Л. В. Гайова, Є. І. Суслов, Л. С. Бобкова, М. Т. Клименко

ВИВЧЕННЯ СУМІСНОЇ ДІЇ ІЗОНІАЗИДУ ТА ВІТАМІНУ B_6 НА ПРОЦЕС ЛІКУВАННЯ ЛЕГЕНЬ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця
Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України

Як відомо з практики лікування туберкульозу людини, протитуберкульозна дія ізоніазиду в значній мірі залежить від дози допоміжного препарату — вітаміну B_6, який вже давно використовуть для зниження його токсичної дії. Співвідношення зазначених речовин, при лікуванні людей, є досить сталим (10 мг/кг—5 мг/кг, відповідно), однак експериментальних підтверджень щодо їх оптимальних значень в літературі немає [3, 12, 13]. Нами був проведений експеримент на тваринах з метою довести вплив цих хімічних речовин на процес лікування туберкульозу, викликаного мікобактеріями лабораторного штаму $H_{37}Rv$ [2].

Мікобактерії туберкульозу по різному впливають токсично на кожний із внутрішніх органів. На підставі морфологічних досліджень кожного органу, за певними об'єктивними ознаками, можна навпілкількісно оцінити лікувальну дію вивчаємих речовин на нього при експериментальному туберкульозі [4—9]. Це дає змогу визначити направленість лікувальної дії ізоніазиду та вітаміну B_6 в організмі.

Метою даної роботи було вивчення особливостей сумісної дії ізоніазиду та вітаміну B_6 на процес лікування туберкульозу легень морських свинок, уражених мікобактеріями туберкульозу штама $H_{37}Rv$.

Як відомо, при вирішенні аналогічних задач, найбільш об'єктивною та точною мірою буде слугувати математична модель, яка кількісно (в межах поставленного експерименту) визначить вплив кожного препарату на їх сумісну протитуберкульозну дію [10, 11]. Форма математичної моделі задається заздалегідь, але чим складніша ця форма, тим більш чисельний біологічний експеримент треба провести. Для вирішення подібних задач розроблені відповідні статистичні плани проведення біологічних дослідів, які жорстко пов'язані з математичною моделлю, що їх описує. В данному випадку ми вивчали два фактори впливу (перший — це вплив ізоніазиду, а другий — вітаміну B_6) на процес лікування експериментального туберкульозу.

Матеріали та методи

В експеримент були взяті 50 морських свинок середньою вагою (250±7) г. Експериментальний туберкульоз викликали шляхом підшкірного введення мікобактерій туберкульозу лабораторного штаму $H_{37}Rv$ в дозі 0,01 мг вологої ваги в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду. Через 1,5 місяці одну із свинок забивали для контролю стану туберкульозного процесу, викликаного інокуляцією мікобактерій. У забитої свинки був виявлений гнійний абсцес на ділянці зараження та гнійне ураження лімфовузлів регіону біля ділянки зараження. Селезінка була різко збільшена з множиною осередків ураження. Печінка була збільшена, рихла, вся в крупних жовтих ураженнях. Легені з множиною крупних та дрібних туберкульозних бугорків. Ураження оцінені в умовних індексах ураженості (за Р. О. Драбкіної), при яких максимально виражені макроскопічні ураження оцінені за 100 умовних одиниць ураження. Для забитої контрольної свинки цей індекс склав 90 умовних одиниць ураження (у.о.у.).

На цьому фоні генералізованого туберкульозного процесу було почато лікування тварин за рандомізованою схемою. З цією метою сформовані 9 груп (по 5 тварин в кожній) з різним режимом хіміотерапії (табл. 1).

Залишені 4 свинки були без лікування (тест на виживаємість). Вони загинули в термін 1,5—2 місяці після ураження від генералізованного туберкульозу. Індекси ураженості у всіх були 100 у.о.у.

Розділених на групи свинок, розташували по окремим кліткам (зроблені для кожної групи) і почали щоденне лікування (через 1,5 місяці після ураження). Ізоніазид вводили per os, вітамін B_6 — у підшкірних ін'єкціях.

Через 8 тижнів лікування всі свинки залишались живі. Вони були забиті за допомогою етилового ефіру. Здійснили розтин тварин, оцінили макроскопічні туберкульозні ураження для кожної окремо взятої свинки. Для гістологічного дослідження у кожної свинки взяли регіонарні до місця ураження лімфовузли, шматочки селезінки, печінки, легень, а також по одній нирці.

Оцінка ураженості внутрішніх органів морських свинок МБТ. Індекси ураженості кожного органу спочатку оцінюються за 4-бальною системою хрестами. Кожен хрест ураженості регіонарних до місця зараження лімфовузлів оцінюється в 2 у.о.у., а 4 хрести — в 8 у.о.у. Оскільки інфекція поширюється по лімфатичній системі, наступним органом, що уражається туберкульозом, є селезінка. Кожен хрест ураженості селезінки оцінюється в 6 у.о.у., а 4 хрести відповідно в 24 у.о.у. Наступним органом, який уражає туберкульоз, є печінка, кожен хрест ураженості якої оцінюється в 7 у.о.у., 4 хрести — в 28 у.о.у. В останню чергу туберкульозна інфекція вражає легені. Кожен хрест ураженості легень оцінюється в 10 у.о.у., а 4 хрести — в 40 у.о.у. Таким чином, максимальне ураження свинки туберкульозом дорівнює 100 у.о.у. (8+24+28+40=100) [5, 6].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою спеціалізованої статистичної програми "Statistica v.6". Цей підхід не потребує попередніх визначень характеру зв'язку між концентрацією досліджувальних речовин та їх фізіологічною дією. Крім того, він враховує вплив кожного з 5 паралельних дослідів на загальну картину і тому є найбільш об'єктивним [1].

Результати дослідження та їх обговорення. Вибраний спеціальний план експерименту (так званий факторний експеримент 3^2), що означає два фактори на трьох рівнях. Кожний рівень — це фіксована доза кожного з препаратів. Таким чином, три рівні означають, що кожен препарат вивчається в трьох різних дозах. Для ізоніазиду — це дози 10, 32 та 100 мг/кг, а для вітаміну B_6 — це 0 (відсутність), 5 та 50 мг/кг. Лікувальна дія зазначених препаратів виражається в умовних одиницях (у.о. за Драбкіною) при морфологічному дослідженні тканини легень (де 0 у.о. — це оцінка, що характеризує повністю

© Гайова Л. В., Суслов Є. І., Бобкова Л. С., Клименко М. Т., 2005

Таблиця

Результати лікування експериментального туберкульозу морських свинок ізоніазидом та вітаміном B_6. Легені

групи	Дози засобів, мг/кг		Індекси ураженості легень кожної свинки (1—5), у.о.у.					Середній індекс ураження у.о.у.
	Ізоніазид	Вітамін B_6	1	2	3	4	5	
1	10	0	20	10	10	10	20	14
2	32	0	10	10	20	10	10	12
3	100	0	20	10	10	10	10	12
4	10	5	0	10	10	20	10	10
5	10	50	10	10	0	0	10	6
6	32	5	0	10	0	0	10	4
7	32	50	10	0	10	0	0	4
8	100	5	10	10	0	0	0	4
9	100	50	0	10	10	0	0	4
Контроль	0	0	40	40	40	40	40	40

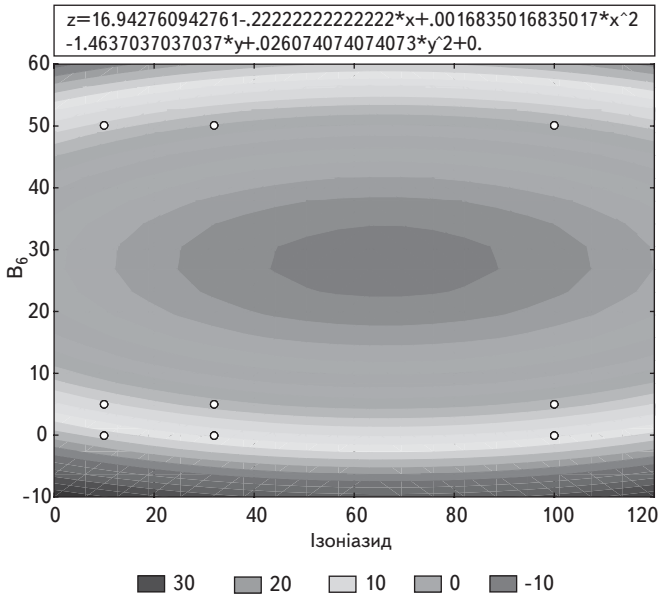

Рис. Контурний графік — відгук лікувального ефекту ізоніазиду та вітаміну B_6 на дію їх доз.

здорові тканини та 40 у.о. — максимально уражені) [10, 11]. План експерименту (табл. 1) побудований таким чином, що за 9 вимірювань перебираються всі можливі комбінації між ними. Отже, проведений експеримент дає змогу визначити коефіцієнти квадратичної моделі, яка має наступний загальний вигляд:

$$Z = a0 + a1*x + a2*y + a3*x*y + a4*x^2 + a5*y^2 + a6*x^2*y + a7*x*y^2 + a8*x^2*y^2$$

де:

Z — це кінцевий результат (лікувальна дія в умовних одиницях за Драбкіною),

де a0, a1, a2, a3, a4, a5, a6, a7, a8, — коєфіцієнти рівняння,

x, y — дози препаратів ізоніазиду та B_6 відповідно (мг/кг).

Було виконано п'ятикратне повторення кожного з 9 вимірювань на додаткових тваринах (табл.). Це дало змогу розрахувати, крім функціональних, ще й статистичні показники.

В кінцевому результаті отримана математична модель має наступний вид:

$$Z = 16.943 - 0.222*x - 1.464*y + 0.002*x^2 + 0.026*y^2, \text{ (у.о.у.)},$$

де Z — ураження легень, x — доза ізоніазиду, y — доза вітаміну B_6.

Більш детально ці результати можна побачити на контурному графіку (рис.).

По-перше, на цьому графіку чітко виражене оптимальне співвідношення доз препаратів, при якому ураження легень є мінімальним — це при дозах ізоніазиду 64 мг/кг і вітаміну B_6 — 28 мг/кг. По-друге, також видно, що на противагу дії доз вітаміну B_6 на величину Z, зміна дози ізоніазиду в більшу та меншу сторони від оптимального значення лише незначно впливає на зменшення ураженості легень. Таким чином, можна зробити висновок, що процес лікування легень залежить від співвідношення доз ізоніазиду та вітаміну B_6, в якому зміна дози вітаміну B_6 від оптимального значення є дуже обмеженою, а коливання доз ізоніазиду може мати місце в більш широких межах.

Наприкінці треба відмітити, що отримана математична модель носить лише попередній характер (в межах експериментальних доз) і отримані результати є підставою для подальшого і більш детальнішого вивчення лікувальної дії співвідношень зазначених препаратів. Але ясно, що сумісна дія ізоніазиду та вітаміну B_6 призводить до неочевидних та непередбачених наслідків і це треба враховувати при лікуванні людей.

Висновки

1. Відсутність специфічного ураження легень (0 у.о.у.) спостерігається при лікуванні експериментального туберкульозу морських свинок всіма досліджуваними дозами ізоніазиду лише за умови застосовування його сумісно з вітаміном B_6.

2. В результаті проведених досліджень була визначена математична модель дії ізоніазиду та вітаміну B_6 на лікування експериментального туберкульозу легень.

3. Показано, що зміна дози вітаміну B_6 від оптимального значення є дуже обмеженою, а коливання доз ізоніазиду може мати місце в більш широких межах.

4. Визначено оптимальне співвідношення препаратів для лікування легень, в якому доза вітаміну B_6 приймає значення 28 мг/кг.

5. Показано, что відхилення доз від оптимального співвідношення може різко змінити лікувальний ефект.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Боровиков В. П., Боровиков И. П.* Statistica. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. — Москва: Информ.-издат. дом "Филинъ", 1997. — 608 с.
2. *Гайова Л. В., Барбова А. І., Трофімова П. С., Бобкова Л. С., Чубенко А. В.* Визначення оптимального співвідношення дози ізоніазиду та вітаміну B_6 для лікування експериментального туберкульозу у морських свинок // Укр. хіміотерапевт. журн. — 2005. — № 1—2 (20). — С. 1—4.
3. *Волошина В. В.* Ефективність лікування хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень та анемію. — Автореф. дис. канд. мед. наук. — Київ, 2003. — 20 с.
4. *Григоровський В. В.* Особливості клініко-морфологічної диференційної діагностики туберкульозу і інших гранулематозних запальних уражень опорно-рухової системи // Ортопедія, травматологія і протезування. — 2002. — № 2. — С. 95—102.
5. *Драбкина Р. О.* Пара-Аминосалициловая кислота в химиотерапии туберкульоза // Врач. дело. — 1955. — № 10. — С. 938—843.

6. *Драбкіна Р.* Микробиология туберкульоза. — Москва: Гос. изд. мед.лит., 1963. — 255 с.
7. *Інструкція* про клінічну класифікацію туберкульозу та її застосування // Наказ МОЗ України № 499 від 20.10.2003 р. — 36 с.
8. *Кобелева Г. В., Копылова И. Ф., Григорьева Е. А.* Состав и морфологическая характеристика летальных исходов от туберкульоза // Пробл. туб. — 2002. — № 5. — С. 52—55.
9. *Кузовська С. Д.* Гістологічні зміни легень людини при розвитку мікотичної інвазії на фоні туберкульозного запального процесу // Автореф. дис. канд. мед. наук. — Київ, 2002. — 19 с.
10. *Лисенков А. Н.* Математические методы планирования многофакторных медико-биологических экспериментов. — Москва: Медицина, 1979. — 344 с.
11. *Максимов В. Н.* Многофакторный эксперимент в биологии. — Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 280 с.
12. *Мішин В. Ю., Чуканов В. І., Вилегжанін С. В.* Ефективність стандартного режиму хіміотерапії при лікуванні вперше виявлених хворих на деструктивний туберкульоз легень з бактеріовиділенням // Пробл. туб. — 2001. — № 7. — С. 13—18.
13. *Oursler K. K., Moor R. D., Bishai W.* Survival of patients with pulmonary tuberculosis: clinical and molecular epidemiologic factors // Clin. Infect. Dis. — 2002. — Vol. 34, № 6. — P. 752—759.

ВИВЧЕННЯ СУМІСНОЇ ДІЇ ІЗОНІАЗИДУ ТА ВІТАМІНУ B_6 НА ПРОЦЕС ЛІКУВАННЯ ЛЕГЕНЬ МОРСЬКИХ СВИНОК ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ

Л. В. Гайова, Є. І. Суслов, Л. С. Бобкова, М. Т. Клименко

Резюме

За допомогою спеціально спланованого факторного експерименту — лікування експериментального туберкульозу морських свинок різними дозами ізоніазиду та вітаміну B_6, визначена математична модель, яка описує цей процес. Ступінь захворюваності туберкульозом оцінювали за індексом ураженності внутрішніх органів в умовних одиницях. В якості факторів, які впливають на індекс ураженності легень, використовували ізоніазид — перший фактор та вітамін B_6 — другий фактор. Кожний фактор вивчався на трьох рівнях, тобто при трьох фіксованих дозах для кожного з них. В результаті проведених досліджень була визначена математична модель дії ізоніазиду та вітаміну B_6 на лікування експериментального туберкульозу легень. Визначено оптимальне співвідношення препаратів для лікування туберкульозу легень. Показано, що відхилення від оптимального співвідношення може різко змінити лікувальний ефект. Відсутність специфічного ураження легень (0 у.о.у.) спостерігається при лікуванні експериментального туберкульозу морських свинок усіма досліджуваними дозами ізоніазиду лише за умови застосовування його сумісно з вітаміном B_6.

A STUDY OF ISONIAZID AND VITAMIN B_6 COMBINED EFFECT IN TREATMENT OF GUINEA-PIGS WITH EXPERIMENTAL LUND TUBERCULOSIS

L. V. Gayova, Ye. I. Suslov, L. S. Bobkova, M. T. Klymenko

Summary

Using specially developed factorial experiment (experimental tuberculosis in guinea-pigs, treated with different doses of isoniazid and vitamin B_6) we determined the mathematical model, which described this process. The grade of tuberculosis was estimated using an affect index of the internal organs (lungs) in conventional units. Isoniazid and vitamin B_6 were used as factors, which had an influence on the affect index; isoniazid was the first factor and vitamin B_6 — the second. Each factor was studied at three levels, i.e. in three fixed dozes for each of them. As a result of conducted study a mathematical model of isoniazid' and vitamin' B_6 influence on experimental pulmonary tuberculosis treatment was determined. I An optimum ratio of preparations for treatment of pulmonary tuberculosis was calculated. It was demonstrated, that the shift from optimum ratio could affect effectiveness of therapy. Specific lung lesions were not found in guinea pigs after administration of isoniazid in all dose regimens only under the condition of simultaneous application of vitamin B_6.