

ТРАНСКАПИЛЛЯРНЫЙ ОБМЕН ЖИДКОСТИ И ОКСИГЕНИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ЛЕГКИХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИКАЦИЯХ НАПРАВЛЕННОГО ТРАНСПОРТА АНТИБИОТИКОВ

Гуревич К. Г.¹, Левина Т. М.², Пятаев Н. А.²

¹ГБОУ ВПО МГМСУ им А. И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия (127473, Москва, ул. Десятская, 20, стр.1), e-mail: msmsu@msmsu.ru

²ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарёва», Саранск, Россия (430005, Саранск, ул. Большевикская, 68), e-mail: der-general@adm.mrsu.ru

В эксперименте на 30 кроликах исследованы изменения транскапиллярного обмена жидкости, воздушности легочной ткани и оксигенирующей функции легких при различных модификациях направленного транспорта цефотаксима и эритромицина. Установлено, что реинфузия экстракорпорально обработанных эритромицином и цефотаксимом аутоэритроцитов в дозе $10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг не приводит к существенным изменениям транскапиллярного обмена жидкости в легочной ткани и ее воздушности по сравнению со стандартным внутривенным введением антибиотиков (контрольная группа), а также не нарушает оксигенирующую функцию легких. Увеличение количества клеток-носителей до $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг сопровождается нарушениями диффузионной способности легких (гипоксемия и увеличение внутрилегочного шунтирования), снижением воздушности легочной ткани на 20,6 %, увеличением общего объема жидкости в легких (в основном за счет интерстициальной жидкости, уровень которой возрастал на 52,7 %) до 11,5 % по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы.

Ключевые слова: направленный транспорт антибиотиков, обмен жидкости и оксигенирующая функция легких.

TRANSCAPILLAR LIQUID EXCHANGE AND OXYGENATION FUNCTION OF LUNGS AT VARIOUS MODIFICATIONS OF ANTIBIOTIC TARGETED TRANSPORT

Gurevich K. G.¹, Levina T. M.², Pyataev N. A.²

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia (127473, Moscow, street Delegatskaya, 20, 1), e-mail: msmsu@msmsu.ru

²Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Bolshevistskaya, 68), e-mail: der-general@adm.mrsu.ru

In the experiment on 30 rabbits, there have been studied the changes of transcapillar liquid exchange, lung tissue air saturation, and lung oxygenation function at various modifications of cefotaxim and erythromycine directed transport. It has been found that the reinfusion of autoerythrocytes treated extracorporeally by erythromycine and cefotaxim in a dose of $10,5 \cdot 10^9$ cell/kg does not result in considerable changes in transcapillar liquid exchange in the lung tissue and in its air saturation as compared to a standard antibiotic intravenous injection (control group) and does not impair the lung oxygenation function. An increase in the number of cell carriers up to $32,7 \cdot 10^9$ cell/kg is accompanied by impairments in lung diffusion ability (hypoxemia and increase in intralung shunting) by a decrease in lung tissue air saturation by 20,6 %, and by an increase up to 11,5 % in the total volume of liquid in the lungs (mostly due to interstitial liquid the level of which grows up to 52,7 %) as compared to analogous indexes of the control group.

Key words: antibiotic targeted transport, liquid exchange in lungs, lung oxygenation function.

Введение

В патогенезе воспаления легочной ткани существенное значение имеют внутриальвеолярная экссудация, инфильтрация клетками воспаления и пропитывание паренхимы экссудатом, а также нарушения в системе микроциркуляции, которые способствуют развитию ишемических изменений и поддержанию воспалительного процесса в легких [2]. Основным компонентом лечения пневмоний по материалам согласительных рекомендаций Европейского респираторного общества и Европейского общества клинической микробиологии и ин-

фекционных заболеваний (2011) является антибактериальная терапия (АБТ). Рост количества антибиотикорезистентных форм микроорганизмов и расширение спектра побочных (в т.ч. токсических) эффектов в результате широкого применения антибиотиков [1, 8] делает актуальным поиск путей повышения эффективности АБТ пневмонии.

Одним из путей решения данной проблемы является направленный транспорт (НТ) антибактериальных препаратов (АБП), который позволяет обеспечить максимальную концентрацию препарата в органе-мишени без значительного повышения его концентрации в других органах и тканях [7]. В настоящее время предложено несколько методик НТ, эффективных при пневмонии [4, 5, 8]. В работах [3] и [5] показано распределение эритроцитов, нагруженных АБП, свидетельствующее о преимущественной их локации в легочной ткани. Последнее при наличии положительных свойств (концентрация АБП в очаге воспаления) может иметь неблагоприятные последствия для системы микроциркуляции и дыхательной функции легких. В связи с этим определенным интерес представляет изучение изменений транскапиллярного обмена жидкости и оксигенирующей функции легочной ткани при использовании различных модификаций НТ АБП.

Цель исследования – экспериментальное изучение влияния различных модификаций направленного транспорта антибиотиков на основные параметры транскапиллярного обмена жидкости и оксигенирующую функцию легких.

Материалы и методы исследования. Нами проведены эксперименты на 30 интактных кроликах породы «шиншилла», которые были разделены на 3 группы: в I группе (контроль, 10 кроликов) АБП (цефотаксим 100 мг/кг и эритромицин 10 мг/кг) вводили стандартным внутривенным способом; во II (10 кроликов) и III группе (10 кроликов) – им вводились те же препараты в равных дозах. При этом во II группе АБП вводили по методике НТ с использованием аутоэритроцитов в количестве $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг (прототипная методика [4]) и в III группе – $10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг (модифицированная методика [5]). Для оптимизации насыщения клеток-носителей цефотаксимом в данной группе в среду инкубации добавляли диметилсульфоксид в дозе 1мг/мл.

Исследования газового состава артериальной крови и кислотно-основного состояния (p_aO_2 ; p_aCO_2 ; pH; BE; Sat O_2 ; (Qs/Qt)) выполняли на аппарате Easy Blood Gas (Израиль) до введения АБП и через 24 часа после введения. Концентрацию лактата в крови определяли биохимическим методом по реакции с параоксидифенилом.

Исследование объемов жидкостных секторов в легких проводили по оригинальной методике: после эвтаназии животного забирали 2 кусочка легочной ткани весом не менее 500 мг и венозную кровь в объеме, достаточном для определения концентрации электролитов в плазме. Первый из кусочков легочной ткани взвешивали, затем гомогенизировали путем рас-

тирания в ступке с кварцевым песком. Затем добавляли дистиллированную воду в объеме, в 4 раза превосходящем массу ткани. Экстрагировали электролиты в течение 2 часов. Смесь гомогената и воды центрифугировали при 3000 об./мин в течение 30 мин. Затем определяли концентрацию натрия в супернатанте и в сыворотке крови.

Объем интерстициальной жидкости в легких (ОИЖЛ) рассчитывали по формуле: $V_i = 1,07 \cdot 5 Na_i / Na_p$; где V_i – ОИЖЛ (мл/г ткани); Na_i и Na_p – концентрация натрия (ммоль/л) в вытяжке из легочной ткани и плазме крови соответственно; 1,07 – плотность плазмы крови и интерстициальной жидкости; 5 – коэффициент, равный степени разведения гомогената ткани при экстрагировании натрия.

Второй кусочек легочной ткани взвешивали, затем высушивали в сушильном шкафу при $t^0 100^{\circ} C$ в течение 3 часов, после чего повторно взвешивали. Общий объем жидкости в легких (ООЖЛ) рассчитывали по формуле: $V_{tot} = 1,07 (m_0 - m_1) / m_0$; где V_{tot} – ООЖЛ, мл/г легочной ткани; m_0 и m_1 – масса легочной ткани соответственно до и после высушивания, г; 1,07 – плотность плазмы крови и интерстициальной жидкости. Объем клеточной жидкости в легких (ОКЖЛ) рассчитывали по формуле: $V_c = V_{tot} - V_i$; где V_c – ОКЖЛ; V_{tot} – ООЖЛ; V_i – ОИЖЛ, мл/г легочной ткани.

Воздушность легочной ткани (ВЛТ) рассчитывали по формуле:

$$A_L = \frac{V_L - 1,12 m}{V_L} \times 1000,$$

где A_L – ВЛТ, мл/л; V_L – объем легких, мл; m – масса легких, г; 1,12 – плотность безвоздушной легочной ткани; 1000 – коэффициент для перевода мл/мл в мл/л.

Результаты исследования и их обсуждение

Применение НТ цефотаксима и эритромицина в 1-й опытной группе (количество аутоэритроцитов $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг) сопровождалось увеличением ООЖЛ до 11,5 % по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы ($p < 0,01$), в основном за счет интерстициальной жидкости, уровень которой возрастал на 52,7 % ($p < 0,001$) (табл. 1). Объем клеточной жидкости в 1-й группе оставался практически на том же уровне, что и в контрольной группе ($p > 0,05$). Во 2-й опытной группе ($10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг) по всем изучаемым параметрам состояния легких достоверных различий по отношению к контрольной группе не наблюдали, однако отмечена тенденция к незначительному снижению ВЛТ и ОКЖЛ ($p > 0,05$), при недостоверном увеличении уровней ООЖЛ на 3,36 % и ОИЖЛ на 19,9 %.

Т а б л и ц а 1

Некоторые показатели транскапиллярного обмена жидкости и воздушности легочной ткани при различных модификациях НТ АБП

Показатель	Контрольная группа, n = 10)	Прототипная методика НТ, n = 10)	T	p ₁	Модифицированная методика НТ, n = 10)	T	P ₂
ВЛТ, мл/л	401,5 ± 19,8	395,7 ± 24,3	0,19	>0,05	318,9 ± 23,7	2,67	<0,05
ООЖЛ, мл/г	71,5 ± 1,8	73,9 ± 2,2	0,85	>0,05	79,7 ± 1,5	3,5	<0,01
ОИЖЛ, мл/г	18,6 ± 1,2	22,3 ± 0,9	1,5	>0,05	28,4 ± 1,1	6,01	<0,001
ОКЖЛ, мл/г	52,9 ± 2,5	50,6 ± 2,2	0,69	>0,05	51,3 ± 1,8	0,52	>0,05

Прим.: p₁ – достоверность различий между показателями в контрольной и 1-й опытной группах; p₂ – достоверность различий между показателями в контрольной и 2-й опытной группах.

Таким образом, реинфузия экстракорпорально обработанных эритромицином и цефотаксимом аутологичных форменных элементов крови в количестве $10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг не приводила к существенным изменениям транскапиллярного обмена жидкости в легочной ткани (интерстициального пространства и клеток) по сравнению со стандартным внутривенным введением антибиотиков.

Увеличение количества клеток-носителей до $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг приводило к снижению воздушности легочной ткани на 20,6 % (p < 0,05) по отношению к контрольной группе. Мы считаем, что нагрузка эритроцитов в дозе $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг при использовании НТ АБП приводит к ухудшению состояния микроциркуляторного русла легкого за счет сдавления капилляров интерстициальной жидкостью, а также к нарушению функции альвеоцитов вследствие их компрессии. Кроме того, следует учитывать, что проведение НТ антибиотиков в высоких концентрациях приводит к секвестрации в легочной ткани 10 – 15 % клеток, нагруженных АБП вследствие трансформации и частичного повреждения мембран эритроцитов при экстракорпоральной их обработке. Это также способствует ухудшению локальной гемодинамики и микроциркуляции в легком, что может привести к дополнительному «заболачиванию» воспаленного органа. Данный факт представляет практический интерес для клиники, он должен учитываться при необходимости проведения искусственной вентиляции легких, в сочетании с НТ АБП с высокой концентрацией последних, что требует дополнительного изучения.

Анализируя полученные данные, следует констатировать, что введение АБП с использованием различных модификаций НТ показало существенные различия как в звеньях транскапиллярного обмена жидкости в легких, так и воздушности легочной ткани. Оптимальным вариантом количества клеток-носителей, не приводящим к существенным изменениям водных сред легких и ВЛТ, следует считать объемную массу в $10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг. Превышение данной дозы приводит к значительным изменениям транскапиллярного обмена

жидкости в легких и снижению воздушности легочной ткани, которые усугубляют нарушения в аналогичном звене патогенеза локального воспаления.

Изменения водных сред легких и воздушности легочной ткани, процессы секвестрации эритроцитов при использовании различных технологий НТ АБП неразрывно связаны с процессами диффузии и газообмена в легких, а также внутрилегочного шунтирования кровотока. В ряде исследований [4, 8] было показано, что при реинфузии клеток крови, обработанных антибиотиками, происходит их задержка в легочной ткани. Это приводит к увеличению концентрации антибиотика в мокроте и легочной ткани в 4 – 7 раз.

Вместе с тем известно, что внутрилегочная секвестрация эритроцитов и высвобождение биологически активных веществ из активированных лейкоцитов могут провоцировать интерстициальное легочное воспаление и отек альвеоло-капиллярной мембраны [9]. В связи с данными обстоятельствами весьма актуальным представлялось исследование влияния НТ АБП на состояние оксигенирующей функции легких.

Анализ газового состава артериальной крови и кислотно-основного состояния показал, что внутривенное введение эритромицина и цефотаксима на изотоническом растворе натрия хлорида в использованных дозах не вызывает изменений оксигенирующей функции легких. Во 2-й группе животных также не зарегистрировано изменений параметров газообмена, которые как на исходном этапе, так и через сутки после проведения эксперимента не отличались от аналогичных показателей контрольной группы (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Некоторые показатели газообменной функции легких и метаболизма при проведении направленного транспорта антибиотиков

Показатель	Значения показателей на этапах исследования, $M \pm m$		P
	До введения	Через 24 часа	
1	2	3	4
(контроль, внутривенное введение на физиологическом растворе, n = 10)			
ЧД, мин ⁻¹	60,5 ± 3,1	62,3 ± 4,1	> 0,05
pO ₂ , мм рт. ст.	101,8 ± 4,7	104,5 ± 5,9	> 0,05
pCO ₂ , мм рт. ст.	30,3 ± 2,9	32,1 ± 4,6	> 0,05
Sat O ₂ , %	96,8 ± 1,9	97,0 ± 1,7	> 0,05
Qs/Qt, %	2,12 ± 0,17	1,85 ± 0,14	> 0,05
Лактат, ммоль/л	2,51 ± 0,17	2,49 ± 0,22	> 0,05
pH, ед	7,291 ± 0,003	7,299 ± 0,004	> 0,05
BE, ммоль/л	- 10,8 ± 0,7	- 9,6 ± 0,8	> 0,05
1	2	3	4
1-я опытная группа (НТ, доза клеток 32,7 · 10 ⁹ /кг, n = 10)			
ЧД, мин ⁻¹	66,3 ± 4,5	82,7 ± 6,1	< 0,05
pO ₂ , мм рт. ст.	97,3 ± 5,8	82,5 ± 6,9	< 0,05

pCO ₂ , мм рт. ст.	33,5 ± 1,2	28,1 ± 1,8	< 0,05
Sat O ₂ , %	96,2 ± 1,6	94,8 ± 2,0	> 0,05
Qs/Qt, %	3,76 ± 0,28	10,8 ± 1,2%	< 0,01
Лактат, ммоль/л	2,65 ± 0,36	2,73 ± 0,32	> 0,05
pH, ед	7,281 ± 0,004	7,325 ± 0,004	> 0,05
BE, ммоль/л	- 9,8 ± 0,7	- 10,5 ± 1,1	> 0,05
2-я опытная группа (НТ, доза клеток 10,5 · 10 ⁹ /кг, n = 10)			
ЧД, мин ⁻¹	64,5 ± 4,8	61,9 ± 5,2	> 0,05
pO ₂ , мм рт. ст.	98,8 ± 4,7	101,5 ± 5,9	> 0,05
pCO ₂ , мм рт. ст.	29,4 ± 1,9	28,7 ± 3,4	> 0,05
Sat O ₂ , %	96,6 ± 1,8	96,8 ± 2,1	> 0,05
Qs/Qt, %	4,61 ± 0,22	3,08 ± 0,25	> 0,05
Лактат, ммоль/л	2,31 ± 0,32	2,37 ± 0,27	> 0,05
pH, ед	7,305 ± 0,002	7,302 ± 0,003	> 0,05
BE, ммоль/л	- 10,6 ± 0,5	- 11,0 ± 0,7	> 0,05

Прим.: p – достоверность различий между показателями до НТ и после него.

Введение обработанных АБП аутоэритроцитов животным 1-й опытной группы приводило к незначительно выраженным респираторным нарушениям. Через сутки после проведения НТ отмечалось увеличение ЧД (с 66,3 ± 4,5 до 82,7 ± 6,1 дыханий/мин). Регистрировались снижение pO₂ с 97,3 ± 5,8 до 82,5 ± 6,9 (p < 0,05) и увеличение легочного шунтирования с 3,76 ± 0,28 до 10,8 ± 1,2 % (p < 0,01). Увеличение частоты дыхания сопровождалось незначительным снижением pCO₂, которое не влияло на уровень pH и BE. Концентрация лактата достоверно не изменялась.

Таким образом, проведенные исследования показали, что внутривенное введение АБП на изотоническом растворе хлорида натрия и их НТ с помощью нативных форменных элементов в дозе 10,5 · 10⁹ клеток/кг являются безопасными и не приводят к нарушениям оксигенации. Увеличение дозы клеток-носителей до 32,7 · 10⁹ клеток/кг провоцирует нарушения диффузионной способности легких, проявляющиеся гипоксемией и увеличением внутрилегочного шунтирования (на то, что причиной гипоксемии является нарушение диффузии, а не вентиляции, указывает снижение pCO₂ на 16,2 % (p < 0,05) у животных 1-й опытной группы на 2-е сутки после проведения НТ).

Выявленные изменения характера оксигенации соответствуют проявлениям ОРДС, патогенез которого сходен с патогенезом СОПЛ при массивных гемотрансфузиях и операциях с искусственным кровообращением. Как известно, при этих вмешательствах происходит внутрилегочная секвестрация эритроцитов, имеющих морфологические и функциональные изменения клеточной мембраны, а также миграция активированных лейкоцитов в легочный интерстиций [9]. В небольших объемах эти процессы не приводят к каким-либо отрицатель-

ным последствиям для организма. Однако при массивных гемотранфузиях депонирование клеток в микрососудах легких может приводить к нарушениям капиллярного легочного кровотока, сладжу и микротромбозу капилляров. Высвобождение биологически активных веществ из активированных лейкоцитов провоцирует интерстициальное легочное воспаление и вызывает отек альвеоло-капиллярной мембраны [9].

Факт внутрилегочного депонирования клеток крови в капиллярах легких при проведении НТ антибиотиков был установлен в исследованиях, выполненных на кафедре общей хирургии и анестезиологии им. проф. Н.И. Атясова Мордовского госуниверситета. С помощью меченых форменных элементов было показано, что при проведении НТ до 10 – 15 % клеток, нагруженных антибиотиками, секвестрируется в легочной ткани [5]. Предпосылками для такой секвестрации являются изменения мембран эритроцитов, возникающие под влиянием экстракорпоральной обработки антибиотиками в высоких концентрациях. Эти изменения заключаются в повышении жесткости мембраны, снижении ее электроотрицательного заряда, повышении агрегационной и адгезивной активности клеток [5].

Полученные результаты по оксигенирующей функции легких при НТ АБП позволили определить оптимальный безопасный объем клеток-носителей, который можно использовать для насыщения фармакологическими препаратами с целью НТ последних в легочную ткань без нарушения оксигенации.

Заключение

Введение кроликам эритромицина и цефотаксима в ассоциации с аутоэритроцитами ($10,5 \cdot 10^9$ клеток/кг) не приводит к существенным изменениям транскапиллярного обмена жидкости и воздушности легочной ткани, не нарушает оксигенирующую функцию легких. Направленный клеточно-ассоциированный транспорт данных препаратов с помощью аутоэритроцитов в клеточной массе $32,7 \cdot 10^9$ клеток/кг сопровождается увеличением общего объема жидкости в легких за счет интерстициального сектора, нарушениями оксигенации и снижением воздушности легочной ткани.

Список литературы

1. Белоусов Ю. Б. Общая и частная клиническая фармакокинетика / Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич. – М.: Ремедиум, 2006. – 807 с.
2. Внебольничная пневмония у взрослых. Практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике / А. Г. Чучалин, А. И. Синопальников, Р. С. Козлов и др. – М., 2010. – 106 с.
3. Генинг Т. П. Фармакокинетика антибиотика, вводимого в организм в клеточных носителях / Т. П. Генинг, К. К. Мануйлов // Антибиотики и химиотерапия. – 1991. – № 9. – С. 19-20.

4. Лохвицкий С. В. Способ лечения хирургической инфекции / С. В. Лохвицкий, Г. Я. Кивман, А. Е. Гуляев, С. Г. Пьянов и др. – АС SU 1805390 A1, 1992.
5. Пятаев Н. А. Фармакокинетика и фармакодинамика антибактериальных препаратов при направленном транспорте у пациентов с тяжелой пневмонией / Н. А. Пятаев, К. Г. Гуревич, А. Н. Беляев, О. В. Минаева // Медицина критических состояний. – 2008. – № 3. – С. 11 – 17.
6. Пятаев Н. А. Способ лечения инфекционно-воспалительных заболеваний бронхолегочного аппарата бактериальной этиологии / Н. А. Пятаев, А. Н. Беляев, М. Д. Романов, И. С. Котлов. – Патент РФ № 2793554 RU, 02.08.2005.
7. Чазов Е. И. Направленный транспорт лекарства: проблемы и перспективы / Е. И. Чазов, В. Н. Смирнов, В. П. Торчилин // Журн. Всесоюзного химического об-ва им. Менделеева. – 1987. – № 5. – С. 485-487.
8. Lim W. S. British Thoracic Society Guidelines for the Management of Community–Acquired Pneumonia in Adults: Update 2009 / W. S. Lim, S. V. Boudouin, R. C. George // Thorax. – 2009. – Vol. 64 (Suppl. III). – P. 1-55.
9. Shander A. Understanding the consequences of transfusion – related acute lung injury / A. Shander, M. A. Popovsky // Chest. – 2005. – № 128. – P. 598-604.

Рецензенты:

Инчина В. И., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарёва» Минобрнауки России, г. Москва.

Зорькина А. В., доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой поликлинической терапии и функциональной диагностики ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарёва» Минобрнауки России, г. Москва.