

## Оригінальна стаття

УДК 615.33:616.832.004.14.001.4

**Борщов С.П.<sup>1</sup>, Фільчаков І.В.<sup>2</sup>, Сініцин П.В.<sup>3</sup>, Серединська Н.М.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Відділ інтенсивної терапії та детоксикації, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України, Київ, Україна

<sup>2</sup> Лабораторія кишкових інфекцій та паразитозів, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України, Київ, Україна

<sup>3</sup> Відділ ендокринології репродукції та адаптації, Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України, Київ, Україна

<sup>4</sup> Відділ фармакології серцево-судинних засобів, Інститут фармакології та токсикології НАМН України, Київ, Україна

### Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування левофлоксацину

**Мета:** встановити безпечність інтратекального введення левофлоксацину в експерименті на щурах.

**Матеріали і методи.** У досліджах використовували самців нелінійних білих щурів, яким проводили клінічне спостереження, загальноклінічне і біохімічне дослідження крові, електрокардіографію.

**Результати.** Відзначене достовірне фізіологічне збільшення маси тіла тварин в основній і контрольній групах, що може бути доказом відсутності негативного впливу за інтратекального введення левофлоксацину. Вивчення впливу левофлоксацину за інтратекального введення на вегетативні та поведінкові функції у щурів у перші 2 год спостереження свідчило про наявність короткочасної (до 5 хв) подразнювальної дії. При дослідженні гематологічних та біохімічних показників крові у контрольних та дослідних тварин вірогідна різниця не виявлена.

**Висновки.** Інтратекальне введення левофлоксацину в дозі 0,1875 мг/кг у поєднанні з дексаметазоном в дозі 0,05 мг/кг є безпечним.

**Ключові слова:** левофлоксацин, інтратекальне введення, безпека, токсичність.

**Укр. нейрохірург. журн. — 2013. — №3. — С. 61–64.**

Надійшла до редакції 25.06.13. Прийнята до публікації 28.07.13.

**Адреса для листування:** Борщов Сергій Петрович, Відділ інтенсивної терапії та детоксикації, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України, вул. Лаврська, 11, Київ, Україна, 01015, e-mail: borshchev@ukr.net

Проблема лікування бактерійного (в тому числі специфічного) менінгоенцефаліту актуальна для практичної медицини [1, 2]. Про це свідчать високі показники летальності та інвалідизації хворих. За оцінками різних авторів, смертність при менінгоенцефаліті становить від 10 до 50% [1–3]. За даними статистичної звітності, менінгоенцефаліт входить до десяти найбільш значущих причин смерті від інфекційних хвороб. Постійно тривають пошуки шляхів підвищення ефективності лікування пацієнтів з цією хворобою. Нажаль, навіть застосування сучасних антибактерійних препаратів суттєво не вплинуло на показники летальності за тяжкого перебігу бактерійного менінгоенцефаліту. Однією з причин незадовільного результату лікування є відсутність можливості забезпечення ефективної концентрації препаратів безпосередньо у вогнищі інфекції за стандартних (внутрішньовенного, внутрішньом'язового) шляхів їх введення. Це зумовлене зменшенням концентрації та частковою інактивацією (насамперед, у печінці) препарату під час розподілу в органах і тканинах організму. Захисні властивості гематоенцефалічного бар'єру також зумовлюють значне зменшення концентрації антибактерійних препаратів у ЦНС, а для деяких з них гематоенцефалічний бар'єр є повністю непроникним. На нашу думку, можливим шляхом вирішення цієї проблеми є інтратекальне введення антибактерійних препаратів.

Існують повідомлення про ефективне застосування антибіотиків інтратекально при бактерійному менінгоенцефаліті [4–6]. Водночас, є заперечення цього способу лікування. Одним з аргументів противників інтратекального застосування антибактерійних препаратів є їх можливий токсичний вплив.

**Мета роботи:** встановити безпечність (токсичність) інтратекального введення левофлоксацину у гострому експерименті на щурах.

**Матеріали і методи дослідження.** У досліджах використовували самців нелінійних білих щурів масою тіла 200–230 г. Виходячи з мінімально достатньої кількості тварин, для подальшої статистичної обробки отриманих результатів експеримент проведений на 12 щурах (6 — основна група, 6 — група контролю) [7–9]. Для дослідження використані препарати: лефлоцин (левофлоксацин), 1 флакон — 100мл — 500 мг діючої речовини, виробництва «Юрія-Фарм» (Україна), серія №201011 та дексаметазон виробництва «KRKA» (Словенія), в 1 мл 4 мг діючої речовини, серія А48020 [10].

Щурам під наркозом хлоралгідратом (300 мг/кг внутрішньочеревинно), у III шлуночок мозку під стереотаксичним контролем імплантували сталеву спрямовуючу канюлю 23 калібру з мандреном [11]. Операції проводили на приладі для стереотаксичних досліджень СЗЖ-5 (виробництва «Дослідного підприємства Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН

України»). Після жорсткої фіксації голови тварини за допомогою вушних і різцевих затискачів відкривали верхню поверхню черепа і визначали точку введення канюлі на відстані 0,5 мм каудально від брегми. Фіксували горизонтальні, вертикальні і фронтальні координати, які визначали за атласом De Groot. Після цього розпочинали свердління кісткової тканини за допомогою бора. Зліва і справа від отвору висвердлювали невеликі заглиблення для шурупів (#1-72 × 1/8"), необхідних для фіксації канюлі в акрилоксиді. Через отриманий отвір за допомогою ін'єкційної голки обережно відводили венозний синус від центру отвору і вводили спрямовуючу сталеву канюлю 23 калібру. Отвір заливали акрилоксидом, після затвердіння якого навколо канюлі встановлювали захисну «корону», виготовлену з шматочка пластикової трубки придатного діаметра, і фіксували її акрилоксидом. В канюлю вводили мандрен. Безпосередньо перед введенням досліджуваних препаратів мандрен заміщали внутрішньою канюлею 30 калібру, попередньо заповненою відповідним розчином антибіотика.

Розчин готували шляхом змішування 3 мл (15 мг) левофлораксацину з 1 мл дексаметазону (4 мг). Інтрацеребровентрикулярне (інтратекральне) введення препаратів проводили протягом 5 хв в об'ємі 10 мкл, що відповідало 37,5 мкг левофлораксацину і 10 мкг дексаметазону (на 1 кг маси тіла приблизно 0,1875 мг левофлораксацину і 0,05 мг дексаметазону). Інфузію здійснювали тричі з інтервалом 48 год за допомогою хроматографічного шприца. Щурам контрольної групи у такий самий спосіб вводили рівний об'єм апірогенного ізотонічного розчину натрію хлориду.

Спостереження проводили протягом 2 год після кожного введення препаратів. Оцінювали вегетативні функції щурів та поведінкові реакції: температуру тіла, настороженість, роздратованість, зміну частоти дихання, наявність ціанозу шкіри та слизових оболонок, рухову активність, наявність тремору та/або судорог, больові рефлекси, екзофтальм, салівацію, птоз, зміни шкіри. Щоденно відстежували загибель тварин у групах.

Під час другого введення препаратів (до і після інфузії) визначали частоту скорочень серця (ЧСС), частоту дихання (ЧД), електрокардіограму (ЕКГ) реєстрували на багатофункціональному поліграфі «Nihon Kohden» (Японія) [12].

Через 48 год після третього введення препаратів (6 діб) тварин обох груп виводили з експерименту шляхом декапітації [13]. Збирали кров для біохімічних та гематологічних досліджень відповідно в суху пробірку та пробірку з антикоагулянтном (гепарин 5 ОД/мл). Визначали вміст гемоглобіну, час зсідання крові, кількість еритроцитів, лейкоцитів, активність трансаміназ — АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази, вміст глюкози, загального білка, креатиніну, сечовини за стандартними методиками [14, 15].

Статистична обробка отриманих даних проведена на персональному комп'ютері за допомогою пакету «Statistica 6.01» корпорації StatSoft. Для перевірки відмінності середніх значень між групами використовували методи дисперсійного аналізу для одноразових і повторних вимірів, при цьому перевірку відмінності між показниками у контрольній та основній групах проводили за критерієм Ньюмана-Кейлса. Для аналізу якісних ознак використовували критерії Манна-Уїтні й Кохрена.

**Результати та їх обговорення.** Як свідчать дані, наведені у **табл. 1**, середні значення маси тіла між моментами вимірів достовірно збільшувались ( $P < 0,01$ ) в обох групах, проте, достовірної різниці середніх значень маси тіла між групами не було ( $P > 0,05$ ).

Отримані дані свідчать про фізіологічний приріст маси тіла тварин, що може бути доказом відсутності негативного впливу інтратекального введення як левофлораксацину, так і ізотонічного розчину протягом періоду спостереження.

Зменшення рухової активності в усіх тварин до початку першого введення препаратів зумовлене перебуванням у стані наркотичного сну після оперативного втручання (вживлення канюлі).

Надалі в усіх тварин основної групи після кожної інфузії, на відміну від щурів групи контролю, після введення левофлораксацину спостерігали настороженість, збільшення ЧД, роздратованість, підвищення рухової активності. Зміни спостерігали протягом 3–5 хв від початку інфузії. В подальшому всі показники відповідали попереднім (**табл. 2**).

Отримані дані свідчать про короткочасну (до 5 хв) подразнювальну дію розчину відповідної дози та концентрації левофлораксацину за інтратекального введення.

За інтратекального введення левофлораксацину відзначали помірне збільшення ЧСС (у середньому на 15%) та ЧД (у середньому на 15%), вплив на електропровідні властивості серця не виявлений (**табл. 3**). Зміни спостерігали протягом 3–5 хв після введення препарату. В подальшому показники відповідали початковим. Отримані дані підтверджують висновок про короткочасну подразнювальну дію левофлораксацину за інтратекального введення у відповідній дозі та концентрації.

При дослідженні гематологічних та біохімічних показників в обох групах достовірно розбіжності не виявлені, про що свідчили показники дисперсійного аналізу (**табл. 4**).

Таким чином, інтратекальне введення розчину левофлораксацину не впливає на гематологічні та біохімічні показники крові білих щурів.

Протягом періоду дослідження (6 діб) не спостерігали загибелі тварин в обох групах.

Отримані дані слід розглядати як експериментальне обґрунтування безпечності інтратекального введення розчину левофлораксацину для забезпечення ефективної концентрації препарату безпосередньо у вогнищі інфекції.

**Висновки.** 1. Інтратекальне введення 0,1875 мг левофлораксацину та 0,05 мг дексаметазону на 1 кг маси тіла тварини у дослідах на білих щурах зумовлювало короткочасну (до 5 хв) помірно виражену подразнювальну дію, що проявлялося настороженістю, роздратованістю, підвищеною руховою активністю, збільшенням ЧД і ЧСС.

2. Інтратекальне введення левофлораксацину і дексаметазону білим щурам протягом всього періоду спостереження (6 діб) не спричиняло змін клінічних показників (маса та температура тіла, ціаноз, тремор,

**Таблиця 1.** Маса тіла тварин контрольної та основної груп

Група тварин	Кількість тварин	Строки вимірювання, доба	Середня маса тіла, г ( $M \pm m$ )
Контрольна	6	1-ша	209,33±1,975
		6-та	212,17±2,034
Основна	6	1-ша	212,33±1,975
		6-та	216,33±2,034

**Таблиця 2.** Вплив левофлоксацину за інтратекального введення на вегетативні та поведінкові функції у щурів у перші 2 год спостереження

Клінічні прояви (зміна показників)	Кількість тварин, у яких відзначали зміни показника в групах							
	контрольній				основній			
	введення препарату				введення препарату			
	до	1-ше	2-ге	3-тє	до	1-ше	2-ге	3-тє
Температура тіла	—	—	—	—	—	—	—	—
Настороженість*	—	**	—	—	—	**	6	6
Дихання *	—	—	—	—	—	6	6	6
Ціаноз	—	—	—	—	—	—	—	—
Рухова активність знижена	6	—	—	—	—	—	—	—
Рухова активність підвищена*	—	—	—	—	—	6	6	6
Тремор	—	—	—	—	—	—	—	—
Судороги	—	—	—	—	—	—	—	—
Больовий рефлекс	—	**	—	—	—	**	—	—
Роздратованість*	—	**	—	—	—	**	6	6
Екзофтальм	—	—	—	—	—	—	—	—
Салівація	—	—	—	—	—	—	—	—
Птоз	—	**	—	—	—	**	—	—
Зміни шкіри	—	—	—	—	—	—	—	—

Примітка: \* — достовірні зміни всередині груп ( $P < 0,05$  за критерієм Кохрена) та між групами ( $P < 0,05$  за критерієм Манна-Уїтні); \*\* — показник не досліджували у зв'язку з перебуванням тварин у наркотичному сні.

**Таблиця 3.** Показники ЧСС, ЧД та ЕКГ під час другого інтратекального введення левофлоксацину

Показник	Величина показників в групах ( $M \pm m$ )	
	контрольній	основній
ЧСС, за 1 хв*	До введення препарату	453,0±9,6
	Після введення препарату	452,0±9,6
ЧД, за 1 хв*	До введення препарату	81,3±1,2
	Після введення препарату	83,2±1,1
PQ, мс	До введення препарату	84,0±1,1
	Після введення препарату	96,0±1,1
QRS, мс	До введення препарату	45,0±0,74
	Після введення препарату	45,0±0,74
R, мВ	До введення препарату	43,7±0,61
	Після введення препарату	44,0±0,61
QRS, мс	До введення препарату	11,83±0,44
	Після введення препарату	11,5±0,44
R, мВ	До введення препарату	12,0±0,37
	Після введення препарату	11,3±0,37
R, мВ	До введення препарату	0,585±0,0095
	Після введення препарату	0,582±0,0095
R, мВ	До введення препарату	0,598±0,0059
	Після введення препарату	0,583±0,0059

Примітка: \* — відмінності між групами та в середині групи достовірні до і після введення препарату ( $P < 0,01$  за критерієм Ньюмана-Кейлса).

**Таблиця 4.** Середні величини гематологічних та біохімічних показників при введенні левофлоксацину наприкінці спостереження

Показник	Величина показників в групах ( $M \pm m$ )	
	контрольній	основній
Hb, г/л	143,2±1,4	143,0±1,1
Час зсідання крові, с	69,7±1,2	69,7±2,5
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	5,3±0,12	5,1±0,09
Лейкоцити, $\times 10^9/л$	10,8±0,14	11,0±0,13
АлАт, ммоль/(год×л)	0,46±0,01	0,46±0,02
АсАт, ммоль/(год×л)	0,94±0,01	0,95±0,01
Глюкоза, ммоль/л	4,44±0,13	4,64±0,15
Загальний білок, г/л	85,1±0,91	84,7±1,14
Лужна фосфатаза, мкмоль/мл	163,3±6,4	168,7±2,8
Сечовина, ммоль/л	6,2±0,14	5,9±0,24
Креатинін, мкмоль/л	85,0±3,5	83,7±2,6

судороги, больовий рефлекс, екзофтальм, салівація, птоз, зміни шкіри), не впливало на електропровідну систему серця, що свідчило про відсутність негативного впливу досліджуваного препарату.

3. Левофлоксацин за інтратекального введення не спричиняє змін гематологічних та біохімічних показників у білих щурів.

4. Левофлоксацин за інтратекального введення не справляє загальнотоксичного впливу, що підтверджує відсутність загибелі щурів.

5. Інтратекальне введення левофлоксацину з дексаметазоном безпечно і може бути рекомендоване для розробки протоколу проведення клінічних досліджень з метою визначення ефективності інтратекальної терапії хворих з приводу бактерійного менингоенцефаліту.

### Список літератури

- Zahner B. Acute meningoencephalitis — diagnosis and therapy / B. Zahner, F. Erbguth, H. Stefan / Fortschr. Med. — 1995. — V.113, N8. — P.97-101.
- Иванова М.В. Эпидемиология бактериальных гнойных менингитов у детей: опыт Санкт-Петербурга / М.В. Иванова, А.А. Вильниц / Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2010. — №6. — С.52-54.
- Эпидемиологический надзор за гнойными бактериальными менингитами: материалы 20-летних наблюдений / Р.Н. Быкова, И.С. Королева, А.М. Грачева, А.А. Демина, А.Е. Платонов, Г.В. Белошицкий, К.О. Миронов, И.М. Закроева, А.В. Спирихина / Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2003. — №5. — С.10-13.
- Лечение и профилактика посттравматических менингитов / С.А. Вашуков, А.С. Поляшов, В.Г. Порохин // Материалы VIII Всерос. съезда анестезиологов-реаниматологов. — Омск, 2002. — С.96.
- Интратекальное введение антибактериальных препаратов у нейрохирургических больных с менингоэнцефалитами / К.М. Кубраков, А.Н. Косинец, А.В. Акуленок / Новости хирургии. — 2008. — Т.16, №4. — С.86-93.
- Царенко С.В. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / С.В. Царенко. — М.: Медицина, 2006. — 352 с.
- Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте / И.М. Трахтенберг, Р.В. Сова, В.О. Шефтель, В.А. Онищенко / Современ. представления и методические подходы, основные параметры и константы. — М.: Медицина, 1991. — 200 с.
- Лабораторные животные. Использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. — К.: Вища шк., 1983. — 267 с.

9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації; під ред. О.В. Стефанова. — К., 2001. — 527 с.
10. Комpendиум. Лекарственные препараты 2010; под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: Морион, 2010. — 2240 с.
11. 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.
12. Мурашко В.В. Электрокардиография / В.В. Мурашко, А.В. Струтинский. — М.: Медицина, 1991. — 287 с.
13. Эвтаназия экспериментальных животных: метод. рекомендации по выведению животных из эксперимента. — М.: Медицина, 1985. — 15 с.
14. Методы биохимических исследований; под ред. В.А. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
15. Клиническая оценка лабораторных тестов; под ред. Н.У. Тица. — М.: Медицина, 1986. — 427 с.

### **Борщев С.П.<sup>1</sup>, Фильчаков И.В.<sup>2</sup>, Синицын П.В.<sup>3</sup>, Серединская Н.М.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Отдел интенсивной терапии и детоксикации, Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>2</sup> Лаборатория кишечных инфекций и паразитозов, Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>3</sup> Отдел эндокринологии репродукции и адаптации, Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>4</sup> Отдел фармакологии сердечно-сосудистых средств, Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины, Киев, Украина

### **Експериментальное исследование безопасности интратекального применения левофлоксацина**

**Цель:** установить безопасность интратекального введения левофлоксацина в эксперименте на крысах.

**Материалы и методы.** В опытах использовали самцов нелинейных белых крыс, у которых проведено клиническое наблюдение, общеклиническое и биохимическое исследование крови, ЭКГ.

**Результаты.** Отмечено достоверное физиологическое увеличение массы тела животных в основной и контрольной группах, что является доказательством отсутствия негативного влияния интратекального введения левофлоксацина. При изучении влияния левофлоксацина при интратекальном введении на вегетативные и поведенческие функции у крыс в первые 2 ч наблюдения установлено наличие кратковременного (до 5 мин) раздражающего действия. При исследовании гематологических и биохимических показателей крови у контрольных и опытных животных достоверные различия не выявлены.

**Выводы.** Интратекальное введение левофлоксацина в дозе 0,1875 мг/кг в сочетании с дексаметазоном в дозе 0,05 мг / кг безопасно.

**Ключевые слова:** левофлоксацин, интратекальное введение, безопасность, токсичность.

**Укр. нейрохирург. журн. — 2013. — №3. — С. 61–64.**

Поступила в редакцию 25.06.13. Принята к публикации 28.07.13.

**Адрес для переписки:** Борщев Сергей Петрович, Отдел интенсивной терапии и детоксикации, Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского НАМН Украины, ул. Лаврская, 11, Киев, Украина, 01015, e-mail: borshchev@ukr.net

### **Borshchov S.P.<sup>1</sup>, Filchakov I.V.<sup>2</sup>, Sinitsyn P.V.<sup>3</sup>, Seredinskaya N.N.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Department of Intensive Care and Detoxycation, Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V. Gromashevsky, NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>2</sup> Laboratory of Intestinal Infections and Parasitic Diseases, Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V. Gromashevsky, NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>3</sup> Department of Endocrinology, Reproduction and Adaptation, Institute of Endocrinology and Metabolism named after V.P. Komisarenko, NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>4</sup> Department of Cardiovascular Agents Pharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology, NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

### **Experimental study of safety of levofloxacin intrathecal application**

**Purpose:** to set safety of levofloxacin intrathecal application in experiment on rats.

**Materials and methods.** In the experiment purebred white male rats were used in which clinical observation, general clinical and biochemical blood tests and electrocardiogram were done.

**Results.** There was the significant physiological weight gain of animals in main and control groups which is proof of the lack of negative effect of levofloxacin intrathecal application.

Studying the effect of levofloxacin intrathecal application on autonomic and behavioral functions in rats in first 2 h established short-term (up to 5 min) irritant. Studying hematological and biochemical parameters of blood of control and experimental animals no significant differences were revealed.

**Conclusions.** Levofloxacin intrathecal application in a doze 0.1875 mg/kg in combination with dexamethasone in a dose 0.05 mg / kg is safe.

**Key words:** levofloxacin, intrathecal application, safety, toxicity.

**Ukr Neyrokhir Zh. 2013; 3: 61–4.**

Received, June 25, 2013. Accepted, July 28, 2013.

**Address for correspondence:** Borshchov Sergiy Petrovich, Department of Intensive Care and Detoxycation, Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named after L.V. Gromashevsky, 11 Lavrska St, Kiev, Ukraine, 01015, e-mail: borshchev@ukr.net