

УДК 615.015.1

АНТИОКСИДАНТНАЯ КОРРЕКЦИЯ ТОКСИЧНОСТИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СРЕДСТВ И ИХ ВЛИЯНИЯ НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

Брюханов В.М., Мирошниченко А.Г.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Барнаул, e-mail: ag@asmu.ru

В настоящем исследовании изучалось влияние веществ с антиоксидантными свойствами (аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол, N-ацетилцистеин) на токсичность антибактериальных средств (гентамицин, ципрофлоксацин, цефтазидим, хлорамфеникол, тетрациклин) у крыс линии Вистар массой 190–290 г. Дозы препаратов устанавливались в соответствии с правилами межвидового переноса на основании терапевтических доз, применяемых у человека. Изученные антибактериальные средства за исключением цефтазидима обладают прооксидантными свойствами разной выраженности. Цефтазидим обладает антиоксидантным действием. Применение антиоксидантов не уменьшает степень токсических поражений, вызываемых гентамицином (нефротоксичность) и тетрациклином (гепатотоксичность). Метилэтилпиридинол способен усиливать нефротоксическое влияние гентамицина. Это свидетельствует о небольшом вкладе процессов свободнорадикального окисления в патогенез токсических поражений, вызванных антибактериальными средствами. Полученные данные необходимо учитывать при совместном применении антибактериальных средств и антиоксидантов.

Ключевые слова: антибактериальные средства, антиоксиданты, свободнорадикальное окисление, токсичность

ANTIOXIDANT CORRECTION OF TOXICITY OF ANTIBACTERIAL AGENTS AND THEIR EFFECTS ON FREE RADICAL OXIDATION

Bryukhanov V.M., Miroshnichenko A.G.

Altai state medical university, Barnaul, e-mail: ag@asmu.ru

The present study investigated the effects antioxidants (ascorbic acid, methylethylpyridinol, N-acetylcysteine) on toxicity of antibacterial agents (gentamicin, ciprofloxacin, ceftazidime, chloramphenicol, tetracycline) in Wistar rats weighing 190–290 g. Doses were set in accordance with interspecific transfer rules based therapeutic doses used in humans. Antibacterial agents studied, except ceftazidime have prooxidant properties of different severity. Ceftazidime has an antioxidant effect. Antioxidants do not reduce the degree of toxic lesions caused by gentamicin (nephrotoxicity) and tetracycline (hepatotoxicity). Methylethylpyridinol potentiate the nephrotoxic effect of gentamicin. This indicates a small contribution of free radical oxidation in the pathogenesis of toxic lesions caused by antibacterial agents. The data obtained should be considered when the joint application of antibacterial agents and antioxidants.

Keywords: antibacterial agents, antioxidants, free radical oxidation, toxicity

В связи с широким распространением заболеваний, вызываемых бактериями, совершенствование лечения соответствующих больных остается актуальным. Многие антибактериальные средства вызывают ряд побочных эффектов, значительно затрудняющих проведение химиотерапии. Ряд антибактериальных препаратов способен вызывать дозозависимые токсические поражения печени, которые могут возникать как на фоне приема высокой однократной дозы, так и высокой кумулятивной дозы, накапливающейся в организме при длительном применении препарата [7]. Все антибиотики группы аминогликозидов являются нефротоксичными и могут вызывать серьезные поражения почек – вплоть до тубулярного некроза с развитием острой почечной недостаточности [5]. Для некоторых бактерицидных средств доказан значимый вклад усиления процессов свободнорадикального окисления в патогенез токсических поражений различных органов [11]. В связи с этим представляют собой определенный интерес

возможности фармакологической коррекции соответствующих нежелательных эффектов при помощи антиоксидантов.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния антиоксидантов (аскорбиновая кислота, метилэтилпиридинол, N-ацетилцистеин) на токсичность антибактериальных средств (гентамицин, ципрофлоксацин, цефтазидим, хлорамфеникол, тетрациклин).

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 105 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 2–3 месяцев массой 190–290 г, выращенных в питомнике НИИ цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Содержание крыс соответствовало требованиям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000 г.), Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей» (Страсбург, 1986 г.).

Эксперимент был разделен на 5 серий в соответствии с изучаемыми антибактериальными средствами. Для каждой серии из 35 животных формировались группы (1–5) по 7 особей в каждой. Животным группы № 1 ежедневно в течение 5 дней внутривенно

вводился стерильный изотонический раствор хлорида натрия, № 2 – раствор антибактериального средства, № 3 – последовательно раствор антибактериального средства и аскорбиновой кислоты, № 4 – раствор антибактериального средства и метилэтилпиридинола, № 5 – раствор антибактериального средства и N-ацетилцистеина. Дозы препаратов устанавливались в соответствии с правилами межвидового переноса на основании терапевтических доз, применяемых у человека [6]. Растворы для инъекций готовились из субстанций (за исключением метилэтилпиридинола) в асептических условиях непосредственно перед введением (табл. 1).

Таблица 1
Характеристика лекарственных средств

Вещество	Производитель	Доза, мг/кг
Аскорбиновая кислота	Panreac, Испания	80
Метилэтилпиридинол («Эмоксипин»)	Sigma-Aldrich, США	80
N-ацетилцистеин	ФГУП МЭЗ, Россия	80
Гентамицин	AppliChem, Германия	30
Ципрофлоксацин	Sigma-Aldrich, США	50
Цефтазидим	Sigma-Aldrich, США	120
Хлорамфеникол	Panreac, Испания	70
Тетрациклин	AppliChem, Германия	80

На 6-е сутки эксперимента в плазме крови экспериментальных животных с помощью диагностических наборов (ООО «Витал Диагностика СПб», Россия) в качестве маркеров поражения печени определялись активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, маркеров поражения почек – концентрации мочевины и креатинина. Для оценки оксидантного статуса определяли активность каталазы [4] и глутатионпероксидазы эритроцитов [3], а также плазменные концентрации восстановленного глутатиона [9] и тиобарбитурат-реактивных продуктов [1].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни с помощью программы SigmaStat 3.5 (Systat Software, Inc., США), различия считали значимыми при $P < 0,05$ [2].

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 представлены результаты оценки гепато- и нефротоксического влияния антибактериальных средств. Из представленных данных видно, что гентамицин оказывает статистически значимое повышение концентраций мочевины и кре-

атинина, что свидетельствует об угнетении функции почек. Нефротоксический эффект гентамицина не уменьшается совместным применением с антиоксидантами, несмотря на прооксидантное действие антибиотика (табл. 3). Обращает на себя внимание взаимодействие метилэтилпиридинола и гентамицина. Совместное введение этих двух препаратов вызывает еще большее повышение креатинина плазмы крови, при этом метилэтилпиридинол не проявляет выраженные антиоксидантные свойства и не компенсирует прооксидантное действие гентамицина.

Введение ципрофлоксацина в дозе 50 мг/кг не вызывает статистически значимого повышения маркеров поражения печени и почек. При этом фиксируется увеличение концентрации тиобарбитурат-реактивных продуктов плазмы с одновременным снижением содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах, что служит проявлением прооксидантного влияния ципрофлоксацина. Совместное введение с антиоксидантами статистически значимо уменьшает указанное влияние. Аналогичная картина наблюдается при введении хлорамфеникола, что согласуется с данными Farombi E.O. и соавт., изучавших влияние антиоксидантов на маркеры оксидативного стресса и микросомальное окисление в печени в условиях введения антибиотика [10]. Цефтазидим обладает антиоксидантным эффектом (табл. 3), который может быть связан с его способностью инактивировать синглетный кислород [8].

Ожидается наиболее выраженное поражение печени и почек вызывает тетрациклин. Его введение вызывает повышение плазменной активности АЛТ в 2 раза. При этом совместное применение с антиоксидантами не уменьшает, а в случае N-ацетилцистеина – усиливает гепатотоксическое влияние антибиотика. Следует отметить, что при этом активность щелочной фосфатазы статистически значимо не изменяется во всех группах серии «Тетрациклин». Тетрациклин также вызывает угнетение функции почек – концентрация мочевины плазмы повышается в 5 раз, креатинина – в 2 раза. При этом введение антиоксидантов не влияет на нефротоксическое действие антибиотика. Причиной отсутствия эффекта антиоксидантной фармакологической коррекции может быть небольшой вклад процессов свободнорадикального окисления в патогенез органо-токсических эффектов тетрациклина, оказывающего слабое прооксидантное действие (табл. 3).

Таблица 2

Токсичность антибактериальных средств и ее коррекция антиоксидантами

Группа	АЛТ, мкмоль/(с·л)	ЩФ, нмоль/(с·л)	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
Серия «Гентамицин»				
1	1,23 (1,14;1,49)	1409,5 (1246,5;1629,7)	2,07 (1,48;2,30)	57,83 (38,99;62,21)
2	1,10 (0,87;1,41)	1190,1 (1089,5;1530,5)	4,02 (3,40;4,43)*	77,86 (60,15;111,72)*
3	1,24 (1,01;1,33)	1217,2 (1118,8;1610,9)	2,80 (2,42;3,78)*	83,12 (77,61;91,57)*
4	1,24 (1,00;1,40)	1283,3 (1130,8;1525,2)	3,22 (2,82;3,61)*	103,65 (91,82;120,23)*
5	1,16 (0,98;1,40)	1298,3 (1166,1;1442,6)	3,58 (3,21;3,66)*	97,63 (85,06;109,78)*
Серия «Ципрофлоксацин»				
1	0,84 (0,68;1,02)	1809,3 (1720,6;1934,7)	2,86 (2,40;3,03)	50,57 (43,62;59,65)
2	1,16 (0,73;1,30)	1547,8 (1237,5;1680,8)	3,37 (2,82;3,51)	54,83 (50,20;65,34)
3	1,29 (1,17;1,32)	1698,1 (1471,1;1782,2)	2,53 (2,40;2,82)	55,82 (48,07;58,27)
4	0,96 (0,80;1,20)	1680,0 (1543,3;1738,6)	3,17 (2,80;3,37)	58,33 (46,32;62,84)
5	1,07 (0,84;1,17)	1490,7 (1358,4;1988,1)	2,93 (2,90;3,35)	56,33 (54,51;66,16)
Серия «Цефтазидим»				
1	0,87 (0,77;0,94)	1668,0 (1400,5;1700,3)	2,70 (2,55;2,96)	54,83 (49,69;57,77)
2	0,78 (0,75;0,89)	1514,7 (1361,5;1615,4)	2,57 (2,44;3,07)	49,07 (47,88;57,46)
3	0,79 (0,65;0,84)	1496,7 (1464,4;1598,9)	2,57 (2,42;2,93)	54,33 (51,20;62,09)
4	0,92 (0,85;1,08)	1496,7 (1384,0;1,666,5)	2,66 (2,59;3,05)	55,08 (49,13;61,21)
5	0,89 (0,85;1,07)	1541,8 (1259,3;1690,5)	2,88 (2,35;3,24)	59,33 (56,33;62,09)
Серия «Хлорамфеникол»				
1	0,99 (0,77;1,01)	1622,9 (1108,2;1837,1)	2,24 (2,09;2,73)	54,58 (49,32;64,72)
2	1,23 (1,02;1,29)	1544,8 (1309,6;1842,3)	2,11 (2,00;2,92)	60,34 (51,95;71,41)
3	1,06 (0,77;1,46)	1409,5 (1249,5;1662,7)	2,56 (2,47;2,99)	55,83 (48,38;62,34)
4	1,06 (0,83;1,10)	1439,6 (1290,1;1607,9)	2,41 (2,21;3,03)	56,08 (48,57;62,71)
5	1,08 (0,85;1,10)	1499,7 (1356,2;1595,9)	2,57 (1,80;3,01)	62,09 (52,57;66,34)
Серия «Тетрацилин»				
1	0,99 (0,87;1,12)	1457,6 (1260,0;1595,1)	2,02 (1,91;2,47)	56,58 (49,32;64,72)
2	1,80 (1,64;1,85)*	1565,8 (1413,3;1949,8)	10,32 (10,09;11,36)*	128,43 (105,71;136,63)*
3	1,88 (1,77;1,92)*	1325,4 (1265,3;1764,2)	9,68 (8,79;10,62)*	103,15 (94,45;127,43)*
4	1,65 (1,61;1,65)*	1565,8 (1272,8;1870,1)	11,57 (7,73;13,94)*	111,41 (84,31;119,92)*
5	2,12 (2,01;2,26)*	1391,5 (1204,4;1662,0)	10,48 (9,63;11,88)*	114,66 (102,71;127,24)*

Примечание. * – значимое различие с контрольной группой серии ($p < 0,05$).

Таблица 3

Влияние антибактериальных средств на свободнорадикальное окисление и его коррекция антиоксидантами

Группа	КАТ, % на мг Нб	ВГ, мкмоль/г Нб	ГПО, мкмоль/(мин·л)	ТБРП, мкМ
1	2	3	4	5
Серия «Гентамицин»				
1	0,024 (0,007;0,033)	0,87 (0,73;0,96)	24,36 (19,54;27,21)	3,99 (3,55;4,61)
2	0,036 (0,031;0,044)*	0,70 (0,62;0,95)	22,05 (21,35;22,43)	6,63 (5,61;8,88)*
3	0,048 (0,022;0,059)	0,92 (0,79;1,06)	19,62 (18,84;26,43)	3,99 (3,52;4,41)
4	0,051 (0,045;0,053)*	0,87 (0,84;0,91)	21,41 (19,26;22,22)	5,42 (4,73;6,63)*
5	0,054 (0,050;0,057)*	0,75 (0,66;0,81)	20,43 (19,97;21,20)	4,34 (3,64;5,48)

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5
Серия «Ципрофлоксацин»				
1	0,027 (0,023;0,030)	0,83 (0,69;0,95)	19,44 (18,20;20,34)	3,49 (3,16;4,51)
2	0,033 (0,026;0,039)	0,60 (0,53;0,71)*	17,12 (11,86;21,85)	4,96 (3,90;5,10)*
3	0,036 (0,028;0,042)	0,67 (0,56;0,71)	18,31 (15,47;18,67)	3,56 (2,94;4,24)
4	0,040 (0,035;0,043)*	0,70 (0,63;0,79)	20,45 (17,52;20,86)	4,53 (4,32;4,68)
5	0,042 (0,040;0,044)*	0,66 (0,58;0,74)	19,12 (18,16;19,78)	2,91 (2,50;4,14)
Серия «Цефтазидим»				
1	0,033 (0,024;0,034)	0,92 (0,78;0,97)	18,50 (17,06;20,78)	3,49 (3,16;4,51)
2	0,032 (0,027;0,036)	0,82 (0,73;0,93)	17,02 (15,98;17,95)	2,64 (2,29;2,99)*
3	0,044 (0,042;0,050)*	0,67 (0,62;0,76)	18,69 (16,58;18,80)	3,41 (2,98;4,82)
4	0,037 (0,028;0,042)	0,74 (0,67;0,91)	20,11 (18,92;22,97)	3,49 (3,21;4,12)
5	0,044 (0,031;0,047)	0,87 (0,78;0,92)	17,98 (17,47;20,34)	3,37 (2,55;3,89)
Серия «Хлорамфеникол»				
1	0,033 (0,021;0,045)	0,79 (0,62;0,85)	16,50 (15,35;18,89)	3,80 (3,09;4,74)
2	0,054 (0,049;0,055)*	0,45 (0,41;0,56)*	19,47 (18,22;20,62)	5,04 (4,39;5,62)*
3	0,039 (0,037;0,046)	0,56 (0,48;0,71)	18,04 (16,48;20,71)	4,38 (3,87;4,45)
4	0,038 (0,031;0,044)	0,66 (0,55;0,73)	15,63 (15,14;18,11)	3,68 (3,39;4,46)
5	0,041 (0,033;0,044)	0,62 (0,57;0,77)	18,07 (15,38;19,03)	4,34 (4,00;4,99)
Серия «Тетрациклин»				
1	0,033 (0,030;0,040)	0,83 (0,73;0,87)	17,48 (16,81;18,90)	3,33 (3,27;3,71)
2	0,025 (0,023;0,027)*	0,77 (0,76;0,84)	20,20 (19,28;21,14)*	3,49 (3,06;3,79)
3	0,027 (0,024;0,030)*	0,83 (0,76;0,88)	18,76 (15,83;19,61)	3,49 (3,32;4,02)
4	0,030 (0,022;0,034)	0,83 (0,75;0,95)	17,71 (16,32;20,81)	3,68 (3,39;4,08)
5	0,018 (0,017;0,023)*	0,72 (0,67;0,80)	19,82 (18,93;21,37)*	4,92 (3,89;5,21)*

Пр и м е ч а н и е . * – значимое различие с контрольной группой серии ($p < 0,05$).

Заклучение

На основании вышеизложенного можно утверждать, что изучаемые антибактериальные средства за исключением цефтазида обладают прооксидантными свойствами разной выраженности. Цефтазидим обладает антиоксидантными свойствами. Совместное применение с антиоксидантами не уменьшает степень выраженности органотоксических поражений, вызываемых гентамицином и тетрациклином.

Метилэтилпиридинол в отличие от других изученных нами антиоксидантов способен усиливать нефротоксическое влияние гентамицина. Это свидетельствует о том, что наличие антиоксидантных свойств у вещества однозначно не определяет его влияние на токсичность антибактериального средства.

Список литературы

1. Гаврилов В.Б. Определение ТБК-реагирующих продуктов в тканях / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, М.Л. Мажуль // Вопр. мед. химии. – 1987. – Т. 33. – № 1. – С. 117–123.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 1990 – 352 с.
3. Минаева Л.В. Экспериментальная оценка роли изменения системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.20, 03.00.04. – СПб, 2007. – 178 с.
4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Постников, С.С. Токсические эффекты антибиотиков / С.С. Постников // Педиатрия. – 2008. – Т. 87. – № 2. – С. 111–116.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

7. Ушкалова Е.А. Лекарственные поражения печени при применении антибактериальных средств / Е.А. Ушкалова, Э.А. Коровякова // *Лечащий врач*. – 2012. – № 2. – С. 84–88.

8. Deby-Dupont G. The antibiotic ceftazidime is a singlet oxygen quencher as demonstrated by ultra-weak chemiluminescence and by inhibition of AAP consumption / G. Deby-Dupont, C. Deby, A. Mouithys-Mickalad, M. Hoebeke, M. Mathy-Hartert, L. Jadoul, A. Vandenberghe, M. Lamy // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1998. – Vol. 1379(1). – P. 61–68.

9. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82. – № 1. – P. 70–77.

10. Farombi E.O. Influence of chloramphenicol on rat hepatic microsomal components and biomarkers of oxidative stress: protective role of antioxidants / E.O. Farombi, O.A. Adaramoye, G.O. Emerole // *Pharmacol. Toxicol.* – 2002. – Vol. 91(3). – P. 129–134.

11. Kalghatgi S. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells / S. Kalghatgi, C.S. Spina, J.C. Costello, M. Liesa M, J.R. Morones-Ramirez, S. Slomovic, A. Molina, O.S. Shirihai, J.J. Collins // *Sci Transl Med*. – 2013. – Vol. 5(192) – режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23825301> (дата обращения: 20.11.2013).

References

1. Gavrilov V.B. Opredelenie TBK-reagirujushih produktov v tkanjah / V.B. Gavrilov, A.R. Gavrilova, M.L. Mazhul' // *Vopr. med. himii*. 1987. T. 33. no. 1. pp. 117–123.

2. Lakin G.F. Biometrija: Ucheb. posobie dlya biol. spec. vuzov / G.F. Lakin 4-e izd., pererab. i dop. M.: Vyssh. shk., 1990 352 p.

3. Minaeva L.V. Eksperimental'naja ocenka roli izmenenija sistemy glutationa v realizacii pobochnyh citotoksicheskikh jeffektov povtornogo vvedenija ciklofosfana : diss. kand. med. nauk: 14.00.20, 03.00.04 / L.V. Minaeva. SPb, 2007. 178 p.

4. Koroljuk M.A. Metod opredelenija aktivnosti katalazy / M.A. Koroljuk // *Lab. delo*. 1988. no. 1. pp. 16–19.

5. Postnikov S.S. Toksicheskie jeffekty antibiotikov / S.S. Postnikov // *Pediatrics*. 2008. T. 87. no. 2. pp. 111–116.

6. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakolo-gicheskikh veshhestv / Pod obshhej redakciej chlena-korrespondenta RAMN, professora R.U. Habrieva. 2-izd., pererab. i dop. M.: OAO «Izdatel'stvo «Medicina», 2005. 832 p.

7. Ushkalova, E.A. Lekarstvennye porazhenija pečeni pri primenenii antibakterial'nyh sredstv / E.A. Ushkalova, Je.A. Korovjakova // *Lechashij vrach*. 2012. no. 2. pp. 84–88.

8. Deby-Dupont, G. The antibiotic ceftazidime is a singlet oxygen quencher as demonstrated by ultra-weak chemiluminescence and by inhibition of AAP consumption / G. Deby-Dupont, C. Deby, A. Mouithys-Mickalad, M. Hoebeke, M. Mathy-Hartert, L. Jadoul, A. Vandenberghe, M. Lamy // *Biochim. Biophys. Acta*. 1998. Vol. 1379(1). pp. 61–68.

9. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. Vol.82. no. 1. pp. 70–77.

10. Farombi, E.O. Influence of chloramphenicol on rat hepatic microsomal components and biomarkers of oxidative stress: protective role of antioxidants / E.O. Farombi, O.A. Adaramoye, G.O. Emerole // *Pharmacol. Toxicol.* 2002. Vol. 91(3). pp. 129–134.

11. Kalghatgi, S. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells / S. Kalghatgi, C.S. Spina, J.C. Costello, M. Liesa M, J.R. Morones-Ramirez, S. Slomovic, A. Molina, O.S. Shirihai, J.J. Collins // *Sci Transl Med*. 2013. Vol. 5(192) режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23825301> (дата обращения: 20.11.2013).

Рецензенты:

Смирнов И.В., д.м.н., зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники, ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул;

Галактионова Л.П., д.б.н., профессор кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 30.11.2013.