

8. Limber G. K., Davis R. F., Bakerman S. Blood, 1970, 36, 111.
9. Lowry O. H., Rosebrugh N. I., Faur A. L., Randall R. I. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
10. Morimitsu Nishikimi, N. Appaji Rao, Kuntio Jagi Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 3, 849.

УДК 615.332.038.074:612.11/12

А. А. НАВАСАРДЯН

## О СВЯЗЫВАНИИ ГЕНТАМИЦИНА С БЕЛКОВЫМИ ФРАКЦИЯМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ

В экспериментальных условиях изучен характер связывания гентамицина с сывороточными белковыми фракциями как в интактном, так и в иммунном организме. Установлено, что препарат в организме связывается как с альбуминами, так и глобулинами, однако степень связывания его с глобулиновыми фракциями значительно выше и находится в строгой зависимости от фаз развития иммунитета.

Широкое внедрение в практику антибиотиков обогатило арсенал антибактериальных средств борьбы с инфекцией, однако наряду с огромным положительным действием антибиотиков в настоящее время обнаружены факты их негативного действия на различные физиологические отправления организма, в частности на иммунитет.

Выяснению механизма нарушения иммуногенеза посвящено множество работ [3, 6, 7, 12, 13, 17 и др.], однако некоторые вопросы фармакокинетики антибиотиков в организме, касающиеся выяснения закономерностей распределения и связывания их с различными биосубстратами, сроков сохранения на фоне иммунологических перестроек, изучены недостаточно и в настоящее время решение этих вопросов сохраняет свою актуальность.

По имеющимся литературным данным [1, 4, 5, 8—10, 14—16, 19, 21, 23], значительная часть введенного в организм антибиотика в органах и тканях образует с клеточными субстанциями комплексные связи различного характера, при этом особое значение придается связыванию антибиотиков с белками сыворотки крови.

Белкам крови принадлежит огромная роль в осуществлении многообразных физиологических отправлений организма. Особо следует отметить их роль в доставке различных питательных и лекарственных веществ к клеткам органов и тканей, где они комплексуются с различными клеточными субстанциями.

По мнению ряда авторов [2, 11, 12, 18, 20, 22 и др.], пенициллин и полусинтетические препараты связываются только с альбуминами, антибиотики тетрациклинового ряда—со всеми сывороточными белковыми фракциями, мономицин—главным образом с альбуминами, а стрептомицин—с альбуминами и гамма-глобулинами. Однако вопрос связывания антибиотиков с белками сыворотки крови в настоящее время нельзя считать полностью решенным.



Исходя из важности и перспективности разрабатываемого вопроса, мы поставили задачу изучить закономерности связывания гентамицина с белковыми фракциями сыворотки крови кроликов при его введении в организм в различные периоды иммуногенеза.

### Материал и методика

Гентамицин вводили кроликам породы «Шиншилла» обоего пола, массой 1,8—2,8 кг два раза в день в течение одного или трех дней внутримышечно в дозе 10 мг/кг массы.

Животных иммунизировали коли-паратифозной формол-квасцовой вакциной подкожно в объеме 1 мл/кг массы, содержащей 4 млрд м. т. соответствующих бактерий.

В первом варианте опытов первую инъекцию гентамицина производили одновременно с введением вакцины, во втором—спустя 7, третьем—14 и четвертом—21 день после иммунизации. Данные каждого варианта опытов сравнивали с данными контрольных групп, где животные получали только гентамицин.

В процессе наблюдения в различные сроки (через 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 и 96 часов, а также 5, 7, 10 и 13 дней) после инъекции гентамицина животных забивали и в сыворотке крови определяли как свободно циркулирующую, так и связанную фракций препарата.

Определение свободно циркулирующей фракции препарата производили по общепринятой методике. Связанный с альбуминами и глобулинами антибиотик определяли во фракциях белков сыворотки крови, очищенных методами высаливания и диализа с последующей лиофильной сушкой полученных препаратов. Изложенный прием обработки белковых фракций предложен нами, а определение в них остаточного количества препарата производили термическим методом, предложенным Л. Т. Даниеловой [4].

### Результаты и их обсуждение

Проведенные нами наблюдения показали, что гентамицин, введенный в организм, всасывается быстро и его концентрация в крови достигает максимума через час после инъекции. При этом концентрация свободно циркулирующей фракции препарата составляла 160 ЕД/мл, а связанной с учетом суммарного количества препарата в альбуминах и глобулинах—118,8 ЕД/мл. К трем часам после введения препарата происходит снижение концентрации свободно циркулирующей фракции, составляя 7,4—26,2 ЕД/мл при достаточно высокой концентрации связанной фракции (30,9—121,0 ЕД/мл). К шести часам наблюдалось дальнейшее снижение концентрации свободно циркулирующей фракции (от следов до 6,0 ЕД/мл) при несравнимо высокой концентрации связанной (32,3—129,2 ЕД/мл). В последующие сроки, спустя 12 и более часов после инъекции, препарат в свободном виде не выявлялся, тогда как связанный с фракциями белков крови он выявлялся вплоть до 5-го дня после инъекции.



Приведенные в таблице данные показывают, что гентамицин связывается как с альбуминами, так и с глобулинами, однако степень связывания его с глобулинами значительно выше.

Таблица

Содержание гентамицина, связанного с белковыми фракциями сыворотки крови кроликов, в различные периоды иммуногенеза (в ЕД/г)\*

| Сроки исследования | Контроль |       | Сроки и длительность введения препарата в организм в процессе иммунизации |       |              |       |               |       |               |       |
|--------------------|----------|-------|---------------------------------------------------------------------------|-------|--------------|-------|---------------|-------|---------------|-------|
|                    |          |       | одновременно с иммунизацией                                               |       | через 7 дней |       | через 14 дней |       | через 21 день |       |
|                    | 1 день   | 3 дня | 1 день                                                                    | 3 дня | 1 день       | 3 дня | 1 день        | 3 дня | 1 день        | 3 дня |
| 1 ч.               | 17,4     | 28,6  | 15,9                                                                      | 20,0  | 5,3          | 22,2  | 25,1          | 27,2  | 37,7          | 50,8  |
|                    | 26,3     | 47,0  | 40,0                                                                      | 80,0  | 10,4         | 65,4  | 56,4          | 34,0  | 53,3          | 68,0  |
| 3 ч.               | 27,5     | 20,0  | 16,6                                                                      | 20,0  | 10,0         | 41,6  | 17,5          | 40,0  | 20,0          | —     |
|                    | 33,4     | 41,2  | 19,1                                                                      | 40,0  | 20,9         | 80,0  | 20,0          | 53,8  | 62,4          | —     |
| 6 ч.               | 14,2     | 21,2  | 18,0                                                                      | 20,0  | 20,0         | 33,5  | 12,3          | 59,2  | —             | 34,0  |
|                    | 28,3     | 34,5  | 24,6                                                                      | 47,0  | 31,4         | 56,4  | 20,0          | 70,0  | —             | 64,0  |
| 12 ч.              | 18,04    | 23,4  | 27,2                                                                      | 26,2  | 20,0         | 25,9  | 8,9           | —     | 12,7          | —     |
|                    | 20,0     | 20,0  | 40,0                                                                      | 52,4  | 35,9         | 56,4  | 10,0          | —     | 38,0          | —     |
| 24 ч.              | —        | 21,8  | 24,6                                                                      | 20,0  | 5,7          | 49,0  | 25,2          | 72,6  | 15,2          | 24,6  |
|                    | —        | 43,6  | 40,0                                                                      | 40,0  | 20,0         | 65,2  | 25,5          | 68,0  | 38,0          | 70,6  |
| 48 ч.              | 28,6     | 23,3  | 20,0                                                                      | 21,4  | 14,2         | 20,0  | 34,7          | 35,6  | 11,0          | 13,0  |
|                    | 43,6     | 36,5  | 26,6                                                                      | 20,0  | 40,0         | 55,0  | 80,0          | 31,7  | 19,9          | 16,2  |
| 72 ч.              | 15,14    | 14,2  | 14,2                                                                      | 20,0  | 28,3         | 23,6  | 29,2          | 80,0  | 14,8          | 16,6  |
|                    | 40,0     | 15,7  | 8,0                                                                       | 10,0  | 45,2         | 43,4  | 46,0          | 40,0  | 37,7          | 41,6  |
| 96 ч.              | —        | —     | 9,0                                                                       | 10,0  | 2,5          | 33,3  | 14,3          | —     | —             | —     |
|                    | —        | —     | 14,2                                                                      | 15,9  | 10,0         | 53,2  | 22,2          | —     | —             | —     |
| 5 дн.              | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 40,0  | 22,2          | 18,1  | 10,8          | 18,1  |
|                    | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 40,0  | 28,0          | 22,0  | 21,2          | 24,0  |
| 7 дн.              | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | 24,6  | 0             | 0     |
|                    | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | 33,6  | 0             | 0     |
| 10 дн.             | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | следы | 0             | 0     |
|                    | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | следы | 0             | 0     |
| 13 дн.             | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | 0     | 0             | 0     |
|                    | 0        | 0     | 0                                                                         | 0     | 0            | 0     | 0             | 0     | 0             | 0     |

\* В числителе — содержание препарата в альбуминах, в знаменателе — в глобулинах.

Как показывают полученные данные, уровень концентрации препарата, связанного с белковыми фракциями сыворотки крови, в определенной степени зависит от кратности введения. Так, в пробах, полученных при введении препарата в течение одного дня, его концентрация во все сроки исследования (с некоторыми колебаниями) ниже, чем при введении в течение трех дней.

Установлена также определенная зависимость концентрации препарата, связанного с белковыми фракциями сыворотки крови, от периода развития иммуногенеза. Так, концентрация связанного препарата в пробах, полученных на 7 и 14-й дни после иммунизации, сравнитель-



но ниже, чем в контроле и в пробах, взятых при одновременном введении препарата с вакциной. Выявленный факт снижения степени связывания антибиотика в период активной иммунологической перестройки организма, по-видимому, следует объяснить «занятостью» глобулинов антигенными детерминантами, чего не наблюдается при введении препарата в индуктивную фазу иммуногенеза и в контроле. В период наступления постепенного угасания иммунологических процессов наблюдается явная тенденция к выравниванию уровня концентрации связанного гентамицина.

При снижении концентрации свободно циркулирующей фракции препарата или полном ее отсутствии в крови происходит реабсорбция—разрыв комплексной связи субстрат—антибиотик. В первую очередь, это происходит в белковых фракциях сыворотки крови, а затем в других органах и тканях с высвобождением связанного антибиотика. Часть высвободившегося препарата выводится из организма, а другая—током крови разносится к органам и тканям, вновь диффундируя в их клетки и образуя новые комплексы. Очевидно, эти процессы в организме продолжаются до тех пор, пока препарат, находящийся в связанном виде в органах и тканях, полностью не выделится из организма.

Следует предположить, что процесс комплексообразования антибиотиков с белками крови, очевидно, происходит не так, как в клетках органов и тканей. Очень вероятно, что в крови процесс этот обусловлен своеобразием выполняемых белками крови функций, а именно: являясь транспортерами для переноса различных веществ к клеткам органов и тканей, в том числе и антибиотиков, белки крови легко комплексуется с ними и так же легко отдают их клеткам.

Полученные данные показывают, что в зависимости от периода развития иммунологических процессов меняется и степень связывания препарата с сывороточными белковыми фракциями. Так, в период интенсивного иммунного ответа снижается степень связывания гентамицина в крови, тогда как, по некоторым нашим данным, в указанный период значительно повышается связывающая способность клеток лимфотетической системы. Следовательно, процесс связывания гентамицина в органах, тканях и в крови имеет обратную направленность, а именно: при высокой концентрации препарата во внутренних органах наблюдается его сравнительно низкий уровень в крови, и наоборот. Таким образом, из приведенных данных видно, что иммунизация животных небезразлична для распределения и связывания гентамицина в крови.

Вышеизложенное дает нам основание заключить, что характер связывания гентамицина с белками сыворотки крови у иммунизированных животных является одним из закономерных проявлений, отражающих в какой-то степени общий иммунологический статус организма.

Проблемная лаборатория антибиотиков при каф. микробиологии и вирусологии  
Ереванского зооветеринарного института      Поступила 24/XI 1982 г.



ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԱՅԻՆ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ  
ԳԵՆՏԱՄԻՑԻՆԻ ՀԵՏ ԿԱՊՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Փորձարարական պայմաններում ուսումնասիրվել է արյան շիճուկի սպիրտակուցային ֆրակցիաների գենտամիցինի հետ կապման բնույթը՝ ինչպես ինտակտ, այնպես էլ իմուն օրգանիզմում:

Բացահայտվել է, որ գենտամիցինը օրգանիզմում կապվում է ինչպես ալբումինային, այնպես էլ գլոբուլինային ֆրակցիաների հետ: Սակայն առավել բարձր խտությամբ այն հայտնաբերվում է գլոբուլինների հետ: Ընդվորում, բջիջների հետ գենտամիցինի կապման աստիճանը խիստ կախված է իմունիտետի զարգացման փուլերից: Այսպես, գենտամիցինը իմունոլոգիական պրոցեսների բուռն զարգացման փուլում կենդանիներին ներարկելիս իջնում է շիճուկի սպիրտակուցների կլանողական ունակությունը, հավանաբար կապված հակաճնային դետերմինանտներով գլոբուլինների պաշարմամբ, որը չի նկատվում իմունազոյացման այլ փուլերում:

A. A. NAVASARDIAN

## ON THE BINDING OF PROTEIN FRACTIONS WITH GENTAMYCIN

It has been demonstrated that in the organism gentamycin is bound with the albumins as well as the globulins, but its concentrations are higher in the globulin fractions.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Амбарцумян Л. А. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1978.
2. Графнаторова И., Шмагел О. Чехосл. медобзор, 1960, 6, 3, стр. 236.
3. Грезин В. Ф., Ковалев В. Ф. Ветеринария, 1968, 12, стр. 63.
4. Даниелова Л. Т. Антибиотики, 1974, 11, стр. 1032.
5. Қазарян Г. М. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1979.
6. Караев З. О. Автореф. докт. дисс. Л., 1975.
7. Карпуть И. М. Ветеринария, 1974, 11, стр. 59.
8. Карпуть И. М. Антибиотики, 1976, 1, стр. 75.
9. Кивман Г. Я. Антибиотики, 1959, 3, стр. 40.
10. Кивман Г. Я. и др. Антибиотики, 1962, 4, стр. 370.
11. Кивман Г. Я. и др. Антибиотики, 1982, 1, стр. 45.
12. Коваленко Я. Р., Татаринцев Н. Т. Ветеринария, 1962, 2, стр. 8.
13. Кокушина Т. М. В кн.: Антибиотики и иммунитет. Л., 1963.
14. Нейфах Е. А. Лабор. дело, 1964, 9, стр. 570.
15. Нурадян А. Г. Антибиотики, 1976, 7, стр. 625.
16. Ролинсон Г. Н. Антибиотики, 1971, 9, стр. 771.
17. Шевяков И. О., Колесникова Ю. С. Антибиотики, 1959, 4, 1, стр. 66.
18. Boxer G. et al. J. Pharm. Exper. Therap., 1949, 97, 1, 93.
19. Fabre I. et al. Schweiz. med. wachr., 1971, Bd 101.
20. Felder O. Klin. Wochenschr., 1953, 19, 20.
21. Harry E. G. et al. J. Sci. T. Agris., 1958, 9, 2, 82.
22. Klotz I. M. Arch. Biochem., 1950, 126, 3, 420.
23. Milch R. A. et al. J. nat. cancer. Inst., 1957, 19, 1.