

ВИКОРИСТАННЯ АНТАГОНІСТІВ ВІТАМІНУ В₁ ДЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ПОРУШЕНЬ НЕРВОВО-М'ЯЗОВОЇ ПЕРЕДАЧІ, ЗУМОВЛЕНИХ ТІАМІН-ДЕФІЦІТНИМ СТАНОМ

Вивчали вплив антагоністів вітаміну В₁ (тіаміну) піритіаміну й окситіаміну на синаптичну передачу в діафрагмальному м'язі миші. В ізольованих френіко-гемідіафрагмальних препаратах, отриманих через 1,5 год після внутрішньоочеревинного уведення мишам піритіаміну (100 мг/кг), були статистично вірогідно меншими порівняно з контролем як амплітуда мініатюрних потенціалів кінцевої пластинки (мПКП), так і амплітуда потенціалів кінцевої пластинки (ПКП) та квантовий склад ПКП. У препаратах, отриманих через 3 та 24 год, але не через 72 год після підшкірного уведення мишам окситіаміну (400 мг/кг), були статистично вірогідно меншими порівняно з контролем амплітуда ПКП і квантовий склад ПКП. Піритіамін, але не окситіамін, відтворює порушення нервово-м'язової передачі, характерні для глибокого аліментарного дефіциту вітаміну В₁.

Ключові слова: вітамін В₁, тіамін, піритіамін, окситіамін, нервово-м'язова передача.

USE OF VITAMIN B₁ ANTAGONISTS FOR MODELING NEUROMUSCULAR TRANSMISSION DISTURBANCES CAUSED BY THIAMINE DEFICIENCY

Influence of vitamin B₁ (thiamine) antagonists pyriethiamine and oxythiamine on synaptic transmission in mice diaphragmatic muscle was investigated. In isolated phrenico-hemidiaphragmatic preparations obtained from animals intraperitoneally injected with 100 mg/kg pyriethiamine 1.5 hours earlier, the amplitudes of miniature end-plate potentials (mEPPs) and end-plate potentials (EPPs), as well as quantal content of EPP, were significantly smaller than in the control. In preparations obtained 3 and 24 hrs but not 72 hrs after subcutaneous injection of 400 mg/kg oxythiamine, the amplitude of EPPs and their quantal content were significantly smaller than in the control. Pyriethiamine but not oxythiamine reproduces neuromuscular transmission disturbances, characteristic for severe alimentary vitamin B₁ deficiency.

Key words: vitamin B₁, thiamine, pyriethiamine, oxythiamine, neuromuscular transmission.

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

П. Б. Антоненко, канд. мед. наук, доц.

ВПЛИВ ІЗОНІАЗИДУ НА СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Одеський національний медичний університет

Вступ

Перебіг туберкульозної інфекції зазвичай супроводжується складними зрушеннями в балансі про- й антиоксидантної систем в організмі хворих. Зокрема, збільшується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) — дієнових кон'югатів (ДК), малонового альдегіду — і зменшується активність антиоксидантної системи — ферментів супероксиддисмутази, каталази — порівняно зі здоровими людьми [1; 2]. У результаті успішного лікування туберкульозу відбувається нормалізація вказаних порушень — зменшення вмісту продуктів ПОЛ і зростання активності антиоксидантної системи [3]. Серед інших нагальних проблем лікування туберкульозу залишається питання: що саме спричиняє порушення про- й антиоксидантної систем? Зокрема, це може бути

туберкульозна інфекція, що супроводжується загальною інтоксикацією організму, або побічні ефекти протитуберкульозних хіміопрепаратів.

Мета даної роботи — з'ясувати можливий зв'язок між фармакокінетикою найбільш ефективного протитуберкульозного синтетичного препарату ізоніазиду і вмістом маркерів стану про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз.

Матеріали та методи дослідження

Зразки крові були отримані від 84 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовані, в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері у 2012 р., з яких 39 (46,4 %) становили жінки, решта 45 (53,6 %) — чоловіки. Вік хворих — від 18 до 73 років (середній вік — 35,9 року). Усі хворі на туберкульоз отримували ізоніазид

усередину з розрахунку 4–6 мг/кг маси (загалом 300–400 мг) на добу згідно з наказом МОЗ України № 384 від 9.06.2006 р. [4]. Венозну кров брали у хворих на туберкульоз через 2, 4, 6 і 24 год після прийому ізоніазиду. Вміст ізоніазиду вимірювали згідно з методикою Волленберга в модифікації Р. И. Шендеровой [5]. Метод базується на здатності ізоніазиду утворювати в кислому середовищі з ванадієвокислим амонієм кольорову комплексну сполуку, інтенсивність забарвлення якої вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 400 нм. Для дослідження генотипу ацетилювання (основної реакції детоксикації ізоніазиду) було досліджено NAT2 поліморфізм С>Т 481 NAT2*5A, G>A 590 NAT2*6A, G>A 857 NAT2*7A/B [6]. ДНК-матеріал був екстрагований з крові хворих на туберкульоз із використанням набору ДНК-сорб

Вміст ізоніазиду та показники про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз протягом доби

Час, год	Концентрація ізоніазиду, мкг/мл	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
2	4,162±0,198	1,663±0,120	0,151±0,024	0,092±0,018
4	2,481±0,202	1,655±0,105	0,162±0,034	0,095±0,020
6	1,194±0,174	1,526±0,095	0,166±0,025	0,111±0,018
24	0,162±0,121	1,521±0,104	0,168±0,032	0,120±0,023
Середнє значення	2,005±0,200	1,602±0,096	0,162±0,023	0,112±0,020

(АмпліСенс, Російська Федерація). Рівень ДК визначали у сироватці крові з використанням гептан-ізопропілового спирту і подальшому вимірюванні на СФ-46 при довжині хвилі 233 нм [7]. Активність каталази визначали у сироватці крові із застосуванням перекису водню та молібдату амонію і подальшим вимірюванням на СФ-46 при довжині хвилі 410 нм [8]. Потім розраховували інтегральний показник — антиоксидантний індекс як відношення активності каталази до вмісту ДК. Обробку фармакокінетичних і статистичних даних проводили із залученням Microsoft Excel, програми “Primer Biostatistica”.

Результати дослідження та їх обговорення

Через 2 год після прийому ізоніазиду відзначалася максимальна концентрація ДК — 1,663 моль/л (табл. 1, рис. 1). У наступних часових відрізках вміст ДК поступово знижувався і досягнув свого мінімуму 1,521 моль/л через 1 добу. Щодо активності каталази, то спостерігалася зворотна закономірність — мінімальна активність через 2 год після прийому препарату 0,151 мкат/л з поступовим зростанням і максимумом через 24 год — 0,168 мкат/л. Аналогічно змінювався й антиоксидантний індекс, який мав найнижчий показник через 2 год 0,092, з поступовим збільшенням протягом доби і досягненням максимального рівня через 24 год — 0,120. Таким чином, протягом доби відбувалося поступове зменшення рівня ДК і зростання активності каталази й антиоксидантного індексу на тлі поступового зменшення концентрації ізоніазиду, починаючи з 4-ї години (див. рис. 1). Водночас вірогідна різниця між показниками про- й антиоксидантної систем на різних часових відрізках була відсутня.

Зважаючи на зростання показників антиоксидантної системи (каталаза) і зменшення вмісту продуктів прооксидантної системи (ДК) на тлі змен-

шення вмісту ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз було доцільним дослідити наявність кореляції між показниками про- й антиоксидантної систем і концентрацією ізоніазиду. Для цього проаналізовано зв'язок між указаними показниками в кожному окремому часовому відрізку — 2, 4, 6, 24 год (рис. 2). Через 6 і 24 год після введення ізоніазиду спостерігалася пряма кореляція між концентрацією протитуберкульозної речовини і вмістом ДК (розрахункове значення t-критерію 2,222 і 2,894 відповідно при критичному його значенні 1,988). Кореляції між концентрацією ізоніазиду і активністю каталази, антиоксидантним індексом не було зафіксовано. Більше того, спостерігалася різноспрямованість у тенденціях кореляції вказаних показників.

Також були розраховані такі інтегральні показники, як період напіввиведення ($T_{1/2}$) у часових інтервалах 2–4, 4–6 год (інтенсивна елімінація) і 6–24 год (термінальна елімінація) за формулою

$$T_{1/2} = \ln 2 / k_{el}$$

де k_{el} — константа елімінації, яку розраховували за допомогою тангенса кута, утвореного прямою лінією кінетики ізоніазиду і горизонтальною лінією, паралельною до осі абсцис. Показники «площі під кривою» (AUC) для ізоніазиду було розраховано за допомогою позамодельного методу трапецій.

Згідно з отриманими даними, $T_{1/2}$ (2–4 год) ізоніазиду становив $(2,34 \pm 0,48)$ год; $T_{1/2}$ (4–

6 год) — $(2,72 \pm 0,43)$ год; $T_{1/2}$ (6–24 год) — $(4,42 \pm 0,34)$ год; AUC — $(24,43 \pm 5,12)$ мкг/мл·год. Рівень ДК через 6 год після прийому ізоніазиду прямо корелював з AUC ізоніазиду (розрахункове значення t-критерію становило 2,111) (табл. 2). Також вміст ДК через 24 год після прийому ізоніазиду прямо корелював з $T_{1/2}$ (4–6 год) ізоніазиду (розрахункове значення t-критерію становило 1,999).

Активність каталази через 6 год після введення ізоніазиду характеризувалася прямою ко-

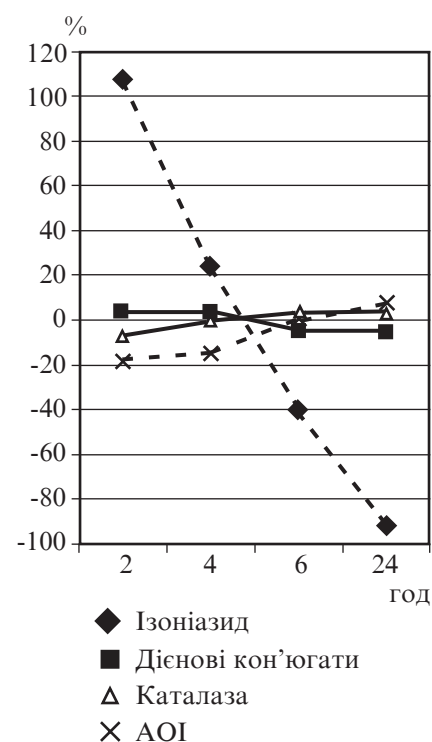


Рис. 1. Динаміка концентрації ізоніазиду і показників про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз (щодо середньодобового рівня відповідного показника, %)

реляцією з $T_{1/2}$ (2–4 год) ізоніазиду і оберненою кореляцією з $T_{1/2}$ (6–24 год). Так, розрахункове значення t-критерію для $T_{1/2}$ (2–4 год) становило 2,515, для $T_{1/2}$ (6–24 год) — -2,332 (табл. 2, рис. 3).

Після обчислення антиоксидантного індексу для кожного хворого на туберкульоз було встановлено, що період напіввиведення ізоніазиду в часовому інтервалі 2–4 год прямо корелював з антиоксидантним індексом через 6 год після введення препарату, водночас вищевказаний індекс обернено корелював з $T_{1/2}$ (6–24 год) — розрахункове значення t-критерію становило 2,063 і -2,203.

При порівнянні показників про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз із різним генотипом NAT-2 було встановлено відсутність вірогідних відмінностей між «швидкими/помірними» і «повільними» ацетиляторами, хоча у «швидких/помірних» ацетиляторів показник перекисного окиснення ДК був дещо вищим, а активність антиоксидантної системи була трохи нижчою, ніж у «повільних» ацетиляторів ($P > 0,05$).

Отримані дані засвідчили, що зменшення концентрації ізоніазиду протягом доби після введення асоціювалося з певним зменшенням вмісту продуктів ПОЛ — ДК і зростанням активності ферменту антиоксидантної системи — каталази, а також антиоксидантного індексу. Це узгоджується з літературними даними, згідно з якими ізоніазид характеризується системною токсичністю, зокрема гепато- та нейротоксичністю [9].

Також було показано, що для вмісту ДК важливим є концентрація ізоніазиду у часовому відрізку 6–24 год після прийому препарату, що було підтверджено прямою кореляцією між вмістом та AUC ізоніазиду, з одного боку, і вмістом ДК — з другого. Через 6 год після прийому ізоніазиду активність каталази й антиоксидантний індекс були у прямій кореляції з початковим періодом напіввиведення ізоніазиду (2–4 год) і в

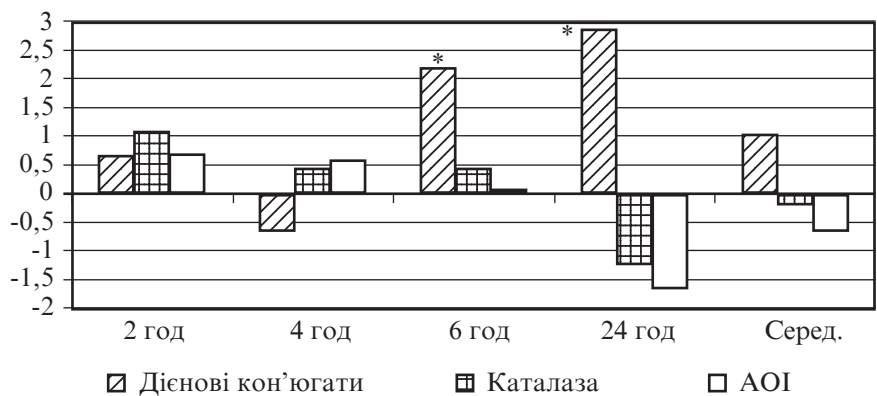


Рис. 2. Кореляція між концентрацією ізоніазиду та відповідними часовими показниками про- й антиоксидантної систем. За віссю абсцис — час після введення ізоніазиду (серед. — середньодобовий показник); за віссю ординат — розрахунковий t-критерій; * — розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988

Таблиця 2

Кореляція між показниками фармакокінетики ізоніазиду та про- й антиоксидантної систем

Показники про- й антиоксидантної систем	AUC ізоніазиду	$T_{1/2}$ ізоніазиду, год		
		2–4	4–6	6–24
Дієнові кон'югати				
2 год	0,001	-1,350	-0,868	-0,561
4 год	0,206	-0,318	-1,398	-0,235
6 год	2,111*	-0,318	-1,266	1,525
24 год	1,427	-1,049	-1,241	1,999*
Середньодобове значення	1,056	-0,963	-0,330	0,648
Каталаза				
2 год	-0,707	0,598	-0,893	0,558
4 год	0,291	1,152	-1,106	-0,702
6 год	-0,148	2,515*	-1,493	-2,332*
24 год	1,291	0,403	-1,061	-0,514
Середньодобове значення	-0,561	1,324	-1,327	-0,833
Антиоксидантний індекс				
2 год	-0,684	0,958	-0,416	0,614
4 год	0,235	1,195	-0,467	-0,672
6 год	-0,404	2,063*	-1,288	-2,203*
24 год	-1,281	0,419	-0,802	-0,909
Середньодобове значення	-1,213	-0,003	-1,164	-0,443

Примітка. * — $P < 0,05$ (розрахунковий критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988).

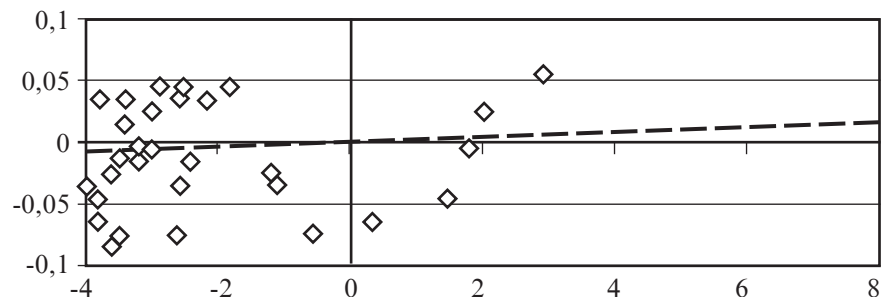


Рис. 3. Кореляція між $T_{1/2}$ (2–4 год) ізоніазиду й активністю каталази через 6 год після введення препарату (штрихом позначено лінію тренду; за віссю абсцис — $T_{1/2}$ (2–4 год) ізоніазиду, за віссю ординат — активність каталази)

оберненій кореляції з кінцевим періодом напіввиведення (6–24 год). Тобто, що повільніше виводився ізоніазид з організму в інтервалі 2–4 год після введення, то вищою була активність антиоксидантної системи (каталази, антиоксидантного індексу). У періоді напіввиведення ізоніазиду в інтервалі 6–24 год спостерігалися зворотні закономірності, оскільки швидке виведення препарату у цьому інтервалі асоціювалося з повільним його виведенням в інтервалі 2–4 год.

Водночас досить неочікуваною була різноспрямованість тенденції кореляції між вмістом ізоніазиду і показниками про- й антиоксидантної систем, що свідчить про складність оцінки впливу дослідженого протитуберкульозного препарату, що, можливо, пов'язано зі складним впливом як безпосередньо ізоніазиду, так і його метаболітів — ацетилізоніазиду, гідразиду тощо, вихідного загального стану хворих на туберкульоз, і вплив яких ми плануємо дослідити в наступних роботах.

Висновки

1. Зменшення концентрації ізоніазиду у хворих на туберкульоз асоціювалося зі зменшен-

ням рівня дієнових кон'югатів і збільшенням активності каталази. Вірогідної різниці в стані про- й антиоксидантної систем у носіїв різних генотипів ацетилювання під час застосування ізоніазиду не спостерігалося.

2. Концентрація ізоніазиду, AUC і кінцева елімінація ізоніазиду у хворих на туберкульоз прямо корелювали з рівнем дієнових кон'югатів.

3. Активність каталази й антиоксидантний індекс через 6 год після введення ізоніазиду прямо корелювали з початковою елімінацією й обернено — з кінцевою елімінацією ізоніазиду.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Treatment of cavitary and infiltrating pulmonary tuberculosis with and without the immunomodulator Dzherelo* / S. I. Zaitzeva, S. L. Matveeva, T. G. Gerasimova [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2009. – Vol. 5, N 12. – P. 1154–1162.

2. *Новоселов П. Н.* Влияние водорастворимых модуляторов перекисного окисления липидов на эффективность комплексной химиотерапии инфильтративного туберкулеза легких : автореф. дис. на соискание ученого звания д-ра мед. наук : спец. 14.03.06 «Клиническая фармакология» / П. Н. Новоселов. – Челябинск (Российская Федерация), 2010. – 21 с.

3. *Особливості обмінних процесів у хворих на туберкульоз легень з різним фенотипом ацетилювання при застосуванні режимів хіміотерапії з піразинамідом* / К. Д. Мажак, О. В. Павленко, О. А. Ткач [та ін.] // *Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи їх подолання* : зб. наук.-практ. конф. – К., 2008. – С. 90–95.

4. *Про затвердження протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз* : Наказ МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. [Текст] : нормативні директивні правові документи. – К., 2006. – 87 с.

5. *Шендерова Р. И.* Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Волленберга / Р. И. Шендерова // *Лабораторное дело.* – 1976. – № 2. – С. 114–115.

6. *Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans* / M. Blum, A. Demierre, D. M. Grant [et al.] // *Proc. Nati. Acad. Sci. USA.* – 1991. – Vol. 88. – P. 5237–5241.

7. *Стальная И. Д.* Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная. – М. : Медицина, 1977. – С. 63.

8. *Метод определения активности каталазы* / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарева // *Лабораторное дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.

9. *Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India* / V. N. Gupta, D. N. Amarapurkar, M. Singh [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2013. – Vol. 28, N 8. – P. 1368–1374.

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

П. Б. Антоненко

ВПЛИВ ІЗОНІАЗИДУ НА СТАН ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Метою роботи було з'ясувати можливий зв'язок між фармакокінетикою протитуберкульозного препарату ізоніазиду і вмістом маркерів стану про- й антиоксидантної системи у хворих на туберкульоз.

Вміст ізоніазиду вимірювали згідно з методикою Волленберга в модифікації Р. И. Шендеровой. Для дослідження генотипу ацетилювання було досліджено N-ацетилтрансферази-2 поліморфізм. Зразки крові були отримані у 84 хворих на легеневий туберкульоз, що вперше діагностовані, в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері у 2012 р.

Згідно з отриманими даними, зменшення концентрації ізоніазиду у хворих на туберкульоз асоціювалося зі зменшенням рівня дієнових кон'югатів і збільшенням активності каталази. Концентрація ізоніазиду, AUC і кінцева елімінація ізоніазиду у хворих на туберкульоз прямо корелювали з рівнем дієнових кон'югатів. Активність каталази й антиоксидантний індекс через 6 год після введення ізоніазиду прямо корелювали з початковою елімінацією й обернено — з кінцевою елімінацією ізоніазиду. Вірогідної різниці у стані про- й антиоксидантної систем у носіїв різних генотипів ацетилювання під час застосування ізоніазиду не спостерігалося.

Ключові слова: ізоніазид, туберкульоз, перекисне окиснення ліпідів.

UDC [615+577.21]:616-002.5:615.28

P. B. Antonenko

THE INFLUENCE OF ISONIAZID ON THE STATUS OF LIPIDS PEROXYDATION IN THE PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

The goal of present work was an investigation of putative correlation between pharmacokinetics of the antituberculosis drug isoniazid and the level of pro- and antioxidant systems markers in patients with tuberculosis (TB).

Isoniazid concentration was detected in venous blood 2, 4, 6 and 24 hrs after ingestion of standard dose according to Volenberg method with modification of R. I. Shenderova. For detection of acetylation genotype the N-acetyltransferase-2 polymorphism was analyzed. The blood samples were obtained from 84 TB-patients with new cases from Odessa regional antituberculous dispensary in 2012.

According to obtained data, the decreasing of isoniazid concentration in TB-patients associated with declining diene conjugates level and enhancing catalase activity. The isoniazid concentration, AUC and terminal elimination of isoniazid were in direct correlation with diene conjugates level. The catalase activity and antioxidant index 6 hrs after isoniazid intake were in direct correlation with initial elimination and in direct correlation with terminal elimination of isoniazid. The significant difference in status of pro- and antioxidant systems in carriers of different acetylation genotype during isoniazid usage was absent.

Key words: isoniazid, tuberculosis, lipids peroxydation.