

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ИЗОНИАЗИДА И ВОЗМОЖНЫЕ СПОСОБЫ ЕЕ КОРРЕКЦИИ

Саджая Л.А., Абисалова И.Л., Сергеева Е.О., Скульте И.В.

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: maklea@yandex.ru

Изониазид-индуцированные поражения печени являются основной причиной отмены изониазида при противотуберкулезной химиотерапии. В результате развивается лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза, что значительно ухудшает исход лечения данного заболевания. Биотрансформация изониазида приводит к токсическому поражению печени, которое сопровождается нарушением белкового, углеводного, липидного, пигментного обмена; изменению активности печеночных ферментов, гепатозу. Гепатотоксичность изониазида зависит от скорости печеночного метаболизма и часто обусловлена генетическим дефектом ферментов: N-ацетилтрансферазы 2, цитохрома P450 2E1, глутатион S-трансферазы. Учитывая, что генетически детерминированные механизмы неустраняемы, возможным способом снижения токсичности изониазида можно считать уменьшение скорости всасывания, позволяющее влиять на скорость метаболизма, а следовательно, на его токсичность. Целью исследования явилось установление характера и выраженности токсических свойств таблеток изониазида, гранул изониазида с β -декстрином (СВ-изониазид) и гранул изониазида с пектином по биохимическим показателям, характеризующим функциональное состояние печени. Проведенные исследования показали, что введение гранул изониазида с пектином и гранул СВ-изониазида более чем в два раза снижает нарушение детоксицирующей функции печени, а также вызывает меньшую жировую дистрофию печени по сравнению с таблетками изониазида. Гранулы изониазида, особенно с пектином, в меньшей степени, чем таблетки, воздействуют на содержание гликогена в печени, что связано с меньшим нарушением гликогенсинтезирующей функции.

Ключевые слова: изониазид, пектин, гранулы, гепатотоксичность, детоксикация, противотуберкулезные средства.

PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF ISONIAZIDE HEPATOTOXICITY AND POSSIBLE METHODS FOR ITS CORRECTION

Sadzhaya L.A.¹, Abisalova I.L.¹, Sergeeva E.O.¹, Skulte I.V.¹

¹Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute – a branch of the Federal State Educational Institution of Higher Education «The Volgograd State Medical University of Public Health Ministry of the Russian Federation», Pyatigorsk, e-mail: maklea@yandex.ru

Isoniazid-induced liver injury is the main reason for discontinuation of isoniazid during anti-tuberculosis chemotherapy. As a result, drug resistance of Mycobacterium tuberculosis develops, which significantly worsens the outcome of treatment of this disease. Biotransformation of isoniazid leads to toxic damage to the liver, which is accompanied by a violation of protein, carbohydrate, lipid, pigment metabolism, changes in the activity of liver enzymes, hepatosis. The hepatotoxicity of isoniazid depends on the rate of hepatic metabolism and is often due to a genetic defect in the enzymes: N-acetyltransferase 2, cytochrome P450 2E1, glutathione S-transferase. Given that genetically determined mechanisms cannot be eliminated, a possible way to reduce the toxicity of isoniazid can be considered a decrease in the rate of absorption, which makes it possible to influence the metabolic rate, and, consequently, its toxicity. The aim of the study was to establish the nature and severity of the toxic properties of isoniazid tablets, isoniazid granules with β -dextrin (CB-isoniazid) and isoniazid granules with pectin according to biochemical parameters characterizing the functional state of the liver. Studies have shown that the introduction of isoniazid granules with pectin and CB-isoniazid granules more than doubles the violation of the detoxifying function of the liver, and also causes less fatty degeneration of the liver, compared with isoniazid tablets. The use of isoniazid granules, especially with pectin, to a lesser extent than tablets, affects the content of glycogen in the liver, which is associated with a lesser violation of the glycogen-synthesizing function.

Keywords: isoniazid, pectin, granules, hepatotoxicity, detoxification, anti-tuberculosis drugs.

Приоритетным направлением современной медицины является решение социально значимой проблемы здравоохранения – борьбы с заболеваемостью туберкулезом, поскольку во

многих странах мира, в том числе и в России, туберкулез приводит к инвалидности и смертности трудоспособного населения. Положительная динамика улучшения эпидемиологической ситуации по туберкулезу в России в последние годы связана с усилением проведения профилактических и лечебных мероприятий [1, 2]. К основным противотуберкулезным препаратам для лечения туберкулеза (в условиях сохраненной лекарственной чувствительности возбудителя) относятся изониазид и рифампицин [3, с. 347]. Причиной недостаточно высокой эффективности противотуберкулезной терапии является побочное действие используемых лекарственных препаратов, что проявляется в нежелательных побочных реакциях [4, 5]. В первую очередь это связано с высокой гепатотоксичностью назначаемых противотуберкулезных препаратов. У 20–30% больных туберкулезом прием лекарственных препаратов этой группы вызывает патологические состояния печени [6, с. 42]. Так, применение изониазида приводит к нежелательным побочным проявлениям в виде аллергических, диспепсических, нейротоксических и гепатотоксических реакций. Биотрансформация ксенобиотика изониазида приводит к токсическому поражению печени, которое сопровождается нарушением белкового, углеводного, липидного, пигментного обменов в печени, изменением активности печеночных ферментов; гепатозу [7]. Гепатотоксичные реакции на прием изониазида связаны как с генетическими факторами, так и с сопутствующими патологиями печени.

В настоящее время с целью устранения побочных реакций и снижения гепатотоксичности противотуберкулезных препаратов назначают лекарственные препараты из группы гепатопротекторов, такие как Гептрал, Гепатосан, Карсил и др. Широкий спектр терапевтической активности пектинов позволяет использовать их в качестве возможных гепатопротекторов. Это обусловлено физико-химическими свойствами пектинов и их способностью участвовать в реакциях этерификации, ацетилирования, комплексообразования, позволяя при этом не оказывать влияния на фармакологическую активность препарата [8].

Цель исследования: установление характера и выраженности токсических свойств таблеток изониазида, гранул СВ-изониазида и гранул изониазида с пектином по биохимическим показателям функционального состояния печени.

Методы и материалы исследования

Опыты проводились на беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г в первую половину дня после 16-часового голодания. Животные содержались в стационарных условиях вивария, получая стандартный корм и воду без ограничения. Перед опытом животные подвергались двухнедельному карантину, в течение которого проводили осмотр их внешнего вида, поведения, потребления воды и пищи, периодически контролировали массу тела. Эксперимент выполнялся с учетом «Национального стандарта РФ ГОСТ Р 53434-2009

«Принципы надлежащей лабораторной практики» и приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Для исследования изготавливались гранулы субстанции изониазида с β -декстрином в соотношении 1:9 и гранулы изониазида с пектином в соотношении 1:6. В качестве препарата сравнения использовали таблетки изониазида 300 мг, АО «Фармсинтез», Россия, серия 20218.

Биохимические показатели определялись в сыворотке крови и ткани печени крыс после декапитации животных. Эвтаназия осуществлялась под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг), без причинения страданий, в помещении, где не содержатся другие животные, согласно правилам «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [9, с. 11].

Изучение детоксицирующей функции печени при введении таблеток изониазида и гранул изониазида проводилось с помощью бромсульфалеиновой пробы по методу Голла в модификации Г.В. Недошивиной [10, с. 48]. Ампулированный 5%-ный раствор бромсульфалеина вводили в хвостовую вену крыс из расчета 10 мг/кг массы тела после двухнедельного перорального введения металлическим зондом водных суспензий таблеток изониазида, гранул СВ-изониазида и гранул изониазида с пектином в дозах 50 мг/кг и 200 мг/кг (в перерасчете на чистый изониазид). Для определения экспериментальных доз изониазида использовали среднесуточную максимальную дозу препаратов на основе изониазида (300 мг/кг массы тела) с учетом коэффициента пересчета 6,5 (для крыс), а также LD₅₀ изониазида, полученную авторами при изучении острой токсичности по методу Кербера (200 мкг/кг массы тела) [9, с. 11–17]. Через 15 минут после введения бромсульфалеина крыс декапитировали и в сыворотке крови определяли его содержание спектрофотометрическим методом при длине волны 532 нм против стандарта. В качестве контроля использовали группу интактных животных, в качестве группы сравнения – группу животных, получавших таблетки изониазида, 200 мг/кг массы тела. Также в сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАт), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацию общего холестерина. В гомогенате печени исследовали содержание гликогена и общих липидов [10, с. 395–424].

Обработку результатов проводили методом вариационной статистики: нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова, вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего значения (m), в качестве параметрического метода использовали критерий Стьюдента, в качестве непараметрического – U-критерий Манна–Уитни [9, с. 17–27]. Различие между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты бромсульфалеиновой пробы у животных, получавших изониазид и его лекарственные формы, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Изучение детоксицирующей функция печени при введении изониазида и его гранул с пектином и β -декстрином (СВ-изониазида)

Условие опыта	Количество животных	Содержание бромсульфалеина в сыворотке крови, мг%	
		$M \pm m$	p
1	2	3	4
Интактные животные (контроль)	10	0,15 ± 0,01	–
Животные, получавшие таблетки изониазида, 50 мг/кг	10	0,16 ± 0,012	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие таблетки изониазида, 200 мг/кг (группа сравнения)	10	1,12 ± 0,04	$p_1 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 50 мг/кг	10	0,15 ± 0,1	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 200 мг/кг	10	0,53 ± 0,03	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 50 мг/кг	10	0,16 ± 0,007	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 200 мг/кг	10	0,51 ± 0,035	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
n – количество животных в группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения.			

Как видно из приведенных данных, введение животным препаратов изониазида в дозе 50 мг/кг не отразилось на экскреторной функции печени. В отличие от этого введение препаратов изониазида в дозе 200 мг/кг значительно задерживало, по сравнению с контролем, содержание красителя в крови, что указывает на повреждение печени. Однако степень этой задержки оказалась более чем в два раза меньше ($p < 0,001$) у животных, получавших гранулы изониазида с пектином и СВ-изониазида. Это позволяет заключить, что применение изониазида в форме гранул с пектином и гранул СВ-изониазида значительно снижает его гепатотоксическое действие, причем в равной степени, по сравнению с опытами, где использовались таблетки изониазида. Основные биохимические показатели цитолиза и холестаза при токсическом воздействии таблеток изониазида в сравнении с гранулами с пектином и гранул СВ-изониазида приведены в таблицах 2, 3, 4.

Таблица 2

Изучение активности аланинаминотрансферазы в крови при введении изониазида и его гранул с пектином и СВ-изониазида

Условия опыта	Количество животных	Аланинаминотрансфераза, мккатал/л	
		$M \pm m$	p
Интактные животные (контроль)	10	$0,34 \pm 0,017$	–
Животные, получавшие таблетки изониазида, 50 мг/кг	10	$0,33 \pm 0,027$	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие таблетки изониазида, 200 мг/кг (группа сравнения)	10	$0,45 \pm 0,014$	$p_1 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 50 мг/кг	10	$0,33 \pm 0,028$	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 200 мг/кг	10	$0,40 \pm 0,03$	$p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 50 мг/кг	10	$0,29 \pm 0,017$	$p_1 < 0,05$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 200 мг/кг	10	$0,38 \pm 0,018$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
n – количество животных в группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения.			

Из приведенных в таблице 2 данных видно, что гранулы изониазида с пектином и СВ-изониазида, в отличие от таблеток изониазида, не вызывают цитолиз (не повреждают целостность клеток печени).

Таблица 3

Изучение активности щелочной фосфатазы крови при введении изониазида и его гранул с пектином и СВ-изониазида

Условия опыта	Количество животных	Активность щелочной фосфатазы, ммоль/л	
		$M \pm m$	p
Интактные животные (контроль)	10	$2,13 \pm 0,29$	–
Животные, получавшие таблетки изониазида, 50 мг/кг	10	$1,7 \pm 0,36$	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие таблетки изониазида, 200 мг/кг (группа сравнения)	10	$9,32 \pm 1,14$	$p_1 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 50 мг/кг	10	$2,79 \pm 0,30$	$p_1 < 0,05$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 200 мг/кг	10	$10,39 \pm 0,65$	$p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 50 мг/кг	10	$4,38 \pm 0,52$	$p_1 < 0,01$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 200 мг/кг	10	$10,4 \pm 0,85$	$P_1 < 0,001$ $P_2 > 0,05$
n – количество животных в группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения.			

Как видно из данных, приведенных в таблице 3, активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс при введении исследуемых лекарственных форм изониазида в дозе 50 мг/кг существенно не изменилась, что свидетельствует об отсутствии нарушения циркуляции желчи. Однако введение этих препаратов в высокой дозе (200 мг/кг) вызвало значительное увеличение активности щелочной фосфатазы, причем примерно в равной мере в опытах как с таблетками изониазида, так и с гранулами изониазида с пектином и СВ-изониазида. Различия между показателями этих опытов оказались статистически не значимыми. Следовательно, исследование активности щелочной фосфатазы крови животных, подвергавшихся воздействию изониазида в высокой дозе (200 мг/кг), не выявило в отношении холестаза защитного эффекта лекарственных форм препарата – гранул с пектином и гранул СВ-изониазида.

Наряду с активностью ферментов в качестве показателя функционального состояния печени определялся уровень холестерина в сыворотке крови (табл. 4).

Таблица 4

Изменение содержания общего холестерина в крови
при введении лекарственных форм изониазида

Условия опыта	Количество животных	Холестерин, ммоль/л	
		$M \pm m$	p
1	2	3	4
Интактные животные (контроль)	10	2,35 ± 0,13	–
Животные, получавшие таблетки изониазида в дозе 50 мг/кг	10	2,42 ± 0,18	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие таблетки изониазида в дозе 200 мг/кг (группа сравнения)	10	6,16 ± 0,18	$p_1 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином в дозе 50 мг/кг	10	2,12 ± 0,21	$p_1 > 0,05$
Животные получавшие гранулы изониазида с пектином в дозе 200 мг/кг	10	3,78 ± 0,1	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида в дозе 50 мг/кг	10	2,28 ± 0,19	$p_1 > 0,05$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида в дозе 200 мг/кг	10	3,79 ± 0,18	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
n – количество животных в группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения.			

Изониазид в форме гранул с пектином и гранул СВ-изониазида в меньшей степени нарушают метаболизм холестерина в печени, чем таблетки изониазида. В таблице 5 представлены результаты влияния таблеток изониазида, гранул изониазида с пектином и гранул СВ-изониазида на содержание гликогена и общих липидов в ткани печени (табл. 5).

Таблица 5

Изменение содержания гликогена и общих липидов в ткани печени при введении таблеток изониазида, гранул изониазида с пектином и гранул СВ-изониазида

Условия опыта	Количество животных	Содержание гликогена, мг%	Содержание общих липидов, мг%
		$M \pm m, p$	$M \pm m, p$
Интактные животные (контроль)	10	$2081,0 \pm 222,0$	$1,64 \pm 0,31$
Животные, получавшие таблетки изониазида, 200 мг/кг (группа сравнения)	10	$787,8 \pm 86,6$ $p_1 < 0,001$	$137,7 \pm 6,8$ $p_1 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы изониазида с пектином, 200 мг/кг	10	$1767,6 \pm 177,0$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$12,3 \pm 0,31$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Животные, получавшие гранулы СВ-изониазида, 200 мг/кг	10	$927,0 \pm 102,0$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$	$35,0 \pm 1,4$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
n – количество животных в группе; p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным; p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения			

Как видно из представленных в таблице 5 данных, введение таблеток изониазида экспериментальным животным вызвало значительное падение в ткани печени гликогена (на 62,2%, $p_1 < 0,001$) по сравнению с интактной группой. В группах животных, получавших гранулы изониазида с пектином, уменьшение содержания гликогена оказалось незначительным и статистически недостоверным (на 15%, $p_1 > 0,05$) по сравнению с интактной группой и на 56% ($p_2 < 0,001$) выше по сравнению с группой сравнения. В группах животных, получавших гранулы СВ-изониазида, уменьшение содержания гликогена по сравнению с группой сравнения было недостоверным ($p_2 > 0,05$).

Содержание общих липидов в гомогенате печени животных, получавших таблетки изониазида в дозе 200 мг/кг, увеличивалось в 80 раз; в группе, получавшей гранулы изониазида с пектином в дозе 200 мг/кг, – в 7,5 раза; в группе, получавшей гранулы СВ-изониазида в дозе 200 мг/кг, – в 21 раз.

Применение гранул изониазида, особенно с пектином, в меньшей степени, чем таблеток, воздействует на содержание гликогена в гепатоцитах, что указывает на сохранение гликогенсинтезирующей функции печени. В группе, получавшей изониазид в таблетках, зафиксировано резкое увеличение содержания общих липидов в печени, что указывает на развитие жировой дистрофии. В группах животных, принимавших гранулы изониазида,

особенно с пектином, отмечалось многократное снижение накопления липидов в гепатоцитах, что указывает на снижение гепатотоксичности изониазида в исследуемых композициях.

Выводы

1. Гранулы изониазида с пектином и гранулы СВ-изониазида более чем в два раза снижают нарушение детоксицирующей функции печени, чем таблетки изониазида.

2. Гранулы СВ-изониазида, особенно с пектином, вызывают меньшую жировую дистрофию печени, чем таблетки изониазида.

Список литературы

1. Фентисов В.В. Сравнительное исследование показателей заболеваемости туберкулезом взрослого населения по возрастному и половому признаку // Современные проблемы науки и образования. 2022. №3. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31775> (дата обращения: 09.05.2023).
2. Исентаев А.А., Бакиева А.Р. Гепатотоксическое действие противотуберкулезных препаратов // Бюллетень медицинских-интернет конференций. 2022. Т. 12. № 4. С. 100–102.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. 1216 с.
4. Иванова Д.А., Борисов С.Е. Спектр и факторы риска нежелательных побочных реакций при лечении больных туберкулезом // Туберкулез и болезни легких. 2017. Т. 95. № 6. С. 22–29.
5. Краснова Н.М., Николаев В.М., Ефремова Е.Н., Егорова А.А., Татарина Т.Е., Максимова Н.Е., Прокопьев Е.С., Кравченко А.Ф., Татарина О.В., Венгеровский А.И. Сычев Д.А. Зависимость гепатотоксического действия и фармакокинетики изониазида от скорости его ацетилирования у больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких // Терапия. 2022. №4. С.42–48.
6. Казаков А.В. Оптимизация гепатопротективной терапии у больных туберкулезом органов дыхания с учетом оценки генетического полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с помощью биологических чипов: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Москва, 2021. 45с.
7. Wang P., Pradhang K., Zhong K., Ma X. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity// Acta Pharmaceutica Sinica B. 2016. № 6. P. 384–392.
8. Донченко Л.В., Красноселова Е.А., Огнева О.А. Пектинопрофилактика как один из основных факторов повышения качества жизни современного человека // Качество жизни. 2018. №4. С.32–37.
9. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.

10. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. М.: МЕДпресс-Информ, 2020. 736 с.