

С.Н.Тихонов, К.А.Ротов, В.В.Алексеев, Е.А.Снатенков

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ЛИПОСОМАЛЬНОГО И СВОБОДНОГО ГЕНТАМИЦИНА ПРИ АЭРОГЕННОМ ЗАРАЖЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕМ МЕЛИОИДОЗА

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград

Представлены данные по изучению протективных свойств свободной и липосомальной форм гентамицина при аэрогенном заражении возбудителем мелиоидоза. При сравнительном изучении препаратов выявлено, что иммобилизация гентамицина в липосомы позволила существенно увеличить ED_{50} препарата. Это может быть связано с повышенной сорбцией липосомального препарата паренхиматозными органами, в том числе легкими.

Ключевые слова: мелиоидоз, гентамицин, липосомы.

S.N.Tikhonov, K.A.Rotov, V.V.Alekseev, E.A.Snatenkov

Study of Protective Properties of Gentamicin in Liposome-Entrapped and Free Forms in Case of Aerogenic Melioidosis Infection

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd

Presented are data on investigation of protective properties of free and liposome-entrapped forms of gentamicin against aerogenic infection caused by melioidosis agent. Comparative study identified that immobilization of gentamicin into liposomes increased substantially the ED_{50} of the preparation. This, probably, can be related to higher sorption of liposomal preparation by parenchymal organs including lungs.

Key words: melioidosis, gentamicin, liposomes.

Мелиоидоз – инфекционное заболевание, распространение которого в природе имеет определенные географические границы (регионы с влажным субтропическим климатом). Также, по данным экспертов, возбудитель мелиоидоза – *Burkholderia pseudomallei* – является потенциальным агентом биотерроризма [1, 6, 8]. Сложности лечения мелиоидоза, в первую очередь, обусловлены природной резистентностью возбудителя ко многим антибиотикам. Летальность при несвоевременно начатой терапии у больных септической и легочной формой мелиоидоза превышает 90 %. Ранее нами было показано, что иммобилизация гентамицина в липосомы повышает эффективность лечения экспериментального мелиоидоза [5].

Целью данной работы явилось изучение протективных свойств липосомального и свободного гентамицина при аэрогенном заражении животных возбудителем мелиоидоза.

Материалы и методы

Липосомы готовили методом выпаривания и обращения фаз [2] из хроматографически чистых лецитина и холестерина («Serva», Германия) в весовом соотношении 7:3. Материалом для включения внутрь липосом служил гентамицина сульфат (ОАО «Синтез», Курган, Россия). Экструзию липосомального гентамицина проводили через поликарбонатные мембраны с размером пор 100 нм. Средний размер и однородность по размеру липосом определяли методом электронной микроскопии (инструментальное увеличение – 120000). Количество включенного

в липосомы антимикробного препарата определяли микробиологическим методом [4]. Степень окисления липидов липосомальной мембраны (проба Клейна) определяли спектрофотометрически [7]. В эксперименте нами были использованы белые мыши и белые крысы обоего пола по 7 животных в группе, свободную и липосомальную форму препарата вводили животным внутривенно однократно за 4 ч до заражения в дозах 6,0; 3,0 и 4,26; 2,13 мг соответственно. Контролем служили интактные животные. Экспериментальных животных заражали в динамической камере аэрозольной лаборатории суточной культурой *B. pseudomallei* 100 в дозе 10, 20 и 40 LD_{50} . Наблюдение за животными проводили в течение 30 сут. Об эффективности антибиотиков судили по количеству павших животных, ED_{50} , средней продолжительности жизни. Эффективную дозу лекарственного препарата оценивали общепринятым методом [3].

Результаты и обсуждение

Нами проведено изучение протективных свойств липосомального и свободного гентамицина сульфата при аэрогенном заражении белых мышей возбудителем мелиоидоза. Однократное введение животным липосомального гентамицина сульфата за 4 ч до заражения в дозах 4,26 и 2,13 мг/мышь способствовало выживанию 85 и 57 % животных соответственно. Применение свободного антибиотика было менее эффективным, процент защиты составил всего 14 и 28 % от общего количества мышей при использовании 3 и 6 мг антибиотика на животное, ED_{50} липосо-

мального гентамицина сульфата в 2 раза ниже таковой неиммобилизованного препарата (3,68 и 7,54 мг соответственно).

При использовании заражающей дозы 40 LD₅₀ ED₅₀ липосомального гентамицина сульфата составила 4,1 мг, что в 1,8 раза меньше чем при применении свободного антибиотика (ED₅₀ = 5,9 мг).

В следующем исследовании протективных свойств гентамицина сульфата в свободной и липосомальной формах при аэрогенном заражении *B. pseudomallei* 100 в качестве экспериментальных животных нами были использованы белые крысы. Применение липосомального гентамицина сульфата в дозах 4,26 и 2,13 мг при заражающей дозе 10 LD₅₀ было эффективным. При этом выжило 75 % белых крыс, свободная форма препарата в дозах 6 и 3 мг была менее эффективна и позволила выжить 50 % животных. ED₅₀ иммобилизованного в липосомы антибиотика составила 3,29 мг, что в 1,9 раза меньше, чем у свободного гентамицина сульфата (6,28 мг).

Сравнительное изучение протективных свойств гентамицина сульфата в свободной и липосомальной формах при аэрогенном заражении *B. pseudomallei* 100 при использовании заражающей дозы 20 LD₅₀ показало значительные преимущества фосфолипидных везикул с включенным внутрь антибиотиком перед обычной формой препарата. Применение свободной формы антибиотика в дозах 6,0 и 3,0 мг позволила выжить всего 25 % животных в каждой группе.

Использование липосомального гентамицина сульфата в дозах 4,26 и 2,13 мг позволило увеличить процент защиты до 75 и 50 соответственно. ED₅₀ липосомального гентамицина сульфата была ниже в 1,9 раза в сравнении со свободным (3,95 и 7,7 мг соответственно).

Таким образом, применение липосомальных антибактериальных препаратов было более эффективным, чем использование в качестве протективного агента свободного антибиотика при экспериментальной аэрогенной мелиоидозной инфекции, что может быть связано с повышенной сорбцией липосомаль-

ного препарата паренхиматозными органами, в том числе, легкими.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев В.В., Тихонов Н.Г., Липницкий А.В., Пучков В.С., Алексеева В.В., Кивокурцева Т.Ю. Аэрогенные инфекции в аспекте проблемы биотерроризма. Пробл. особо опасных инф. 2003; 85:20–7.
2. Антонов В.Ф., Торчилин В.П. Липосомы: применение в биологии и медицине. М.: Медицина; 1985. 182 с.
3. Владимирский М.А., Ладыгина Г.А., Тенцова А.И. Эффективность стрептомицина, включенного в липосомы, при экспериментальном туберкулезе у мышей. Антибиотики. 1983; 1:23–6.
4. Дмитриева В.С. Микробиологический контроль активности антибиотических препаратов. М.: Медицина; 1965. 112 с.
5. Ротов К.А., Тихонов С.Н., Снатёнков Е.А., Алексеев В.В., Антонов В.А., Алексеева В.В., Савченко С.С., Курилов В.Я. Наноллипосомальный гентамицин и его применение для лечения мелиоидоза. Вестник Волгоградского гос. мед. университета. 2009; 4(32):110–13.
6. Bossi P., Tehnell A., Baka A. et al. Bichat guidelines for the clinical management of glanders and melioidosis and bioterrorism-related glanders and melioidosis. Euro. Surveill. 2004; 9:17–8.
7. Klein R.A. The detection of oxidation in liposome preparations. Biochim. Biophys. Acta. 1970; 210:486–9.
8. Wheelis M. First shots fired in biological warfare. Nature. 1998; 395:213.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Alekseev V.V., Tikhonov N.G., Lipnitsky A.V., Puchkov V.S., Alekseeva V.V., Kivokurtseva T.Yu. [Aerogenic infections regarded from the viewpoint of bioterrorism problems]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2003; 85:20–7.
2. Antonov V.F., Torchilin V.P. [Liposomes: Application in Biology and Medicine]. M: Meditsina; 1985. 182 p.
3. Vladimirsky M.A., Ladygina G.A., Tentsova A.I. [Effectiveness of liposome-incorporated streptomycin in experimental tuberculosis in mice]. Antibiotiki. 1983; 1:23–6.
4. Dmitrieva V.S. [Microbiological Control of Antibiotic Preparations Activity]. M: Meditsina; 1965. 112 p.
5. Rotov K.A., Tikhonov S.N., Snatenkov E.A., Alekseev V.V., Antonov V.A., Alekseeva V.V., Savchenko S.S., Kurilov V.Ya. [Liposome-entrapped gentamicin and its use in treatment of melioidosis]. Vestnik Volgograd. Gos. Med. Univ. 2009; 4(32):110–13.

Authors:

Tikhonov S.N., Rotov K.A., Alekseev V.V., Snatenkov E.A. Volgograd Research Anti-Plague Institute. Golubinskaya St., 7, Volgograd, 400131, Russia. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Об авторах:

Тихонов С.Н., Ротов К.А., Алексеев В.В., Снатенков Е.А. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 18.04.11.