

ВИВЧЕННЯ СУМІСНОЇ ДІЇ ІЗОНІАЗИДУ ТА ВІТАМІНУ В₆ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ЛІКУВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ У МОРСЬКИХ СВИНОК

Л.В. Гайова¹, Є.І. Суслов², Л.С. Бобкова³, М.Т. Клименко²

¹Національний медичний університет, Київ

²Інститут фтизіатрії і пульмонології, Київ

³Інститут фармакології і токсикології, Київ

Резюме. За результатами спеціально спланованого факторного експерименту — лікування експериментального туберкульозу у морських свинок різними дозами ізоніазиду та вітаміну В₆ — побудована математична модель цього процесу. Ступінь захворюваності туберкульозом оцінювали за індексом ураженості внутрішніх органів тварин.

Ключові слова: туберкульоз, печінка, ізоніазид, вітамін В₆.

ИЗУЧЕНИЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗОНИАЗИДА И ВИТАМИНА В₆ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗА У МОРСКИХ СВИНОК

Л.В. Гаевая, Е.И. Суслов, Л.С. Бобкова, М.Т. Клименко

Резюме. По результатам специально спланированного факторного эксперимента — лечения экспериментального туберкулеза у морских свинок различными дозами изониазида и витамина В₆ — построена математическая модель этого процесса. Степень заболевания туберкулезом оценивали по индексу поражения внутренних органов животных.

Ключевые слова: туберкулез, печень, изониазид, витамин В₆.

STUDY OF JOINT ACTION ISONIAZID AND VITAMIN В₆ ON THE CONDITION OF THE LIVER DURING PERIOD OF TREATMENT OF GUINEA-PIGS WITH EXPERIMENTAL TUBERCULOSIS

L.V. Gajova, E.I. Suslov, L.S. Bobkova, M.T. Klimenko

Summary. With the results of planned factorial experiment — treatment of guinea-pigs with an experimental tuberculosis by various doses of isoniazid and vitamin В₆ — expressed mathematical model of this process. Degree of tuberculosis morbidity was evaluated by index of affection of guinea-pig organs.

Key words: tuberculosis, liver, isoniazid, vitamin В₆.

Адреса для листування:

Гайова Людмила Володимирівна

03057, м. Київ, пр. Перемоги, 34

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця
кафедра біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії

Одним із найважливіших принципів сучасної хіміотерапії хворих на деструктивний туберкульоз легень є застосування препаратів, що діють на весь спектр мікобактеріальної популяції — на мікобактерії, що активно розмножуються або персистують, знаходяться поза- або та внутрішньоклітинно [8–10]. Антимікобактеріальний препарат ізоніазид здатний накопичуватись в ефективній концентрації в товстостінних кавернах, казеозних зонах, туберкуломах, казеозно змінених лімфатичних вузлах та в інших уражених ділянках. На сьогодні одним із методів удосконалення лікування хворих на туберкульоз є використання ізоніазиду та вітаміну В₆ (піридоксину гідрохлориду) на основі оптимізації співвідношення їх доз [3, 4, 7–16].

Мета досліджень — визначити оптимальне співвідношення доз ізоніазиду та вітаміну В₆, при лікуванні якими досягається якнайменше залишкове ураження печінки у морських свинок з експериментальним туберкульозом.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експеримент провели на 50 морських свинок з середньою вагою 250 г. Експериментальний туберкульоз викликали шляхом підшкірного введення свинкам мікобактерій туберкульозу лабораторного штаму Н₃₇Рv у дозі 0,01 мг вологої ваги в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду. В подальшому не проводили лікування 5 свинкам, які склали контрольну групу (тест на виживаність). Через 1,5 міс від моменту зараження одну із свинок цієї групи забивали для контролю стану туберкульозного процесу, викликаного інوکюляцією мікобактерій. У забитій свинці визначили гнійний абсцес на ділянці зараження та гнійне ураження регіонарних до ділянки зараження лімфовузлів. Селезінка була різко збільшена з множиною осередків ураження. Печінка була збільшена, рихла, вся в крупних жовтих ураженнях. В легенях виявили множини великих та дрібних туберкульозних бугорків. Ступінь ураження оцінювали в умовних індексах

ураженості у відповідності до критеріїв Р.О. Дабкіної (у. о.), за якими максимально виражені макроскопічні ураження цих органів оцінюють за 100 умовних одиниць (у. о.) [5, 6]. У цієї свинки контрольної групи індекс ураженості складав 90 у. о., у решти свинок (4 свинки), які загинули у термін 1,5–2 міс після зараження — 100 у. о.

За допомогою методу рандомізації сформували 9 груп (по 5 тварин в кожній), яким на фоні генералізованого туберкульозного процесу розпочали лікування різними режимами хіміотерапії (табл. 1).

Кожну групу свинок розташували по кліткам окремо. Через 1,5 міс після зараження розпочали лікування свинок 1-ї–9-ї груп: ізоніазид вводили *per os*, вітамін В₆ — підшкірно, обидва препарати 1 раз на добу.

Через 8 тиж лікування усі свинки цих груп залишались живими. Вони були забиті за допомогою етилового ефіру. Здійснили розтин тварин, оцінили макроскопічні туберкульозні ураження для кожної окремо взятої свинки. Для гістологічного дослідження у кожній свинки взяли шматочки печінки і їх помістили у 10% розчин формаліну.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою спеціалізованої статистичної програми «Statistica 6.0». Для виконання дослідження ми застосували підхід, який не потребує попереднього визначення характеру зв'язку між дозою препаратів дослідження та їх фізіологічною дією. Крім того, він враховує вплив кожної тварини в групі на загальну картину і тому є найбільш об'єктивним [2]. Спеціалізована схема експерименту такого типу — факторний експеримент 3² — дослідження взаємодії 2 факторів на 3 рівнях. Три рівні означають різні дози препарату: для ізоніазиду — 10, 32 та 100 мг/кг, для вітамі-

ну В₆ — 0,5 та 50 мг/кг. Лікувальну дію препаратів оцінювали в у. о. індексу ураженості за результатами макроскопічного дослідження печінки в межах від 0 у. о. (наявність лише здорової тканини) до 28 у. о. (максимально виражене ураження тканини) [1, 4–6]. За такого плану експерименту проведені 9 вимірювань обіймають усі можливі комбінації досліджуваних факторів і надають змогу визначити коефіцієнти квадратичної моделі:

$$Z = a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot y + a_3 \cdot x \cdot y + a_4 \cdot x^2 + a_5 \cdot y^2 + a_6 \cdot x^2 \cdot y + a_7 \cdot x \cdot y^2 + a_8 \cdot x^2 \cdot y^2$$

де:

Z — це інтегральний показник ураженості печінки в у. о.

a₀, a₁, a₂, a₃, a₄, a₅, a₆, a₇, a₈ — коефіцієнти рівняння;

x, y — доза відповідно ізоніазиду та вітаміну В₆ в мг/кг.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані в ході експерименту результати наведені в таблиці 1. Здорову тканину печінки (індекс ураженості — 0 у. о.) визначили лише у однієї тварини 5-ї групи, яку лікували ізоніазидом у дозі 10 мг/кг та вітаміном В₆ у дозі 50 мг/кг. Тканина печінки решти тварин усіх дев'яти груп мала різний ступінь ураження — від 7 до 21 у. о., а у тварин контрольної групи була максимально ураженою — 28 у. о.

При морфологічному дослідженні тканини печінки тварин контрольної групи виявили дистрофічні зміни гепатоцитів, вогнища специфічного запалення з казеозним некрозом та наявністю по периферії лімфоїдно- та епітеліоїдноклітинних інфільтратів і гігантських багатоядерних макрофагів.

У тварин 1-ї групи, яких лікували ізоніазидом в дозі 10 мг/кг, визначили повнокрів'я кровопостачальних судин печінки, набряк власної тканини, гідропічну дистрофію гепатоцитів з великими по-

Таблиця 1

Індекси ураженості печінки при лікуванні експериментального туберкульозу у морських свинок ізоніазидом та вітаміном В₆, у. о.

Група тварин	Доза препарату, мг/кг		Індекс ураженості печінки кожної свинки в групі					Середній індекс ураженості в групі
	ізоніазид	вітамін В ₆	1	2	3	4	5	
1-ша	10	0	7	7	7	7	7	7
2-га	32	0	7	14	7	7	14	9,8
3-тя	100	0	7	21	14	21	21	16,8
4-та	10	5	14	7	14	7	7	9,8
5-та	10	50	7	7	0	7	7	5,6
6-та	32	5	7	14	7	7	7	8,4
7-ма	32	50	14	14	7	7	7	9,8
8-ма	100	5	7	14	7	14	7	9,8
9-та	100	50	14	14	7	7	7	9,8
Контрольна	0	0	28	28	28	28	28	28

рожнинами і лакунами у цитоплазмі без наявності туберкульозних запальних змін. У тварин цієї групи середній індекс ураженості становив 7 у. о.

У тварин 2-ї та 3-ї груп збільшення дози ізоніазиду до 32 та 100 мг/кг призводило до збільшення середнього індексу ураженості до 9,8 та 16,8 у. о., відповідно.

Сумісна дія ізоніазиду та вітаміну B₆ в цілому, сприяла зменшенню індексу ураженості печінки.

В тканині печінки тварин 4-ї групи, яких лікували ізоніазидом у дозі 10 мг/кг та вітаміном B₆ у дозі 5 мг/кг, визначили дистрофічні зміни та набряк гепатоцитів, повнокрів'я кровопостачальних капілярів.

У тварин 5-ї групи, які отримували ізоніазид у дозі 10 мг/кг та вітамін B₆ у дозі 50 мг/кг, структура гепатоцитів не змінювалася, визначалась помірна дистрофія гепатоцитів, залишкові запальні явища (помірна лімфоїдноклітинна інфільтрація у міжбалковому просторі), а також кровонаповнення печінкових вен та капілярів (від незначного до помірного), однак не супроводжувалося морфологічними ознаками туберкульозного запалення. Середній індекс ураженості тканини печінки тварин 5-ї групи був найменший і складав 5,6 у. о.

B₆ у дозах 10 і 5, 32 і 50, 100 і 5 та 100 і 50 мг/кг, відповідно, має місце однаковий рівень ураженості тканини печінки і, таким чином, стан тканин печінки не залежать від змін величини дози препаратів.

За результатом статистичної обробки даного факторного експерименту (табл. 2) визначили, що зазначена модель охоплює лише близько 42% експериментальних значень ($R^2=0,41866$) та є складною. Вплив кожного з членів вище наведеного рівняння у нормованому вигляді представлений у вигляді коефіцієнтів. Згідно абсолютних значень цих коефіцієнтів найбільше впливав на стан печінки ізоніазид (у лінійній формі 1L) в поєднанні з вітаміном B₆ (у квадратичній формі 2Q) (тобто, 1L, 2Q): (-2,310). Знак мінус свідчить, що зі збільшенням дози ізоніазиду та вітаміну B₆ значення Z зменшуються і, таким чином, лікувальний ефект зростає. Вплив саме ізоніазиду також має місце: коефіцієнти його лінійної та квадратичної складових становили (+1,960) та (+0,548) відповідно, а їх позитивне значення означає, що із збільшенням дози ізоніазиду збільшується ступінь ураження печінки (Z). На противагу до ізоніазиду збільшення дози вітаміну B₆ значно зменшує рівень Z (коефіцієнт лінійної складової становить -1,639).

Таблиця 2

Сила ефектів, що впливають на стан печінки (Z) при лікуванні експериментального туберкульозу у морських свинків (R-квадрат=0,4187)

Фактори та їх взаємодія	Ефект	Стандартна похибка	t(36)-критерій	p – рівень значущості	-95%	+95%	Коефіцієнт	Стандартна похибка	-95%	+95%
Вільний член	9,605	0,614	15,638	0,000	8,359	10,851	9,605	0,614	8,359	10,851
(1) Ізоніазид (L)	3,920	1,473	2,662	0,012	0,933	6,907	1,960	0,736	0,467	3,453
(1) Ізоніазид (Q)	1,095	1,330	0,823	0,416	-1,602	3,792	0,548	0,665	-0,801	1,896
(2) B ₆ (L)	-3,277	1,430	-2,291	0,028	-6,178	-0,377	-1,639	0,715	-3,089	-0,188
(2) B ₆ (Q)	-2,374	1,364	-1,740	0,090	-5,141	0,393	-1,187	0,682	-2,570	0,197
(1) (L), (2) (L)	-2,800	1,715	-1,633	0,111	-6,277	0,677	-1,400	0,857	-3,139	0,339
(1) (L), (2) (Q)	-4,620	1,636	-2,825	0,008	-7,937	-1,303	-2,310	0,818	-3,969	-0,651
(1) (Q), (2) (L)	1,384	1,548	0,894	0,377	-1,756	4,524	0,692	0,774	-0,878	2,262
(1) (Q), (2) (Q)	-1,041	1,477	-0,705	0,486	-4,036	1,955	-0,520	0,738	-2,018	0,977

Примітки (тут і далі):

(1), (2) – фактори: ізоніазид та вітамін B₆, відповідно;

(L), (Q) – сила ефекту відповідно лінійного та квадратичного впливу фактору.

Отже, на підставі аналізу даних, які наведені в таблиці 1, можна простежити такі тенденції: по-перше, збільшення доз ізоніазиду призводить до збільшення ступеня ураженості тканини печінки; по-друге, сумісна дія ізоніазиду та вітаміну B₆ в цілому, сприяє зменшенню індексу ураженості печінки; по-третє, найменша вираженість ураження печінки має місце у випадку хіміотерапії тільки ізоніазидом у дозі 10 мг/кг або ізоніазидом у дозі 10 мг/кг та вітаміном B₆ у дозі 50 мг/кг; по-четверте, у разі призначення ізоніазиду та вітаміну

Деякі члени рівняння [(1) Ізоніазид(Q); 1Q,2L; 1Q,2Q] мали дуже низький рівень значущості ($p=0,377$ та більше), і, на цій підставі, в подальшому були виключені.

Після перерахунку отримані нові скориговані результати, що наведені у табл. 3. За таких умов нова розрахована модель охоплює лише 37,76% експериментальних даних, але статистично вона набагато вагоміша за попередню.

В табл. 4 наведені вже не нормовані, а шукані коефіцієнти математичного рівняння, яке

визначає залежність вираженості ураження печінки від величини дози кожного з препаратів, а математична модель експерименту має наступний вигляд:

$$Z = 6,113 + 0,107 \cdot x + 0,663 \cdot y - 0,023 \cdot x \cdot y - 0,013 \cdot y^2;$$

де:

Z — інтегральний показник ураженості печінки в у. о.,
x, y — доза відповідно ізоніазиду та вітаміну B₆ в мг/кг.

Краще оцінити визначену модель експерименту можливо за допомогою тривимірної графіки (рисунок). Наведена на рисунку поверхня змін стану печінки залежно від дози ізоніазиду та вітаміну B₆ наглядно ілюструє складність впливу значення дози вітаміну B₆ та ізоніазиду на ступінь ураження печінки.

Проведений нами додатково дисперсійний аналіз (табл. 5) показав, що, відповідно до критерію Фішера, ізоніазид (F=3,54) в більшій мірі впливає на стан печінки, ніж вітамін B₆ (F=2,99), однак при цьому треба зазначити

наявність досить помітного впливу у разі їх поєднання (F=2,64). Таким чином, простежується тенденція переважного впливу окремо кожного із препаратів на ступінь ураженості у порівнянні з їх комбінацією і, хоча ця різниця є незначною, її доцільно також враховувати при лікуванні хворих. Отримана математична модель висвітлює вплив ізоніазиду та вітаміну B₆ лише в межах досліджених доз. Зважаючи на отримані результати, можливо припустити, що реальна залежність є значно складнішою і потребує подальшого вивчення сумісної дії ізоніазиду та вітаміну B₆ та пошуку їх оптимального співвідношення.

ВИСНОВКИ

За результатами проведеного дослідження визначена математична модель впливу ізоніазиду та вітаміну B₆ на стан печінки при лікуванні експериментального туберкульозу у морських свинок

Таблиця 3

Скоригована сила ефектів, що впливають на стан (Z) печінки при лікуванні експериментального туберкульозу у морських свинок (R-квадрат=0,3776)

Фактори та їх взаємодія	Ефект	Стандартна похибка	t(39)-критерій	p – рівень значущості	-95%	+95%	Коефіцієнт	Стандартна похибка	-95%	+95%
Вільний член	9,576	0,610	15,709	0,000	8,343	10,809	9,576	0,610	8,343	10,809
1L, 2Q	-4,294	1,560	-2,753	0,009	-7,448	-1,139	-2,147	0,780	-3,724	-0,570
(1) Ізоніазид (L)	3,577	1,404	2,547	0,015	0,736	6,417	1,788	0,702	0,368	3,209
(2) B ₆ (L)	-3,351	1,419	-2,361	0,023	-6,222	-0,480	-1,675	0,710	-3,111	-0,240
1L, 2L	-3,234	1,635	-1,978	0,055	-6,541	0,073	-1,617	0,817	-3,270	0,036
2 B ₆ (Q)	-2,318	1,354	-1,712	0,095	-5,057	0,421	-1,159	0,677	-2,528	0,210

Таблиця 4

Коефіцієнти залежності лікувальної дії ізоніазиду та вітаміну B₆ від рівня їх дози (R-квадрат=0,37759)

Фактор	Коефіцієнти рівняння регресії	Стандартна похибка	t(39) — критерій	p — рівень значущості	-95%	+95%
Вільний член	6,113	1,564	3,907	0,000	2,948	9,277
(2) B ₆ (L)	0,663	0,489	1,356	0,183	-0,326	1,653
(1) Ізоніазид (L)	0,107	0,026	4,184	0,000	0,056	0,159
1L, 2L	-0,023	0,008	-2,818	0,008	-0,039	-0,006
(2) B ₆ (Q)	-0,013	0,009	-1,388	0,173	-0,032	0,006
1L, 2Q	0,000	0,000	2,753	0,009	0,000	0,001

Таблиця 5

Вплив факторів (препаратів) на стан печінки при лікуванні експериментального туберкульозу у морських свинок

Фактор	SS	df	MS	F-критерій	p — рівень значущості
(1) Ізоніазид L+Q	104,2185	2	52,1092	3,5448	0,0393
(2) B ₆ L+Q	88,0093	2	44,0047	2,9935	0,0627
1*2	154,6222	4	38,6556	2,6296	0,0503
Error	529,2000	36	14,7000		
Total SS	910,3111	44			

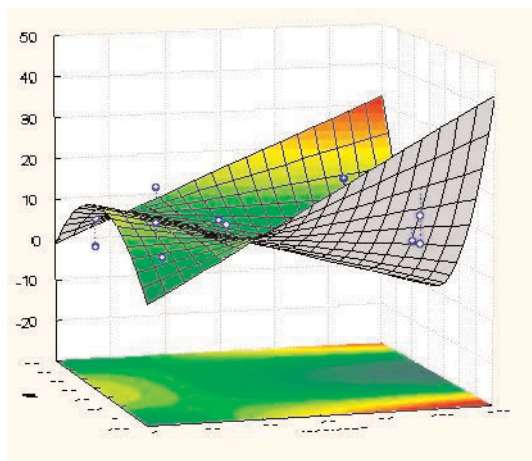


Рисунок. Залежність індексу ураженості печінки (вісь Z) від величини дози ізоніазиду (вісь X) та вітаміну B₆ (вісь Y)

свинок. За даними дисперсійного аналізу ізоніазид в більшій мірі впливає на індекс ураженості печінки ніж вітамін B₆ або їх поєднання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Елисеев В.Г., Афанасьев Ю.И., Котовский Е.Ф. (1970) Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения клеток тканей и органов. Медицина, Москва, 399 с.
2. Боровиков В.П., Боровиков И.П. (1997) Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. Филин, Москва, 608 с.
3. Возианова Ж.И., Гарницкая Л.А. (2004) Лекарственные поражения печени. Сучасні інфекції, 3: 74–83.
4. Гайова Л.В., Барбова А.І., Трофімова П.С., Бобкова Л.С., Чубенко А.В. (2005) Визначення оптимального співвідношення дози ізоніазиду та вітаміну B₆ для лікування експериментального туберкульозу у морських свинок. Укр. хіміотерапевт. журн., 1–2(20): 61–64.
5. Драбкина Р.О. (1955) пара-Аминосалициловая кислота в химиотерапии туберкулеза. Врачебное дело, 10: 938–943.
6. Драбкина Р.О. (1963) Микробиология туберкулеза. Гос. изд. мед. лит., Москва, 255 с.
7. Катікова О.Ю., Асанов Б.М., Візе-Хріпунова М.А., Бурба Е.Н., Рузов В.І. (2002) Використання гепатопротектора рослинного походження галстени при ураженні печінки туберкулоstaticами. Експериментально-клінічне дослідження. Пробл. туберкулеза, 4: 32–36.
8. Кобелева Г.В., Копылова И.Ф., Григорьева Е.А. (2002) Состав и морфологическая характеристика летальных исходов от туберкулеза. Пробл. туберкулеза, 5: 52–55.
9. Коломосьць М.Ю., Шоріков Є.І., Хухліна О.С. (2002) Деякі молекулярні механізми токсичних уражень печінки. Клінічна та експериментальна патологія, 1(2): 69–73.
10. Мішин В.Ю., Чуканов В.І., Вилегжанін С.В. (2001) Ефективність стандартного режиму хіміотерапії при лікуванні вперше виявлених хворих на деструктивний туберкульоз легень з бактеріовиділенням. Пробл. туберкулеза, 7: 13–18.
11. Allen K.A., Fourie T.G., von Gruenewaldt K.G., Pilz R., van Niekerk C.H. (1999) New four-drug fixed-dose combination for treatment of tuberculosis. Int. J. Tuberc. And Lung Disease, 3(9, Suppl. 1): 50.
12. Brown A., Mallett M., Fiser D., Arnold W.C. (1984) Острое отравление изониазидом: обратимость симптомов поражения ЦНС при лечении большими дозами пиридоксина. Pediat. Pharmacol., 4(3): 199–202.
13. Hartmann E., Barre Ph., Frederich M. (1983) Эпилептическое состояние, вызванное случайным отравлением изониазидом. Pediatrie, 38(1): 43–45.
14. Prokic D., Trandafilovic D., Prokic K. (1984) Тяжелое отравление изониазидом 12-летней девочки. Jugosl. pedijat., 27(1): 2.
15. Roufe P., Cougot P., Virenque Ch. (1983) Преднамеренное отравление изониазидом. Cah. anestesiologie, 31(4): 389–390.
16. Youssel W., Cahuana A., Feijoo B., Pou J. (1983) Острое отравление изониазидом. J. An. esp. pediat., 18(2): 148–149.