

УДК

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИПОСОМНОГО ГЕНТАМИЦИНА ПРИ
КАТАРАЛЬНОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ У ТЕЛЯТ

Г.М. Фирсов,* В.К. Матросов.**

**ФГОУ ВПО «Волгоградская государственная сельскохозяйственная академия», кандидат ветеринарных наук. 8(8442)73-58-31, 400007, г.*

Волгоград, ул. О. Форш, д.8, кв. 13. firsovgm@yandex.ru

***ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им.Н.И. Вавилова», аспирант. 8(8442)73-58-31, 400007, г. Волгоград, ул. О. Форш, д.8,*

кв. 13. matrosovbk@yandex.ru

EFFICIENCY OF APPLICATION GENTAMYCINUM IN LIPOSOMES AT
BRONCHOPNEUMONIA CATARRHAL AT CALF'S

G.M. Firsov,* V.K. Matrosov.**

** The Volgograd state agricultural academy, Ph. D. in Veterinary Sciences.
400007, Volgograd, st. O.Forsh, h. 8, sq. 13. firsovgm@yandex.ru*

*** The Saratov state agrarian university N.I. Vavilov, the post-graduate student.
400007, Volgograd, st. O.Forsh, h. 8, sq. 13. matrosovbk@yandex.ru*

Ключевые слова. Липосомы, антибиотики, гомеостаз, катаральная бронхопневмония, терапия.

Key words. Liposomes, antibiotics, homeostasis, catarrhal bronchopneumonia, therapy.

Аннотация. Изучено воздействие липосомного гентамицина на функциональную активность системы гомеостаза крови телят при катаральной бронхопневмонии. Установлена высокая терапевтическая эффективность применения липосомного гентамицина. Обсуждаются механизмы

терапевтического воздействия липосомного гентамицина на организм животных.

Summary. Influence gentamycinum in liposomes on functional activity of system of a homeostasis of a blood calf's is investigated at a catarrhal bronchopneumonia. Fixed high therapeutic efficiency of application of gentamycinum in liposomes. Discussed mechanisms of therapeutic influence gentamycinum in liposomes on an organism of animals.

Введение

Терапия болезней осложненных инфекцией требует применения противомикробных препаратов. Эффективность действия антибактериальных препаратов определяется их стабильностью в организме, избирательностью действия и способностью к прохождению через клеточные мембраны, а так же минимальными побочными эффектами. Проникновение антибиотиков в ткани и поддержание их бактерицидных концентраций в течение необходимого времени является одним из важных условий успеха антибактериальной терапии. Поэтому разработка рациональных схем профилактики и лечения воспалительных заболеваний, поиск новых путей и способов введения антибактериальных препаратов является актуальным.

Способностью направленного транспорта лекарственных веществ, обладают липосомы. Это липидные везикулы с заключенной во внутренний объем водной фазой, близкие по ряду своих характеристик к биологическим мембранам. По данным зарубежных исследователей доказано, что при парентеральном введении период полувыведения и плазменная концентрация препарата, введенного в липосомы, увеличивается в 8-10 раз по сравнению со свободной формой [4,5].

Рядом отечественных исследователей была изучена на лабораторных и сельскохозяйственных животных липосомная форма гентамицина [1,2]. Проведенными исследованиями показано, что гентамицин включенный в

липосомы, поглощаются перитонеальными макрофагами и благодаря этому в органах, содержащих большое количество клеток, способных к фагоцитозу (легкие, печень, селезенка), создаются высокие концентрации антибиотиков, причем на более длительный период, чем при использовании свободных препаратов. Гентамицин действует бактерицидно на грамотрицательные и некоторые грамположительные микроорганизмы, в том числе *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter*, индол положительные и индол отрицательные штаммы *Proteus spp.* и др. наиболее часто осложняющие течение бронхопневмоний незаразной этиологии, при этом после внутримышечного введения хорошо всасывается, достигая максимальной концентрации в крови через час после инъекции, терапевтическая концентрация в организме сохраняется 8-12 часов, что и явилось обоснованием для изучения эффективности применения липосомного гентамицина при катаральной бронхопневмонии у телят.

Материал и методы

Объектом исследований явились телята красной степной породы 1,5 – 2 месячного возраста принадлежащие хозяйствам различных форм собственности Волгоградской области в период 02 апреля по 18 мая 2008 г. Верификация диагноза осуществлялась на основании комплексного клинического исследования животных, включавшего в себя сбор анамнеза, объективного осмотра, а также общепринятых лабораторных и инструментальных исследований. Были сформированы три подопытные группы. Телятам 1-й опытной группы (n=6) внутримышечно применяли свободный гентамицина сульфат (*Gentamycini sulfas*) 4 % раствор для инъекций в дозе 2 мг ДВ на кг массы тела (0,5 мл раствора на 10 кг массы тела) с интервалом 12 часов. Телятам 2-й опытной группы (n=7) в качестве противомикробного средства применялся липосомный гентамицин внутримышечно в дозе 0, 5 мл суспензии на 10 кг массы тела с интервалом 48 часов. Всем больным животным в качестве

средства патогенетической терапии (после нормализации общей температуры) применяли подкожное введение аутокрови, стабилизированной цитратом натрия (аутогемотерапию), как средство заместительной терапии подкожно применяли тетравит в дозе 3 мл на голову с интервалом 7 дней. Контрольную группу (n=6) сформировали из клинически здоровых телят.

Лабораторные исследования образцов крови выполнялись в Октябрьской районной ветеринарной лаборатории, пос. Октябрьский, Волгоградской области и на кафедре клинической диагностики и терапии болезней животных ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова» по общепринятым в ветеринарной практике методикам.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ *BioStat 1,40 for Windows* © и пакета приложений *MS Excel 2003* © на *IBM PC 586* с использованием параметрических и непараметрических критериев Стьюдента, Фишера, Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса [3].

Результаты исследований и обсуждение

По результатам проведенных клинических исследований у всех больных телят было установлено общее угнетение, снижение реакции на общие раздражители, усиленное напряженное дыхание, сухой кашель, смешанная одышка. Из носовых ходов наблюдалось серозно-слизистое истечение. При аускультации выявлены бронховезикулярное и бронхиальное дыхание, крупнопузырчатые хрипы, чаще в передних долях легких. При перкуссии у 12 из 13 телят (92,3%) установлены притупленные и тупые звуки в области передних долей легких. У всех животных наблюдалось повышение общей температуры тела на 0,9-1,4 °С, учащение пульса до 98-120 ударов в минуту, учащение дыхания до 31-41 дыхательных движений в минуту. После начала терапии было установлено, что у телят обеих опытных групп в течение 3-4 дней нормализовались показатели температуры, пульса и дыхания, истечения из носовых ходов стали более скудными, кашель стал влажным, прошла

одышка. При этом нормализация показателей у телят II-й опытной группы наступала на $0,4 \pm 0,67$ дня раньше, чем у телят I-й опытной группы.

Характерные изменения были установлены и при изучении основных гематологических и некоторых биохимических показателей крови.

Данные о динамике гематологических показателей крови телят представлены в таблице 1.

Таблица 1.

**Динамика гематологических показателей крови телят больных
бронхопневмонией ($M \pm m$)**

Показатель, единицы измерения	Группы животных					
	I-я опытная (n=6)		II-я опытная (n=7)		Контроль (n=6)	
	до лечения	на 7 суток лечения	до лечения	на 7 суток лечения		
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,51 \pm 0,29$	$7,23 \pm 0,49^*$	$6,89 \pm 0,28$	$8,29 \pm 0,25^*$	$8,33 \pm 0,23$	
Гемоглобин, г/л	$98,75 \pm 2,73$	$109,0 \pm 0,63$	$100,36 \pm 4,93$	$110,86 \pm 1,46$	$111,0 \pm 1,55$	
Гематокрит, %	$35,17 \pm 0,75$	$36,17 \pm 0,98$	$35,71 \pm 1,11$	$37,44 \pm 1,53$	$37,52 \pm 0,29$	
СОЭ, мм/ч	$2,40 \pm 0,21$	$0,95 \pm 1,27^*$	$2,39 \pm 0,20$	$0,93 \pm 0,28$	$0,91 \pm 0,27$	
Лейкоциты, $10^9/л$	$11,98 \pm 0,85$	$8,78 \pm 0,64^*$	$10,19 \pm 0,45$	$8,33 \pm 0,18$	$8,38 \pm 0,12$	
Лейкограмма						
Базофилы	$0,17 \pm 0,41$	0	0	$0,14 \pm 0,38$	0	
Эозинофилы	$1,67 \pm 0,52$	$6,0 \pm 0,89$	$2,0 \pm 0,58$	$6,14 \pm 1,07$	$6,0 \pm 0,89$	
Нейтрофилы	Миелоциты	0	0	$0,14 \pm 0,38$	0	
	Юные	$1,0 \pm 0,63$	0	$1,29 \pm 0,49$	0	
	Палочкоядерные	$7,5 \pm 1,05$	$4,83 \pm 1,47$	$7,29 \pm 2,93$	$4,14 \pm 1,07^*$	$3,83 \pm 0,75$
	Сегментоядерные	$43,5 \pm 1,87$	$32,5 \pm 3,33$	$43,57 \pm 2,07$	$29,14 \pm 0,90^*$	$26,83 \pm 1,94$
Лимфоциты	$40,67 \pm 1,37$	$52,17 \pm 2,86$	$40,14 \pm 2,79$	$54,86 \pm 1,77^*$	$57,67 \pm 1,97$	
Моноциты	$5,50 \pm 0,55$	$5,67 \pm 0,52$	$5,43 \pm 0,79$	$5,57 \pm 0,53$	$5,67 \pm 0,52$	

* показатели статистически достоверны при $p < 0,05$.

Исследования позволили выявить снижение в крови больных телят до проведения лечения, по сравнению с контролем, количества эритроцитов в среднем в 1,2 раза, гемоглобина – в 1,1 раза, гематокрита – на 5,5%, увеличения

по сравнению с контролем скорости оседания эритроцитов в среднем в 2,5 раза, количества лейкоцитов 1,3-1,4 раза. При анализе лейкограммы были установлены высокая, более чем в 3 раза эозинофилия, регенеративный сдвиг ядра нейтрофилов влево с появлением молодых, незрелых форм клеток – характерный признак, свойственный воспалительным процессам. Количество моноцитов было на уровне физиологической нормы.

После проведения курса терапии количество эритроцитов в группе животных, которых лечили липосомным гентамицином, достоверно увеличилось в 1,2 раза, а показатели гемоглобина, гематокритной величины, скорости оседания эритроцитов и количества лейкоцитов достигли величин физиологической нормы и, не имели значимых различий по сравнению с данными контрольной группы. В лейкограмме выявлено статистически значимое достоверное увеличение количества лимфоцитов с $40,14 \pm 2,79$ до $54,86 \pm 1,77$, уменьшение числа палочкоядерных с $7,29 \pm 2,93$ до $4,14 \pm 1,07$ и сегментоядерных с $43,57 \pm 2,07$ до $29,14 \pm 0,90$ нейтрофилов. Количество эозинофилов увеличилось более чем в 3 раза и достигло физиологически нормальных величин.

В группе животных, которым применяли гентамицина сульфат, количество эритроцитов достоверно увеличилось в 1,1 раза, а показатели гемоглобина, гематокритной величины, скорости оседания эритроцитов и количества лейкоцитов также достигли величин физиологической нормы, но были несколько ниже по сравнению с контролем и группой животных, которых лечили липосомным гентамицином. Анализ лейкограммы показал наличие незначительного ядерного сдвига нейтрофилов влево, что свидетельствует о продолжение воспалительного процесса.

Для оценки состояния белкового углеводного и липидного обменов, а также функций отдельных органов были проведены биохимические исследования сыворотки и плазмы крови телят. Данные о динамике биохимических показателей представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Динамика некоторых показателей белкового, углеводного и липидного обмена телят больных бронхопневмонией (M±m)

Показатель, единицы измерения	Группы животных				
	I-я опытная (n=6)		II-я опытная (n=7)		Контроль (n=6)
	до лечения	на 7 сутки лечения	до лечения	на 7 сутки лечения	
Общий белок г/дл	8,47±0,11	7,88±0,39*	8,50±0,13	7,63±0,17*	7,52±0,09
Альбумины, г/дл	2,67±0,18	2,88±0,23	2,66±0,17	3,03±0,14	3,01±0,13
Глобулины, г/дл	5,78±0,08	5,0±0,05	5,77±0,07	4,60±0,12	4,51±0,11
α-глобулины	0,2±0,01	1,0±0,9	0,2±0,01	1,1±0,01*	1,1±0,01
β-глобулины	1,5±0,04	1,4±0,03	1,5±0,03	1,0±0,01*	1,0±0,01
γ-глобулины	4,08±0,08	2,6±0,03*	4,07±0,08	2,5±0,03*	2,51±0,03
Цинк-сульфатный бронхолегочный тест, мл	1,4±0,03	1,8±0,67*	1,42±0,08	2,1±0,87*	2,1±0,93
Глюкоза, мг%	31,67±1,86	38,8±1,82	32,0±1,91	43,14±1,95	47,0±0,87
Пировиноградная кислота, мг%	2,6±0,01	1,4±0,02*	2,53±0,03	1,2±0,02*	1,1±0,01
Общие липиды, мг/%	122±6,75	130±4,67	125,9±4,67	130±4,33	132,0±4,67
МДА, мкмоль/л	3,45±0,03	1,9±0,08	3,41±0,10	1,2±0,01*	1,0±0,01

* показатели статистически достоверны при $p < 0,05$.

На основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что у телят, больных катаральной бронхопневмонией были выявлены изменения со стороны белкового обмена. Так было установлено повышение количества общего белка в среднем в 1,1–1,2 раза. При этом наблюдалось характерное для пневмонии увеличение содержания γ-глобулинов в среднем в 1,7 раз, умеренное повышение уровня β-глобулинов в среднем на 50%, при заметном снижении альбуминов в 5,5 раз. После проведения курса терапии количество общего белка как в I-й так и во II-й опытных группах статистически достоверно снизилось по отношению к контролю. Также статистически достоверно снизилось количество γ-глобулинов в 1,8 раза. Количество α-глобулинов напротив увеличилось в 5 и

5,5 раз соответственно. В-глобулины снизились до контрольных величин только во II-й опытной группе, при этом данные были статистически достоверны.

Для диагностики пневмонии мы проводили бронхолегочный тест по И.П. Кондрахину с раствором цинка сульфата. Пневмония всегда сопровождается повышением содержания в сыворотке крови глобулинов и снижением количества альбуминов. Чем тяжелее воспалительный процесс, тем сильнее выражена диспротеинемия, тем меньше пойдет раствора цинка сульфата для осаждения грубодисперсных белков. У клинически здоровых телят в возрасте 1–3 мес величина бронхолегочного теста составляет 1,7–2,7 мл, при легкой и средней тяжести бронхопневмонии – 1,5–1,3, при тяжелом затяжном течении болезни – 1,2 мл и менее. При анализе полученных данных установлено, что величина бронхолегочного теста в начале исследований у больных телят составляла 1,4–1,42 мл, а после проведения терапии как в I-й так и во II-й опытных группах статистически достоверно увеличилась до $1,8 \pm 0,67$ и $2,1 \pm 0,87$ соответственно.

Со стороны углеводного обмена было установлено снижение количества глюкозы в среднем в 1,47 раз и увеличения содержание пировиноградной кислоты в крови более чем в 2,5 раза, что характеризует нарушения окислительно-восстановительных процессов в условиях дефицита кислорода. После проведения терапии содержание пировиноградной кислоты статистически достоверно снизилось по отношению к контролю и достигло величин физиологических норм.

Характер липидного обмена отражает повышение концентрации малонового диальдегида, что свидетельствует об активизации процессов перекисного окисления липидов и о снижении антиоксидантной защиты организма при острых воспалительных процессах. Концентрация МДА после проведения терапии статистически достоверно снизилась до физиологической нормы только во II-й опытной группе, которую лечили липосомным

гентамицином, а в I-й группе она осталась в 1,9 раза выше по сравнению с контрольной группой, что также свидетельствует о продолжение воспалительного процесса.

Заключение

Анализируя вышеприведенные данные, следует отметить, что у телят больных катаральной бронхопневмонией выявлены такие характерные изменения со стороны клинических показателей как общее угнетение, снижение реакции на общие раздражители, усиленное напряженное дыхание, сухой кашель, смешанная одышка, бронховезикулярное и бронхиальное дыхание, крупнопузырчатые хрипы, притупленные и тупые звуки при перкуссии, повышение температуры и учащение сердцебиения нормализация которых у телят II-й опытной группы наступала на $0,4 \pm 0,67$ дня раньше, чем у телят I-й опытной группы. Анализ лейкограммы показал у телят I-й опытной группы после проведенной терапии наличие незначительного ядерного сдвига нейтрофилов влево, свидетельствующее о продолжение воспалительного процесса.

Установлено характерное для пневмонии увеличение содержания γ -глобулинов, умеренное повышение уровня β -глобулинов, при заметном снижении альбуминов. Величина бронхолегочного теста в начале исследований у больных телят составляла 1,4–1,42 мл, а после проведения терапии как в I-й так и во II-й опытных группах увеличилась до $1,8 \pm 0,67$ и $2,1 \pm 0,87$ соответственно. Выявлены нарушения окислительно-восстановительных процессов в условиях дефицита кислорода по повышению концентрации МДА, которая в I-й группе оказалась 1,9 раза выше по сравнению с контрольной группой, что также свидетельствует о продолжение воспалительного процесса.

На курс лечения необходимо 3 введения липосомного гентамицина, вместо 14 гентамицина сульфата, что снижает его ототоксическое и нефротоксическое действие.

Библиографический список

1. Хворостов, И.Н. Экспериментальное фармакологическое и токсикологическое изучение липосомальных форм антибиотиков группы аминогликозидов : автореф. дис... канд. мед. наук : 14.00.25. / Хворостов Игорь Николаевич. – Волгоград, 2001. – 24 с.
2. Фирсов, Г.М. Фармакологическая и терапевтическая активность липосомного гентамицина и поликатана при послеродовых эндометритах у коров : автореф. дис... канд. вет. наук : 16.00.07, 16.00.01 / Фирсов Григорий Михайлович. – Саратов, 2004. – 24 с.
3. Glantz, S.A. Primer of biostatistics / S.A. Glantz – McGraw-Hill, Inc., 1994. – P. 459.
4. Juliano, B.L. The effect of particle size and charge on the clearance rates liposomes and liposome encapsulated drugs / B.L. Juliano, D. Stamp // Biochem. biophys. res. com. –1975. – V 63. – P. 651 – 658.
5. Kamps, J.A. Uptake of liposomes containing phosphatidylserine by liver cells in vivo and by sinusoidal liver cells in primary culture: in vivo-in vitro differences / J.A. Kamps, H.W. Morselt, G.L. Scherphof // Biochem. biophys. res. commun. – 1999. – Vol.256, N1. – P. 57-62.