

ВОЗМОЖНОСТИ АНТИОКСИДАНТОВ В КОРРЕКЦИИ НЕФРОТОКСИЧНОСТИ ГЕНТАМИЦИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Александр Геннадьевич Мирошниченко^{1*}, Валерий Михайлович Брюханов², Иван Егорович Госсен², Вячеслав Юрьевич Перфильев²

¹Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия;

²Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

Поступила 10.02.2016; принята в печать 22.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-572

Цель. Оценка эффективности антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, метилэтилпиридинола, N-ацетилцистеина) в снижении нефротоксичности гентамицина в условиях экспериментальной инфекции, вызванной *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*.

Методы. Эксперимент был разделён на две части. В первой части оценивали влияние антиоксидантов на чувствительность бактерий к гентамицину *in vitro* по изменению оптической плотности бактериальной суспензии, во второй — нефропротективную активность антиоксидантов и их влияние на активность антибиотика при экспериментальном бактериальном перитоните.

Результаты. Все антиоксиданты значительно снижают чувствительность кишечной палочки к гентамицину *in vitro*, при этом сила эффекта прямо пропорциональна концентрации антиоксиданта. Метилэтилпиридинол оказывает наиболее выраженное антагонистическое действие в отношении гентамицина. Установлено, что метилэтилпиридинол в концентрации 4 мМ/л уже к 6-му часу инкубации усиливает развитие штамма *Escherichia coli* в 7 раз. Аскорбиновая кислота и N-ацетилцистеин имеют сходный профиль пробактериальной активности. В инкубационных смесях, содержащих штамм *Klebsiella pneumoniae*, наблюдалась аналогичная картина роста оптической плотности бактериальной биомассы с максимальными значениями в присутствии наибольших концентраций антиоксидантов. При экспериментальной инфекции антиоксиданты снижают активность гентамицина в отношении *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, не уменьшая при этом нефротоксичность антибиотика.

Вывод. Аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол и N-ацетилцистеин снижают антибактериальную активность гентамицина в отношении *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae in vitro* и *in vivo*, в дозе 80 мг/кг не уменьшают нефротоксичность гентамицина в условиях бактериального перитонита крыс; их применение в условиях терапии гентамицином не только нерационально, но и противопоказано.

Ключевые слова: гентамицин, нефротоксичность, антиоксиданты, экспериментальный перитонит.

ANTIOXIDANTS CAPABILITIES IN CORRECTION OF GENTAMICIN-INDUCED NEPHROTOXICITY IN EXPERIMENTAL INFECTION

A.G. Miroshnichenko¹, V.M. Brukhanov², I.Ye. Gossen², V.Yu. Perflyev²

¹Altay State University, Barnaul, Russia;

²Altay State Medical University, Barnaul, Russia

Aim. To assess the antioxidants effectiveness (ascorbic acid, methylethylpyridinol, N-acetylcysteine) in reducing the gentamicin-induced nephrotoxicity in experimental infection caused by *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*.

Methods. The experiment was divided into two parts. In the first part, the effect of antioxidants on the sensitivity of bacteria to gentamicin *in vitro* according to changing the optical density of the bacterial suspension, in the second part — nephroprotective activity of antioxidants and their effects on antibiotic activity in experimental bacterial peritonitis were evaluated.

Results. All antioxidants significantly reduce the sensitivity of *E. coli* to gentamicin *in vitro*, and the level of effect is directly proportional to the antioxidant concentration. Methylethylpyridinol has the most pronounced antagonistic action against gentamicin. It is found that methylethylpyridinol at a concentration of 4 mmol/l enhances development of *Escherichia coli* strain by 7 times by the 6th hour of incubation. Ascorbic acid and N-acetylcysteine have a similar probacterial activity profile. In the incubation mixtures containing a strain of *Klebsiella pneumoniae*, a similar pattern of increase in bacterial biomass optical density was observed with maximum values in the presence of the highest concentrations of antioxidants. In experimental infection, antioxidants reduce the activity of gentamicin against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, without reducing the antibiotic nephrotoxicity.

Conclusion. Ascorbic acid, methylethylpyridinol and N-acetylcysteine reduce the antibacterial activity of gentamicin against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae in vitro* and *in vivo*, in a dose of 80 mg/kg they do not reduce gentamicin nephrotoxicity in bacterial peritonitis in rats; their use in the course of treatment with gentamicin is not only irrational, but also contraindicated.

Keywords: gentamicin, nephrotoxicity, antioxidants, experimental peritonitis.

Гентамицин — аминогликозидный антибиотик, который используется в клинической практике более 40 лет и остаётся актуальным до сих пор. Он эффективен против широкого спектра грамотрицатель-

ных бактерий, а также в отношении стафилококков и энтерококков.

Гентамицин входит в ряд антибиотиков первой линии для лечения больных с тяжёлыми инфекциями, при этом резистентность к этому химиотерапевтическому средству развивается медленно [13]. Глав-

Антиоксиданты и их растворители

Антиоксидант	Производитель	Растворитель
Глутатион	Sigma-Aldrich, США	0,9% раствор NaCl
Аскорбиновая кислота	Panreac, Испания	0,9% раствор NaCl
Ацетилцистеин	Sigma-Aldrich, США	0,9% раствор NaCl
Метилэтилпиридинол	ФГУП МЭЗ, Россия	0,002 М раствор HCl

ный побочный эффект, ограничивающий применение гентамицина, — его нефротоксичность.

Активные формы кислорода считают важными посредниками в реализации гентамицин-индуцированной нефротоксичности. Аномальная генерация свободнорадикальных частиц непосредственно повреждает биомолекулы, вызывает повреждение клеток и их некроз через ряд механизмов, включая перекисное окисление липидов мембран, денатурацию белков и повреждение дезоксирибонуклеиновой кислоты. Предполагают, что введение соединений с антиоксидантной активностью может быть успешно использовано для предотвращения или ослабления гентамицин-индуцированной нефротоксичности [14].

Существенный недостаток многих исследований, доказывающих нефропротективные свойства антиоксидантов при применении гентамицина, заключается в том, что авторы не учитывают возможное изменение активности антибиотика в отношении патогенных микроорганизмов. При этом, по данным М.А. Kohanski и соавт. [10], главную роль в реализации бактерицидного эффекта аминогликозидов играет усиление интенсивности свободнорадикального окисления. В связи с этим логичным является предположение о том, что применение антиоксидантов в условиях химиотерапии гентамицином может привести к снижению эффективности лечения, несмотря на возможное проявление нефропротективных свойств.

Цель исследования — оценка эффективности антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, метилэтилпиридинола и N-ацетилцистеина) в снижении нефротоксичности гентамицина в условиях экспериментальной инфекции, вызванной *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*.

В эксперименте *in vitro* были использованы периодические культуры клинических штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Идентификацию микроорганизмов проводили при помощи системы «ENTEROtest 16» (Erba Lachema s.r.o., Чехия) с использованием планшетного фото-

метра Multiskan-Ascent (Thermo Fisher Scientific Inc., Финляндия) и программного обеспечения «Микроб-Автомат».

Из штаммов готовили суточные культуры инкубацией на скошенном агаре при 35 °С, которые использовали для приготовления инокулятов — бактериальных суспензий в 0,9% растворе натрия хлорида с оптической плотностью 1,0 по Мак-Фарланду. После инокуляции бактериальной суспензии (0,5 мл суспензии + 3 мл минеральной среды M9) смесь, содержащую антиоксидант (табл. 1) в одной из концентраций (0,25; 0,5; 1; 2 или 4 мМ/л), а также гентамицина сульфат (AppliChem, Германия) в сублетальной концентрации, составляющей 50% ранее установленной минимальной концентрации лекарства, подавляющей рост бактерий, инкубировали в воздушном термостате при 35 °С в течение 24 ч.

Для оценки развития штаммов использовали аппарат для определения оптической плотности бактериальных взвесей Densi-la-meter (Erba Lachema s.r.o., Чехия). Измерения проводили через 6, 12 и 24 ч после начала инкубации. Полученные данные сравнивали с данными контрольных инкубационных смесей, не содержащих антиоксидантные вещества.

Эксперимент *in vivo* выполнен на 70 крысах линии Wistar. Он был разделён на две серии в соответствии с количеством изучаемых микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*).

Для каждой серии из 35 животных формировали группы (1–5) по 7 особей в каждой. В серии животным всех групп внутривенно вводили бактериальную суспензию (2,5 усл.ед. по Мак-Фарланду, 5 мл/кг), полученную из суточной чистой культуры штамма *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*, которые были ранее использованы в экспериментах *in vitro*.

Через 3 ч после инъекции животным группы №1 вводили стерильный 0,9% раствор натрия хлорида, животным группы №2 — раствор гентамицина, №3 — последовательно растворы гентамицина и аскорбиновой кислоты, №4 — раство-

Влияние антиоксидантов на активность гентамицина (0,4 мг/л) в отношении периодической культуры *Escherichia coli*

C _{АО} , мМ/л	Оптическая плотность бактериальной биомассы, Me (25%; 75%) усл.ед. по Мак-Фарланду		
	6 ч	12 ч	24 ч
Контрольная группа (гентамицин, n=10)			
0	0,1 (0,1; 0,1)	0,4 (0,3; 0,4)	3,9 (3,9; 4,0)
Опытная группа №1 (гентамицин + аскорбиновая кислота, n=5)			
0,25	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,003}	0,5 (0,5; 0,6) ^{0,003}	3,8 (3,8; 3,8) ^{0,005}
0,5	0,2 (0,2; 0,2) ^{<0,001}	0,6 (0,6; 0,6) ^{0,002}	3,9 (3,8; 3,9) ^{0,139}
1	0,2 (0,1; 0,2) ^{0,014}	0,7 (0,5; 0,7) ^{0,003}	3,8 (3,7; 3,8) ^{0,002}
2	0,2 (0,2; 0,2) ^{<0,001}	0,9 (0,9; 1,0) ^{0,002}	3,7 (3,6; 3,7) ^{0,002}
4	0,2 (0,2; 0,3) ^{<0,001}	1,1 (1,1; 1,2) ^{0,002}	3,4 (3,4; 3,5) ^{0,002}
Опытная группа №2 (гентамицин + метилэтилпиридинол, n=5)			
0,25	0,1 (0,1; 0,2) ^{0,054}	0,5 (0,5; 0,6) ^{0,012}	4,0 (3,8; 4,0) ^{1,000}
0,5	0,2 (0,1; 0,2) ^{0,014}	0,6 (0,6; 0,6) ^{0,002}	3,8 (3,8; 3,8) ^{0,013}
1	0,2 (0,2; 0,2) ^{<0,001}	1,0 (0,9; 1,1) ^{0,002}	3,7 (3,6; 3,7) ^{0,002}
2	0,4 (0,3; 0,4) ^{<0,001}	2,3 (2,2; 2,3) ^{0,002}	3,3 (3,3; 3,5) ^{0,002}
4	0,7 (0,7; 0,7) ^{<0,001}	3,6 (3,6; 3,7) ^{0,002}	3,1 (3,1; 3,2) ^{0,002}
Опытная группа №3 (гентамицин + N-ацетилцистеин, n=5)			
0,25	0,2 (0,1; 0,2) ^{0,014}	0,5 (0,5; 0,6) ^{0,003}	3,9 (3,9; 3,9) ^{0,660}
0,5	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,003}	0,6 (0,5; 0,6) ^{0,003}	3,9 (3,9; 4,0) ^{0,944}
1	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,003}	0,7 (0,6; 0,7) ^{0,002}	3,9 (3,9; 4,0) ^{0,840}
2	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,003}	0,8 (0,8; 0,8) ^{0,002}	3,9 (3,8; 3,9) ^{0,031}
4	0,2 (0,2; 0,2) ^{<0,001}	1,1 (1,1; 1,2) ^{0,002}	3,7 (3,7; 3,8) ^{0,005}

Примечание: C_{АО} — концентрация антиоксиданта; в верхнем индексе указан уровень статистической значимости различия в сравнении с контрольной группой.

ры гентамицина и метилэтилпиридинола, №5 — растворы гентамицина и N-ацетилцистеина. Ещё через 3 ч препараты вводили повторно.

Гентамицин вводили в дозе 30 мг/кг, антиоксиданты — в дозе 80 мг/кг. Дозы всех препаратов устанавливались в соответствии с правилами межвидового переноса на основании максимальных терапевтических доз, используемых у человека [3]. Все препараты вводились внутривенно.

Растворы для инъекций готовили на основе стерильного 0,9% раствора натрия хлорида из субстанций (за исключением метилэтилпиридинола, вводимого в виде лекарственной формы эмксипин) в асептических условиях непосредственно перед введением.

Через 18 ч животных всех групп умерщвляли путём декапитации, их кровь подвергали биохимическим исследованиям. В качестве маркёров почечной дисфункции в плазме крови определяли концентрации мочевины и креатинина (с помощью диагностических наборов ООО «Витал Диагностика СПб, Россия). Для контроля выраженности бактериального воспаления и эффективности антибактериальной терапии измеряли плазменную концентрацию

церулоплазмينا колориметрическим методом с использованием в качестве субстрата п-фенилендиамина [1].

Содержание животных соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000), Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986).

Для расчётов использовали компьютерные программы Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corporation, США) и SigmaStat 3.5 (Systat Software Inc., США) для Windows. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Данные представляли в виде медианы и интерквартильного размаха — Me (25%; 75%). Различия показателей считали значимыми при p ≤ 0,05 [2].

Установлено, что все антиоксиданты статистически значимо снижают чувствительность периодической культуры кишечной палочки к гентамицину, при этом сила эффекта прямо пропорциональна концентрации антиоксиданта в инкубационной смеси (табл. 2).

Влияние антиоксидантов на активность гентамицина (0,65 мг/л) в отношении периодической культуры *Klebsiella pneumoniae*

C _{АО} , мМ/л	Оптическая плотность бактериальной биомассы, Me (25%; 75%) усл.ед. по Мак-Фарланду		
	6 ч	12 ч	24 ч
Контрольная группа (гентамицин, n=10)			
0	0,1 (0,1; 0,2)	1,2 (1,2; 1,4)	4,9 (4,7; 5,0)
Опытная группа №1 (гентамицин + аскорбиновая кислота, n=5)			
0,25	0,1 (0,1; 0,1) ^{0,443}	1,4 (1,3; 1,8) ^{0,106}	4,9 (4,8; 5,1) ^{0,664}
0,5	0,1 (0,0; 0,1) ^{0,510}	1,6 (1,4; 1,8) ^{0,016}	5,0 (4,9; 5,1) ^{0,450}
1	0,1 (0,1; 0,1) ^{0,889}	2,0 (1,9; 2,0) ^{0,003}	4,9 (4,7; 4,9) ^{0,448}
2	0,1 (0,1; 0,1) ^{0,769}	2,6 (2,4; 2,8) ^{0,003}	4,8 (4,8; 4,9) ^{0,532}
4	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,021}	3,4 (3,4; 3,7) ^{0,003}	4,5 (4,5; 4,6) ^{0,004}
Опытная группа №2 (гентамицин + метилэтилпиридиол, n=5)			
0,25	0,1 (0,0; 0,1) ^{0,225}	1,8 (1,6; 1,8) ^{0,004}	5,0 (4,9; 5,4) ^{0,491}
0,5	0,1 (0,1; 0,2) ^{0,497}	2,5 (2,2; 2,8) ^{0,003}	5,0 (4,9; 5,2) ^{0,384}
1	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,021}	4,0 (3,8; 4,3) ^{0,003}	4,7 (4,5; 4,7) ^{0,024}
2	0,6 (0,6; 0,6) ^{0,002}	4,3 (4,3; 4,4) ^{0,003}	4,3 (4,3; 4,4) ^{0,002}
4	1,8 (1,8; 1,8) ^{0,002}	4,1 (4,1; 4,2) ^{0,002}	4,2 (4,1; 4,3) ^{0,004}
Опытная группа №3 (гентамицин + N-ацетилцистеин, n=5)			
0,25	0,0 (0,0; 0,1) ^{0,098}	1,4 (1,2; 1,5) ^{0,292}	4,9 (4,7; 4,9) ^{0,455}
0,5	0,1 (0,1; 0,1) ^{0,443}	1,6 (1,5; 1,8) ^{0,005}	4,7 (4,6; 4,8) ^{0,046}
1	0,1 (0,1; 0,1) ^{0,769}	1,9 (1,8; 1,9) ^{0,002}	4,8 (4,7; 4,9) ^{0,258}
2	0,1 (0,0; 0,1) ^{0,225}	2,4 (2,2; 2,4) ^{0,003}	4,6 (4,6; 4,7) ^{0,015}
4	0,2 (0,2; 0,2) ^{0,021}	3,9 (3,8; 4,1) ^{0,003}	4,5 (4,4; 4,5) ^{0,004}

Примечание: C_{АО} — концентрация антиоксиданта; в верхнем индексе указан уровень статистической значимости различия в сравнении с контрольной группой.

Метилэтилпиридиол оказывает наиболее выраженное антагонистическое действие в отношении гентамицина по сравнению с другими изучаемыми антиоксидантами. Обнаружено, что метилэтилпиридиол в концентрации 4 мМ уже к 6-му часу инкубации усиливает развитие штамма *Escherichia coli* в 7 раз. Аскорбиновая кислота и N-ацетилцистеин имеют сходный профиль пробактериальной активности.

Отдельного внимания заслуживает рассмотрение состояния инкубационных смесей через 24 ч после начала эксперимента. Как видно из представленных данных, происходит смена прямо пропорциональной зависимости плотности биомассы всех изучаемых бактериальных культур от концентраций антиоксидантов, регистрируемой через 12 ч эксперимента, на обратно пропорциональную. Несмотря на кажущееся противоречие, с учётом наблюдаемой через 12 ч динамики указанное явление можно объяснить ускоренным развитием культур в присутствии антиоксидантов.

В инкубационных смесях, содержащих штамм *Klebsiella pneumoniae*, наблюдается аналогичная картина увеличения оптической плотности бактериальной био-

массы с максимальными значениями в присутствии наибольших концентраций антиоксидантов (табл. 3). Как и в случае с кишечной палочкой, при сопоставлении состояния инкубационных смесей через 12 и 24 ч эксперимента становится заметным реверсивное изменение оптической плотности, причина которого — ускорение развития культуры за счёт снижения антибактериальных эффектов гентамицина антиоксидантами.

Введение гентамицина вызывает статистически значимое снижение концентрации церулоплазмينا у животных с перитонитом, вызванным как *Escherichia coli*, так и *Klebsiella pneumoniae* (p=0,017 для обоих возбудителей), подтверждающее эффективность антибиотика (рис. 1). У всех крыс, дополнительно получавших антиоксиданты, такое снижение отсутствует, что свидетельствует об уменьшении антибактериального действия гентамицина.

Введение гентамицина приводит к значимому повышению плазменных концентраций мочевины и креатинина у животных с перитонитом, вызванным как одним, так и другим возбудителем. При этом дополнительное введение антиоксидантов не

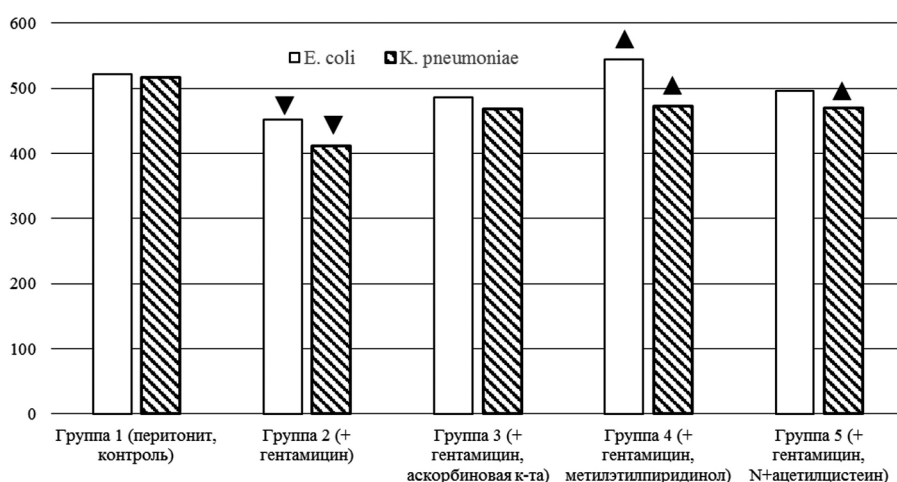


Рис. 1. Концентрация церулоплазмينا (мг/л) в плазме крови крыс с перитонитом при применении гентамицина и его комбинаций с антиоксидантами; ▼ — значимое различие в сравнении с группой №1 (контрольной), $p < 0,05$; ▲ — значимое различие в сравнении с группой №2, получавшей только гентамицин, $p < 0,05$

Таблица 4

Влияние антиоксидантов на нефротоксичность гентамицина в условиях экспериментального бактериального перитонита

Группа	Описание	Значение показателя, Ме (25%; 50%)	P ₁	P ₂
Перитонит, вызванный <i>Escherichia coli</i>				
Концентрация мочевины в плазме, ммоль/л	<i>Escherichia coli</i> (n=7)	2,48 (2,23; 2,67)	—	—
	+ гентамицин (n=7)	5,08 (4,14; 7,03)	<0,001	—
	+ аскорбиновая кислота (n=7)	4,26 (3,62; 4,65)	<0,001	0,165
	+ метилэтилпиридинол (n=7)	5,13 (4,06; 6,47)	<0,001	0,805
	+ N-ацетилцистеин (n=7)	4,89 (3,74; 5,21)	0,011	0,383
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	<i>Escherichia coli</i> (n=7)	66,3 (60,7; 70,3)	—	—
	+ гентамицин (n=7)	76,4 (75,3; 94,5)	0,001	—
	+ аскорбиновая кислота (n=7)	80,4 (72,9; 88,3)	0,026	0,805
	+ метилэтилпиридинол (n=7)	89,9 (77,8; 110,0)	0,002	0,383
	+ N-ацетилцистеин (n=7)	93,9 (82,0; 106,2)	0,011	0,383
Перитонит, вызванный <i>Klebsiella pneumoniae</i>				
Концентрация мочевины в плазме, ммоль/л	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=7)	2,25 (1,94; 2,56)	—	—
	+ гентамицин (n=7)	4,67 (4,48; 5,15)	<0,001	—
	+ аскорбиновая кислота (n=7)	4,81 (4,60; 5,39)	<0,001	0,710
	+ метилэтилпиридинол (n=7)	5,29 (4,40; 5,62)	<0,001	0,456
	+ N-ацетилцистеин (n=7)	4,81 (4,41; 5,40)	<0,001	0,805
Концентрация креатинина в плазме, мкмоль/л	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=7)	55,8 (49,4; 60,0)	—	—
	+ гентамицин (n=7)	95,6 (88,3; 105,7)	<0,001	—
	+ аскорбиновая кислота (n=7)	96,1 (89,5; 102,4)	<0,001	0,902
	+ метилэтилпиридинол (n=7)	98,1 (90,9; 107,6)	<0,001	0,620
	+ N-ацетилцистеин (n=7)	96,9 (86,1; 105,0)	<0,001	0,805

Примечание: p₁ — значимость различий по сравнению с контрольной группой, не получавшей лечение; p₂ — значимость различий с группой, получавшей только гентамицин.

уменьшает нефротоксичность антибиотика (табл. 4).

В первой части работы проводилось исследование периодических бактериальных культур. Полученные результаты имеют первостепенную значимость, так как одно-

значно определяют взаимодействие микроорганизмов, антиоксидантов и антибактериальных средств без влияния факторов живого организма, прежде всего — иммунного ответа, систем биотрансформации и элиминации лекарственных средств.

По данным М.А. Kohanski и соавт. (2007), взаимодействие аминокликозидов с рибосомами приводит к повреждению железо-серных кластеров, делая ионы железа доступными для реакции Фентона, в результате которой происходит генерация токсических гидроксильных радикалов, повреждающих нуклеиновые кислоты, белки и липиды [10]. Перехватывая свободные радикалы, антиоксиданты, вероятно, устраняют данный компонент действия гентамицина, за счёт чего снижается чувствительность к ним *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*.

В пользу значительной роли усиления процессов свободнорадикального окисления в механизме действия аминокликозидов свидетельствует тот факт, что пробактериальное действие наблюдается у веществ разного химического строения, объединённых наличием антиоксидантных свойств. Снижение эффективности терапии при совместном использовании гентамицина с антиоксидантами подтверждает результаты, полученные в эксперименте *in vitro*.

Гентамицин относится к наиболее нефротоксичным антибактериальным средствам. В нашем исследовании введение гентамицина вызвало у животных явные признаки поражения почек, проявляющиеся в повышении уровня креатинина и мочевины в плазме крови, что является типичной картиной манифестации нефротоксичности антибиотика [5].

Считают, что окислительный стресс играет ключевую роль в нефротоксичности гентамицина. Это мнение базируется в основном на экспериментальных исследованиях, указывающих, что назначение гентамицина с различными антиоксидантами защищает от гентамицин-индуцированного повреждения почек [4], хотя клинические данные не так убедительны [11].

Гентамицин увеличивает синтез митохондриями активных форм кислорода, которые повреждают белки, липиды и нуклеиновые кислоты клеток, тем самым, ухудшая их функции и приводя к гибели, способствуют сокращению сосудов, принимают участие в воспалительной реакции [12]. Активные формы кислорода участвуют в становлении и реализации сигнальных путей воспалительного процесса, что объясняет эффективность антиоксидантов в уменьшении повреждения почек гентамицином и других нефротоксинов, вызывающих некроз эпителиоцитов канальцев [7].

В нашем исследовании изучаемые анти-

оксиданты не проявили значимые нефропротективные свойства. Детально сравнивая полученные результаты с данными других авторов, становится понятно, что патогенетическое обоснование назначения антиоксидантов для снижения нефротоксичности не всегда приводит к соответствующему эффекту на практике.

Так, в исследовании, проведённом De la Cruz Rodriguez и соавт. (2010), установлено, что N-ацетилцистеин не снижает нефротоксичность гентамицина [8]. С учётом того обстоятельства, что в указанном исследовании гентамицин вводили в дозе 50 мг/кг (в нашем исследовании — 30 мг/кг), а N-ацетилцистеин — в дозе 10 мг/кг (в нашем исследовании — 80 мг/кг), следует сделать вывод о том, что N-ацетилцистеин в условиях применения гентамицина имеет низкий нефропротективный потенциал, не увеличивающийся даже при многократном увеличении дозы.

С другой стороны, исследование М. Hanaa и соавт. (2012), в котором доза гентамицина была ещё больше (80 мг/кг), а доза N-ацетилцистеина составляла 40 мг/кг, всё же показало слабый нефропротективный эффект антиоксиданта [9].

Ранее Т.Н. Ben Ismail и соавт. (1994) было установлено, что аскорбиновая кислота в дозе 50 мг/кг (внутримышечно в течение 14 дней) оказалась неэффективной в снижении нефротоксичности гентамицина (80 мг/кг), применяемого последние 6 дней лечения. В дозе 100 мг/кг в течение 14 дней аскорбиновая кислота значительно уменьшает поражение почек гентамицином, но в дозе 200 мг/кг увеличивает нефротоксичность гентамицина, вызывает увеличение уровня креатинина и мочевины в плазме крови, усугубляет повреждение канальцевого эпителия [6].

В нашем исследовании аскорбиновая кислота не оказала нефропротективного эффекта, что, вероятно, связано с иной схемой применения антиоксиданта.

Метилэтилпиридинол, проявляющий не только антиоксидантные свойства, связанные с перехватом активных форм кислорода и хелатированием ионов железа, но и антигипоксические свойства, значимого нефропротективного эффекта также не проявил.

ВЫВОДЫ

1. Аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол и N-ацетилцистеин снижают антибактериальную активность гентамицина

в отношении *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae in vitro* и *in vivo*.

2. Аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол и N-ацетилцистеин в дозе 80 мг/кг не уменьшают нефротоксичность гентамицина в условиях бактериального перитонита крыс, вызванного *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*.

3. Применение антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, метилэтилпиридинола, N-ацетилцистеина) в условиях терапии гентамицином не только нерационально, но и противопоказано.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика*. Справочник. В 2 т. 2-е изд. Мн.: Интерпрессервис. 2003; 2: 463 с. [Kamyshnikov V.S. *Kliniko-biokhimeskaya laboratornaya diagnostika*. Clinical and biochemical laboratory diagnostics. Reference book. In 2 vols. 2nd ed. Minsk: Interpresservis. 2003; 2: 463 p. (In Russ.)]

2. Лакин Г.Ф. *Биометрия*. Учебное пособие для биологических специальных вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа. 1990; 352 с. [Lakin G.F. *Biometriya*. (Biometry.) Textbook for biological special higher education institutions. 4th ed., revised and enlarged. Moscow: Vysshaya shkola. 1990; 352 p. (In Russ.)]

3. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 2005; 832 с. [*Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. (Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances.) Ed. by R.U. Khabriev. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: Meditsina. 2005; 832 p. (In Russ.)]

4. Ali B.H. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem. Toxicol.* 2003; 41: 1447–1452.

5. Banday A.A., Farooq N., Priyamvada S. et al. Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues. *Life Sci.* 2008; 82: 450–459.

6. Ben Ismail T.H., Ali B.H., Bashir A.A. Influence of iron, deferoxamine and ascorbic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Gen. Pharmacol.* 1994; 25 (6): 1249–1252.

7. Cachofeiro V., Goicochea M., de Vinuesa S.G. et al. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2008; suppl.: S4–S9.

8. De la Cruz Rodríguez L.C., Araujo C.R., Posleman S.E. et al. Attenuation of gentamicin-induced nephrotoxicity: trimetazidine versus N-acetyl cysteine. *J. Appl. Toxicol.* 2010; 30 (4): 343–353.

9. Hanaa M., El-Fattah A., El-Sheikh N.M. Evaluation of chemoprotective role of N-acetylcysteine and vitamin E on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Australian J. Basic Applied Sci.* 2012; 6 (3): 263–270.

10. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* 2007; 130: 797–810.

11. Koyner J.L., Sher Ali R., Murray P.T. Antioxidants. Do they have a place in the prevention or therapy of acute kidney injury? *Nephron Exp. Nephrol.* 2008; 109: e109–e117.

12. Morales A.I., Demaille D., Prieto M. et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney Int.* 2010; 77: 861–869.

13. Selby N.M., Shaw S., Woodier N. et al. Gentamicin-associated acute kidney injury. *QJ. Med.* 2009; 102: 873–880.

14. Stojiljkovic N., Stoiljkovic M., Randjelovic P. et al. Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2012; 64 (1–2): 69–74.

УДК 612.084: 612.438: 615.277.3

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ КРЫС РЕПРОДУКТИВНОГО ПЕРИОДА НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ИММУНОДЕПРЕССАНТА ЦИКЛОФОСФАМИДА

Инеcса Венидиктовна Бобрышева*

Луганский государственный медицинский университет, г. Луганск, Украина

Поступила 29.02.2016; принята в печать 29.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/КМЖ2016-578

Цель. Изучить особенности морфологических преобразований вилочковой железы (тимуса) крыс репродуктивного периода на фоне введения иммунодепрессанта циклофосфамида.

Методы. Препараты тимуса изучали с помощью анализатора изображений на базе микроскопа Olympus CX-41. В морфофункциональных зонах тимуса определяли относительную площадь (в процентах), занимаемую субкапсулярной, внутренней кортикальной зонами коркового вещества и мозговым веществом долек; плотность расположения клеток, процентное содержание клеточных элементов: лимфобластов, малых, средних и больших лимфоцитов, макрофагов, митотически делящихся, деструктивно изменённых клеток, эпителиоретикулоцитов.

Результаты. Установлено статистически значимое уменьшение относительной площади субкапсулярной и внутренней кортикальной зон коркового вещества, а также увеличение данного показателя в мозговом веществе тимической паренхимы через 1–30 сут после введения циклофосфамида. Плотность расположения клеток снижается как в корковом, так и в мозговом веществе. Изменяется цитоархитектоника морфофункциональных