

УДК 615.033:616.972

СОДЕРЖАНИЕ БЕНЗИЛПЕНИЦИЛЛИНА НАТРИЕВОЙ СОЛИ В ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ В ПРОЦЕССЕ ТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С СОСТОЯНИЕМ СЕРОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ПОЗДНИМИ ФОРМАМИ СИФИЛИСА

Левчик Н.К., Киселева Н.В., Пономарева М.В., Сурганова В.И., Зильберберг Н.В.

*Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии,
Екатеринбург, e-mail: nklevchik@gmail.com*

Целью настоящего исследования являлось исследование содержания бензилпенициллина натриевой соли в цереброспинальной жидкости в процессе терапии пациентов с состоянием серорезистентности и поздними формами сифилиса. У 30 пациентов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии была определена концентрация антибиотика в цереброспинальной жидкости после внутримышечной инъекции 1 млн. ЕД в режиме 4-кратного либо 6-кратного введения. Были получены результаты, свидетельствующие о том, что, создаваемая в процессе терапии интратекальная концентрация антибактериального препарата может быть недостаточной для эффективной санации центральной нервной системы.

Ключевые слова: сифилис, цереброспинальная жидкость, бензилпенициллина натриевая соль, внутримышечное введение, центральная нервная система, высокоэффективная жидкостная хроматография

BENZYL PENICILLIN SODIUM SALT LEVEL IN CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS DURING TREATMENT FOR THE SERORESISTANCE AND LATE SYPHILIS

Levchik N.K., Kiseleva N.V., Ponomareva M.V., Surganova V.I., Zilberberg N.V.

*Ural Institute of Dermatovenereology and Immunopathology,
Yekaterinburg, e-mail: nklevchik@gmail.com*

The aim of this study was to analyze benzylpenicillin sodium salt level in cerebrospinal fluid of patients during treatment for the seroresistance and late syphilis. Cerebrospinal fluid antibiotic concentration was measured by a high-performance liquid chromatography method in 30 patients treated intramuscularly at 1 million units every 4 or 6 hours. The results indicate that intrathecal antibiotic concentration maintained during the course of treatment may be insufficient for effective sanitation of central nervous system.

Keywords: syphilis, cerebrospinal fluid, benzylpenicillin sodium salt, intramuscular route, central nervous system, high-performance liquid chromatography

Одним из наиболее частых и серьезных осложнений сифилиса является вовлечение в инфекционный процесс центральной нервной системы (ЦНС), последствия которого могут быть необратимыми и приводить к стойкой инвалидизации больных и летальным исходам. Инвазия бледной трепонемы в ЦНС происходит на ранних стадиях течения сифилитической инфекции в период гематогенной диссеминации возбудителя. Существенное число случаев нейросифилиса у пациентов, ранее получавших противосифилитическую терапию, свидетельствует о недостаточной санации ЦНС в процессе терапии невенерологического сифилиса. Одной из причин, обуславливающих низкую эффективность лечения, является трудность достижения и поддержания в интратекальном пространстве необходимой концентрации антибактериального препарата. Объективным основанием существования данной проблемы являются анатомо-функциональные особенности ЦНС и свойства лекарственного средства. Пенициллины, сохраняющие лидирующие

позиции в лечении сифилиса, не растворимы в жирах и имеют высокую степень связывания с белками крови, что препятствует их проникновению через гемато-ЦНС барьеры, а также имеют сродство к имеющимся физиологическим механизмам активного выведения метаболитов, что в совокупности с регулярным обновлением ЦСЖ препятствует их накоплению внутри ЦНС [1]. Натриевая соль бензилпенициллина признана формой, в наибольшей степени обеспечивающей аккумуляцию антибиотика в пространстве ЦНС [2, 3, 4]. Лечение этим препаратом пациентов с поздними формами сифилиса и состоянием серорезистентности в числе прочих преследует цель достижения эффективной концентрации антибиотика в ЦНС. Однако, сведения о конкретных значениях концентраций создаваемых в ЦСЖ при внутримышечном введении данного препарата ограничены отдельными исследованиями на небольшой выборке [5]. Опубликованные исследования посвящены, в основном, дюранным препаратам либо внутривенному пути введения

бензилпенициллина, Преимущественно данные получены с использованием микробиологических методов исследования, обладающих недостаточной аналитической точностью [6, 7, 8, 9, 10], метод высокоэффективной жидкостной хроматографии применялся в отдельных случаях [11].

Целью настоящего исследования являлось исследование содержания бензилпенициллина натриевой соли в ЦСЖ в процессе терапии пациентов с состоянием серорезистентности и поздними формами сифилиса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы исследования

Были исследованы 30 образцов ЦСЖ пациентов, подвергшихся диагностической люмбальной пункции в связи с подозрением на нейросифилис, и получавших на момент пункции специфическую терапию по поводу состояния серорезистентности (27 человек) и позднего сифилиса (3 человека). Пациенты получали 1 млн. ЕД бензилпенициллина натриевой соли путем внутримышечного введения каждые 4 часа (6 человек) либо каждые 6 часов (24 человека). Все пациенты были проконсультированы неврологом и подписали информированное согласие. Часть ЦСЖ использовали для проведения стандартных тестов, утвержденных приказами МЗ РФ для диагностики нейросифилиса, остатки образцов аликвотировали и хранили при температуре минус 80 °С.

После размораживания проводили депротенизацию образцов путем преципитации ацетонитрилом, центрифугирование в течение 10 минут при 16000×g и 5 °С, и фильтрацию полученного супернатанта через мембранный фильтр. Анализ образца методом высокоэффективной жидкостной хроматографии производили в изократическом режиме, с использованием в качестве подвижной фазы 20% ацетонитрила, 80% раствор дигидрофосфата калия (рН 6,2), со скоростью потока 0,85 мл/мин, и детекцией в УФ (215 нм). Калибровку проводили методом линейной регрессии с использованием внешнего стандарта. Контроль воспроизводимости осуществляли путем использования повторных проб (коэффициент вариации составил 5,67%). Данный метод позволил снизить предел обнаружения натриевой соли бензилпенициллина до 0,134 нг/мл, при сохранении области линейности 15–129 мкг/л.

Статистический анализ данных проведен согласно общепринятым методам [12] с использованием лицензионной программы Medcalc 12.2 (MedCalc Software bvba, Бельгия). Поскольку распределение показателей не являлось нормальным, данные приведены в виде медианы и границ межквартильного интервала (25–75 квартиль). Сравнительный анализ выполнен с помощью критерия Манн-Уитни. Для долей приведены абсолютное количество и доля с 95%-доверительным интервалом (95%ДИ).

Результаты исследования и их обсуждение

Из 30 пациентов было 18 мужчин и 12 женщин. Возраст пациентов составил 24 до 62 лет, медиана (25–75% квартиль) –

42 (34–49) года. Длительность заболевания превышала 5 лет.

Все пациенты имели положительные результаты более чем двух трепонемных тестов в крови и 24 имели положительные результаты нетрепонемных тестов. Три пациента не получали ранее лечение по поводу сифилитической инфекции, 27 пациентов имели в анамнезе один и более курс противосифилитической терапии парентеральными препаратами пенициллина длительного, среднего или короткого действия и цефтриаксоном.

У одного пациента диагностирована ВИЧ-инфекция. На наличие в анамнезе черепно-мозговой травмы указывало 8 человек.

При неврологическом обследовании у 13 пациентов были обнаружены те или иные отклонения: нарушение зрения (3 пациента), слуха (1 пациент), головные боли (2 пациента), нейропсихиатрические нарушения (2 пациента), поражение черепно-мозговых нервов (7 пациентов), нарушения двигательной функции (3 пациента), координаторные расстройства (1 пациент), расстройства походки (1 пациент).

На основании результатов ликворологического исследования нейросифилис был установлен у 2 из 3 пациентов с поздним сифилисом и у 8 из 27 пациентов с состоянием серорезистентности.

К моменту выполнения люмбальной пункции пациенты получали терапию в течение от 1 до 19 дней, медиана (25–75% квартиль) составила 5,5 (4–11) дней. Время, прошедшее с момента последнего введения антибактериального препарата до забора образца ЦСЖ варьировало от 55 до 295 минут, медиана (25%–75% квартиль) равнялась 69 (61–110).

Достигнутые при этом концентрации антибактериального препарата в цереброспинальной жидкости представлены на рисунке.

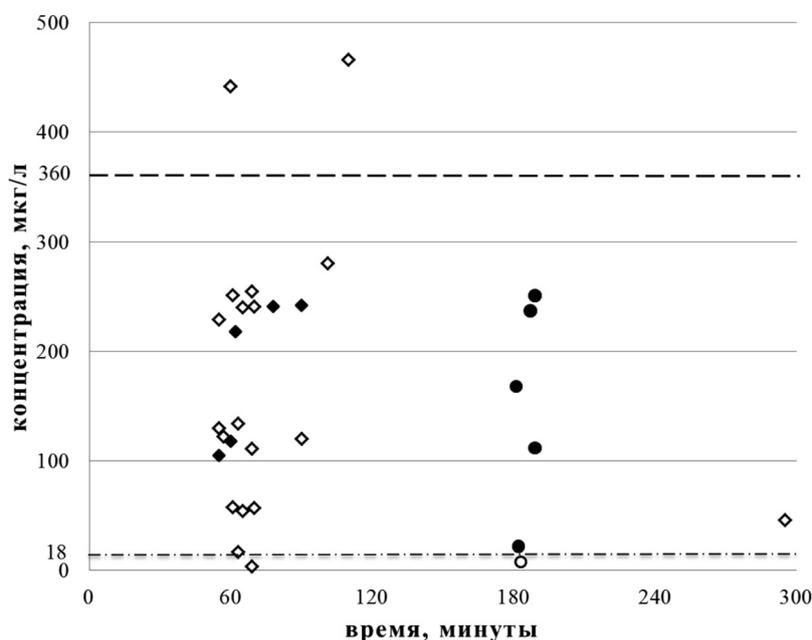
Общее содержание натриевой соли бензилпенициллина в ЦСЖ находилось в пределах от 4 до 466 мкг/л, медиана (25%–75% квартиль) составила 132 (58–241) мкг/л.

При сравнении концентраций у пациентов с установленным и не подтвержденным диагнозом «нейросифилис» достоверных отличий не было выявлено: 193 (112–241) против 126 (56–246), $p = 0,724$.

Также была проведена оценка содержания натриевой соли бензилпенициллина в ЦСЖ по отношению к концентрациям пенициллина, принятым как «минимальная трепонемацидная концентрация» (18 мкг/л) [13] и максимальная эффективная концентрация (360 мкг/л) [14]. Были получены следующие результаты. В 3 случаях (10%)

концентрация препарата была ниже 18 мкг/л (4, 8 и 17 мкг/л). Только в 2 случаях содержание антибиотика было выше 360 мкг/л.

В большинстве (25/83 %) образцов значения находились в интервале между этими значениями.



Концентрация бензилпенициллина натриевой соли в цереброспинальной жидкости после очередной внутримышечной инъекции 1 млн. ЕД в режиме 4-кратного (○) либо 6-кратного (◇) введения у пациентов, получавших терапию по поводу состояния серорезистентности или позднего сифилиса; черным цветом выделены случаи с диагностированным в результате ликворологического исследования нейросифилисом

Несмотря на то, что для лечения сифилиса пенициллин применяется, начиная с 40-х годов XX века, научное обоснование рекомендаций по терапии различных форм заболевания признается недостаточным. К факторам, существенно затрудняющим проведение научных исследований высокого уровня доказательности при сифилисе относят: трудность оценки исхода терапии, необходимость длительных сроков серологического наблюдения, комплексность диагностических критериев при различных формах заболевания, затрудняющая анализ критериев включения и проведение мета-анализа, а также отсутствие заинтересованности фармакологических компаний [15].

В связи с вышеизложенным, в основе доказательной базы обоснования схем терапии при сифилитической инфекции лежат представления о трепонемацидном действии пенициллина, полученные в экспериментальных работах *in vitro* и *in vivo* на животных моделях [14, 16]. Микробиологическим методом была установлена концентрация пенициллина в инкубационной среде, приводящая к значительным изменениям жизнеспособности бледной трепонемы, и был определен уровень пени-

циллина в крови, обеспечивающий элиминацию возбудителя из очага поражения при экспериментальном орхите у кроликов. На основании этих исследований принято считать, что уровень пенициллина в сыворотке крови > 18 мкг/л минимально достаточен, а > 360 мкг/л максимально эффективен для получения значимого терапевтического результата.

В настоящем исследовании методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было изучено содержание бензилпенициллина натриевой соли в цереброспинальной жидкости при внутримышечном введении препарата в процессе терапии пациентов с состоянием серорезистентности и поздними формами сифилиса. Данный антибактериальный препарат является стандартом терапии больных сифилисом и, теоретически, должен обеспечивать максимальную доступность для проникновения в интратекальное пространство.

В результате проведенного исследования было установлено, что в период одного-трех часов после очередной внутримышечной инъекции 1 млн. ЕД бензилпенициллина натриевой соли в режиме 4-кратного либо 6-кратного введения наиболее

вероятно (67,3–95,3% случаев) создание концентрации препарата в цереброспинальной жидкости, находящейся в диапазоне между минимальным трепонемацидным и максимально эффективным уровнем. Вероятность случаев с содержанием препарата ниже минимально достаточного оценивается как 2,1–26,5%. Уровни, превышающие максимально эффективную концентрацию, возможны в 0,8–21,9% случаев.

Следует отметить, что используемые критические значения трепонемацидного действия пенициллина экстраполированы с животной модели заболевания и являются полностью правомочными лишь по отношению к ранним формам инфекции и связи между уровнем антибиотика в сосудистом русле и возбудителем, находящимся в ткани. Взаимоотношения между антибактериальным потенциалом цереброспинальной жидкости и инфекционными очагами в центральной нервной системе при поздних формах заболевания могут существенно отличаться, и требуются дальнейшие исследования в этом направлении. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что, создаваемая в процессе терапии интра-текальная концентрация антибактериально-го препарата может быть недостаточной для эффективной санации центральной нервной системы.

Список литературы

1. Ampel N.M., Labadie E.L. Chemotherapy for bacterial infections of the central nervous system // *West J Med.* – 1987. – № 147. – P. 309–313.
2. Workowski K.A., Berman S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Sexual Transmitted Disease Treatment Guidelines, 2010* // *MMWR Recomm Rep.* – 2010. – № 59. – P. 1–11.
3. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis / P. French, M. Gomberg, M. Janier [et al.] // *Int J STD AIDS.* – 2009. – № 20. – P. 300–309.
4. Ali L., Roos K.L. Antibacterial therapy of neurosyphilis: lack of impact of new therapies // *CNS Drugs.* – 2002. Vol. 16. – № 12. – P. 799–802.
5. Чеботарева Н.В. Современная антибиотикотерапия сифилиса пенициллинами на основании фармакокинетических исследований: Автореферат дис. ... д-ра. мед. наук. – Москва, 2007. – 41 с.
6. Schoth P.E.M., Wolters E.C. Penicillin concentrations in serum and CSF during high-dose intravenous treatment for neurosyphilis // *Neurology.* – 1987. – № 37. – P. 1214–1216.
7. van der Valk P.G. M., et al. Penicillin concentrations in cerebrospinal fluid (CSF) during repository treatment regimen for syphilis // *Genitourin Med.* – 1988. – № 64. – P. 223–225.
8. Dunlop E.M., Al-Egaily S.S., Houang E.T. Penicillin levels in blood and CSF achieved by treatment of syphilis // *JAMA.* – 1979. Vol. 241, № 23. – P. 2538–2540.
9. Ducas J., Robson H. G., Cerebrospinal Fluid Penicillin Levels During Therapy for Latent Syphilis // *JAMA.* – 1981. Vol. 246, № 22. – P. 2583–2584.
10. Penicillin CSF levels following intravenous therapy in syphilitic patients / L. Faggi, A. Citterio, G.M. Frigo, E. Perucca, S. Lecchini, A. Giannetti // *The Italian Journal of Neurological Sciences.* – 1983. Vol. 4, № 4. – P. 423–426.
11. Родиков М.В., Прохоренков В.И. Концентрация пенициллина в спинномозговой жидкости у больных нейросифилисом, получающих стандартную терапию // *Российский журнал кожных и венерических болезней.* – 2008. – № 2. – С. 59–61.
12. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине : рук. для авторов, редакторов, рецензентов. Пер. с англ. – М. : Практическая медицина, 2011. – 477 с.
13. Idsoe O., Guthe T., Willcox R.R. Penicillin in the treatment of syphilis. The Experience of Three Decades // *Bull. WHO.* – 1972. – № 47(suppl). – P. 5–68.
14. Eagle H., Fleischman R., Musselman A.D. The effective concentration of penicillin in vitro and in vivo for streptococcus, pneumococcus and *Treponema pallidum* // *J Bacteriol.* – 1950. – № 59. – P. 625–643.