

57
А-25



На правах рукописи

О. М. КРЕПАК

**Исследование функционального состояния
печени у животных под воздействием
стрептомицина, Д-цикloserина,
канамицина и флоримицина**

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
профессор, доктор ветеринарных наук **И. А. Сторожев**

ИЗДАТЕЛЬСТВО МОСКОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА • 1967

Диссертация выполнена в Лаборатории фармакологии Всесоюзного научно-исследовательского института антибиотиков.

Защита диссертации состоится на биолого-почвенном факультете МГУ (Москва, В-234, Ленинские горы)

1967 г.

Автореферат разослан 1967 г.

57
A 25

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М. В. ЛОМОНОСОВА

ВВЕДЕНИЕ

Борьба с туберкулезом в СССР является одной из важнейших государственных проблем. Ряд постановлений, инструкций и указов, исходящих от Совета Министров и ЦК КПСС, свидетельствуют о большом внимании правительственных органов к данному вопросу.

Туберкулез не исчезнет сам по себе и ликвидация его является трудной задачей. Для решения ее требуется строгое выполнение ряда мероприятий как социального, так и чисто лечебного характера. К лечебным мероприятиям относятся, в частности, расширение и увеличение производства лечебных препаратов и изыскание новых.

Огромную роль в лечении и ликвидации туберкулеза играют стрептомицины и антибиотики второго ряда — циклосерин, канамицин и флоримицин (виомицин). Но не всегда и не во всех случаях химиотерапия, и в частности антибиотикотерапия, приносит ожидаемый эффект. Возникающие неудачи зависят от многих причин. Наиболее часто длительному применению антибактериальных препаратов, и притом в оптимальных дозах, мешают побочные реакции. У отдельных лиц эти реакции связаны с ферментно-метаболическими расстройствами, нерезко выраженными эндокринными дисфункциями (чаще всего надпочечников), а также функциональной недостаточностью печени.

Печень, как известно, имеет очень большое значение в обмене веществ организма, и поэтому состояние ее весьма существенно в борьбе с заболеванием. Не только нарушенный обмен веществ, возникающий вследствие туберкулезной интоксикации, но и лекарственные вещества могут стать причиной функциональной слабости печени.

Иногда нарушения возникают у больных, в анамнезе которых имелись указания на предшествующие ее заболевания различной этиологии и тяжести. Антибиотики в этих случаях провоцировали латентные поражения печени. После 4—6 месяцев лечения у таких больных по данным Lees, Motte наступали тяжелые нарушения в деятельности печени, иногда кончающиеся гепатитами и циррозом.

291178

Центральная научная
Библиотека
Академии наук Киргизской ССР

Ответить на вопрос о непосредственном влиянии антибиотиков на печень можно только экспериментальным путем, используя в качестве модели здоровый организм лабораторного животного.

В доступной нам литературе мы встретили лишь небольшое число работ, освещающих изменения в печени, возникающие под влиянием стрептомицина, канамицина, Д-циclosерина и флоримицина.

Выбор методов для решения поставленной задачи производился в соответствии с требованиями медицинской биохимии.

Основная задача работы сводилась к изучению ферментобразовательной функции печени, выражающейся в определении активности трансаминаз, щелочной фосфатазы и холинэстеразы в сыворотке крови. Определение ферментов в крови является важным тестом на тонкие нарушения печени, которые не улавливаются обычными функциональными пробами. Кроме этого, мы изучали: сывороточные белки при помощи метода электрофореза, реакции Вельмана, пробу Мак-Лагана (тимоловая реакция), уровень протромбина и билирубина в крови. Наряду с этим ставилась проба с нагрузкой печени билирубином. Во введении дается обоснование причин, которые привели к данному исследованию, а также общие сведения из области поставленной задачи.

Автор выражает глубокую благодарность профессору И. А. Сторожеву за ценные указания при выполнении настоящей работы.

I. ОБЗОР И АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

Здесь рассматриваются физико-химические и фармакологические свойства изучаемых антибиотиков, а также их влияние на обменные реакции, происходящие в микробной клетке и в животном организме.

Антибиотики при своем проникновении в организм создают определенную концентрацию в крови, в органах и тканях.

Исследованиями Р. А. Вейс и М. А. Сухотинской, А. И. Каграманова, Э. С. Степаняна, показано, что максимальной концентрации в крови антибиотики достигают: стрептомицин через 2 часа, канамицин — 30 минут, циклосерин — 2—3 часа и флоримицин — 2 часа. Концентрация стрептомицина и канамицина через 4 и 2 часа соответственно падает, тогда как циклосерин и флоримицин сохраняется на постоянном уровне в течение 5 часов после инъекции.

По данным Nah, Spreyer, Bosch, Artmar стрептомицин проникает в клетки, где ингибирует синтез белка. Н. Д. Иерусалимский, А. Н. Климов установили, что стрептомицин также тормозит некоторые реакции цикла трикарбоновых кислот. По мнению Vignais, стрептомицин не снижает активность ферментов, а подавляет их образование.

Канамицин подавляет дыхание микобактерий (Ho). По данным исследований Umezawa канамицин избирательно адсорбируется на тканях, богатых липопротеидами, а также фосфорнокислыми и карбонильными группами.

Многочисленными исследованиями (Р. М. Хомутов, Н. К. Кочетков, Е. Д. Вышепан, Р. М. Азарх, О. Л. Поляновский, М. Я. Карпейский и Т. С. Пасхина) доказано, что циклосерин ингибирует процессы трансаминирования путем блокировки фосфопродоксальных ферментов. Циклосерин в животном организме создает условия, аналогичные авитаминозу В₆.

Dermott наблюдал изменения минерального обмена в животном организме под влиянием флоримицина.

Антибиотики изменяют также морфологию животных клеток. Так стрептомицин вызвал гипертрофию ретикулярных клеток печени и селезенки (М. Г. Ибрагимова, Г. С. Сунаргулов).

В. С. Митрофанов наблюдал ожирение печеночных клеток под влиянием циклосерина. Аналогичный эффект, но в меньшей степени, вызвал канамицин (И. П. Белова, Т. П. Вертоградова, М. С. Станиславская). По данным Rekič флоримицин не вызвал изменений в печени. Однако в почках наблюдалось диффузное ожирение эпителия извитых канальцев (И. А. Сторожев).

Изученные антибиотики не безразличны для организма и в течение длительного времени введения могут вызвать нарушения основных функций организма. Этим и обуславливалась постановка вопроса.

II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Методы исследования

Опыты были проведены на 1318 мышах и 150 кроликах. Всего поставлено 126 опытов.

Антибиотики вводили парентерально, внутримышечно; для инъекций использовались товарные стерильные препараты: стрептомицин—сульфат, канамицин—сульфат, флоримицин—сульфат, Д-циclosерин.

Растворы всех антибиотиков готовили на стерильном изотоническом растворе хлористого натрия. Каждый опыт ставился на 6 кроликах и 6—10 мышах.

Активность аспарагиновой (АСТ) и аланиновой (АЛТ) трансаминаз определяли по методу Ройтмана и Френкеля, щелочной фосфатазы по методу Кинга, Армстронга в модификации Курта, холинэстеразы по методу Мишеля. Сывороточные и плазменные белки определяли при помощи электрофореза на бумаге по прописи Гурвича. Уровень протромбина определяли по методу Квинка в модификации Марголиной и Лютровник, содержание билирубина в сыворотке крови определяли методом Ван ден Берга. Нагрузку печени билирубином производили по методу Ваплера.

2. Определение активности трансаминаз

В основе любого патологического процесса лежат нарушения функций ферментных систем. В связи с этим определению активности этих систем, и в частности системы переаминирования, в клинике придается большое диагностическое и прогностическое значение. М. Д. Подильчак, В. В. Уткин, М. Е. Семендяева, С. Я. Капланский считают, что оценка активности трансаминаз свидетельствует о функциональном состоянии печени.

Изучалась активность аспарагиновой трансаминазы у мышей при длительном введении стрептомицина, Д-циclosерина и флоримицина. Стрептомицин вводили в течение 18 дней в дозах 20, 40, 60 мг/кг. Уровень активности АсТ в сыворотке крови у мышей находился в прямой зависимости от длительности введения и от величины вводимой дозы антибиотика. Д-циclosерин вводили в течение 10 недель в дозах 20, 40, 60 мг/кг. Антибиотик в дозе 20 мг/кг незначительно повышал активность фермента, тогда как в дозе 60 мг/кг резко увеличивал активность аспарагиновой трансаминазы. Флоримицин вводили в течение 10 недель в дозах 40, 80, 120 мг/кг. Флоримицин не оказывал влияния на уровень активности трансаминазы у мышей.

Изучалась активность аспарагиновой и аланиновой трансаминаз в сыворотке крови у кроликов при длительном введении стрептомицина, Д-циclosерина, канамицина и флоримицина в дозах 30, 20, 30, 20 мг/кг соответственно.

Все антибиотики в различной степени повышали активность трансаминаз через 6—8 недель от начала введения, после чего наступало снижение активности ферментов. По времени этот период нормоэнзимии продолжался 2—4 недели. В дальнейшем активность АсТ и АлТ повышалась на протяжении всего опыта вплоть до прекращения инъекций. Наибольшую активность трансаминаз вызвал Д-циclosерин и стрептомицин (84% для АсТ и 116% — АлТ; 62% АсТ и 82% АлТ соответственно). Канамицин и флоримицин повышали активность ферментов в меньшей степени (54—48%, 36—42%).

Наблюдения показали, что активность АлТ была выше активности АсТ (в норме отношение обратное) у кроликов, получавших стрептомицин и Д-циclosерин. У кроликов, которым вводили канамицин и флоримицин, активность трансаминаз выражалась равнозначными величинами.

В связи со сказанным стрептомицин и Д-циclosерин в течение длительного введения оказывают отрицательное влияние на печень, следствием чего явилось преобладание аланиновой трансаминазы над аспарагиновой в крови.

Однократное введение антибиотиков позволило наблюдать изменения в активности ферментов в течение 6 часов после введения. У кроликов, которым вводили стрептомицин в дозах 30, 60, 90 мг/кг, максимум активности приходился на 2—3 час после инъ-

екции. Активность фермента тем выше, чем выше доза стрептомицина.

Д-циclosерин в дозе 20 мг/кг незначительно повышал активность аспарагиновой трансаминазы в течение 2—3 часов, в дозе 40, 60 мг/кг понижал активность фермента. Частичная нормализация в активности трансаминазы наступала через 6 часов после однократного введения антибиотика.

Канамицин в дозе 30 мг/кг не оказывал влияния на активность АсТ, в дозе 60 и 90 мг/кг понижал активность фермента в течение 1—2 часов, через 6 часов наблюдалось значительное повышение активности, что, вероятно, явилось следствием раздражающего действия канамицина на ткани, продуцирующие трансаминазу.

Флоримицин в дозе 60 мг/кг вызывал гипертрансаминазему, максимум которой наблюдался через 3—4 часа после введения. Антибиотик в дозе 120 и 130 мг/кг понижал активность фермента.

Влияние антибиотиков на активность аланиновой трансаминазы в течение 6 часов после однократного введения изучалось также на кроликах.

Активность АлТ незначительно изменялась под влиянием стрептомицина в дозе 30 мг/кг; в дозе 90 мг/кг антибиотик повышал активность АлТ, максимум которой наблюдался через 2 часа.

Д-циclosерин в дозе 20 мг/кг незначительно понижал активность аланиновой трансаминазы, минимальные значения которой были в течение 3-го часа. Циклосерин в дозе 40 и 60 мг/кг вызывал гипотрансаминазему, что связано со специфическим действием Д-циclosерина на ферменты процесса трансаминирования.

Активность АлТ повышалась под влиянием канамицина; чем выше доза антибиотика (30, 60, 90 мг/кг), тем больше были величины активности АлТ. При уменьшении концентрации антибиотиков в крови (4—6 часов после введения) активность фермента нормализовалась.

Флоримицин в дозе 60 мг/кг повышал активность АлТ, в дозе 120 и 180 мг/кг понижал активность фермента.

3. Влияние антибиотиков на активность щелочной фосфатазы

Щелочная фосфатаза относится к основным ферментным системам крови и имеет большое диагностическое значение.

Экспериментами установлено, что активность щелочной фосфатазы изменяется под влиянием антибиотиков в течение 6 часов после однократного их введения кроликам.

Стрептомицин в дозах 40, 80, 120 мг/кг повышал активность фермента, степень которой находилась в прямой зависимости от величины вводимой дозы.

Д-циclosерин в дозах 20, 40, 60 мг/кг не оказывал влияния на активность фосфатазы.

Канамицин в дозе 30 мг/кг повышал активность фосфатазы, в дозе 90 мг/кг, напротив, понижает активность ее.

Степень активности щелочной фосфатазы находилась в обратной зависимости от величины вводимой дозы флоримицина (60, 120, 180 мг/кг). Максимальное понижение активности наблюдалось в течение 2—3 часов после инъекции.

Длительное введение антибиотиков (стрептомицин 30 мг/кг, Д-цикloserин 20 мг/кг, канамицин 30 мг/кг, флоримицин 20 мг/кг) показало, что в течение 8—10 недель произошло резкое повышение активности фермента. Гиперфосфатаземия продолжалась в течение 3—4 недель, после чего начался процесс постепенного понижения активности фермента, уровень которой достиг через 6 месяцев минимальных значений. Стрептомицин, Д-цикloserин и канамицин вызвали резкое понижение активности фосфатазы.

Уровень активности щелочной фосфатазы находился в контрольных границах у животных, получавших флоримицин.

4. Влияние антибиотиков на активность холинэстеразы

Холинэстераза (псевдохолинэстераза) находится почти во всех тканях, в плазме крови и в печени, где она синтезируется.

В регуляции активности фермента большую роль играет нервная система. По мнению А. Фишера, М. П. Кузьминых, А. И. Аминова, холинэстераза имеет большое значение в диагностике заболеваний печени. А. Фишер считает, что по уровню холинэстеразной активности крови можно судить о функциональных возможностях печени.

Длительное введение стрептомицина, Д-цикloserина, канамицина и флоримицина в дозах 30, 20, 30 20 мг/кг соответственно позволило наблюдать за состоянием печени по активности холинэстеразы в крови. Понижение активности фермента произошло через 8—10 недель после начала инъекций стрептомицина, Д-цикloserина и канамицина.

Наибольшая степень понижения наблюдалась при введении Д-цикloserина. Стрептомицин и канамицин в меньшей степени понижали активность холинэстеразы в течение 6 месяцев.

Флоримицин вызвал незначительные изменения в активности холинэстеразы на протяжении 6 месяцев введения.

Изучение активности холинэстеразы в течение 6 часов после однократного введения антибиотиков показало следующие результаты.

Стрептомицин в дозе 30 мг/кг вызывал гиперхолинэстеразему, в дозе 90 мг/кг, напротив, привели к гипохолинэстераземе. Наиболее характерные изменения наступали через 3 часа после инъекции.

Д-цикloserин тем больше повышал активность холинэстеразы, чем выше была доза антибиотика.

Канамицин в дозе 30 мг/кг незначительно повышал активность холинэстеразы. В дозе 90 мг/кг антибиотик значительно повышал активность фермента, пик которой наблюдался через 1—2 часа после введения.

Флоримицин также повышал активность холинэстеразы; незначительные изменения наблюдались при введении дозы в 60 мг/кг и резкая гиперхолинэстераземия возникла от доз антибиотика в 120 и 180 мг/кг.

5. Исследование белковой картины крови при введении антибиотиков

Большинство белков синтезируется в печени. Изменения белковообразовательной функции печени отражаются в количестве и качестве белковых фракций (Г. В. Тронский, А. А. Низов, Н. В. Чумаченко, Е. А. Говорович).

Белковую картину крови изучали у мышей и кроликов.

Мышам в течение 4 недель вводили стрептомицин, Д-цикloserин, канамицин и флоримицин в дозах 30, 20, 30 20 мг/кг соответственно.

Значительные изменения в содержании альбумина вызваны Д-цикloserином и стрептомицином. Стрептомицин незначительно повысил содержание всех глобулиновых фракций, за исключением гамма-глобулина. Д-цикloserин вызывал повышение содержания белка в α_1 -фракции. Флоримицин в два раза повысил содержание гамма-глобулина.

У кроликов изучалась динамика содержания плазменных белков в течение шестимесячного введения антибиотиков. Результаты представлены в табл. 1.

Существенные изменения в содержании альбумина и гамма-глобулина вызвал стрептомицин. Под влиянием Д-цикloserина значительно понизилось содержание альбумина и повысилось содержание α_1 -глобулина и фибриногена. Канамицин и флоримицин также понизил и содержание альбумина плазмы крови у кроликов. Кроме этого, флоримицин повысил содержание белка гамма-глобулиновой фракции и фибриногена.

Коэффициент отношения альбумина к глобулинам варьировал при введении различных антибиотиков. Д-цикloserин вызывал резкое уменьшение коэффициента А/Г, в несколько меньшей степени наступало понижение коэффициента при введении стрептомицина. Отношение А/Г существенно не изменилось под влиянием канамицина и флоримицина.

Возникновение гипоальбуминемий и гиперглобулинемий является, по мнению М. Г. Денисовой, К. И. Степашкиной, Э. З. Мирзояна и других исследователей, следствием воспалительных процессов в печени. Результаты экспериментов показали, что из всех глобулинов наибольшее увеличение наблюдалось у гамма-глобулина и фибриногена.

Гамма-глобулин синтезируется в РЭС печени и организма в целом. Фибриноген синтезируется исключительно в печени. Возможно, что антибиотики оказывают раздражающее действие на указанные ткани, следствием чего и является повышенный синтез гамма-глобулина и фибриногена. Наши данные подтверждают

Таблица 1

Относительное содержание белковых фракций после шестимесячного введения антибиотиков

Антибиотик	Статистический показатель	Альбумин в %	Глобулины				Фибриноген
			α_1	α_2	β	γ	
Стрептомицин	\bar{x}	58,3	10,0	6,6	10,0	8,2	7,6
	$\pm\sigma$	1,38	1,54	1,42	1,62	1,58	1,38
	m	0,56	0,62	0,58	0,66	0,64	0,56
	t	7,7	1,93	0,77	0,11	4,1	2,7
Д-циклосерин	\bar{x}	48,8	11,0	6,7	12,5	6,2	13,6
	$\pm\sigma$	1,48	1,40	1,54	1,36	1,60	1,74
	m	1,61	0,57	0,62	0,55	0,65	0,71
	t	17,4	3,15	0,85	1,82	1,85	9,00
Канамицин	\bar{x}	60,0	8,9	6,2	10,0	6,6	7,1
	$\pm\sigma$	1,62	1,54	1,58	1,72	1,68	1,50
	m	0,66	0,62	0,64	0,70	0,69	0,61
	t	2,3	0,75	0,70	0,11	2,30	2,00
Флоримицин	\bar{x}	60,0	9,5	4,3	9,10	7,2	8,0
	$\pm\sigma$	1,40	1,32	1,22	1,54	1,36	1,60
	m	0,57	0,51	0,50	0,63	0,55	0,65
	t	2,4	1,48	2,30	2,2	3,2	3,55
Контроль	\bar{x}	65,0	8,2	6,0	11,0	4,5	5,4
	$\pm\sigma$	1,66	1,70	1,34	1,50	1,50	1,46
	m	0,68	0,69	0,54	0,61	0,64	0,59

мнение С. Я. Капланского о том, что в результате не только заболевания, но и появления в организме лекарственных веществ происходит усиленный синтез глобулинов, особенно гамма-фракции. Видимо, стрептомицин и флоримицин избирательно усиливают синтез гамма-глобулина. Подобный эффект, оказываемый антибиотиками, следует считать весьма полезным для организма, особенно если он поражен туберкулезом. Однако гипоальбуминемия, возникающая от циклосерина, стрептомицина, а также и других изучаемых антибиотиков, свидетельствует о понижении белковой функции печени.

6. Исследования содержания протромбина крови под влиянием изучаемых антибиотиков

Многочисленными исследованиями установлено, что в печени синтезируется ряд белковых компонентов свертывающей системы

крови — протромбин, фибриноген, проконвертин и акцелератор-глобулин (Ас-глобулин). При некоторых заболеваниях печени генерация упомянутых прокоагулянтов изменяется, в связи с чем нарушается нормальный ход процесса свертывания крови (Б. А. Кудряшов, Ю. А. Шарова, А. И. Чернова, И. Д. Левит). Определение уровня протромбина позволило выявить не только состояние функций печени, но и влияние антибиотиков на свертываемость крови.

Изучение содержания протромбина проводили на мышах и кроликах при длительном введении и в течение 6 часов после однократного введения. Содержание протромбина у мышей не изменяется под влиянием длительного (1 месяц) введения стрептомицина, канамицина и флоримицина. Д-циклосерин через 4 недели повысил уровень протромбина на 22% в сравнении с контрольными величинами.

Изучение уровня протромбина у кроликов при длительном введении антибиотиков показало, что через 6—8 недель все антибиотики вызывали небольшое (на 15—22%) повышение содержания протромбина. Затем у кроликов, получавших стрептомицин, канамицин и флоримицин, произошло понижение протромбина до средних значений контроля (85—95%). У кроликов, которым вводили Д-циклосерин, уровень протромбина резко повысился. Этот процесс повышения содержания протромбина продолжался вплоть до прекращения инъекций антибиотика. Уровень протромбина через 6 месяцев составлял 400%, свертываемость крови увеличилась в 4 раза.

При однократном введении антибиотиков удалось проследить динамику содержания протромбина в течение 6 часов. Стрептомицин в дозах 40 и 80 мг/кг незначительно увеличивал уровень протромбина, в дозе 120 мг/кг повышал свертываемость в 2,5 раза. Навысшие значения содержания протромбина наблюдались через 3—4 часа после инъекции.

Д-циклосерин в дозе 20 и 40 мг/кг резко повышал свертываемость крови, уровень протромбина соответственно повышался до 300 и 240%. Антибиотик в дозе 60 мг/кг не оказывал влияния на свертываемость крови. Опыт с введением циклосерина в дозе 80 мг/кг показал значительное понижение содержания протромбина у кроликов.

Д-циклосерин, вероятно, оказывает влияние не на синтез белка-протромбина в печени, а на реакцию превращения протромбина в тромбин. Процесс синтеза протромбина во времени не происходит моментально, к тому же и циклосерин в крови и ткани всасывается достаточно долго (2—4 часа). Поэтому ингибирование циклосерином синтеза протромбина следовало ожидать через 3—4 часа. В опытах же установлено, что влияние антибиотика на свертываемость крови ограничивается временем нахождения максимальных концентраций циклосерина в крови.

Канамицин в дозах 30 мг/кг и 60 мг/кг не оказывал существенного влияния на свертываемость крови у кроликов; в дозе 90 мг/кг

повышал содержание протромбина в 2,7 раза по сравнению с контролем.

Флоримицин в дозах 60, 120, 180 мг/кг не вызывал изменений в содержании протромбина в течение 6 часов после однократного введения.

7. Исследование содержания билирубина в сыворотке крови при введении антибиотиков

Пигментная функция печени заключается в способности печеночных клеток задерживать желчные пигменты, в частности билирубин.

Гипербилирубинемия может быть печеночного и гемолитического происхождения и сопровождается появлением желтухи. Monges, Raup, Mattei, Benhamou, Masson наблюдали появление желтухи у медицинских сестер, соприкасавшихся со стрептомицином и больных, леченных стрептомицином. По мнению Benhamou, стрептомицин провоцирует скрытые поражения печени, оканчивающиеся желтухой.

На мышах и кроликах исследовалось влияние стрептомицина, Д-цикloserина, канамицина и флоримицина на уровень билирубина в сыворотке крови.

В течение 12 недель у мышей стрептомицин в дозе 30 мг/кг вызывал повышение содержания билирубина в 1,7 раза. Канамицин в аналогичных опытах не оказывал влияния на содержание билирубина.

Д-цикloserин вводили в дозах 20, 40, 60 мг/кг в течение 10 недель. Чем выше была доза, тем больше была степень гипербилирубинемии. Билирубин, определяемый при помощи прямой реакции по Ван ден Бергу, не обнаруживался.

Флоримицин в дозе 120 мг/кг незначительно повышал содержание билирубина в сыворотке крови у мышей, в дозе 40 и 80 мг/кг не оказывал влияния на состояние билирубинемии.

Стрептомицин, Д-цикloserин и флоримицин в дозах 40, 20, 60 мг/кг соответственно в течение трех месяцев повысили содержание билирубина в сыворотке крови у кроликов. Гипербилирубинемия проявилась через 18 дней от начала введения у животных, получавших стрептомицин, через 33 дня у кроликов, получавших Д-цикloserин и 44 дня у кроликов, которым вводили флоримицин.

В опытах с длительным введением антибиотиков печень животных была подвергнута нагрузке билирубином. Наибольшая задержка билирубина в крови наблюдалась у кроликов, которым вводили Д-цикloserин, в несколько меньшей степени — при введении стрептомицина. Указанные антибиотики в течение 5,5 месяцев вызвали пониженную деятельность пигментной функции печени. Канамицин и флоримицин не вызывали изменений в пигментной функции печени.

8. Статистическая обработка и оценка достоверности полученных результатов

В этом разделе приводится метод статистической обработки, при помощи которого анализировались все неточности и ошибки, которые имели место как при производстве эксперимента, так и при проведении расчетных операций. Пользуясь методами математической статистики, мы подвергли опытные данные дополнительной теоретической обработке, имеющей целью оценить достоверность полученных результатов или найти экспериментальные зависимости между опытными и контрольными данными.

При обработке экспериментального материала мы пользовались вычислением среднего квадратического отклонения, вычисляемого по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum p_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (1)$$

Для решения вопроса о случайности и неслучайности расхождений средних величин, полученных в опытной и контрольной группе, мы вычисляли среднюю ошибку разности опытных и контрольных средних. Средняя ошибка m вычислялась по формуле:

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

Отношение t разности сравниваемых средних к разности ошибок выражали в виде формулы:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \quad (3)$$

Если отношение $t > 3$, то расхождение между средними в опыте и в контроле не случайно, и расхождение между опытными и контрольными величинами достоверно.

При определении вероятности P , кроме того, пользовались опытными значениями t^* и табулированными, определяя доверительные интервалы.

III. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДЫ

Антибиотики оказали значительное влияние на ферменты крови. В хронических опытах стрептомицин и Д-цикloserин в течение первых двух месяцев введения вызывали гипертрансаминаземию, а также повышение активности щелочной фосфатазы. Активность холинэстеразы в этот период времени понижалась. Дальнейшее введение антибиотиков изменяет соотношение активностей ферментов. Гипертрансаминаземия сменяется понижением активности

трансаминаз. Состояние нормоэземии, продолжающееся в течение 3—4 недель, мы объясняем возникновением в организме адаптационных процессов. После 10 недель введения антибиотиков активность трансаминаз снова повышалась и уже не изменялась на протяжении всего периода наблюдений.

Активность щелочной фосфатазы и холинэстеразы постепенно понижались. Одновременно состояние гипертрансаминаземии, гипохолинэстераземии и гипофосфатаземии говорит о печеночной недостаточности.

Исходя из результатов опытов, можно предположить, что все изучаемые антибиотики в различной степени вызвали появление воспалительных процессов в печени, результатом которых является усиленное проникновение трансаминаз из ткани печени в кровь (рис. 1).

Наиболее сильным действием в этом отношении обладал Д-циклосерин и стрептомицин. Канамицин и флоримицин таким эффектом не обладали.

Гепатоцеллюлярные поражения печени приводят к понижению синтеза эстераз, в частности холинэстеразы и белка, в результате возникает гипоальбуминемия и гипохолинэстераземия. Наши опыты показали одновременно состояние понижения альбумина в крови и понижения активности холинэстеразы.

Гиперфосфатаземия обычно сопровождается гиперглобулинемией. Однако из всех глобулинов увеличилось содержание только лишь гамма-глобулина под влиянием стрептомицина и флоримицина. Д-циклосерин не изменил содержание белка в гамма-глобулиновой фракции.

Д-циклосерин оказывает токсическое влияние на печень, не вызывая при этом раздражающего действия РЭС организма. Все изучаемые антибиотики, за исключением циклосерина, не вызвали изменений в содержании протромбина в хронических опытах, что в известной мере говорит об отсутствии серьезных нарушений в печени.

Д-циклосерин резко повышал свертываемость крови за счет повышения уровня протромбина. Результатом токсического влияния циклосерина на печень должно было стать резкое снижение уровня протромбина в крови. Однако опыты показали противоположный результат. Д-циклосерин усиливал биосинтез протромбина в печени. Кроме этого, циклосерин в терапевтических дозах повышал свертываемость крови в течение 2—4 часов, то есть в момент наивысшей концентрации антибиотика в крови. В этом случае, на наш взгляд, циклосерин активизирует реакцию превращения протромбина в тромбин. Следует отметить, что в больших дозах (60—80 мг/кг) циклосерин на тот же процесс оказывает ингибирующее влияние. Известно, что в активном центре тромбина чередуются четыре аминокислоты, одной из концевых аминокислот является аланин. Аланин и циклосерин находятся в конкурентных взаимоотношениях; большие концентрации одного из них вытесняют сво-

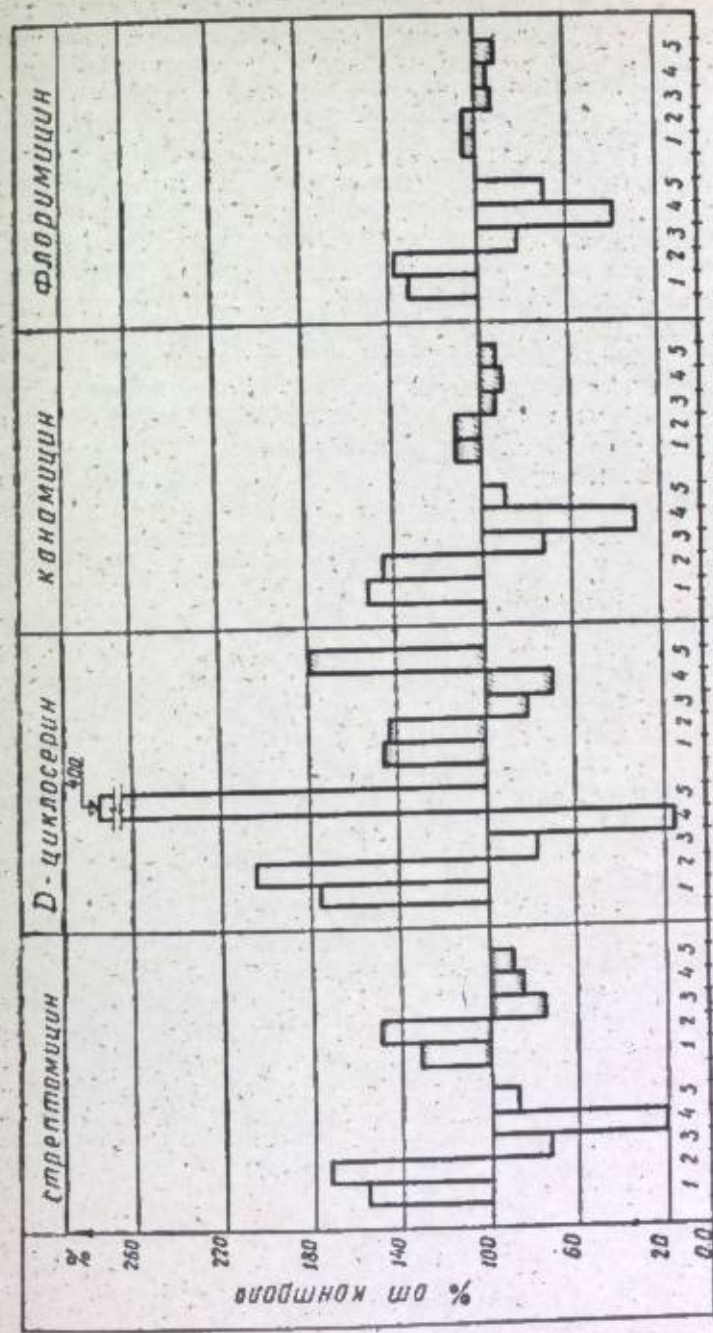


Рис. Ферментные спектры крови у кроликов после шестимесячного введения антибиотиков и через 2 месяца после прекращения инъекций (защитников): 1 — аспаргиновая трансаминаза; 2 — аланиновая трансаминаза; 3 — щелочная фосфатаза; 4 — холинэстераза; 5 — протромбин

его конкурента из молекул и реакций. Замещение аланина циклосерином в активном центре тромбина приводит к блокированию последнего и понижению уровня протромбина в конечном итоге.

Антибиотики вызвали изменения в содержании фибриногена. Один лишь канамицин не оказал влияния на уровень фибриногена в плазме крови. Д-циклосерин повысил содержание фибриногена в 2,5 раза по сравнению с контролем. Увеличение его произошло под влиянием стрептомицина и флоримицина. Антибиотики усиливают биосинтез фибриногена в печени.

Стрептомицин и Д-циклосерин вызвали значительную гипербилирубинемия в крови у кроликов и мышей. Нагрузка печени билирубином, а также отсутствие прямой реакции на билирубин свидетельствует о нарушении пигментной функции печени, выражающейся в неспособности печеночных клеток задерживать введенный в кровь билирубин. Следует также признать, что антибиотики способствуют в определенной степени возникновению гемолитических процессов. Так, например, канамицин и флоримицин, не повлиявшие на пигментную функцию печени, вызвали гипербилирубинемия в хронических опытах.

ВЫВОДЫ

Экспериментальными исследованиями на мышах и кроликах было установлено:

1. Стрептомицин в дозе 30 мг/кг через 6 месяцев введения вызвал в крови повышение активности трансаминаз (АсТ—62%, АлТ—82%), гипохолестераземия на 29% и гипохолестераземия на 82%, а также гипербилирубинемия в 7 раз.

2. Стрептомицин в хронических опытах понизил содержание альбумина на 12% и значительно повысил содержание гамма-глобулина на 82% и фибриногена на 40%; не оказал влияния на уровень протромбина.

3. Стрептомицин в течение 2—3 часов после однократного введения способствовал возникновению гипертрансаминаземии, гипохолестераземии, степень повышения которых находилась в прямой зависимости от величины вводимой дозы. Гиперхолестераземия возникла при введении антибиотика в дозе 30 мг/кг, в дозе 90 мг/кг, стрептомицин вызвал гипохолестераземия.

4. Д-циклосерин в дозе 20 мг/кг при длительном введении способствовал возникновению гипертрансаминаземии (АсТ—84%, АлТ—116%) гипохолестераземии на 27% и гипохолестераземии на 86%, также возникла гипербилирубинемия в 8 раз в сравнении с контролем.

5. Д-циклосерин понизил содержание альбумина на 24% в плазме крови, повысил содержание глобулина в α_1 -фракции на 34%, фибриногена на 150% и протромбина на 400%.

6. При однократном введении Д-циклосерин в дозе 20 мг/кг не оказывал влияния на активность трансаминаз, в дозе 60 мг/кг

тормозил активность фермента; не вызывал изменений в активности щелочной фосфатазы и значительно повысил активность холлинэстеразы.

7. Канамицин в дозе 30 мг/кг при длительном введении повышал активность трансаминаз (АсТ—56%, АлТ—48%), понижал активность щелочной фосфатазы на 28% и холлинэстеразы на 68%, незначительно повышал концентрацию билирубина в сыворотке крови.

8. Канамицин в хронических опытах не оказал влияния на содержание альбумина в плазме крови, а также на содержание глобулинов и фибриногена.

9. Канамицин в течение 2—6 часов после однократного введения в дозах 60 и 90 мг/кг понизил активность аспарагиновой трансаминазы и щелочной фосфатазы, в дозе 30 мг/кг не оказал влияния на активность аспарагиновой, но повысил активность аланиновой трансаминазы, щелочной фосфатазы и холлинэстеразы. Уровень активности холлинэстеразы находился в прямой зависимости от величины вводимой дозы.

10. Флоримицин в дозе 20 мг/кг после 6-месячного введения вызвал умеренную гипертрансаминаземия (АсТ—36%, АлТ—42%), гипохолестераземия на 31% и незначительное понижение активности фосфатазы на 11%, не оказал влияния на состояние билирубинемии.

11. Флоримицин не вызвал изменений в содержании альбумина, но значительно повысил содержание гамма-глобулина и фибриногена, уровень протромбина не изменился под влиянием антибиотика.

12. При однократном введении флоримицин в дозе 60 мг/кг повысил активность обеих трансаминаз, в дозах же 120 и 180 мг/кг понизил активность трансаминаз, активность щелочной фосфатазы понижалась тем интенсивнее, чем выше была доза антибиотика. Флоримицин в дозе 60 мг/кг незначительно повысил активность холлинэстеразы, в дозе 120 и 180 мг/кг вызывал гипохолестераземия.

13. В конечном итоге следует отметить, что Д-циклосерин, а затем стрептомицин обладают токсическим действием на печень, понижая белковую и пигментную функции этого органа.

14. Флоримицин и канамицин не вызвали изменений в функциональном состоянии печени.

15. Изменения, вызываемые стрептомицином и Д-циклосерином в течение длительного времени введения, обратимы; нормализация биохимических процессов происходит в течение 2—3 месяцев после прекращения инъекций.

Диссертация содержит 73 рисунка, 23 таблицы на 202 стр., а также перечня использованной литературы (233 наименования).

Основные положения диссертации опубликованы в работах автора:

1. Влияние Д-циклосерина, стрептомицина и флоримицина на содержание билирубина в сыворотке крови у кроликов. «Антибиотики», 1966, № 2.

2. Влияние Д-циклосерина и флоримицина на активность глутамат-аспартат-трансаминазы в сыворотке крови белых мышей. «Антибиотики», 1966, № 4.

3. Влияние стрептомицина, Д-циклосерина, канамицина и флоримицина на протромбиновое время у белых мышей и кроликов. «Антибиотики», 1967, № 2.

4. Влияние стрептомицина, Д-циклосерина, канамицина и флоримицина на некоторые функции печени. Тр. ВНИИА «Проблемы антибиотиков», 1967, № 2.

Работа автора докладывалась и обсуждалась на:

1. Научной конференции ВНИИ антибиотиков, 1964.

2. Научной конференции ВНИИ антибиотиков, 1965.

3. Научной конференции ВНИИ антибиотиков, 1966.

291148

Центральная научная
Библиотека
Академии наук Литовской ССР

Сдано в набор 22/II—1967 г.

Л-41765

Физ. печ. л. 1,0

Подписано к печати 21/III—1967 г.

Зак. 64

Тираж 200 экз.

Издательство Московского университета, Москва, Ленинские горы
Административный корпус

Типография Изд-ва МГУ (филиал), Москва, проспект Маркса, 20