

**Аннотация диссертации**  
**ЮСИФОВА ЗАМИГА АЛИЗАМИН ОГЛЫ**  
**«Фармакокинетические аспекты направленного транспорта антибиотиков**  
**в очаг хирургической инфекции с помощью клеточных носителей**  
**(экспериментальное исследование)»,**  
**представленную на соискание степени**  
**доктора философии (PhD) по специальности 6D110100- Медицина**

**Актуальность**

Идея селективного, избирательного распределения лекарственных средств в организме человека, очевидно, была актуальна всегда, но приблизиться к её разрешению удалось лишь в настоящее время благодаря разработке и внедрению в клиническую практику методологии направленного транспорта. В современной фармакологии довольно отчётливо проявляется тенденция создания методов направленной («адресной») доставки лекарственных средств и разработка транспортных систем, призванных обеспечить целенаправленную доставку к мишени, контролируемое высвобождение, получение пролонгированного эффекта, повышение терапевтической эффективности препарата, а также снижение его токсичности [Kalia Y.N., Perozzo R., Scapozza L. - 2012. Allémann E., Delie F., Lange N. - 2012]. Ключевую роль в решении этих задач играют собственно транспортёры лекарственных средств. Они позволяют не только создать депонированную форму введённого соединения, но и защитить лекарство от преждевременного разрушения и инактивации ретикулоэндотелиальной системой организма; предотвратить или уменьшить иммунные и аллергические реакции организма на введённый препарат; осуществлять его направленную доставку в органы и ткани-мишени [Jeong K.J., Kohane D.S. - 2011; Rodriguez-Devora J.I., Ambure S., Shi Z.D., Yuan Y., Sun W., Xui T. – 2012; Whittam A.J., Maan Z.N., Duscher D., Wong V.W., Barrera J.A., Januszyk M., Gurtner G.C. - 2016]. В качестве микроконтейнеров, осуществляющих доставку лекарственных средств к мишеням могут выступать и аутологичные клетки крови. Идеи использования клеток крови с целью создания систем направленного транспорта лекарственных средств, безусловно, логически обоснованы и кажутся наиболее простым, доступным для клиники вариантом решения данной проблемы. Реализация идеи направленного транспорта лекарств идёт по линии использования эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов в качестве контейнеров для доставки лекарственных средств [Gutiérrez M.C., Colino Gandarillas C.I., Sayalero Marinero M.L., Lanao J.M. – 2012; Kirtane A.R., Langer R., Traverso G. - 2016]. Более распространена идея использования в качестве транспортеров для лекарств эритроциты крови. Они легко могут быть выделены из крови, где присутствуют в больших количествах, обладают достаточно длительным временем жизни и, по мере старения, подвергаются в организме естественному процессу биодеградации [Millán C.G., Marinero M.L., Castañeda A.Z., Lanao J.M. Drug, - 2004; Magnani M, Pierigè F, Rossi L. - 2012]. Клеточные контейнеры для лекарственных средств, созданные на основе аутологичных эритроцитов, получили название «фармакоциты» [Генинг Т.П., Колкер И.И., Жумадилов Ж.Ш. – 1988; Provotorov V.M., Ivanova G.A. – 2009; - Мовшев Б.Е., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Атауллаханов Ф.И. - 2006]. Менее разработанной транспортной системой для антибиотиков является клеточная

лейкоцитарная система, создаваемая на основе отечественных разработок [Гуляев А.Е., Жаугашева С.К., Ермакбаева Б.А., Пивень Л.И., Юсифов З.А. - 2015]. Однако, перспективность такой транспортной системы, вероятность получения значительного терапевтического эффекта обсуждается в литературе в последнее время особенно интенсивно для противомикробных и противоопухолевых препаратов [Huang W.C., Lu I.L., Chiang W.H., Lin Y.W., Tsai Y.C., Chen H.H., Chang C.W., Chiang C.S., Chiu H.C. – 2017; Pang L., Zhang C., Qin J., Han L., Li R., Hong C., He H., Wang J. A - 2017].

Гипотетически клеточные транспортные системы должны менять фармакокинетические свойства для инкапсулированного лекарственного вещества и обеспечивать селективное распределение лекарственного средства с преимущественным накоплением в тканях ретикуло-эндотелиальной системы (RES) или в местах скопления клеток, способных к фагоцитозу (абсцессах, гнойных очагах и т.д.) [Bax B.E., Bain M.D., Talbot P.J. – 1999; Briones E., Colino C.I., Millán C.G., Lanao J.M. - 2009].

Предполагается, что высвобождение лекарственного вещества из клеточной транспортной системы должно происходить при разрушении вовремя эндоцитоза/фагоцитоза [Rossi L., Serafini S., Pierigé F., Antonelli A., Cerasi A., Fraternali A., Chiarantini L., Magnani M. – 2005].

Тем самым, создаётся вероятность повышения концентрации антибиотика в зоне скопления фагоцитирующих клеток, например в зоне гнойно-воспалительного очага [Gutiérrez Millán C., Zarzuelo Castañeda A., González López F., Sayalero Marinero M.L., Lanao J.M. – 2008]. Эти предположения обращают особое внимание на антибиотики в качестве объектов для включения в клеточные транспортные системы. Однако разработка стратегий использования транспортных систем для антибиотиков на основе аутологичных клеток крови ограничивается недостаточной степенью описания особенностей фармакокинетики и невозможностью вследствие этого прогнозировать дозовый режим. Отсутствие надлежащего объёма доклинических результатов препятствует внедрению идей направленного транспорта в клинику. Все вышеприведённые сведения можно считать аргументами, обосновывающими актуальность разработки новых лекарственных транспортных форм антибиотиков на основе аутологичных клеток крови.

### **Цель исследования**

Определение перспективности систем направленного транспорта антибиотиков на основе аутологичных клеток крови по фармакокинетическим параметрам.

### **Задачи исследования**

1. Получение контейнеров (транспортных систем) для антибиотиков на основе аутологичных клеток крови, их биофармацевтическая характеристика *in vitro*.
2. Исследование фармакокинетики модельного антибиотика – цефтриаксона, включённого в аутологичные клетки крови, при однократном внутривенном введении интактным кроликам.

3. Исследование фармакокинетики модельного антибиотика—цефтриаксона, включённого в аутологичные клетки крови, при однократном внутривенном введении кроликам с моделью очаговой хирургической инфекции.

4. Сравнение фармакокинетических параметров модельного антибиотика, включённого в аутологичные клетки крови, выбор оптимального варианта.

### **Научная новизна**

1. Проведено сравнение фармакокинетики двух основных систем направленного транспорта антибиотиков на основе аутологичных клеток крови — лейкоцитарной транспортной системы и системы направленного транспорта на основе эритроцитарных теней, установлено преимущество лейкоцитарной транспортной системы по параметрам периода полувыведения ( $T_{1/2}$ ) и площади под фармакокинетической кривой «концентрация-время» (AUC).

2. Доказана возможность повышения уровня концентрации антибиотика в очаге бактериального гнойного воспаления при введении антибиотика в составе лейкоцитарной транспортной системы.

3. Результаты фармакокинетического эксперимента доказано ранее существовавшее предположение, что при включении антибиотика в клеточные транспортные системы на основе аутологичных клеток крови фармакокинетика меняется однотипно.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. *Invitro* тени эритроцитов и лейкоцитарная масса клеток крови способны обратимо связывать из внеклеточной среды внесённый антибиотик цефтриаксон и постепенно высвобождать большую часть его в течение суток. Такой тип взаимодействия можно обозначить как депонирование антибиотика, а образующийся комплекс антибиотика и аутологичных клеток крови, как транспортную клеточную систему.

2. Эритроцитарная и лейкоцитарная транспортные системы вызывают однотипные изменения в фармакокинетике включённого в них антибиотика. Особенности фармакокинетики цефтриаксона при внутривенном введении в составе эритроцитарной транспортной системы либо в составе лейкоцитарной транспортной системы, по сравнению с внутривенным введением свободного антибиотика, являются увеличение периода полувыведения и кажущегося объёма распределения, снижение константы элиминации и клиренса цефтриаксона.

3. По фармакокинетическим параметрам лейкоцитарная транспортная система для антибиотиков может считаться более перспективной по сравнению с эритроцитарной клеточной транспортной системой.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены: в Республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 80-летию профессора С.В. Лохвицкого (г.Караганда, 2015 г.); международной научно-практической конференции молодых учёных «Мир науки и молодёжь: новые пути развития» (г. Караганда, 2016 г.); 5 ежегодной международной научно-практической конференции «актуальные вопросы

медицины» (г.Баку, 2016 г.); на заседании кафедры хирургических болезней № 2; на научно-экспертной комиссии хирургических дисциплин КГМУ.

Тема научно-исследовательской работы получила одобрение этического комитета КГМУ (протокол № 21 от 21.11.2014 г.).

### Публикации

По материалам диссертации опубликовано 7 работ, из них: 3 в научных изданиях рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 1 публикация в международном научном издании, входящий в информационную базу компании Scopus «GeorgianMedicalNews».

### Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 3 разделов основной части, заключения с выводами и практическими рекомендациями, списка использованных источников, представленного 146 источниками. Текст изложен на 74 страницах компьютерного набора, иллюстрирован 23 таблицами, 22 рисунками.

### Практическая значимость

Полученные в диссертационной работе данные относительно возможности направленных изменений фармакокинетики, свидетельствуют о перспективности разработки систем транспорта антибиотиков на основе аутологичных клеток крови (эритроцитов и, в большей степени, лейкоцитов). Параметры фармакокинетики антибиотика, депонированного в аутологичных клетках крови, установленные в работе, могут являться ориентиром при проведении клинических исследований систем направленной доставки антибиотиков.

### Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали 48 половозрелых самцов лабораторных кроликов шиншилла. На момент начала эксперимента средний возраст составил  $90 \pm 2,16$  дня. Кролики в среднем весили  $2,6 \pm 0,28$  кг и содержались в стандартных условиях типового вивария Карагандинского государственного медицинского университета.



Методы исследования:

Экспериментальные исследования были проведены на базе НИЦ КГМУ.

- Получение лейкоцитарной и эритроцитарной транспортных систем для антибиотика цефтриаксон осуществлялось при консультативной помощи сотрудников NLA Назарбаев Университета и Национального центра биотехнологии (А. Гуляев, В. Тритэк, З. Шульгау)

- Моделирование очаговой хирургической бактериальной инфекции мягких тканей проводилось на кроликах шиншилла по общепринятой методике.

- Определение концентрации антибиотика цефтриаксон HPLC методом происходило в ЛКП НИЦ КГМУ, директор 2013-2016 г.г. – д.м.н., профессор Азизов И. С.

- Математическое моделирование фармакокинетики осуществлялось по программе Borgia 1.03. в пределах одночастевой, двухчастевой моделях со всасыванием

- Морфологические исследования проведено при консультации профессора Тусупбековой М. М. в учебно-научной патоморфологической лаборатории КГМУ

- Статистические методы исследования

## Выводы

1. При инкубации *invitro* антибиотика цефтриаксон с теньями эритроцитов связывается до 70% от внесённой дозы и в течение 24 часов происходит диссоциации во внеклеточное пространство более 80% препарата от ранее связанного. При инкубации *invitro* антибиотика цефтриаксон с лейкоцитарной клеточной массой связывается  $15,6 \pm 4,1\%$  препарата от внесённой дозы, в присутствии 0.5 mM АТФ связывание увеличивается до  $28,5 \pm 2,7\%$  и в течение 24 часов показатель диссоциации составляет более 60%.

2. Особенности фармакокинетики цефтриаксона в составе эритроцитарной транспортной системы по сравнению с фармакокинетикой свободного препарата при внутривенном введении интактным кроликам являются: снижение численного значения константы элиминации ( $K_{el}$ ) и увеличение кажущегося объёма распределения ( $V$ ) при тенденции снижения тотального клиренса ( $Cl$ ), увеличения периода полувыведения ( $T_{1/2}$ ) и площади под фармакокинетической кривой ( $AUC$ ).

3. Особенности фармакокинетики цефтриаксона в составе лейкоцитарной транспортной системы по сравнению с фармакокинетикой свободного препарата при внутривенном введении интактным кроликам являются: снижение значений константы элиминации ( $K_{el}$ ), тотального клиренса ( $Cl$ ), при повышении кажущегося объёма распределения ( $V$ ), увеличении периода полувыведения (увеличение  $T_{1/2}$  в 1,9 раза) и площади под фармакокинетической кривой (увеличение  $AUC$  в 1,5 раза).

4. Фармакокинетика цефтриаксона в составе эритроцитарной транспортной системы у кроликов с моделью очаговой хирургической инфекции характеризуется: сниженным пиком в сыворотке крови, более медленным распределением из центральной камеры в периферическую, увеличением  $T_{1/2}$  (в 2 раза),  $AUC$  и  $MRT$  (на 27-30%), при сниженном  $Cl$  и  $K_{el}$  и неизменном  $V$ . Цефтриаксон при введении в

составе эритроцитарной транспортной системы накапливается в очаге воспаления, создавая более высокую, по сравнению с вариантом введения свободного препарата, концентрацию в воспалённой мышечной ткани. Накопление цефтриаксона в очаге воспаления (гной и окружающая мышечная ткань) увеличивается по сравнению с вариантом введения свободного препарата ( $F$  возрастает с 0,03 до 0,09 для мышечной ткани и тенденция увеличения  $F$  для гноя - с 0,04 до 0,05).

5. Фармакокинетика цефтриаксона в составе лейкоцитарной транспортной системы у кроликов с моделью очаговой хирургической инфекции характеризуется: сниженным пиком в сыворотке крови, более медленным распределением из центральной камеры в периферическую, увеличением  $T_{1/2}$ , AUC и MRT (в 3-5 раз), при сниженном  $Cl$  и  $Kel$  (в 3 раза) и неизменном  $V$ . Накопление цефтриаксона в очаге воспаления (гной и окружающая мышечная ткань) увеличивается ( $F$  возрастает с 0,03 до 0,13 для мышц и с 0,04 до 0,08 для гноя) по сравнению с вариантом введения свободного препарата.

6. При включении антибиотика цефтриаксон как в эритроцитарную транспортную систему, так и в лейкоцитарную транспортную систему выявляются однотипные изменения фармакокинетических показателей: пролонгация пребывания препарата в организме (повышение  $T_{1/2}$ , AUC и MRT и снижение  $Cl$  и  $Kel$ ), а также повышенное накопление в очаге гнойного воспаления. При однонаправленности изменений фармакокинетики различие между клеточными транспортными системами выражается в более высоких значениях  $T_{1/2}$ , AUC (в 1,9 и 2,2 раза, соответственно) и более высоких значениях  $F$  (в 1,5 раза) для лейкоцитарной транспортной системы.

7. Лейкоцитарная транспортная система для антибиотиков по параметрам фармакокинетики может считаться более перспективной по сравнению с эритроцитарной клеточной транспортной системой, поскольку введение цефтриаксона в составе лейкоцитарной транспортной системы обеспечивает более высокий уровень концентрации антибиотика в очаге воспаления и удержание его в течение более длительного времени.

**Исполнитель З.А. Юсифов**