

Эффективность свободных и клеточных форм аминогликозидов и фторхинолонов при экспериментальном пиелонефрите

Г.В. Сипливый, Л.Е. Сипливая, А.В. Кукурека

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра урологии, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии

Сведения об авторах:

Сипливый Г. В. – д.м.н., профессор кафедры урологии Курского государственного медицинского университета.

Sipliviy G.V. – MD, PhD, professor, cathedra of Urology of the Kursk State Medical University.

Сипливая Л. Е. – д.б.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета

Siplivaya L.E. – PhD, Professor, Head of the the cathedra of pharmaceutical, toxicological and analytical chemistry of the Kursk State Medical University

Кукурека А.В. – к.м.н., доцент кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета

Kukureka A.V. – PhD, associate professor of cathedra of pharmaceutical, toxicological and analytical chemistry of the Kursk State Medical University

При инфекционной патологии и, в частности, при не-обструктивном гематогенном пиелонефрите широко используются химиотерапевтические препараты, обладающие мощным бактериостатическим и бактерицидным действием и достаточно широким антимикробным действием [1, 2]. Клинические наблюдения последних десятилетий свидетельствуют о значительном снижении эффективности антибиотиков [3]. Снижение токсичности и повышение эффективности химиотерапевтических препаратов возможно обусловлено селективным действием фармакологических средств на определенные клетки и органы [4]. Направленный транспорт лекарственных средств в охваченную патологическим процессом зону позволяет, наряду с созданием в ней высоких концентраций вводимого препарата максимально, уменьшить нежелательные реакции организма на медикаментозное воздействие, снизить терапевтическую дозу препарата и кратность введения [5].

Для достижения поставленной цели применяют микроконтейнеры, в качестве которых могут выступать

липосомы, капсулы из человеческого альбумина, магнитные микросферы или аутоклетки крови [6]. Однако большинство известных носителей имеют ограничения по диапазону и количеству лекарств, которые они могут связывать, а также обладают токсичностью и иммуногенностью. Наиболее выгодным с точки зрения биологической совместимости считаются системы доставки, в которых используются собственные клетки организма. Реализация идеи направленного транспорта лекарств идет по линии использования эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов в качестве контейнеров для доставки лекарственных средств [7, 8, 9].

Цель работы – сравнительная оценка эффективности свободных и клеточных (эритроцитарных и лейкоцитарных) форм аминогликозидов и фторхинолонов при экспериментальном пиелонефрите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на крысах Вистар массой 180-200 г. Все животные содержались в одинаковых условиях на обычном пищевом

режиме. Для получения статистически достоверных результатов группы формировали из 9 животных. В контрольные и опытные группы входили животные одного возраста. Разброс в группах по исходной массе не превышал $\pm 10\%$. Все исследования проводили в одно и то же время суток с 8.00 до 12.00 с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986).

Токсическое поражение почек, осложненное инфицированием (пиелонефрит), моделировали путем однократного внутрижелудочного введения ртути дихлорида в дозе 2 мг/кг и внутрибрюшинной инъекции предварительно оттитрованных доз суточной агаровой культуры *Staphylococcus aureus*, содержащих 1×10^8 микробных тел в 0,5 мл раствора. О состоянии выделительной функции почек судили по концентрации мочевины и креатинина в крови [10]. Активность ферментов в почках и количество клеток крови оценивали по методике В.В. Меньшикова [10]. В ходе приготовления гистологических препаратов использова-

лась окраска гематоксилином и эозином, при этом цитоплазма клеток окрашивалась в розовый цвет, ядра – в фиолетовый.

Для включения аминогликозидов или фторхинолонов в строму эритроцитов использовали метод гипоосмотического гемолиза, позволяющий ввести максимально возможное количество препаратов [11, 12]. Для получения аллогенных эритроцитов использовали 3 мл крови. После оседания эритроцитов удаляли плазму вместе с лейкоцитарной пленкой. Эритроциты крыс, выделенные из 3 мл крови, дважды отмывали изотоническим раствором натрия хлорида путем центрифугирования при 500 g в течение 5 мин. при 4°C. К осадку эритроцитов добавляли семикратный объем охлажденной до 0°C воды очищенной и центрифугировали при 1500 g в течение 25 мин. К полученной строме приливали пятикратный объем аминогликозида или фторхинолона, растворенного в охлажденной до 5°C очищенной воде. Концентрация препарата в инкубационной среде соответствовала их разовым дозам в пересчете на крысу. Взвесь инкубировали в течение 20 мин. при 4°C, затем добавляли 1/10 объема 10% натрия хлорида для восстановления целостности стромы и инкубировали в течение 30 мин. при 37°C. После включения препаратов в стромальные сферы последние дважды отмывали изотоническим раствором натрия хлорида, затем осаждали при 1500 g в течение 10 мин. (эритроцитарная форма).

Для получения суспензии лейкоцитов гепаринизированную кровь (25 ЕД/мл крови) смешивали с 3% желатином (0,1 мг/мл) и выдерживали 15-20 мин. при 37°C. После оседания эритроцитов слой плазмы, обогащенный лейкоцитами, перенесли в силиконизированные пробирки. Клетки осаждали центрифугированием

в течение 10 мин. при 1500 g. Количество клеток подсчитывали под микроскопом в камере Горяева. Для включения антибиотиков или фторхинолонов в лейкоцитарный носители (ЛН) использовали методику С.В. Лохвицкого [7]. В соответствии с методикой лейкоциты после выделения инкубировали с аминогликозидами или фторхинолонами в разовой дозе в течение 20 мин. при комнатной температуре и периодическом встряхивании (лейкоцитарная форма). Для повышения связывания антибиотиков или фторхинолонов лейкоцитами в инкубационную среду добавляли 0,5 мл 1% раствора АТФ [7].

Определение аминогликозидов в биоматериале проводили спектрофотометрической методикой [13]. Для определения фторхинолонов также была использована спектрофотометрическая методика [14].

В работе использовались: амикацин – раствор для инъекций, ампулы (500 мг – 2 мл), Болгария, Pharmachin Holding EAD Spharma; гентамицин – раствор для инъекций, ампулы (80 мг – 2 мл), Индия, Agio Pharmaceuticals Ltd; офлоксацин (офло) – раствор для инфузий 0,2% (200 мг – 100 мл), флаконы, Индия, Unique Pharmaceutical Laboratories; ципрофлоксацин 1% раствор в ампулах по 10 мл или раствор для инъекций 0,2% (200 мг – 100 мл), флаконы, Индия, Wockhardt Ltd.

Препараты и их клеточные формы вводили внутривенно, при этом использовали аллогенный перенос клеток. Используемые дозы препаратов соответствовали рекомендованным терапевтическим дозам, пересчитанным с учетом соотношения поверхности тела биологического объекта и его массы по общепринятой формуле межвидового переноса доз с применением коэффициента пересчета в зависимости от массы тела. Антибиотики

вводили в хвостовую вену, без наркоза. Крысу помещали в специально сконструированную установку. Стекланная коническая конструкция позволяла фиксировать крысу, при этом хвост находился вне установки. Перед введением препаратов хвост разогревали обработкой водой с повышенной температурой и этанолом. Для прокола хрящевого панциря использовали тонкую иглу и желательнo инсулиновый шприц.

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средних арифметических изучаемых показателей (M) и их стандартных ошибок (m). Существенность различий средних величин оценивали по критериям Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни [15, 16].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для отработки лабораторной технологии получения эритроцитарных форм антибактериальных препаратов изучены особенности включения гентамицина, амикацина, ципрофлоксацина и офлоксацина в эритроцитарные носители (ЭН) здоровых животных и животных с пиелонефритом. С этой целью ЭН здоровых крыс и крыс с пиелонефритом инкубировали с растворами препаратов в следующей концентрации: гентамицина 2 и 4 мг/мл (0,2%; 0,4%) и амикацина 12 и 24 мг/мл (1,2%; 2,4%), а фторхинолонов 3 и 6 мг/мл (0,3%; 0,6%) в течение 10, 30, и 60 минут при 4°C. В начале инкубацию проводили с меньшей концентрацией, а затем концентрацию препаратов в инкубационной жидкости увеличивали в два раза. Устойчивость ЭН на десорбцию и выделение препаратов из ЭН определяли путем двукратного предварительного отмывания и инкубации их в аутологичной плазме при 37°C в течение 30 минут. ■

Было установлено, что в ЭН здоровых доноров включается гентамицина 22,4% и 20,2% амикацина, а в ЭН крыс с пиелонефритом 20,1% и 18,2% для гентамицина и амикацина, соответственно (табл. 1). Определено, что в ЭН здоровых крыс включается 17,9% ципрофлоксацина и 16,4% офлоксацина, а в ЭН животных с пиелонефритом 14,5% и 12,3%, соответственно (табл. 1).

Доказано, что антибиотики аминогликозиды и фторхинолоны в большей степени включаются в ЭН здоровых доноров. Полученные результаты свидетельствовали о более высоком включении антибиотиков аминогликозидов в ЭН животных с

пиелонефритом в сравнении с фторхинолонами.

Изучены особенности включения антибиотиков аминогликозидов или фторхинолонов в лейкоцитарные носители здоровых животных и животных с пиелонефритом.

С этой целью, выделенные из крови лейкоциты инкубировали с растворами препаратов в концентрации: гентамицина 2 и 4 мг/мл (0,2%; 0,4%), амикацина 12 и 24 мг/мл (1,2%; 2,4%), фторхинолонов 3 мг/мл и 6 мг/мл (0,3% и 0,6%) в течение 10, 20 и 60 минут при комнатной температуре (20°C). Вначале инкубацию проводили с меньшей концентрацией, а затем concentra-

цию препаратов увеличивали в 2 раза. Устойчивость ЛН на десорбцию и выделение антибиотиков определяли путем двукратного предварительного отмывания и инкубации их в аутологичной плазме при 37° С в течении 30 минут. Отмечено более высокое включение препаратов в ЛН здоровых животных. Установлено, что введение АТФ в инкубационную среду повышает включение антибиотиков аминогликозидов и фторхинолонов в ЛН здоровых крыс (табл. 2). Инкубации с АТФ также способствует повышению включения антибиотиков аминогликозидов или фторхинолонов в ЛН крыс с пиелонефритом. Показано, что в присутствии АТФ препараты практически в одинаковом процентном соотношении включаются в ЛН как здоровых животных, так и животных с пиелонефритом (табл. 2).

Изучение процессов десорбции аминогликозидов и фторхинолонов из ЭН и ЛН в плазму крови показало их достаточную устойчивость и тем самым подтвердило возможность использования эритроцитов и лейкоцитов для направленного транспорта антибактериальных препаратов.

Использование различных технологий введения лекарственных средств изменяет их фармакокинетику. При введении свободных антибиотиков отмечена их высокая пиковая концентрация в крови через один час, а через три часа концентрация антибиотика резко снижалась (табл. 3).

При введении гентамицина и офлоксацина, включенных в ЭН и ЛН, в крови через один час концентрация антибиотиков была незначительна. Концентрация препаратов в почечной ткани при введении их в ЭН была выше в 1,4 для гентамицина и в 1,5 раза – для офлоксацина, а введенных в ЛН была, соответ-

Таблица 1. Включение антибиотиков аминогликозидов или фторхинолонов в ЭН

Препарат	Включение в ЭН, %	
	Здоровые крысы	Крысы с пиелонефритом
1. Гентамицин	22,4±2,4	20,1±1,3
2. Амикацин	20,2±2,5	18,2±1,2
3. Ципрофлоксацин	17,9±1,3* ^{1,2}	14,5±0,9* ^{1,2}
4. Офлоксацин	16,4±0,4* ^{1,2}	12,3±0,9* ^{1,2}

Примечание. * и цифра рядом в этой и последующих таблицах указывают на достоверность различий между группами ($p \leq 0,05$)

Таблица 2. Включение антибиотиков аминогликозидов или фторхинолонов в ЛН

Препарат	Включение в ЛН, %	
	Здоровые крысы	Крысы с пиелонефритом
1. Гентамицин	18,3 ± 1,8	12,6 ± 1,2
2. Гентамицин+АТФ	28,3 ± 2,8* ¹	25,4 ± 2,6* ¹
3. Амикацин	19,1 ± 1,7	13,2 ± 1,4
4. Амикацин+АТФ	27,4 ± 2,7* ³	26,1 ± 2,5* ³
5. Ципрофлоксацин	12,6 ± 1,2	9,8 ± 0,8
6. Ципрофлоксацин+АТФ	24,8 ± 2,2* ⁵	22,6 ± 2,3* ⁵
7. Офлоксацин	13,4 ± 1,4	10,2 ± 0,9
8. Офлоксацин+АТФ	27,2 ± 2,6* ⁷	25,8 ± 2,4* ⁷

Таблица 3. Распределение антибиотиков аминогликозидов и фторхинолонов, включенных в клеточные носители в организме

Условия опыта	Время в часах	Количество препарата	
		Кровь (мкг/мл)	Почки (мкг/г)
1. Введение гентамицина	1	5,26±0,18	не определяется
	3	не определяется	3,12±0,3
2. Введение офлоксацина	1	6,16±0,29	не определяется
	3	не определяется	3,46±0,4
3. Введение гентамицина включенного в ЭН	1	0,63±0,06	4,98±0,4
	3	0,48±0,04	4,24±0,4
4. Введение офлоксацина включенного в ЭН	1	0,56±0,04	5,21±0,5
	3	0,39±0,03	4,99±0,5
5. Введение гентамицина включенного в ЛН	1	0,45±0,01	4,99±0,5
	3	не определяется	4,17±0,4
6. Введение офлоксацина включенного в ЛН	1	0,38±0,02	6,23±0,6
	3	не определяется	5,98±0,5

ственно, в 1,7 – для гентамицина и 1,9 раза – для офлоксацина выше, чем при введении свободных препаратов. Содержание препаратов в почечной ткани оставалось высоким в течение 24 ч (время наблюдения) и снижалось постепенно (табл. 3).

Важным условием применения клеточных форм антибактериальных препаратов являются их стабильность, сроки и условия хранения. Пригодность свободных ЭН и ЛН определяли по способности включать антибактериальные препараты, а ЭН и ЛН с включенными антибиотиками – по способности сохранять терапевтическую концентрацию лекарственных средств. В результате было установлено, что свободные ЭН и ЛН сохраняют способность включать антибактериальные препараты в течение 10 дней в условиях хранения при 5°C, а клеточные носители с включенными препаратами хранятся не более двух-трех суток.

Для выяснения эффективности антибактериальной терапии пиелонефрита методом направленного транспорта с использованием клеточных форм антибактериальных препаратов необходимо было создать его экспериментальную модель.

Нами выбрано введение ртути дихлорида и микробного агента.

Установлено, что введение ртути дихлорида совместно с микробным агентом вызывало развитие пиелонефрита, подтверждающееся

клиническими показателями: гипертермия, снижение веса на 18%, нарушение выделительной функции почек (табл. 4). Анализ выделительной функции почек показал резкое повышение уровня в крови мочевины в 2,1 раза и креатинина в 3,2 раза, появление лейкоцитов и белка в моче (табл. 5).

Установлены изменения лейкоцитарной формулы – увеличение количества лейкоцитов на 35%, уменьшение количества лимфоцитов – на 24% и повышение количества нейтрофилов крови на 23%. В почках отмечено снижение активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в 1,9 раза, глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в 2,1 раза, щелочной фосфатазы (ЩФ) в 2,3 раза, на фоне высокой активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Анализ патологических изменений в мозговом слое почек показал очаговые некрозы и очаговые скопления лейкоцитов (рис. 1).

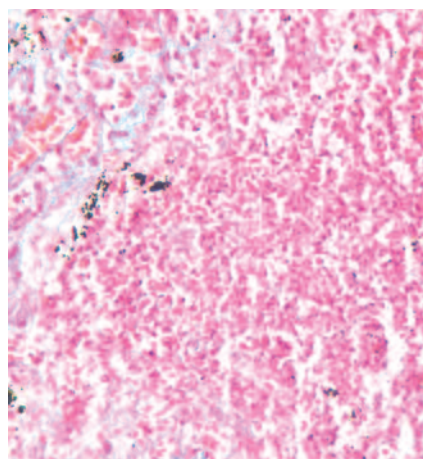


Рис. 1. Морфологические изменения в препаратах почек при пиелонефрите. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400

Таблица 4. Изменение температуры и массы тела у животных с необструктивным пиелонефритом

Группа	Температура тела (°С)	Масса тела (г)
1. Контроль (здоровые крысы)	41,5±0,5	153,4±11,8
2. Введение ртути дихлорида и стафилококка	43,8±0,4	125,2±10,3

Таблица 5. Уровень мочевины и креатинина у животных с необструктивным пиелонефритом

Группа	Мочевина, моль/л	Креатинин, моль/л
1. Контроль (здоровые крысы)	132,4±13,2	153,4±11,8
2. Введение ртути дихлорида и стафилококка	278,2±27,1 ¹	125,2±10,3

Полученные результаты свидетельствовали о развитии инфекционного воспалительного процесса в почках, весьма близкого к естественной картине пиелонефрита.

Для сравнительной оценки эффективности свободных и клеточных форм антибиотиков аминокликозидов и фторхинолонов при экспериментальном пиелонефрите использовали внутривенное введение разовых доз препаратов, пересчитанных по общепринятой методике на крысу. При этом температуру тела определяли один раз в сутки в одно и то же время (9-10 ч) до ее полной нормализации и последующие два дня, выделительную функцию почек и массу тела определяли на четвертый и последующие дни. Лабораторные показатели определяли во всех группах на 10 сутки после развития пиелонефрита.

Установлено, что пятикратное введение животным с пиелонефритом гентамицина в дозе 2 мг/кг, амикацина в дозе 12 мг/кг ципрофлоксацина и офлоксацина в дозах 3 мг/кг нормализовало температуру тела на 10-12 сутки, выделительную функцию почек – на 12-14 сутки, при этом вес животных достоверно не изменялся. На 10 сутки в крови количество лейкоцитов было повышено в среднем на 10-12%, количество лимфоцитов снижено на 8-9%, количество нейтрофилов не изменялось, уменьшался, но не нормализовался дисбаланс активности ферментов в почках.

В отличие от этого однократное введение крысам с пиелонефритом эритроцитарных или лейкоцитарных форм антибактериальных препаратов в разовых дозах нормализовало температуру тела на 7-8 или 5-6 сутки, выделительную функцию почек на 8-9 или 5-6 сутки соответственно, на 10 сутки

отмечена полная нормализация количества лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов в крови, активности ферментов в почках.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами разработана лабораторная технология получения эритроцитарных и лейкоцитарных форм антибиотиков аминогликозидов и фторхинолонов, включающая выделение ЭН и ЛН, получение стандартизованных по количеству действующего вещества клеточных форм антибактериальных препаратов.

Установлены особенности включения отдельных представителей антибиотиков – аминогликозидов и фторхинолонов в эритроцитарные носители здоровых животных и крыс с пиелонефритом. Показано, что более высокое включение аминогликозидов и фторхинолонов происходит при использовании ЭН здоровых крыс. При использовании эритроцитарных носителей крыс с пиелонефритом наибольший процент включения отмечен при инкубации с антибиотиками аминогликозидами. Установлена достаточная устойчивость эритроцитарных носителей с включенными химиопрепаратами, что позволяет их использовать в качестве контейнеров для направленного транспорта антибиотиков аминогликозидов в органы и, в частности, в почки. При применении в качестве векторов для направленного транспорта в организм химиопрепаратов лейкоцитарных носителей установлена более высокая иммобилизация препаратов в лейкоцитарные носители здоровых доноров. Изучение процессов десорбции аминогликозидов и фтор-

хинолонов из ЛН в плазму крови показало их достаточную устойчивость, и подтвердило возможность использования лейкоцитов в качестве векторов для направленного транспорта антибактериальных препаратов. Введение в инкубационную среду АТФ, по-видимому, за счет изменения микровязкости мембран клеток, увеличивает включение препаратов не только в лейкоцитарные носители здоровых доноров, но и лейкоцитарные носители крыс с пиелонефритом. Изучение фармакокинетики показало, что введение иммобилизованных в клеточные носители антибиотиков аминогликозидов или фторхинолонов увеличивает их содержание в почках в 1,5-1,8 раза, в крови концентрация препарата была незначительна.

Общеизвестно, что инфекционный воспалительный процесс в почках возникает при попадании микробного агента на фоне нарушения уро- или гемодинамики почек [17].

Экспериментальный пиелонефрит моделировали введением токсического и микробного агентов: ртути дихлорида и стафилококка. Развитие экспериментального пиелонефрита подтверждалось клиническими показателями (гипертермия, снижение веса, нарушение выделительной активности), изменение лейкоцитарной формулы, появлением в почках микроабсцессов из скопления лейкоцитов, разбалансированием активности почечных ферментов. Механизм развития пиелонефрита в выбранной модели, по-видимому, можно объяснить нарушением внутривисцерального кровотока, который возникает за счет повреждающего действия на почечную ткань (ртути дихлорид), что приводит к фиксации микроорга-

низмов в почках. Оценка эффективности свободных и клеточных форм антибактериальных препаратов при экспериментальном пиелонефрите показало, что введение эритроцитарных и лейкоцитарных форм, в соответствующих их системному введению дозах, оказывало более существенный фармакологический эффект, что выражалось в более ранней нормализации (5-7 сутки) клинических, лабораторных, гематологических и морфологических показателей.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное моделирование пиелонефрита подтверждено развитием клинических, лабораторных, гематологических признаков воспалительного процесса в почках, снижением в почках активности СДГ, ГДГ, ЩФ в 1,9–2,3 раза на фоне высокой активности ЛДГ.

2. Системное введение гентамицина (2 мг/кг), амикацина (12 мг/кг), ципрофлоксацина (3 мг/кг) и офлоксацина (3 мг/кг) 1 раз в сутки курсом 5 дней после моделирования пиелонефрита нормализовало температуру тела, выделительную функцию, гематологические показатели, активность ферментов в почках и морфологическую картину к 10–12 суткам наблюдения.

3. Однократное введение эритроцитарных и лейкоцитарных форм антибактериальных препаратов в дозах, соответствующих их системному однократному введению, оказывало более существенный фармакологический эффект по сравнению с традиционным способом, что выражалось в более ранней нормализации (на 5–7 сутки) клинических, лабораторных, морфологических показателей. ■

Ключевые слова: пиелонефрит, клеточные формы антибиотика, гентамицин, амикацин, ципрофлоксацин, офлоксацин, эритроциты, лейкоциты.

Key words: pyelonephritis, cell forms antibiotics, gentamicin, amikacin, ciprofloxacin, ofloxacin, erythrocytes, leukocytes.

Резюме:

Исследования проведены на крысах Вистар, пиелонефрит моделировали введением ртути дихлорида и *Staphylococcus aureus*. Для подтверждения развития пиелонефрита проведены определения клинических, лабораторных, гематологических показателей и морфологических изменений.

Для включения антибактериальных препаратов в строю эритроцитов использовали метод гипоосмотического гемолиза, позволяющий ввести максимально возможное количество препарата. Для иммобилизации аминогликозидов или фторхинолонов в лейкоцитарные носители использовали методику С.В. Лохвицкого.

Для оценки эффективности свободных и клеточных форм аминогликозидов и фторхинолонов при экспериментальном пиелонефрите использовали внутривенное введение, разовые дозы препаратов, пересчитанные по общепринятой методике на крысу. Температуру тела определяли один раз в сутки в одно и то же время (9-10 ч) до ее полной нормализации и последующие два дня, выделительную функцию почек и массу тела определяли на 4-й и последующие дни, лабораторные показатели определяли во всех группах на 5-е и 10-е сутки после развития пиелонефрита.

Установлено, что пятикратное введение животным с пиелонефритом гентамицина в дозе 2 мг/кг, амикацина в дозе 12 мг/кг, ципрофлоксацина и офлоксацина в дозах 3 мг/кг нормализовало температуру тела на 10-12-е сутки, выделительную функцию почек на 12-14-е сутки, при этом вес животных достоверно не изменялся. На 10-е сутки в крови количество лейкоцитов было повышено на 10-12%, количество лимфоцитов снижено на 8-9%, количество нейтрофилов не изменялось, уменьшался, но не нормализовался дисбаланс активности ферментов в почках.

В отличие от этого однократное введение крысам с пиелонефритом эритроцитарных или лейкоцитарных форм антибактериальных препаратов в разовых дозах нормализовало температуру тела на 7-8-е или 5-6-е сутки, выделительную функцию почек – на 8-9-е или 5-6-е сутки соответственно, вес животных увеличивался незначительно, на 10-е сутки отмечена полная нормализация количества лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов в крови, активности ферментов в почках.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Summary:**The effectiveness of free and cell forms of aminoglycosides fluoroquinolones in experimental pyelonephritis**

Studies were conducted on Wistar rats; pyelonephritis was modeled by the introduction of mercury dichloride and *Staphylococcus aureus*. To confirm the development of pyelonephritis, clinical, laboratory, hematological, and morphological changes were assessed.

To include the antibacterial drugs into the stroma of the erythrocytes we have used the method hypoosmotic hemolysis that allows for injecting of the maximum amount of drug. For the immobilization of aminoglycosides or fluoroquinolones into leukocyte carriers we have used methods of Lokhvitskiy S.V.

To assess the effectiveness of free and cell forms of the aminoglycosides and fluoroquinolones in experimental pyelonephritis we have used intravenous single dose of drugs calculated according to the standard technique in rats. Body temperature was measured once a day at the same time (9-10 h) till its full normalization and the next two days thereafter, the excretory renal function and body weight were determined on the 4th and the following days, laboratory parameters were determined in all groups at 5th and 10th day after the development of pyelonephritis.

It was established that a fivefold administration of the gentamicin to the animals with pyelonephritis at a dose of 2 mg/kg, of the amikacin at a dose of 12 mg/kg, of the ciprofloxacin and ofloxacin in the dosage of 3 mg/kg has normalized the body temperature to a day 10-12, the excretory function of the kidneys to a day 12-14, while the weight of the animals was not significantly changed. On 10th day the number of leukocytes in the blood was increased by 10-12%, the number of lymphocytes was reduced by 8-9%, the number of neutrophils did not change, the imbalance of enzyme activity in the kidneys has decreased, but not normalized.

In contrast, a single administration to rats with pyelonephritis erythrocytic or leukocytic forms of antibacterial drugs in single doses normalized the body temperature by Days 7-8 or 5-6, the excretory function of the kidney by Days 8-9 or 5-6, respectively, the weight of the animals increased slightly, by 10th day a complete normalization was seen for the leukocyte count, lymphocytes, neutrophils in the blood and activity of enzymes in the kidneys.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубков М.Н. Практическое руководство по клинической микробиологии и антимикробной терапии для врачей стационарной помощи. М.: МГУП. 2002. 272 с.
2. Рафальский В.В. Обоснование выбора антимикробных препаратов при амбулаторных инфекциях мочевыводящих путей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Смоленск. 2004. 36 с.
3. Неймарк А.И., Гаткин М.Я. Использование криопреципитата в комплексном лечении острого гнойного пиелонефрита. *Урология* 2005;(4):42-48.
4. Неймарк А.И., Симашкевич А.В. Комплексное лечение больных острым пиелонефритом. В кн.: Современные принципы диагностики, профилактики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний почек, мочевыводящих путей и половых органов. М. 2007. С.88-91.
5. Кузменко В.В., Золотухин О.В., Аносова Ю.А. Антибактериальная те-

- рапия моделированного острого гнойного пиелонефрита у экспериментальных животных. *Вестн. Воронежского гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация* 2009;(1):53-57.
6. Аносова Ю.А. Направленный транспорт антибиотиков в лечении острого гнойного пиелонефрита у экспериментальных животных: автореф. дис... канд. мед наук. СПб. 2010.
7. Лохвицкий С.В. Направленный транспорт антибиотиков при лечении больных диабетической гнойной остеоартропатией. *Сахарный диабет* 1999;3(4):1-5.
8. Шевцова О.М., Денисова О.И. Применение плазмафереза в сочетании с экстракорпоральной инкубацией эритроцитарной массы с антибактериальными препаратами. В кн.: Труды 9-ой конференции Московского общества гематологов. М. 2001. С.11.
9. Бельских А.Н., Потапчук В.Б. Совместное применение антибиотиков и экстракорпоральных методов детоксикации в гнойно-септической хирургии. В кн.: Сб. тр. 9-го ежегод. Санкт-Петербургского нефрологического семинара. СПб. ТНА. 2001. С.101-102.
10. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П., Андреева З.М., Анкирская А.С., Балаховский И.С., и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. М. Медицина. 1987. 368 с.
11. Генинг Т.П., Колкер И.И., Жумадилов Ж.Ш. Использование форменных элементов крови для направленной доставки химиотерапевтических и диагностических препаратов в очаг поражения. *Антибиотики и химиотерапия* 1988;33(11):867-870.
12. Жумадилов Ж.Ш., Макаренко Р.В. Особенности включения некоторых антибиотиков в эритроцитарные тени – систему целенаправленной доставки химиотерапевтических препаратов. *Антибиотики и химиотерапия* 1990;35(11):54-56.
13. Кукурека А.В. Спектрофотометрическое определение лекарственных средств из группы аминогликозидных антибиотиков: автореф. дис... канд. фарм. наук. Курск. 2000. 18 с.
14. Карлов П.М. Исследование соединений групп фторхинолонов, иммобилизованных на различных носителях: автореф. дис... канд. фарм. наук. Курск. 2009, 23 с.
15. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л. Медицина. 1978. 294 с.
16. Лакин Г.Ф. Биометрия. М. Высшая школа. 1980. 293 с.
17. Есилевский Ю.М. Патогенез пиелонефрита. МЕДпресс-информ. 2007. 368 с.

REFERENCES

1. Zubkov M.N. Prakticheskoe rukovodstvo po klinicheskoy mikrobiologii i antimikrobnoy terapii dlya vrachev stacionarnoy pomoschi. [Practical Guide on Clinical Microbiology and Antimicrobial Therapy for doctors of hospital care]. M.: MGUP. 2002. 272p. (In Russian)
2. Rafalskiy V.V. Obosnovanie vybora antimikrobnih preparatov pri ambulatornyh infektsiyah mochevyivodyaschih putey. [Justification of the choice of antimicrobial drugs in outpatient with urinary tract infections.]. DR. Med.Sci [thesis]. Smolensk. 2004.36 p. (In Russian)
3. Neymark A.I., Gatkin M.Ya. Ispolzovanie kriopretsipitata v kompleksnom lechenii ostrogo gnoynogo pielonefrita. [The use of cryoprecipitate in the complex treatment of acute purulent pyelonephritis]. *Urologiya*. 2005;(4):42-48. (In Russian)
4. Neymark A.I., Simashkevich A.V. Kompleksnoe lechenie bolnyh ostrym pielonefritom. [Complex treatment of patients with acute pyelonephritis]. In.: *Sovremennyye printsipy diagnostiki, profilaktiki i lecheniya infektsionno-vospalitelnyh zabolevaniy pochek, mochevyivodyaschih putey i polovnyh organov*. In : [Modern principles of diagnosis, prevention and treatment of infectious and inflammatory diseases of the kidneys, urinary tract and genital organs]. M. 2007. P.88-91. (In Russian)
5. Kuzmenko V.V., Zolotuhin O.V., Anosova Yu.A. Antibakterialnaya terapiya modelirovannogo ostrogo gnoynogo pielonefrita u eksperimentalnyh zhivotnyh. [Antibacterial therapy simulated acute purulent pyelonephritis in experimental animals]. *Vestn. Voronezhskogo gos. un-ta. Ser. Himiya. Biologiya. Farmatsiya*. 2009;(1):53-57. (In Russian)
6. Anosova Yu.A. Napravlenyy transport antibiotikov v lechenii ostrogo gnoynogo pielonefrita u eksperimentalnyh zhivotnyh. [Directed transport of antibiotics in the treatment of acute purulent pyelonephritis in experimental animals]. Cand.Med.Sci [thesis]. SPb. 2010. (In Russian)
7. Lohvitskiy S.V. Napravlenyy transport antibiotikov pri lechenii bolnyh diabeticheskoy gnoynoy osteoarthropatiey. [Directed transport of antibiotics in the treatment of patients with diabetic purulent osteoarthropathy]. *Saharnyy diabet* 1999;3 (4):1-5. (In Russian)
8. Shevtsova O.M., Denisova O.I. Primenenie plazmaferesa v sochetanii s ekstrakorporalnoy inkubatsiey eritrotsitarnoy massy s antibakterialnymi preparatami. [The use of plasmapheresis in combination with extracorporeal red cell incubation and anti-bacterial drugs]. In: *Trudy 9-oy konferentsii Moskovskogo obshchestva gemaferesa*. In: [Proceedings of the 9th Conference of the Moscow Society gemaferesis]. M., 2001. P.11 (In Russian)
9. Belskih A.N., Potapchuk V.B. Sovmestnoe primeneniye antibiotikov i ekstrakorporalnyh metodov detoksikatsii v gnoyno-septicheskoj hirurgii. [The combined use of antibiotics and extracorporeal detoxification in septic surgery]. In: *Sb. tr. 9-go ezhegod. Sankt-Peterburgskogo nefrologicheskogo seminar*. [Proceedings. 9th annual. St. Petersburg workshop of Nephrology]. SPb. 2001. P.101-102. (In Russian)
10. Mentshikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.P., Andreeva Z.M., Ankiorskaya A.S., Balahovskiy I.S., et al. Laboratornyye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik. [Laboratory Methods in the clinic: A Handbook. M. Medicine]. M. Meditsina. 1987. 368 s. (In Russian)
11. Gening T.P., Kolker I.I., Zhumadilov Zh.Sh. Ispolzovanie formennyh elementov krovi dlya napravlennoy dostavki himioterapevticheskikh i diagnosticheskikh preparatov v ochag porazheniya. [The use of blood cells for the targeted delivery of chemotherapeutic drugs and diagnostics in the lesion]. *Antibiotiki i himioterapiya* 1988;33(11):867-870. (In Russian)
12. Zhumadilov Zh.Sh., Makarenkova R.V. Osobennosti vklucheniya nekotorykh antibiotikov v eritrotsitarnyye teni – sistemu tselenapravlennoy dostavki himioterapevticheskikh preparatov. [Features include some antibiotics in erythrocyte shadows – a system of targeted delivery of chemotherapy drugs]. *Antibiotiki i himioterapiya* 1990;35(11):54-56. (In Russian)
13. Kukureka A.V. Spektrofotometricheskoe opredeleniye lekarstvennyh sredstv iz gruppy aminoglikozidnyh antibiotikov: [Spectrophotometric determination of drugs from the aminoglycoside group] Cand.Farm.Sci [thesis]. Kursk. 2000.18 p. (In Russian)
14. Karlov P.M. Issledovanie soedineniy grupp ftorhinolonov, immobilizirovannyh na razlichnyh nositel'yah [The research of fluoroquinolones compounds immobilized on different carriers]. Cand.Farm.Sci [thesis]. Kursk. 2009, 23 p. (In Russian)
15. Gubler E.V. Vyichislitelnyye metody analiza i raspoznaniya patologicheskikh protsessov. [Calculation methods of analysis and detection of pathological processes]. L. Meditsina. 1978. 294 p. (In Russian)
16. Lakin G.F. Biometriya. [Biometrics]. M. Vysshaya shkola. 1980. 293 p.
17. Esilevskiy Yu.M. Patogenez pielonefrita. [Pathogenesis of pyelonephritis]. MEDpress-inform. 2007. 368 p. (In Russian)

Межрегиональная общественная организация

www.forumurology.ru



Интернет форум урологов

