освен това подпомага глутатионовата система, която е една от натуралните телесни антиоксидантни защити. NAC подобрява белодробния васкуларен отговор, инхибира повишения белодробен микроваскуларен пермеабилитет и интраваскуларната коагулация. Днес той се използва в клиничната практика главно като муколитичен препарат при болни с остър и хроничен бронхит, ХОББ, като антидот при предозиране на парацетамол и др. NAC намалява вискозитета на храчките чрез понижаване на секрецията от бронхиалните жлези и инхибиране на реабсорбцията на $NaCl$ от мукозните епителни клетки на въздухоносните пътища [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

При преглед на световната литература не открихме експериментални и клинични проучвания върху биохимичните и биофизичните параметри на АС при остър фекален перитонит и септичен РДСВ, третирани с NAC.

Целта на настоящата работа е да проучим в динамика промените във фосфолипидните фракции (сфингомиелин – СМ, фосфатидилхолин – ФХ, фосфатидилсерин – ФС, фосфатидилинозитол – ФИ, фосфатидилетаноламин – ФЕ, и фосфатидилглицерол) и тоталните фосфолипиди (ТФЛ) на АС при експериментален фекален перитонит, септичен шок и РДСВ, както и експерименталното им лечение с NAC при плъхове. Използването на тези молекулни маркери, а не параклинични показатели, би ни дало несравнимо по-голяма и по-точна информация за ефекта от едно такова лечение.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Експерименталните проучвания проведехме върху 50 мъжки бели плъха от порода Wistar с тегло 180 ± 25 g. Подборът на пола се базира на факта, че при мъжките плъхове липсват циклични промени в серумните концентрации на половите стероиди, като освен това тестостеронът не влияе върху синтеза, секрецията и деградацията на АС. Върху изброените биохимични процеси не оказва влияние използваният от нас препарат за обща анестезия Nembutal. При извършване на експерименталната работа стриктно бяха спазвани правилата на International Guiding Principles for Animal Research.

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 N-acetyl-L-cysteine (ACC[®]) и изследвани на 8-ия час) и IV експериментална (E4) (10 плъха, третирани с N-acetyl-L-cysteine (ACC[®]) и изследвани на 12-ия час).

Животните от експерименталните групи E3 и E4 бяха третирани с N-acetyl-L-cysteine (ACC[®]) – Hexal AG.

В експерименталната медицина за моделиране на сепсис и септичен шок се използват различни животински модели на остър фекален перитонит [8, 10, 11, 13, 17, 23, 24]. При модела, описан от Шалимов и сътр. (1989), той се моделира чрез цекална лезия [8, 10, 11]. При друг модел острият фекален перитонит се моделира чрез имплантиране в перитонеума на желатинова капсула с фекално съдържимо [13, 17, 23, 24]. Всички тези модели се основават на факта, че нормалната флора (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter*, *Bacterioides fragilis*, *Fusobacterium*, *Clostridium* spp., *Enterococci*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.) на дебелочревното съдържимо на различни лабораторни животни (напр. плъхове) се среща и в дебелочревното съдържимо на човека [13, 17, 23, 24]. Нашият модел на остър експериментален фекален перитонит е много сходен с описания от Шалимов и сътр. (1989) [8, 10, 11]. Вместо цекална лезия обаче ние извършваме лезия на *colon descendens*. Този модел е максимално сходен с човешката патология [13, 17, 23, 24], поради което е най-подходящ за експериментално моделиране на сепсис, септичен шок и септичен РДСВ.

Животните бяха оставени на глад, само с достъп до вода, 18 часа преди оперативната интервенция. Плъховете фиксирахме по гръб върху операционната маса. След обща анестезия с Nembutal 30 mg/kg т.м. на опитните животни (40 на брой) беше извършена долна средина лапаротомия с големина на разреза 2-2.5 cm [8, 10, 11]. След отварянето на коремната кухина и откриването на колон десценденс се извърши колонна лезия с размер 1-1.5 cm. Оперативната интервенция приключи с последващо послойно възстановяване на коремната стена. На контролните животни (10 на брой) се направи т.нар. "лъжлива лапаротомия" – разрез с последващо послойно възстановяване на коремната стена без колонна лезия. Животните бяха отвързани и оставени свободни [8, 10, 11].

Животните от експерименталните групи Е3 и Е4 бяха третирани с N-acetyl-L-cysteine (ACC®) двукратно (съответно на 4-тия и 8-ия час след хирургичната интервенция) в доза по 200 mg/kg телесна маса интраперитонеално.

На 8-ия и 12-ия час след обща анестезия с Nembutal 30 mg/kg т.м. животните от контролните и експерименталните групи бяха трахеотомирани. В трахеята им се фиксира пластмасова канюла. През нея беше извършен бронхоалвеоларен лаваж (БАЛ) с леден физиологичен серум четирикратно по 5 ml. Лаважната течност (БАЛТ) събирахме в предварително силиконизирани стъклени съдове за избягване полепването на БАЛТ компонентите към техните стени. Подложихме БАЛТ на съответното биохимично изследване. Плъховете бяха ев-

таназирани в камера с въглероден оксид съгласно етичните норми за работа с експериментални животни.

Екстрахирахме липидите по метода на Folch и сътр. [15]. Количественото определяне на сурфактантните фосфолипиди се извърши по метода 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). Резултатите обработихме статистически, като използвахме t-критерия на Student.

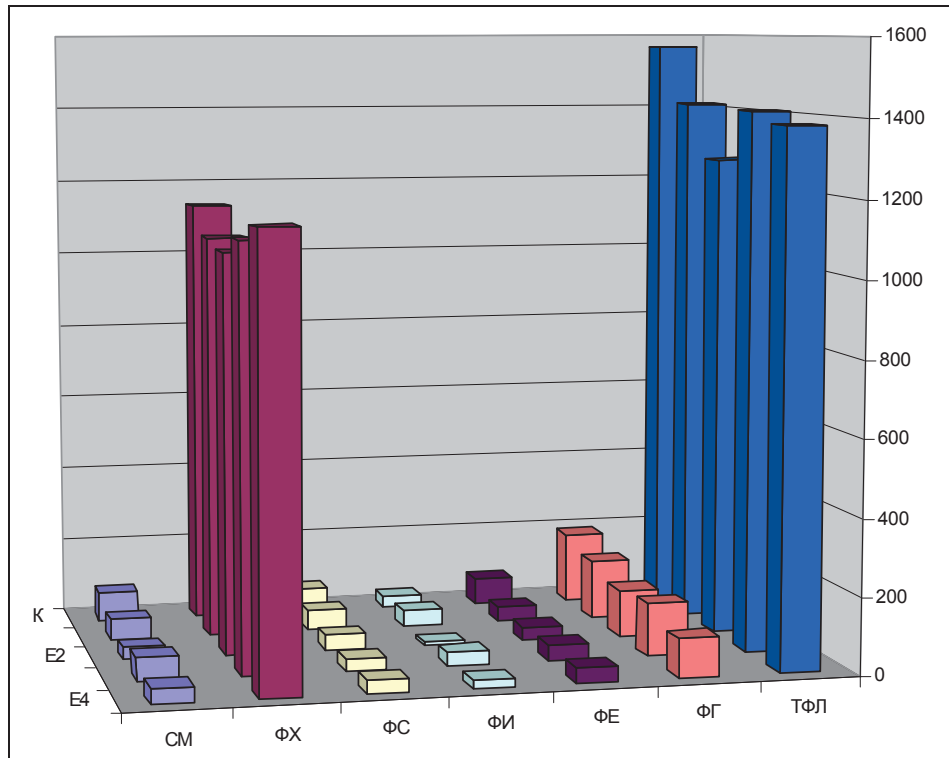
РЕЗУЛТАТИ

Всички изследвани биохимични параметри на контролните животни от I и II група показаха изключително сходни резултати. Поради това 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 на табл. 1 и фиг. 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 животни от групи Е3 и Е4 се наблюдава статистически значимо повишаване на ТФЛ, СМ, ФХ и ФЕ. ФС и ФГ спадат прогресивно при Е3 и Е4. При група Е3 се наблюдава спадане на ФИ, но при група Е4 той рязко се повишава.

Таблица 1. Фосфолипиден състав на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine (NAC) (μg ФЛ/ mg протеин; $\bar{x} \pm Sx$). Статистическа значимост: * $p < 0.01$; ** $p < .001$

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 \pm 1.20	53.58 \pm 1.40**	32.16 \pm 1.15**	59.46 \pm 1.22*	40.36 \pm 1.20**
ФХ	1137.60 \pm 20.00	1068.10 \pm 18.50*	1050.40 \pm 19.20*	1100.60 \pm 17.10**	1149.68 \pm 19.27**
ФС	65.20 \pm 0.90	52.80 \pm 1.30	38.98 \pm 0.52**	31.63 \pm 1.20*	32.70 \pm 1.30*
ФИ	31.15 \pm 0.80	41.00 \pm 0.95*	7.80 \pm 0.40**	35.20 \pm 0.30*	20.53 \pm 0.22**
ФЕ	70.24 \pm 2.20	39.85 \pm 1.29*	37.17 \pm 1.90**	41.76 \pm 2.24	39.60 \pm 1.33
ФГ	187.42 \pm 0.70	158.40 \pm 0.70**	125.02 \pm 2.20**	140.23 \pm 0.26*	100.30 \pm 1.63*
ТФЛ	1567.21 \pm 25.80	1413.73 \pm 24.33**	1274.53 \pm 26.22**	1408.88 \pm 22.32	1383.17 \pm 24.95*



Фиг. 1. Фосфолипиден състав на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант *N-acetyl-L-cysteine* (NAC) (mg ФЛ/mg протеин)

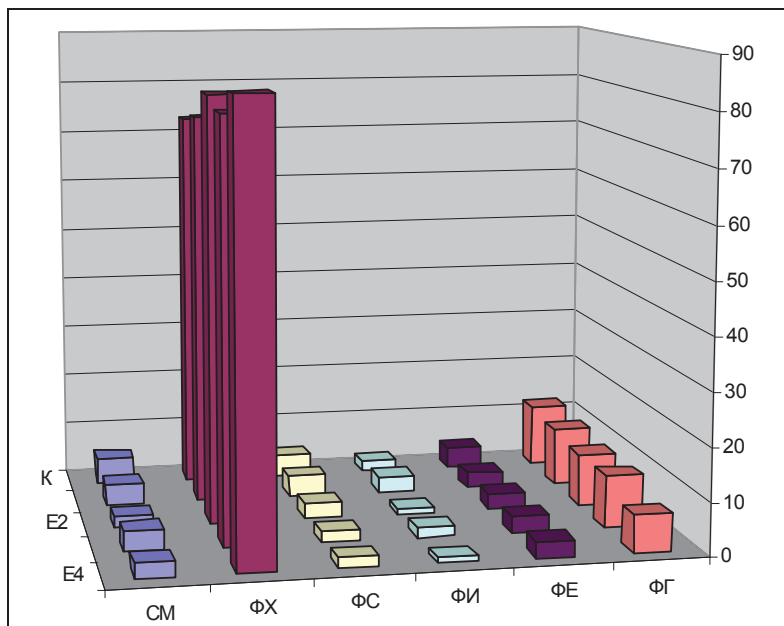
Получените резултати от изследването на процентното разпределение на фосфолипидните фракции на АС са представени на табл. 2 и фиг. 2. Резултатите показват понижаване на СМ и ФГ и повишаване на ФХ при опитните животни от групи Е1 и Е2. ФС не се променя при Е1, но се понижава при Е2. ФИ се повишава при Е1, но спада при Е2. При животни от групи Е3 и Е4 се наблюдава понижаване на ФХ. СМ не се променя при Е3, но се повишава при Е4. ФС и ФГ спадат прогресивно при Е3 и Е4. ФИ се понижава при Е3, но остава непроменен при Е4.

Получените резултати от изследване на количественото съотношение на фосфолипидните

фракции на АС (ФХ/СМ, ФГ/ФИ и ФЕ/ФС) са представени на табл. 3 и фиг. 3. Резултатите показват статистически значимо повишаване на съотношението ФХ/СМ и понижаване на съотношението ФЕ/ФС при опитните животни от групи Е1 и Е2. Съотношението ФГ/ФИ се понижава при животните от група Е1, но рязко се повишава при тези от Е2. Наблюдава се статистически достоверно понижаване на съотношението ФХ/СМ при животните от групи Е3 и Е4. Съотношението ФГ/ФИ се задържа почти непроменено при Е3, но рязко спада при тези от Е4. И накрая съотношението ФЕ/ФС се повишава както при Е3, така и при Е4.

Таблица 2. Фосфолипиден състав на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант *N-acetyl-L-cysteine* (NAC) (процентно разпределение)

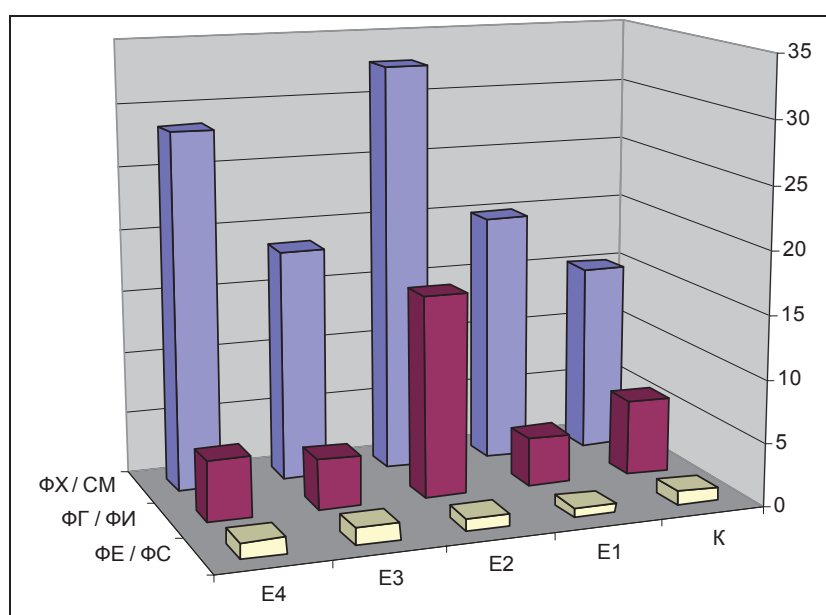
Фосфолипидни фракции на АС	Контролни плъхове (n = 10)	Опитни плъхове I група (n = 10)	Опитни плъхове II група (n = 10)	Опитни плъхове III група (n = 10)	Опитни плъхове IV група (n = 10)
СМ	5	4	2	4	3
ФХ	73	75	81	79	84
ФС	4	4	3	2	2
ФИ	2	3	1	2	1
ФЕ	4	3	3	3	3
ФГ	12	11	10	10	7
ТФЛ	100	100	100	100	100



Фиг. 2. Фосфолипиден състав на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine (NAC) (процентно разпределение)

Таблица 3. Количествено съотношение между основните фосфолипидни фракции на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine (NAC) (μg ФЛ/ mg протеин; $\bar{x} \pm S_x$). Статистическа значимост: * $p < 0.01$; ** $p < 0.001$

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 \pm 1.66	19.93 \pm 1.36**	32.66 \pm 1.68**	18.51 \pm 1.26	28.48 \pm 1.43*
ФГ/ФИ	6.02 \pm 0.87	3.86 \pm 0.73*	16.03 \pm 0.55**	3.98 \pm 0.61	4.88 \pm 0.48**
ФЕ/ФС	1.08 \pm 0.23	0.75 \pm 0.51*	0.95 \pm 0.63*	1.32 \pm 0.30**	1.21 \pm 0.31*



Фиг. 3. Количествено съотношение между основните фосфолипидни фракции на АС на плъхове със септичен РДСВ, третирани с полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine (NAC) (mg ФЛ/ mg протеин)

ОБСЪЖДАНЕ

В биохимичния състав на сърфактантните фосфолипиди на АС при плъховете със септичен РДСВ настъпват динамични промени (на 8-ия и 12-ия час). Наблюдава се прогресивно намаление на ТФЛ както на 8-ия, така и на 12-ия час. Това е за сметка на намаленото количество на понижение на СМ, ФХ, ФС, ФЕ и ФГ (на 8-ия и 12-ия час). Успоредно с това настъпва повишаване на ФИ на 8-ия час. Това може да се тълкува като бърз начален компенсаторен феномен. Драстичното понижаване на ФИ на 12-ия час е проява на декомпенсация. Настъпват промени и в процентното разпределение на фосфолипидните фракции на АС, които несъмнено 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). Успоредно на тези нарушения настъпва 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 както на 8-ия, така и на 12-ия час. ФГ/ФИ се понижава на 8-ия, но рязко се повишава на 12-ия час.

Патогенетичните механизми, по които настъпват промените в количеството и процентното разпределение на сърфактантните фосфолипиди, както и на количественото съотношение на фосфолипидните фракции, при септичен РДСВ са комплексни. Ключов механизъм е директното увреждане на сърфактантните фосфолипиди. При РДСВ се наблюдава повишено образуване на токсични метаболити на кислорода (ROS) и азота (RNS) от белодробните макрофаги (интерстициални и алвеоларни) и най-вече от неутрофилните сегментоядрени гранулоцити. Така в интерстициума и най-вече в алвеолите на белите дробове настъпва т.нар. "респираторен взрив". Той отключва верижен процес на неензимна автопероксидация на полиненаситените мастнокиселинни остатъци на сърфактантните фосфолипиди. Веднъж започнал, този процес притежава свойството да се самоподдържа – т.е. спазва законите на верижното автоокисление. Така настъпва бързо разрушаване на сърфактантните фосфолипиди [1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 16, 25, 26].

Нахлулите в голямо количество в алвеолите плазмени протеини (фибрин-мономер, фибриноген, албумини и хемоглобин) предизвикват декомпозация, инактивиране и неутрализиране на

сърфактантния фосфолипиден монослой. В началото този процес е много силно изразен, но намалява с течение на времето. По-късно сърфактантните фосфолипиди, ламеларните телца, тубуларният миелин и миелиновите фигури се инкорпорират в образуваните хиалинни мембрани (полимеризирани конгломерати от фибрин и други плазмени протеини), които изпълват колабиралите алвеоли и респираторните бронхиоли, и това вероятно е друг основен механизъм за инактивация на АС и развитие на РДСВ [1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 16, 25, 26].

Пониженото количество на ТФЛ не се дължи на драстично инхибиран транспорт (мерокринна екзоцитоза) на белодробен сърфактант (осмиефилни ламеларни телца) от пневмоцитите тип II. То се дължи на повишената деградация поради липидна автопероксидация и повишената активност на PL-A2. Ензимното разграждане на сърфактантните фосфолипиди е друг важен механизъм в патогенезата на РДСВ. PL-A2 е ключовият липолитичен ензим, който хидролизира фосфолипидните молекули на АС. Образуваните бактериални продукти – LPS и формираните олигопептиди (fMLP), С5а факторът на комплемента, редица 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 PL-A2 (сPL-A2) и повишена активност на вътреклетъчните изоформи на PL-A2. В резултат на повишената активност на PL-A2 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, 16, 25, 26].

Прилагането на синтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine води до 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, ФХ и ФЕ както на 8-ия, така и на 12-ия час. Количеството на ФХ при Е3 и Е4 дори е съпоставимо с контролните стойности. ФС и ФГ се задържат трайно ниски (на 8-ия и 12-ия час). ФИ се покачва компенсаторно на 12-ия час. Повишаването на ТФЛ се запазва на едно добро ниво в динамика. През 8-ия час то се дължи предимно на повишените СМ, ФХ и ФЕ. През 12-ия час ТФЛ са повишени за сметка на СМ, ФХ, ФИ и ФЕ.

Ефектът на N-acetyl-L-cysteine (ACC[®]) върху абсолютното количество на сърфактантните фосфолипиди рефлектира върху процентното им разпределение. Относителният дял на СМ не

се променя на 8-ия, но се повишава на 12-ия час. ФХ се повишава в динамика на 8-ия и 12-ия час. Точно обратното се случва с ФС. ФИ спада на 8-ия, но се задържа непроменен на 12-ия час. Относителният дял на ФЕ не се променя (на 8-ия и 12-ия час). Този на ФГ обаче се понижава рязко в динамика (на 8-ия и 12-ия час) [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

Благоприятните промени в количеството и процентното разпределение на сурфактантните фосфолипиди под действието на N-acetyl-L-cysteine водят до промени и в количественото съотношение на фосфолипидните фракции. Настъпва понижаване на ФХ/СМ в динамика на 8-ия и на 12-ия час. ФГ/ФИ се запазва почти непроменено на 8-ия, но спада почти 4 пъти на 12-ия час. ФЕ/ФС се повишава както на 8-ия, така и на 12-ия час [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

N-acetyl-L-cysteine е активен модулатор на съдовия отговор към различни медиатори. Той намалява значително количествата на различни ейкозаноиди в белодробната тъкан и БАЛТ, включително 6-кето-простагландин F1 α (P g F1 α), тромбоксан В2 (ТхВ2) и левкотриен В4 (LT-В4). По този начин НАС намалява вазомоторните нарушения и образуването на интерстициален и алвеоларен оток. Така той предпазва компонентите на АС от токсичното действие на плазмените протеини [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

N-acetyl-L-cysteine е мощен негативен модулатор на функцията на фагоцитите (сегментоядрени гранулоцити, моноцити и макрофаги). Той инхибира спонтанната им миграция, хемотаксиса и секрецията на възпалителни медиатори, включително на тумор-некротизиращ фактор-алфа (TNF α), интерлевкин-1 алфа и бета (IL-1 α и IL-1 β) и интерлевкин-8 (IL-8). Освен това НАС инхибира дегранулацията и секрецията на лизозомни ензими и катионни протеини от левкоцитите [1, 2, 9, 12, 16, 18, 19, 20, 21, 22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Както показват нашите резултати, използването на полусинтетичния нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine във фармакотерапията на РДСВ е потенциално перспективно. Неговите ефекти се запазват както в началото, така и в по-късните етапи от патогенезата на РДСВ. Той повишава ТФЛ, СМ, ФХ, ФЕ и ФИ. Това се дължи на неговата многофакторна противовъзпалителна активност. От друга страна, НАС може да се използва и в по-високи дози от обичайните поради неговата безопасност и бързото му метаболизиране до различни нетоксични продукти.

От всичко, казано дотук, става ясно, че полусинтетичният нискомолекулен антиоксидант N-acetyl-L-cysteine е високоактивен, потенциално перспективен препарат за лечение на РДСВ. Във всички случаи той трябва да бъде използван не за монотерапия, а в комбинация с други противовъзпалителни лекарства (други антиоксиданти, глюкокортикоиди, антицитокени и др.).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Драганов, В. и С. Лазаров. Респираторен дистрес синдром при възрастни. – Вџтр. Бол., **32**, 2000, № 3, 19-28.
2. Драганов, В., С. Лазаров, М. Балуцов и Р. Николов. Сепсис и септичен шок. – Обща Мед., **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. – Бџл. Мед., **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. – Вџтр. Бол., **32**, 2000, № 4, 18-24.
5. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Пулмонална репарация след респираторен дистрес-синдром при възрастни. – Вџтр. Бол., **32**, 2000, № 4, 39-44.
6. Лазаров, С., М. Балуцов и Е. Янев. Белодробна сурфактантна система. – Вџтр. Бол., **33**, 2001, № 1, 5-32.
7. Лазаров, С., Р. Николов и Е. Янев. Респираторен дистрес синдром у възрастни – етиология и патогенеза. – Вџтр. Бол., **33**, 2001, № 2-3, 14-27.
8. Янев, Е. Проучвания върху белодробната сурфактантна система в експерименталната медицина. (Дисертация). С., 1996.
9. Янев, Е. и М. Балуцов. Илюстрирана патологична физиология. София, МИ Арсо, 2000, 913-928.
10. Шалимов, А. А., В. И. Шапошников и М. Г. Пинчук. Острый перитонит. Киев, 1981, 265-270.
11. Шалимов С. А., А. П. Радедоховский 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. G. 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 Hooft et B. M. Van der Meer. Lipid structure order parameter (reciprocal of fluidity) in biomembranes derived from steady-state fluoropolarization measurement. – B.B.A., **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. Goode, H. F. et N. R. Webster. Free radicals and antioxidants in sepsis. – Crit. Care Med., **21**, 1993, № 11, 1770-1776.

17. Gorbach, S. L. Intestinal microbial. – Gastroenterology, **60**, 1971, 1110-1117.
18. Gillissen, A. et D. Nowak. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol on antioxidant therapy. – Respir. Med., **92**, 1998, 609-623.
19. Gillissen, A. et al. Nacystelyn, a novel lysine salt of N-acetylcysteine, to augment cellular antioxidant defence in vitro. – Respir. Med., **91**, 1997, 159-168.
20. Hudson, L. D. New Therapies for ARDS. – Chest, **108**, 1995, № 2, 79-87.
21. Matsumoto, K., S. et al. N-acetylcysteine inhibits IL-1 α -induced IL-8 secretion by bronchial cells. – Respir. Med., **92**, 1998, 512-515.
22. Said, S. I. et H. D. Foda. Pharmacologic modulation of lung Injury. – Am. Rev. Respir. Dis., **139**, 1989, 1553-1564.
23. Schwartz, S. L. et al. Principles of Surgery. New York, McGraw-Hill, 1999, 1521-1525.
24. Taylor, M. B. Gastrointestinal Emergencies. Baltimore, Williams & Willkins, 1992, 713-723.
25. Ware, L. B. et M. A. Matthay. Acute respiratory distress syndrome. – N. Engl. J. Med., **342**, 2000, № 18, 1337-1349.
26. Wiedemann, H. P. et D. Y. Tai. Adult respiratory distress syndrome (ARDS): current management, future directions. – Clevel. Clin. J. Med., **64**, 1997, № 7, 365-373.

Постъпила – 20 януари 2010 г.



Хронични заразни заболявания

под ред. проф. П. Георгиев, дмн, С., 2010, 302 с.

Написаният от авторския колектив трактат се основава върху незавършена инфектологична теория, която прави опит да обясни механизмите, по които се формират хроничните инфекциозни болести и някои дълго персистиращи инфекции. В анализа на тези механизми убедително се налага една съвременна клинично-епидемиологична класификация, представена в монографията. Авторите излагат съвременните схващания за хроничната инфекция, реактивацията на латентната инфекция, персистиращата и бавните инфекции. Те анализират организацията на борбата срещу хроничните инфекции, изследователската дейност, нормативната база, интеграцията между клиничните науки и инфектологията, както и университетското и следдипломното обучение по проблемите на хроничните заразни заболявания.