

А. А. НАВАСАРДЯН

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ГЕНТАМИЦИНА В
ОРГАНИЗМЕ ИММУНИЗИРОВАННЫХ КРОЛИКОВ

Изучалась закономерность распределения и связывания гентамицина, введенного в различные периоды иммуногенеза кроликам, иммунизированным коли-паратифозной вакциной. Установлена зависимость уровня концентрации препарата как от вида органа или ткани, так и от фаз развития иммунного ответа.

Изучению иммунодепрессивности антибиотиков посвящено множество работ [2, 5—7, 9, 10, 14, 17, 18—20 и др.], однако некоторые вопросы иммуногенеза, связанные с их кинетикой в организме, еще недостаточно изучены.

Имеющиеся в литературе данные [8, 11, 16, 21, 22 и др.] указывают, что антибиотики с клетками органов и тканей образуют комплексные связи, тем самым способствуют накоплению их в организме, а комплексобразование следует рассматривать как процесс обратимый. По данным ряда авторов [1, 3, 12, 13, 15 и др.], при нарушении функциональной деятельности организма, в том числе и при иммуногенезе, изменяется характер распределения в нем антибиотиков.

Цель данного исследования сводится к изучению характера влияния иммунной перестройки организма на процессы распределения и связывания гентамицина в органах и тканях, а также к определению сроков сохранения его в организме в различные периоды иммуногенеза.

Материал и методы

Гентамицин вводили кроликам породы «Шиншилла» обоего пола массой 1,8—2,8 кг из расчета 10 мг/кг два раза в течение дня в мышцу с интервалом между инъекциями 10—12 часов. Иммунизацию кроликов проводили коли-паратифозной бивалентной формолквасцовой вакциной подкожно однократно в объеме 1 мл/кг массы. Опыты были поставлены в различных сочетаниях введения гентамицина и вакцины.

В первом варианте первую инъекцию гентамицина в организм производили одновременно с введением вакцины, во втором—спустя 7, в третьем—14 и в четвертом—21 день после иммунизации.

В процессе наблюдения через 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 и 96 часов, а также 5, 7, 10 и 13 дней после инъекции препарата животных забивали. Материалом исследования служили внутренние органы, ткани и жидкости организма. В опытах были использованы 45 кроликов. Каждая проба исследовалась в 10 и более повторностях.

Концентрацию свободной фракции препарата в пробах определяли методом диффузии в агар [4], связанную—термическим методом [3].

Связанный с альбуминами и глобулинами антибиотик определяли

во фракциях сыворотки крови, очищенных методами высаливания и диализа с последующей лиофильной сушкой полученных препаратов.

В качестве тест-микроба применяли культуру спорообразующей бактерий *Bac. subtilis* штамм L₂.

Результаты и обсуждение

Установлено, что гентамицин связывается как с альбуминами, так и глобулинами сыворотки крови, однако в высокой концентрации он преимущественно выявляется связанным с последними. Выявлено, что независимо от сроков введения гентамицина в организм в процессе иммуногенеза концентрация его в крови как свободной, так и связанной фракций была всегда выше, чем в органах и тканях (кроме почек).

Из приведенных в табл. 1 данных видно, что максимальная концентрация препарата в крови животных достигается через час после инъекции с превалированием свободноциркулирующей фракции (106,3—251,0 ед/мл, ед/г). К трем часам после введения препарата происходило резкое снижение содержания свободной фракции (7,9—20,0 ед/мл) при относительно высокой концентрации связанной, к шести часам содержание свободной фракции в крови колебалось в минимальных пределах (1,0—6,0 ед/мл) при несравнимо высокой концентрации связанной. В последующие сроки, начиная с 12 часов, препарат в свободном виде в крови не выявлялся, тогда как в связанном виде выявлялся до 5—7-го дня после инъекции.

Уровень концентрации связанного с сывороточными белками препарата в определенной степени зависит от периода иммуногенеза. Так, в пробах, взятых у животных через час после инъекции спустя 7 и 14 дней после иммунизации, содержание препарата сравнительно ниже, чем в контроле и при одновременном его введении с вакциной. Аналогичная картина отмечена при исследовании проб в последующие сроки: 3, 6, 12 часов после инъекции препарата.

Снижение степени связывания антибиотика в крови опытных животных (7 и 14-й дни) в период бурного иммунного ответа, по-видимому, следует объяснить блокированием сывороточных глобулинов антигенными детерминантами, не имеющими места в индуктивной фазе иммуногенеза.

Процесс комплексообразования антибиотиков с белками крови, очевидно, происходит не так, как в клетках органов и тканей. Вероятно, этот процесс обусловлен своеобразием выполняемых белками крови функций, а именно: являясь транспортерами для переноса к клеткам органов и тканей различных веществ, в том числе и антибиотиков, белки крови могут легко комплексоваться с последними, а также легко отдавать их.

При определении содержания гентамицина в органах и тканях организма установлено легкое диффундирование его через гистогематические, и слабое—через гематоэнцефалические барьеры.

Следует отметить, что концентрация, степень связывания и сроки сохранения препарата в организме находятся в строгой зависимости

Содержание гентамицина в сыворотке крови животных в различные периоды иммуногенеза (ед/мл, ед/г)

Сроки определения препарата после инъекции	Фракции препарата		Контроль	Сроки введения препарата при иммунизации			
				одновременно	через 7 дней	через 14 дней	через 21 день
Через 1 час	свободная		154,0 $\pm$ 6,0	142 $\pm$ 18,4	113,2 $\pm$ 0	70,4 $\pm$ 0	160,0 $\pm$ 0
	связанная	альбум.	17,4 $\pm$ 6,9	15,9 $\pm$ 0	5,3 $\pm$ 0,3	17,5 $\pm$ 1,6	37,7 $\pm$ 2,3
		глобул.	26,3 $\pm$ 5,9	40,0—0	10,4 $\pm$ 2,4	20,0 $\pm$ 0	53,3 $\pm$ 2,8
	Всего		194,0	197,9	128,9	106,3	251,0
Через 3 часа	свободная		20,0 $\pm$ 0	15,4 $\pm$ 0	7,9 $\pm$ 0	18,52 $\pm$ 0	не исслед.
	связанная	альбум.	14,2 $\pm$ 0	16,6 $\pm$ 2,4	10,0 $\pm$ 0	17,5 $\pm$ 1,6	20,0 $\pm$ 0
		глобул.	28,3 $\pm$ 0	19,1 $\pm$ 5,0	20,9 $\pm$ 0,9	20,0 $\pm$ 0	62,4 $\pm$ 1,0
	всего		80,9	51,1	38,8	56,02	82,4
Через 6 часов	свободная		6,04 $\pm$ 0,52	1,42 $\pm$ 0	1,0 $\pm$ 0	1,57 $\pm$ 0	2,5 $\pm$ 0
	связанная	альбум.	18,04 $\pm$ 0	18,0 $\pm$ 4,1	20,0 $\pm$ 0	12,3 $\pm$ 0,3	не исслед.
		глобул.	20,0 $\pm$ 0	24,6 $\pm$ 0	31,4 $\pm$ 0,56	20,0 $\pm$ 0	не исслед.
	всего		48,5	44,02	52,4	33,87	—
Через 12 часов	свободная		—	—	следы	—	—
	связанная	альбум.	25,2 $\pm$ 0	27,2 $\pm$ 2,0	20,0 $\pm$ 0	8,9—0,8	12,7 $\pm$ 1,0
		глобул.	40,0 $\pm$ 0	40,0 $\pm$ 0	35,9 $\pm$ 3,4	10,0 $\pm$ 0	38,0 $\pm$ 2,0
	всего		38,04	67,2	55,9	18,9	50,7

от вида органа или ткани и от периода развития иммунологических перестроек. При этом была выявлена наиболее активная связывающая способность клеток почечной ткани, затем клеток лимфоидных органов и тканей костного мозга и легких. Препарат в незначительном количестве обнаружен в клетках мышечной ткани, где он определяется лишь в первые часы после инъекции, в клетках печеночной ткани, что, очевидно, связано с ее детоксицирующей и нейтрализующей функцией, а также в клетках головного и спинного мозга, где он определяется лишь в первые часы после введения препарата.

Данные, полученные по определению содержания гентамицина в органах и тканях, выявленного через час после инъекции в различные периоды иммуногенеза, представлены в табл. 2.

Как видно, уровень содержания препарата в пробах, полученных при одновременном введении вакцины и гентамицина, по сравнению с

Содержание гентамицина в организме кроликов через час после введения
в различные периоды иммуногенеза (ед/мл, ед/г)

Объекты исследования	Контроль	Сочетание препарата с иммунизацией			
		одноврем.	через 7 дн.	через 14 дн.	через 21 день
Лёгкие	$3,17 \pm 0,06$	$8,0 \pm 0$	$8,0 \pm 0$	$6,48 \pm 0$	$3,4 \pm 0$
Сердце	$1,9 \pm 0,6$	$1,78 \pm 0,5$	$8,0 \pm 0$	$13,0 \pm 0$	$2,46 \pm 0$
Печень	следы	$2,17 \pm 0,15$	следы	$4,0 \pm 0$	$0,25 \pm 0$
Почки	$570,0 \pm 70,7$	$570,0 \pm 78,0$	$141,3 \pm 0$	480 ± 0	636 ± 0
Селезенка	$2,8 \pm 0,27$	$3,26 \pm 1,19$	$4,0 \pm 0$	$20,0 \pm 0$	$4,41 \pm 0$
Костный мозг	$3,28 \pm 0,4$	$5,64 \pm 0$	$6,8 \pm 0$	12 ± 0	$4,0 \pm 0$
Тимус	$3,0 \pm 0$	$5,84 \pm 0$	$5,04 \pm 0$	$8,0 \pm 0$	$2,7 \pm 0$
Мезентериальн. лимфоузлы	$3,23 \pm 0$	$3,21 \pm 0,03$	$4,0 \pm 0$	$8,0 \pm 0$	$3,0 \pm 0$
Подколенный лимфоузел	$2,44 \pm 0,3$	$8,45 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0$	$8,0 \pm 0$	$16,7 \pm 3,3$
Подмышечный лимфоузел	$3,92 \pm 0$	$3,38 \pm 0,63$	$4,0 \pm 0$	$9,76 \pm 0$	$4,54 \pm 0$
Семенники	$4,0 \pm 0$	—	$2,0 \pm 0$	$3,25 \pm 0$	$3,7 \pm 0$
Мышцы	следы	следы	$8,4 \pm 0,3$	$2,82 \pm 0$	$3,2 \pm 0$
Моча	$1284 \pm 8,0$	$678 \pm 51,0$	636 ± 0	1420 ± 0	$456 \pm 54,0$

контролем, относительно постоянен. При введении же препарата спустя 7 дней после иммунизации его концентрация в костном мозге, тимусе и сердце несколько увеличивается.

На 14-й день после иммунизации содержание препарата в органах и тканях значительно возрастает: в селезенке в 7,1, сердце—6,5, печени—4,0, костном мозге—3,7, тимусе—2,7, легких—2,0, мезентериальном, подколенном и подмышечном лимфоузлах—в 2,4, 3,3 и 2,5 раза соответственно больше, чем в контроле. К 21-му дню после иммунизации у животных сравниваемых групп различия в содержании препарата в пробах почти сглаживаются.

Данные, полученные при исследовании проб, взятых спустя 3, 6, 12 и 24 часа после инъекции препарата во все сроки сочетания введения препарата и вакцины, показали значительное снижение его в органах и тканях, однако сохраняющего сравнительно высокий уровень относительно контроля, что наблюдается чаще у животных, получавших гентамицин спустя 7 или 14 дней после иммунизации.

В пробах, взятых спустя 48, 72 и 96 часов после введения препарата во всех вариантах сочетания введения гентамицина и вакцины, картина резко изменяется. В органах и тканях, за исключением почек, отмечается резкое снижение концентрации препарата.

Исследования, проведенные спустя 5 дней после введения антибиотика, показали его наличие лишь в органах животных, получавших препарат спустя 14 дней после иммунизации. Концентрация препарата при этом в селезенке, костном мозге, легких, подколенном и мезен-

териальном лимфоузлах колебалась в пределах 1,0—3,45, а в почках составляла 47 ед/г.

В контроле в указанный срок концентрация выявленного препарата в пробах была значительно ниже и составляла в селезенке, легких и в костном мозге—0,37, 0,56 и 0,12 соответственно, а в почечной ткани—12,3 ед/г. В остальных органах и тканях как в опыте, так и в контроле препарат либо не выявлялся, либо выявлялся в виде следов. Данные, полученные спустя 7 дней после инъекции препарата, показали его незначительное содержание лишь в пробах животных, получавших препарат спустя 21 день после иммунизации. При этом концентрация препарата в мезентериальном лимфоузле, селезенке и костном мозге составляла 0,24, 0,28 и 0,78, а в почечной ткани 19 ед/г.

В пробах, взятых в более отдаленные после инъекции препарата сроки (10 и 13 дней), выявлено незначительное содержание его лишь в почечной ткани (4,04 и 1,77 ед/г соответственно) и следы в костном мозге и легких.

Из приведенных данных следует, что абсорбция и последующее связывание препарата клетками органов и тканей интенсивнее всего происходит в течение первых трех часов после его введения. Как видно, в некоторых органах и тканях гентамицин в связанном виде сохраняется до 5, 7, 10 дней.

Важным моментом в кинетике гентамицина в организме является его депонирование в органах и тканях лимфоидной системы в период с 7 по 21-й день после иммунизации, что, очевидно, связано с периодом бурного иммунного ответа, выражающегося в проявлении интенсивных пролиферативных процессов, приводящих к увеличению числа клеток, ответственных за синтез антител, активно абсорбирующих и связывающих антибиотик.

Заметим, что в результате специфического антигенного раздражения (вакциной) у животных, получавших антибиотик, нарушается нормальный физиологический статус клетки, приводящий к задержке элиминации чужеродного агента—антибиотика. В результате в клетке происходит постепенное накопление препарата с последующим его связыванием.

У контрольных животных этот процесс протекает несколько иначе: интактные клетки с нормальным физиологическим статусом активно реагируют на неспецифический раздражитель—антибиотик, быстро освобождаются от него, хотя и не полностью, препятствуя тем самым накоплению и связыванию большого количества препарата.

Установлена зависимость уровня концентрации препарата как от периода развития иммунитета, так и от степени участия того или иного органа или системы в процессе иммунного ответа. Так, препарат в высокой концентрации преимущественно выявляется в органах и тканях, клетки которых непосредственно ответственны за выработку антител. Антибиотик, связываясь с клеточными субстанциями, в них персистирует значительно дольше, чем в других органах.

Высокие концентрации препарата в лимфоидных органах были выявлены преимущественно в продуктивной фазе иммуногенеза.

Как известно, гентамицин является растворимым, а паратифозная вакцина — нерастворимым антигеном. При их одновременном введении в организм животных антибиотик всасывается быстрее и раньше достигает иммунокомпетентных клеток, чем вакцина. Последняя как корпускулярный антиген прежде чем достичь антителообразующих клеток (АОК) непременно должна перевариваться фагоцитами, на что идет определенное время, тогда как антибиотик минует этот барьер. Следовательно, по существу действие вакцины как специфического раздражителя на АОК при одновременном ее введении с антибиотиком, осуществляется на фоне последнего. Важно при этом отметить, что гентамицин блокирует воспринимающие специфические антигенные раздражения поверхности АОК. В результате эти клетки не в состоянии полноценно реагировать на специфические антигенные раздражения, вследствие чего происходит ингибирование процессов, предшествующих выработке антител, что приводит к замедлению или частичному снятию первичного иммунного ответа, адекватно влияющего на развитие иммунитета в целом.

Вышесказанное дает основание полагать, что при выяснении механизма действия гентамицина на иммунореактивность одним из основных звеньев воздействия препарата является индуктивная фаза антителогенеза.

Таким образом, полученные нами данные выявили определенную зависимость характера распределения гентамицина в органах, тканях и крови от периода развития иммунитета. Так, в индуктивной фазе иммуногенеза наблюдается высокое содержание препарата в крови при сравнительно низком во внутренних органах, в частности лимфоидной системе. В продуктивной же фазе в период интенсивных иммунологических перестроек, наоборот, отмечается значительное снижение концентрации препарата в крови при наличии высокого содержания его во внутренних органах.

Проблемная лаборатория микробиологии и вирусологии
Ереванского зооветеринарного института

Поступила 22/IX. 1983 г.

Ա. Ա. ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ

**ԳԵՆՏԱՄԻՑԻՆԻ ՀԱՐՄԱԿՈՆԵՑԻԿԱՅԻ ԱՌՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԻՄՈՒՆԱՑՎԱԾ ՃԱԳԱՐՆԵՐԻ ՕՐԳԱՆԻԶՄՈՒՄ**

*Ուսումնասիրվել է կողի-պարատիֆային պատվաստուկով ճագարներին
իմունացնելիս նրանց օրգաններում և հյուսվածքներում գենտամիցինի բաշ-
խման ու կլման օրինաչափությունը:*

Պարզվել է, որ իմուն օրգանիզմում հակաբիոտիկի խտության մակարդակը կախված է ինչպես օրգանի կամ հյուսվածքի տեսակից, այնպես էլ իմունոբիոլոգիական պրոցեսի զարգացման փուլերից:

Գենտամիցինը արյան մեջ առավելագույն կապվում է շիճուկային գլոբուլինների հետ:

A. A. NAVASARDIAN

THE PECULIARITIES OF PHARMACOKINETICS OF HENTAMICYNUM IN THE ORGANISM OF IMMUNIZED ANIMALS

The regularities of distribution and binding of hentamicynum in rabbits immunized by coliparathyphosis vaccine have been studied.

It is established that the level of the preparation concentration depends both on the kind of the organ or tissue and on the development of the response.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Амбарцумян Л. А. Автореферат канд. дисс. Ереван, 1978.
2. Бунин К. В. ЖМЭИ, 1957, 11, стр. 55.
3. Даниелова Л. Т. Антибиотики, 1974, 11, стр. 1032.
4. Дмитриева В. С., Семенов С. М. Микробиологический контроль активности антибиотических препаратов. М., 1965.
5. Кайтмазова Е. И. Антибиотики, 1964, 5, стр. 433.
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. Клемпарская Н. Н. Антибиотики, 1958, 3, стр. 49.
10. Кокушкина Т. М. Антибиотики и иммунитет. Л., 1963.
11. Кивман Г. Я. Антибиотики, 1959, 3, стр. 40.
12. Кивман Г. Я., Рудзид Э. А., Яковлев В. П. Антибиотики, 1962, 7, 4, стр. 370.
13. Кивман Г. Я., Надырова Б. А., Гуляев А. Е. Антибиотики, 1982, 1, стр. 45.
14. Навасардян А. А. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1966.
15. Нуразян А. Г. Антибиотики, 1976, 7, стр. 625.
16. Ролинсон Г. Н. Антибиотики, 1971, 9, стр. 771.
17. Шакарян Г. А., Нуразян А. Г., Сукиасян А. О., Навасардян А. А. Известия АН Арм.ССР (биол. науки), 1963, т. XVI, 3, стр. 3.
18. Ritchou R. et al. Comp. rend. Soc. biol., 1959, 153, 10, 1542.
19. Carpetner Ch. et al. J. Immunol., 1955, 74, 4, 281.
20. Patocka F. Olhers Folia microbiol., 1968, 13, 6, 555.
21. Milch R. A. et al. J. nat. cancer inst., 1957, 19, 1.
22. Fabre I. et al. Schweiz. med. Wachs., 1971, 101.