

С. П. Борщов¹, І. В. Фільчаков¹, П. В. Сініцин², Н. М. Серединська³

Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування Меропенему з Дексаметазоном

¹ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ

²ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

³ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: Меропенем, Дексаметазон, безпечність, токсичність, інтратекальне введення

Проблема лікування бактерійних (у тому числі специфічних) менінгоенцефалітів дотепер залишається актуальною для практичної медицини [1, 2]. Про це свідчать високі показники летальності та інвалідизації хворих. За оцінками різних авторів смертність за менінгоенцефалітів складає від 10 до 50 % [1–3]. За даними статистичної звітності менінгоенцефаліти входять до десяти найзначущих причин смертності від інфекційних хвороб. Постійно продовжуються пошуки шляхів підвищення ефективності лікування хворих з цією патологією. Нажаль, навіть застосування сучасних антибактеріальних препаратів суттєво не вплинуло на показники летальності за важкого перебігу бактерійних менінгоенцефалітів. Однією з причин незадовільних результатів лікування є неможливість створення ефективної концентрації препарату безпосередньо у вогнищі інфекції за традиційних (внутрішньовенний, внутрішньом'язовий) шляхів введення антибіотиків. Це відбувається за рахунок зменшення концентрації та часткової інактивації (у першу чергу, у печінці) препарату при розподіленні по органах і тканинах організму. Захисні властивості гематоенцефалічного бар'єра також призводять до значного зниження концентрації антибіотиків у ЦНС, а для деяких препаратів гематоенцефалічний бар'єр є повністю непроникним [4]. На нашу думку, можливим

шляхом подолання цієї проблеми є інтратекальне введення антибіотиків.

Існують повідомлення про ефективне застосування антибіотиків інтратекально за бактерійних менінгоенцефалітів [5–7]. Водночас є заперечення щодо цього способу лікування. Одним із аргументів противників інтратекального застосування антибіотиків є можливий токсичний вплив препаратів за даного способу введення.

У нейроонкології (зокрема, для лікування лімфоми головного мозку) та нейрохірургії, за інфекційних уражень, у тому числі й за комбінованого введення з антибактеріальними засобами, широко використовується Дексаметазон, інтратекальне введення якого передбачене відповідною інструкцією для медичного застосування. За лікування запальних процесів ЦНС (зокрема, бактеріальних нейроінфекцій) патогенетично обґрунтованою є необхідність у протизапальній та протинабряковій дії Дексаметазону, а етіологічно обґрунтованим є призначення Меропенему. При подальшому клінічному дослідженні планується використання комбінації саме цих препаратів. *Мета дослідження* – встановити безпечність інтратекального введення Меропенему з Дексаметазоном у гострому експерименті на щурах.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на нелінійних білих щурах чоловічої статі (самцях), масою 200–230 г. Виходячи з мінімально достатньої кількості тварин для подальшої статистичної обробки отриманих результатів експеримент проведено на 12 щурах (6 – група дослідження та 6 – група контролю) [9–11]. Для дослі-

дження використано препарати: Меро-
нем, 1 г сухої речовини, виробництва
«АстраЗенека ЮК» (Великобританія),
серія № X131 та Дексаметазон, вироб-
ництва «KRKA» (Словенія), у 1 мл –
4 мг діючої речовини, серія A48020.

Щурам, що перебували під хлоралгі-
дратним наркозом (300,0 мг/кг, вну-
трішньочеревно), у третій шлуночок
мозку під стереотаксичним контролем
було імплантовано сталеву спрямовую-
чу канюлю 23 калібру з мандреном [8].
Операції проводили на приладі для сте-
реотаксичних досліджень СЭЖ-5
(виробництва «Дослідного підприємства
Інститут фізіології імені О. О. Бого-
мольця НАН України»). Після жор-
сткої фіксації голови тварини за допо-
могою вушних і різцевих затискачів
відкривали верхню поверхню черепа та
визначали точку введення канюлі, яка
знаходилася на відстані 0,5 мм кау-
дально від брегми. Фіксували горизон-
тальні, вертикальні та фронтальні коор-
динати, які визначали за атласом
De Groot. Після цього розпочинали
свердління кісткової тканини за допо-
могою бору. Зліва та справа від отвору
висвердлювали невеликі заглиблення
для шурупів, необхідні для фіксацій
канюлі в акрилоксиді. Крізь отриманий
отвір за допомогою ін'єкційної голки
обережно відводили венозний синус від
центра отвору та вводили спрямовуючу
сталеву канюлю 23 калібру. Отвір зали-
вали акрилоксидом, після затвердіння
якого навкруги канюлі поміщали захис-
ну «корону», виготовлену зі шматочка
пластикової трубки придатного діаме-
тра, та фіксували її акрилоксидом.
В отвір канюлі вставляли мандрен. Без-
посередньо перед уведенням досліджу-
ваних препаратів мандрен заміщали на
внутрішню канюлю 30 калібру, що була
попередньо заповнена відповідним роз-
чином антибіотика.

Розчин для уведення готували шля-
хом розчинення 1 г Меропенему в
6,6 мл Дексаметазону (26,4 мг). Інтра-
церебровентрикулярне (інтратекальне)
введення препаратів проводили протя-
гом 5 хв в об'ємі 10 мкл, що складало
1,5 мг Меропенему + 40 мкг Дексаме-
тазону (на 1 кілограм ваги – приблизно
7,5 мг Меропенему + 0,2 мг Дексамета-

зону). Інфузію здійснювали тричі з
інтервалом 48 год за допомогою хрома-
тографічного шприца. Щурам контр-
ольної групи в такий самий спосіб
уводили відповідний об'єм апірогенного
ізотонічного розчину натрію хлориду.

Спостереження за тваринами прово-
дили протягом перших 2 год після
кожного введення препаратів. Оцінюва-
ли вегетативні функції щурів та їхні
поведінкові реакції: температуру тіла,
настороженість, роздратованість, зміну
частоти дихання, наявність ціанозу
шкіри та слизових оболонок, рухову
активність, наявність тремору та/або
судом, больові рефлекси, екзофтальм,
салівацію, птоз, зміни з боку шкіряних
покривів. Крім цього щоденно відсте-
жували загибель тварин у групах.

Під час другого уведення препаратів
(до та після інфузії) проводили реє-
страцію частоти серцевих скорочень
(ЧСС), частоти дихання (ЧД), електро-
кардіограму (ЕКГ) реєстрували за допо-
могою багатофункціонального полігра-
фа (Японія) [15].

Через 48 год після третього введення
препаратів (6 діб) тварин піддослідної і
контрольної груп знеживлювали дека-
пітацією [13]. Збирали кров для прове-
дження біохімічних та гематологічних
досліджень. Визначали рівень гемогло-
біну, час згортання крові, кількість
еритроцитів, лейкоцитів, активність
трансаміназ – АЛАТ, АсАТ, лужної
фосфатази, вміст глюкози, загального
білка, креатиніну, сечовини [12, 14].

Статистичну обробку отриманих
даних проводили на персональному
комп'ютері за допомогою пакета
«Statistica 6.01» корпорації StatSoft.
Для перевірки відмінностей середніх
значень між групами використовували
методи дисперсійного аналізу для од-
норазових і повторних вимірів, перевірку
відмінностей між контрольною й
дослідною групами проводили за кри-
терієм Ньюмана-Кейлса. Для аналізу
якісних ознак використовували крите-
рії Манна-Уїтні й Кохрена.

Результати та їх обговорення. Як
свідчать дані, наведені в таблиці 1, ста-
тистично достовірна відмінність серед-
ніх значень маси тіла між моментами
вимірів – збільшення середнього зна-

Маса тіла білих щурів у різні терміни спостереження після інтратекального введення досліджуваних препаратів

Група тварин	Час вимірювання	Середня маса, г	Помилка середнього
Контрольна, n = 6	1 доба	209,30	1,975
Контрольна, n = 6	6 доба	212,17	2,034*
Дослідна, n = 6	1 доба	211,30	1,975
Дослідна, n = 6	6 доба	214,30	2,034*

Примітка. * $P \leq 0,01$ відносно значень, зареєстрованих у першу добу.

чення маси між першим і другим виміром ($P \leq 0,01$) для обох груп. Але в той самий час не виявлено статистично достовірної відмінності середніх значень маси між контрольною й дослідною групою ($P > 0,05$).

Отримані дані свідчать про фізіологічний приріст маси тіла тварин, що може бути доказом відсутності негативного впливу за інтратекального введення Меронему протягом терміну спостереження.

Знижена рухова активність усіх тварин до початку першого введення була зумовлена знаходженням в стані нарко-

тичного сну після проведення оперативного втручання (вживлення канюлі).

Надалі в усіх тварин дослідної групи при кожній інфузії після уведення Меронему спостерігали настороженість, підвищення частоти дихання, роздратованість, підвищення рухової активності на відміну від щурів групи контролю. Зміни спостерігали протягом 12–15 хв від початку інфузії. У подальшому всі показники повертались до попереднього рівня (табл. 2).

Отримані дані свідчать про короткочасну (до 15 хв) подразнюючу дію

Таблиця 2

Показники вегетативних та поведінкових функцій щурів у перші 2 год спостереження після кожного інтратекального введення Меронему з Дексаметазоном

Показник вегетативних та поведінкових функцій	Кількість тварин зі зміною показника							
	Контрольна група, n = 6				Дослідна група, n = 6			
	Уведення препарату				Уведення препарату			
	до	перше	друге	третє	до	перше	друге	третє
Температура тіла	0	0	0	0	0	0	0	0
Настороженість	0	**	0	0	0	**	6*	6*
Дихання	0	0	0	0	0	6	6	6
Ціаноз	0	0	0	0	0	0	0	0
Рухова активність знижена	0	0	0	0	6*	0	0	0
Рухова активність підвищена	0	0	0	0	0	6*	6*	6*
Тремор	0	0	0	0	0	0	0	0
Судоми	0	0	0	0	0	0	0	0
Больовий рефлекс	0	**	0	0	0	**	0	0
Роздратованість	0	**	0	0	0	**	6*	6*
Екзофтальм	0	0	0	0	0	0	0	0
Салівація	0	0	0	0	0	0	0	0
Птоз	0	**	0	0	0	**	0	0
Шкіра	0	0	0	0	0	0	0	0

Примітка. *Статистично значущі зміни в середині груп ($P < 0,05$ за критерієм Кохрена) та між групами ($P < 0,05$ за критерієм Мана-Уїтні); **показник не досліджувався в зв'язку з перебуванням тварин у наркотичному сні.

Показники функції серцево-судинної системи під час другого інтратекального введення Меропенему з Дексаметазоном ($M \pm m$)

Показник		Контрольна група, n = 6	Дослідна група, n = 6
ЧСС, уд/хв	До введення препарату	453,0 ± 9,6	445,0 ± 9,6
	Після введення препарату	435,0 ± 7,8*	568,0 ± 7,8*
ЧД, 1/хв	До введення препарату	81,3 ± 1,2	81,0 ± 1,2
	Після введення препарату	84,0 ± 1,1*	97,7 ± 1,1*
PQ, мс	До введення препарату	45,00 ± 0,74	44,00 ± 0,74
	Після введення препарату	43,70 ± 0,61	43,30 ± 0,61
QRS, мс	До введення препарату	11,80 ± 0,44	12,00 ± 0,44
	Після введення препарату	12,00 ± 0,37	12,00 ± 0,37
R, мВ	До введення препарату	0,58500 ± 0,00095	0,6130 ± 0,0065
	Після введення препарату	0,5980 ± 0,0059	0,6010 ± 0,0059

Примітка. *Статистично значущі відмінності між групами та всередині групи дослідів між показниками до та після введення ($p < 0,01$ за критерієм Ньюмана-Кейлса).

розчину відповідної дози та концентрації Меропенему за інтратекального введення.

Інтратекальне введення Меропенему з Дексаметазоном призводило до помірного зростання частоти серцевих скорочень (у середньому на 27 %) та частоти дихання (у середньому на 21 %) і не впливало на електропровідні властивості серця (табл. 3). Зміни спостерігали протягом 12–15 хв після уведення досліджуваних препаратів. У подаль-

шому показники повертались до початкового рівня. Отримані дані підтверджують висновок про наявність короткострокової подразнюючої дії Меропенему за інтратекального введення відповідної дози та концентрації препарату.

При дослідженні гематологічних та біохімічних показників крові контрольних та дослідних тварин статистично значущої різниці не виявлено, про що свідчили показники дисперсійного аналізу (табл. 4).

Таблиця 4

Гематологічні та біохімічні показники за введення Меропенему з Дексаметазоном наприкінці спостереження (6 доба) ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група, n = 6	Дослідна група, n = 6
Нв, Г/л	143,2 ± 8,4	143,8 ± 7,5
Час згортання крові, г	69,7 ± 1,2	71,0 ± 1,7
Еритроцити, $10^{12}/л$	5,30 ± 0,12	5,40 ± 0,13
Лейкоцити, $10^9/л$	10,8 ± 0,8	11,1 ± 0,5
Активність АлАТ, мкмоль·год/л	0,46 ± 0,01	0,49 ± 0,04
Активність АсАТ, мкмоль·год/л	0,94 ± 0,03	0,93 ± 0,08
Уміст глюкози, ммоль/л	4,44 ± 0,13	4,33 ± 0,17
Уміст загального білка, г/л	85,10 ± 0,91	85,20 ± 1,59
Активність лужної фосфатази, мкмоль · хв/л	163,3 ± 16,4	169,2 ± 16,7
Уміст сечовини, ммоль/л	6,20 ± 0,24	6,30 ± 0,34
Уміст креатиніну, мкмоль/л	85,0 ± 3,5	80,8 ± 1,3

Таким чином, можна стверджувати, що інтратекальне введення розчину Меропенему з Дексаметазоном не впливає на гематологічні та біохімічні показники крові білих щурів.

Протягом усього дослідження (6 діб) не спостерігали жодного випадку загибелі тварин як у дослідній групі, так і в групі контролю.

Отримані дані слід розглядати як експериментальне обґрунтування безпечності інтратекального введення розчину Меропенему з Дексаметазоном для створення ефективної концентрації антибіотика безпосередньо у вогнищі інфекції.

Висновки

1. Інтратекальне введення 7,5 мг Меропенему + 0,2 мг Дексаметазону на один кілограм ваги тварини у дослідах на білих щурах призводить до короточасної (до 15 хв) помірної подразнюючої дії, що проявляється настороженістю, роздратованістю, підвищеною руховою активністю, збільшенням частоти дихання та частоти серцевих скорочень.
2. Інтратекальне введення 7,5 мг Меропенему + 0,2 мг Дексаметазо-

ну на один кілограм ваги білим щурам упродовж усього терміну спостереження (6 діб) не призводить до змін клінічних показників (маса та температура тіла, ціаноз, тремор, судоми, больовий рефлекс, екзофтальм, саливація, птоз, зміни шкіряних покривів), не впливає на електропровідну систему серця, що свідчить про відсутність негативного впливу досліджуваних препаратів.

3. Меропенем за інтратекального способу введення разом з Дексаметазоном не спричиняє загальнотоксичного впливу, що підтверджується відсутністю загибелі щурів, та не призводить до змін гематологічних і біохімічних показників у білих щурів.
4. Інтратекальне введення Меропенему в дозі 7,5 мг/кг з Дексаметазоном у дозі 0,2 мг/кг є безпечним та може бути рекомендовано для розробки дизайну та протоколу проведення клінічних досліджень з метою визначення ефективності та безпечності досліджуваного комбінованого введення зазначених препаратів відповідним способом.

1. Zahner B. Acute meningoencephalitis-diagnosis and therapy / Zahner B., Erbguth F., Stefan H. // Fortschr Med.– 1995.– V. 20, № 113 (8).– P. 97–101.
2. Иванова М. В. Эпидемиология бактериальных гнойных менингитов у детей: опыт Санкт-Петербурга / Иванова М. В., Вильниц А. А. / Эпидемиология и инфекционные болезни.– 2010.– № 6.– С. 52–54.
3. Эпидемиологический надзор за гнойными бактериальными менингитами: материалы 20-летних наблюдений / Быкова Р. Н., Королева И. С., Грачева А. М. [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика.– 2003.– № 5.– С. 10–13.
4. Компендиум. Лекарственные препараты 2010: Под. ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторов.– К.: Морион, 2010.– 2240 с.
5. Вашуков С. А. Лечение и профилактика посттравматических менингитов / Вашуков С. А., Поляшов А. С., Порохин В. Г. // Тез. докл. VIII Всерос. съезда анестезиол.– реаниматол.– Омск, 2002.– С. 96.
6. Кубраков К. М. Интратекальное введение антибактериальных препаратов у нейрохирургических больных с менингоэнцефалитами / Кубраков К. М., Косинец А. Н., Акуленок А. В. // Новости хирургии.– 2008.– Т. 16, № 4.– С. 86–93.
7. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / Царенко С. В.– М.: Медицина.– 2006.– 352 с.
8. Antunes-Rodrigues J. Chemical stimulation of water, sodium chloride and food intake by injection of cholinergic and adrenergic drugs into the third brain ventricle / J. Antunes-Rodrigues, S. M. McCann // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.– 1970.– V. 133.– P. 1464–1470.
9. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте / Трахтенберг И. М., Сова Р. В., Шефтель В. О., Онищенко В. А. // Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы.– М.: Медицина.– 1991.– 200 с.
10. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / [Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В.]– К.: Вища школа, 1983.– 267 с.

-
-
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації: Під. ред. О. В. Стефанова.– К., 2001.– 527 с.
 12. Методы биохимических исследований: Под ред. В. А. Прохоровой.– Л.: Из-во Ленингр. ун.-та, 1982.– 272 с.
 13. Эвтаназия экспериментальных животных: Методические рекомендации по выведению животных из эксперимента.– М.: Медицина, 1985.– 15 с.
 14. Клиническая оценка лабораторных тестов: Под ред. Н. У. Тица.– М.: Медицина, 1986.– 427 с.
 15. *Мурашко В. В.* Электрокардиография / В. В. Мурашко, А. В. Струтинский.– М.: Медицина, 1991.– 287 с.

С. П. Борщев, И. В. Фильчаков, П. В. Синицын, Н. Н. Серединская
Экспериментальное исследование безопасности интратекального применения Меропенема с Дексаметазоном

Публикация посвящена экспериментальному исследованию безопасности интратекального способа введения Меропенема с Дексаметазоном в остром эксперименте на крысах. Установлена безопасность интратекального применения дозы: 7,5 мг Меропенема + 0,2 мг Дексаметазона на один килограмм веса. Отмечено кратковременное умеренное раздражающее действие Меропенема в исследованной дозе при данном способе введения.

Ключевые слова: Меропенем, Дексаметазон, безопасность, токсичность, интратекальное введение

S. Borshchov, I. Filchakov, P. Sinitsyn, N. Seredinskaya
Experimental study of the safety of Meropenem with Dexamethasone intrathecal application

Publication is devoted to the experimental study of the safety intrathecal application of Meropenem with Dexamethasone in acute experiments on rats. It was established that safe dose of Meropenem plus Dexamethasone at intrathecal administration is equal to 7.5 mg Meropenem + 0.2 mg Dexamethasone per kg of body weight. The transient mild irritant effect of Meropenem in this dose for a given method of administration was registered.

Key words: Meropenem, Dexamethasone, safety, toxicity, intrathecal administration

Надійшла: 05.04.2013 р.

Контактна особа: Борщов С. П., ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України», вул. М. Амосова, 5, м. Київ, 03038.
Тел.: + 38 0 44 275 37 11. Електронна пошта: borshchev@ukr.net