УДК 615.281.873.21.015.4:612.015.396].099

Доктор биол. наук А. А. ЧИРКИН, канд. мед. наук Р. В. РОМАНОВСКИЙ, Ю. А. СОЛОВЬЕВ

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИЗОНИАЗИДА, СТРЕПТОМИЦИНА И ПАСК И ЕГО УСТРАНЕНИЕ ТИАМИНОМ И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Витебский медицинский институт

У больных туберкулезом при длительном применении противотуберкулезных препаратов обнаруживаются нарушения обмена веществ, в частности углеводов [5, 6, 8, 11, 15, 16]. Рассматривая токсическое действие препаратов на обмен углеводов, прежде всего следует иметь в виду их влияние на аэробный распад углеводов как основной поставщик энергии и пентозофосфатный путь (ПФП) как основной поставщик восстановленного НАДФ и пентозофосфатов для процессов биосинтеза, т. е. регенерации. К ключевым ферментам, обеспечивающим эти процессы, следует отнести пируват- и α-кетоглутаратдегидрогеназы, дегидрогеназы ПФП и транскетолазу (ТК). Коферменты этих ферментов связаны с тиамином и никотиновой кислотой.

Противотуберкулезные препараты в свою очередь оказывают неблагоприятное действие на обмен тиамина и никотиновой кислоты. Обмен тиамина нарушается на ранних этапах химиотерапии, а обмен никотиновой кислоты — на более поздних. Изменения коферментных функций этих витаминов являются одной из причин нарушений обмена углеводов [1, 2, 7, 10, 12, 14].

В настоящем исследовании в эксперименте изучено токсическое действие изониазида, стрептомицина и ПАСК на обмен углеводов, а также предпринята попытка его уменьшить или устранить с помощью тиамина и никотиновой кислоты.

Опыты поставлены на белых крысах-самцах средней массой 200 г. Изониазид и стрептомицин вводили внутримышечно в дозах 10 мг/кг и 15 000 ЕД/кг соответственно, ПАСК — с пищей по 250 мг/кг, тиамин и никотиновую кислоту — внутримышечно в дозах 0,6 и 1,1 мг/кг соответственно. Тиамин применяли в первую половину опыта, никотиновую кислоту — во вторую, учитывая, что вначале обычно нарушается энергетический обмен, а затем — процессы восстановления (регенерации). Схема эксперимента представлена в табл. 1.

Токсическое действие указанных препаратов изучали путем исследования в эритроцитах экспериментальных животных интенсивности ПФП. Одновременно в гемолизатах эритроцитов исследовали активность фосфофруктокиназы (ФФК), фруктозо-1,6-дифосфатазы (Ф-1,6-ДФ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ДГ), рибозо-5-фосфатметаболизирующих ферментов (Р-5-ФМФ), ТК. Активность ТК определяли в гемолизатах (разведение 1 : 10) по накоплению седогептулозо-7-фосфата (С-7-Ф) в инкубационной среде [3, 13] по методике, описанной Б. Ф. Коровкиным [4]. Активность ТК гемоли-

Таблица 1

Схема эксперимента

Группа животных	Длительность опыта, дни	Сроки введения препаратов, дни		
		стрептомицин, изониазид, ПАСК	тиамин	никотиновая кислота
1-я	20	1—20	—	—
2-я	40	1—40	—	—
3-я	20	1—20	1—20	—
4-я	40	1—40	—	21—40
5-я	40	1—40	1—20	21—40
Контроль (интактные)	40	—	—	—

Примечание. В каждой группе было по 8 животных.

Таблица 2

Влияние тиамина и никотиновой кислоты на активность ферментов обмена углеводов в эритроцитах крыс, получавших изониазид, стрептомицин и ПАСК ($M \pm m$)

Группа крыс	Активность ферментов, ммоль/л				
	ФФК	Ф-1,6-ДФ	Г-6-ФДГ	Р-5-ФМФ	ТК
1-я	2,19±0,107	8,24±3,496	62,5±1,44	0,793±0,0310	0,314±0,0174
P	>0,5	>0,5	<0,001	<0,001	<0,001
2-я	2,65±0,168	3,98±0,922	74,4±2,72	0,951±0,0301	0,339±0,0234
P	>0,5	<0,01	<0,01	<0,05	<0,001
3-я	0,89±0,128	10,30±0,740	57,5±3,36	0,836±0,0141	0,243±0,0187
P	<0,001	<0,02	<0,001	<0,001	<0,001
4-я	1,64±0,091	9,38±1,712	68,2±3,21	0,824±0,0439	0,291±0,0131
P	<0,001	>0,5	<0,01	<0,001	<0,001
5-я	1,47±0,171	8,12±1,423	66,8±3,09	0,801±0,0349	0,289±0,0097
P	<0,001	>0,5	<0,001	<0,001	<0,001
Контроль (интактные)	2,54±0,158	7,96±0,453	84,7±1,67	1,060±0,0300	0,137±0,0089

Примечание. Здесь и в табл. 3 *P* — достоверность различия при сравнении с контролем.

затов выражали в миллимолях С-7-Ф на 1 мл за 1 мин при 37 °С.

Методы исследования интенсивности ПФП, активности ФФК, Ф-1,6-ДФ, Г-6-ФДГ и Р-5-ФМФ описаны нами ранее [9].

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту с определением *t* и *P*.

ФФК и Ф-1,6-ДФ являются ключевыми ферментами гликолиза и глюконеогенеза. Активность этих ферментов не изменялась при 20-дневном введении изониазида, стрептомицина и ПАСК (табл. 2). Дополнительное введение тиамина обеспечило, вероятно, переключение метаболизма в направлении глюконеогенеза, поскольку активность ФФК достоверно уменьшилась, а активность Ф-1,6-ДФ — повысилась.

В результате 40-дневного введения изониазида, стрептомицина и ПАСК активность Ф-1,6-ДФ снизилась более чем в 2 раза. Следовательно, можно предполагать, что имеется относительное преобладание гликолиза (отношение показателя активности Ф-1,6-ДФ к показателю активности ФФК равно 1,5). Ингибирование Ф-1,6-ДФ устранялось при введении никотиновой кислоты во второй половине опыта (21—40-й день).

Последовательное введение тиамина и никотиновой кислоты в течение 20 дней на фоне комплекса противотуберкулезных препаратов обеспечило сохранение активности Ф-1,6-ДФ в пределах контрольных величин. В то же время следует отметить, что тиамин и никотиновая кислота на фоне действия противотуберкулезных препаратов вызывали снижение активности ФФК.

Длительное введение изониазида, стрептомицина и ПАСК сопровождалось снижением активности Г-6-ФДГ и Р-5-ФМФ, а также повышением активности ТК. Применение тиамина и никотиновой кислоты раздельно и поэтапно не обеспечило нормализации активности изученных ферментов ПФП обмена углеводов.

Исследование активности ферментов в гемолизатах эритроцитов в оптимальных условиях протекания ферментативных реакций позволяет оценить главным образом потенциальные возможности этих ферментов. Поэтому целесообразно изучение функционирования полиферментных систем на уровне целостной клетки. Для этих целей удобным объектом являются эритроциты, потребляющие глюкозу из инкубационной среды и превращающие ее на протяжении по крайней мере 2 ч в пентозофосфаты.

Установлено, что 20-дневное применение противотуберкулезных препаратов повышает потребление глюкозы из среды и образование пентоз в клетках (табл. 3). К 40-му дню введения изониазида, стрептомицина и ПАСК интенсивность этих процессов нормализуется. Тиамин, вводимый на протяжении первых 20 дней опыта, обеспечил повышенную наработку пентоз. При этом доля превращения глюкозы через ПФП достоверно увеличилась.

Таблица 3

Влияние тиамина и никотиновой кислоты на интенсивность ПФП обмена углеводов в эритроцитах крыс, получавших изониазид, стрептомицин и ПАСК ($M \pm m$)

Группа животных	Показатели ПФП	
	Δ-глюкозы, ммоль/л	Δ-рибозы, ммоль/л
1-я	2,12±0,043	0,20±0,029
P	<0,02	0,1—0,05
2-я	1,92±0,092	0,13±0,018
P	>0,5	>0,5
3-я	2,01±0,077	0,21±0,014
P	>0,5	<0,01
4-я	2,21±0,082	0,16±0,016
P	<0,02	>0,5
5-я	1,75±0,110	0,08±0,011
P	>0,5	<0,001
Контроль (интактные)	1,94±0,043	0,14±0,005

В свою очередь никотиновая кислота повысила лишь скорость утилизации глюкозы эритроцитами и не оказала влияния на биосинтез пентоз. Последовательное применение обоих витаминов на фоне противотуберкулезных препаратов сохраняло потребление глюкозы эритроцитами на уровне контроля и существенно снижало интенсивность образования пентоз в эритроцитах.

Анализируя полученные результаты, следует учитывать, что в эритроцитах редуцирован цикл трикарбоновых кислот и превращения глюкозы могут реализоваться в основном гликолитическим путем, а также через реакции ПФП. Создается впечатление, что длительное введение комплекса противотуберкулезных препаратов ингибирует протекание реакций глюконеогенеза и окислительной ветви реакций ПФП. Судя по активности ТК, можно предположить активацию реакций неокислительной ветви ПФП. При действии тиамина описанные сдвиги сохраняются, но, вероятно, происходит переключение метаболизма в сторону активации неокислительных реакций ПФП. Это предположение подтверждается рядом фактов. Во-первых, в системе фруктозо-6-фосфат ⇄ фруктозо-1,6-дифосфат снижена активность ФФК и повышена активность Ф-1,6-ДФ, т. е. создаются условия для образования фруктозо-6-фосфата. Во-вторых, активность Г-6-ФДГ снижена, но повышена активность ТК. В-третьих, достоверно повышены синтез пентоз из глюкозы и процент превращения глюкозы по ПФП. Для действия никотиновой кислоты характерно восстановление активности Ф-1,6-ДФ в условиях более интенсивного потребления глюкозы эритроцитами.

Таким образом, с помощью тиамина и никотиновой кислоты можно активно влиять на обмен углеводов в эритроцитах в условиях длительного введения комплекса противотуберкулезных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Архипова О. П.* — Вопр. мед. химии, 1973, № 4, с. 354—358.
2. *Гельберг И. С., Зубрицкая Р. М.* — В кн.: Клиника и профилактика туберкулеза. Минск, 1973, с. 117—120.
3. *Головацкий И. Д.* — Укр. біохім. журн., 1965, с. 927—934.
4. *Коровкин Б. Ф.* Ферменты в диагностике инфаркта миокарда. Л., 1965.
5. *Кручакова Ф. А., Изаболинская Р. М., Полнер Р. А.* — Вопр. мед. химии, 1971, № 4, с. 356—360.
6. *Морозова А. К.* — Труды Курск. мед. ин-та, 1957, в. 12, с. 271—273.
7. *Островский Ю. М.* — Вопр. мед. химии, 1957, № 2, с. 109—114.
8. *Радкевич Р. А.* — Труды Центрального ин-та туберкулеза, 1964, т. 13, с. 317—324.
9. *Романовский Р. В., Чиркин А. А.* — Пробл. туб., 1983, № 10, с. 53—56.
10. *Струмило С. А.* — В кн.: Межвитаминные взаимоотношения. Гродно, 1975, с. 159—161.
11. Пентозный цикл и ионизирующая радиация / *Шонка И., Горелик Ю. Я., Русанов А. М.* и др. Л., 1968.
12. *Benevenga N. J., Freedland R. A.* — Fed. Proc., 1964, vol. 24, p. 690.
13. *Bruns F. H., Dünwald E., Noltmann E.* — Biochem. Z., 1958, Bd 330, S. 497—508.
14. *Colojacomo A., Acquarone M. E., Fiorentini S.* — Boll. Soc. ital. biol. Sper., 1963, vol. 39, p. 411.
15. *D'Arcangelo P.* — Atti Acad. naz. Lincei. Rend Cl. sci. fis. mut. e natur., 1958, vol. 25, p. 214—218.
16. *Narany R. K., Mital O. P., Join S. K.* — Indian J. Tuberc., 1970, vol. 17, p. 76—81.

Поступила 04.11.85

A. A. Chirkin, R. V. Romanovsky, Yu. A. Solovyev — IMPAIRMENT OF CARBOHYDRATE METABOLISM DUE TO THE ACTION OF ISONIAZID, STREPTOMYCIN AND PAS ITS ELIMINATION WITH THIAMINE AND NICOTINIC ACID

Experiments on albino rats showed that administration of certain antituberculous drugs for 40 days resulted in decreasing activity of fructoso-1,6-diphosphatase, glucoso-6-phosphate dehydrogenase and riboso-5-phosphate metabolizing enzymes and increasing activity of trans-

ketolase in erythrocyte hemolysates. Moreover, intact erythrocytes more intensively consumed glucose from the incubation medium and production of pentoses in the cells increased. Simultaneous administration of thiamine and nicotinic acid partially eliminated the action of the antituberculous drugs on carbohydrate metabolism in erythrocytes.

УДК 615.281.873.21.065.21.065:616.36].076.9

Г. Б. СОКОЛОВА, А. В. ЗИЯ, В. И. БРАУДЕ, А. Я. ИВЛЕВА, В. П. НИКОЛАЕВ, А. М. БЕЛЬКИНД

ВЛИЯНИЕ МОНОАЦЕТИЛГИДРАЗИНА НА ПЕЧЕНЬ КРЫС

Московский НИИ туберкулеза Минздрава РСФСР

В последние годы участились сообщения о способности изониазида вызывать различные по тяжести повреждения печени [3, 4, 11, 16].

Биотрансформация изониазида у людей происходит в печени путем ацетилирования с участием N-ацетилтрансферазы. Активность последней варьирует у различных индивидуумов. В зависимости от генетической предопределенности различают два основных фенотипа: быстрые и медленные ацетиляторы. В результате ацетилирования и последующего гидролиза в печени образуется ряд метаболитов и среди них моноацетилгидразин (МАГ), который может оказывать токсическое действие на печень. Вступая в необратимое ковалентное связывание с макромолекулами гепатоцитов, МАГ нарушает окислительно-восстановительные процессы в клетках печени, что приводит к их стеатозу и некрозу [9, 12—15]. J. R. Mitchell и соавт. [13] выявили прямую корреляцию между ковалентным связыванием реактивного метаболита изониазида и выраженностью некроза клеток печени. Было показано [5, 7, 9], что существует корреляционная зависимость частоты возникновения гепатита от интенсивности ацетилирования изониазида. При этом среди всех поражений печени, обусловленных изониазидом, 80—90 % занимают гепатиты, развившиеся у быстрых ацетиляторов. Однако G. A. Ellard и соавт. [10], W. W. Weber [17] отстаивают положение об отсутствии влияния скорости ацетилирования на частоту возникновения изониазидовых гепатитов. По их данным, гепатотоксичный метаболит изониазида в результате повторного ацетилирования может превращаться в менее гепатотоксичный диацетилгидразин, к тому же длительность пребывания МАГ в плазме у быстрых ацетиляторов не больше, чем у медленных.

В противоположность высказанному мнению J. R. Mitchell и соавт. [12], основываясь на экспериментальных исследованиях, показали, что параллелизма между уровнем МАГ в плазме и тяжестью повреждения печени может не быть по той причине, что высокореактивные метаболиты, ковалентно связываясь с макромолекулами печени, могут либо не определяться в плазме, либо находиться в ней в небольшом количестве.

Мы изучали в эксперименте влияние МАГ на печень. В качестве экспериментальных животных использовали крыс, поскольку метаболизм изониазида у них осуществляется в основном путем ацетилирования и имеет общие закономерности с его метаболизмом у человека [6].

Гепатотоксичность МАГ как метаболита изониазида изучали на 556 беспородных крысах обоего пола и различного возраста: молодых неполовозрелых (50-дневных) самках — 1-я группа, молодых половозрелых (90-дневных) самках — 2-я группа, взрослых половозрелых (210—240-дневных) самках и самцах — 3-я группа, старых (395—485-дневных) самках — 4-я группа. Для контроля взяли 3 группы животных: крысам 1-й контрольной группы вводили изониазид внутрибрюшинно в дозе 210 мг/кг, что в пересчете на МАГ соответствует 84 мг/кг препарата, 2-й — физиологический раствор, 3-я группа представляла биологический контроль. Все животные во время опыта находились на определенной диете: белый хлеб, овес и вода. МАГ применяли внутрибрюшинно в дозах 30, 45, 60 и 90 мг на 1 кг массы тела в сутки. Суточную дозу вводили однократно и дробно в 3—4 приема. Препарат применяли ежедневно в течение 7—11 дней. МАГ растворяли в дистиллированной воде и инъецировали внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл