

УДК: [615+577.21]:616-002.5:615.28

**Антоненко П.Б.**

## **ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФАРМАКОКІНЕТИКОЮ РИФАМПІЦИНУ І СТАНОМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ**

*Метою даної роботи було з'ясування можливого зв'язку між вмістом рифампіцину і маркерами стану про- та антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз. Вміст рифампіцину, рівень дієнових кон'югатів (ДК) і активність каталази вимірювали у венозній крові через 2, 4, 6 і 24 год. після прийому стандартної дози препарату. Зразки крові були отримані у 84 хворих на легеневий туберкульоз, що вперше діагностовано, в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері в 2012 р. Зменшення концентрації рифампіцину у хворих на туберкульоз асоціювалась зі зменшенням рівня дієнових кон'югатів і збільшенням активності каталази. Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз через 6 год. після прийому препарату прямо корелювала з рівнем дієнових кон'югатів і обернено корелювала з активністю каталази. Період напіввиведення рифампіцину (4-6 год.) і АУС прямо корелювали з вмістом дієнових кон'югатів і обернено – з активністю каталази і антиоксидантним індексом.*

Ключові слова: рифампіцин, туберкульоз, перекисне окиснення ліпідів.

*Робота є частиною НДР «Розробка критеріїв ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз і гепатити різної етіології на підставі фармакогенетичних досліджень» № держреєстрації 0113U001634.*

### **Вступ**

Туберкульозна інфекція, зазвичай, супроводжується зсувами в балансі про- та антиоксидантних систем в організмі хворих. Зокрема, збільшується вміст продуктів перекисного окислення ліпідів або ПОЛ (дієнових кон'югатів, малонового альдегіду) і зменшується активність антиоксидантної системи (ферментів супероксиддисмутази, каталази) відносно здорових людей [1,7]. В результаті успішного лікування туберкульозу відбувається нормалізація вказаних порушень – зменшення вмісту продуктів ПОЛ і зростання активності антиоксидантної системи [3]. Серед причин розвитку зсувів про- та антиоксидантної систем може бути безпосередньо туберкульозна інфекція, що супроводжується загальною інтоксикацією організму, і протитуберкульозні препарати, які зазвичай спричиняють певні побічні ефекти на організм людини.

### **Мета роботи**

З'ясування можливого зв'язку між фармакокінетикою найбільш ефективного протитуберкульозного антибіотика – рифампіцину і вмістом маркерів стану про- та антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз.

### **Матеріали та методи**

Зразки крові були отримані від 84 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано, в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері в 2012р., з яких 39 (46,4%) становили жінки, решта - 45 (53,6%) – складала чоловіки. Вік хворих становив від 18 до 73 років (середній вік – 35,9 років). Всі хворі на туберкульоз отримували рифампіцин внутрішньо з розрахунку 8-12 мг/кг ваги (загалом 450-600 мг) на добу згідно наказу МОЗ України № 384 від 9.06.2006

[4]. Забір венозної крові проводили у хворих на туберкульоз через 2, 4, 6 і 24 години після прийому рифампіцину. Вміст рифампіцину визначали за В.Т. Чубаряном [5]. Метод базується на екстракції рифампіцину з крові за допомогою хлороформу і КОН і подальшому вимірюванні спектрофотометрі СФ-46 при 470 нм. Рівень дієнових кон'югатів (ДК) вимірювали в сироватці крові з використанням гептан-ізопропілового спирту і подальшому вимірюванні на СФ-46 при 233 нм [6]. Активність каталази вимірювали в сироватці з застосуванням перекису водню і молібдату амонію і наступним вимірюванням на СФ-46 при 410 нм [7]. Потім обраховували інтегральний показник – антиоксидантний індекс як відношення активності каталази до вмісту ДК. Обрахунок фармакокінетичних і статистичних даних проводили із залученням Microsoft Excel, програми «Primer Biostatistica».

### **Результати та їх обговорення**

Максимальна концентрація дієнових кон'югатів (ДК) – 1,663 спостерігалась через 2 год. після прийому рифампіцину (табл.1, рис.1). У подальшому вміст ДК поступово знижувався і досягнув свого мінімуму – 1,521 через 1 добу. Відносно активності каталази відзначалась зворотна закономірність – мінімальна активність через 2 год. після прийому препарату 0,151 - з поступовим зростанням і максимумом через 24 год. – 0,168. Аналогічно до каталази змінювався антиоксидантний індекс, який мав найнижчий показник через 2 год. – 0,092 з поступовим збільшенням вказаного показника на протязі доби з досягненням максимального рівня через 24 год. – 0,120. Таким чином, протягом доби відбувалось поступове зменшення рівня ДК і зростання активності каталази і антиоксидантного індексу

на тлі поступового зменшення концентрації рифампіцину, починаючи з 6 години (рис.1). Водночас вірогідна різниця між показниками про-/

антиоксидантної систем на різних часових відрізках була відсутня.

Табл. 1

Вміст рифампіцину та показники про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз на протязі доби

Час, год.	Концентрація рифампіцину, мкг/мл	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
2	12,07±1,49	1,663±0,120	0,151±0,024	0,092±0,018
4	16,16±1,40	1,655±0,105	0,162±0,034	0,095±0,020
6	11,38±1,38	1,526±0,095	0,166±0,025	0,111±0,018
24	7,42±1,29	1,521±0,104	0,168±0,032	0,120±0,023
Серед.	11,67±1,28	1,602±0,096	0,162±0,023	0,112±0,020

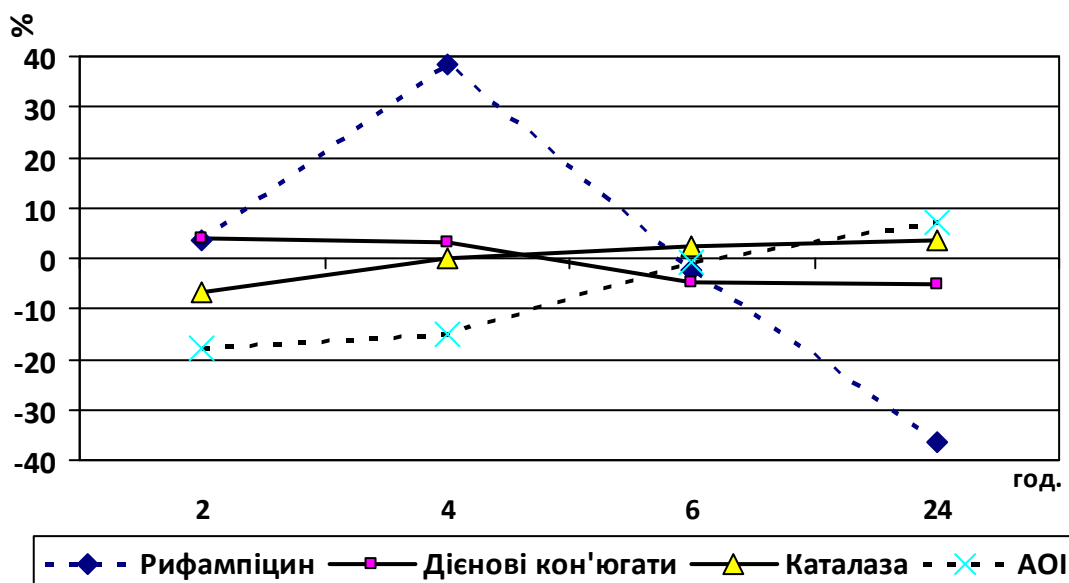


Рис. 1 Динаміка концентрації рифампіцину і показників про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз (відносно середньодобового рівня відповідного показника,%)

Зважаючи на зростання показників антиоксидантної системи (каталаза) і зменшення вмісту продуктів прооксидантної системи (ДК) на тлі зменшення вмісту рифампіцину в крові хворих на туберкульоз було доцільним дослідити наявність кореляції між показниками про-/антиоксидантної систем і концентрацією рифампіцину. Для цього було проаналізовано зв'язок між вказаними показниками в кожному окремому часовому відрізку – 2, 4, 6, 24 год (рис.2). Лише у часовому відрізку «6 год.» спостерігалась незначна, але вірогідна кореляція між концентрацією рифампіцину і ДК (розрахункове значення t-критерію 2,556 при критичному значенні t-критерію 1,988) з одного боку, і зворотна кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом (розрахункове значення t-критерію -1,991 і -2,685 при критичному значенні t-критерію 1,988). Таким чином, отримані результати засвідчили пряму кореляцію між концентрацією рифампіцином і вмістом ДК, а також зворотну кореляцію з активністю каталази і рівнем антиоксидантного індексу.

Також були обраховані такі інтегральні показники як період напіввиведення ( $T_{1/2}$ ) в часових інтервалах 4-6 год. (інтенсивна елімінація) і 6-24

год. (термінальна елімінація) за формулою:

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

де  $k_{el}$  – константа елімінація, яка обчислювали за допомогою тангенсу кута, утвореного прямою лінією кінетики рифампіцину і горизонтальною лінією, що є паралельною до осі абсцис. Показники AUC («площа під кривою») була обрахована за допомогою позамоделного методу трапецій.

Згідно отриманих даних,  $T_{1/2}$  (4-6 год.) рифампіцину становив  $6,76 \pm 2,03$  год.;  $T_{1/2}$  (6-24 год.) –  $36,23 \pm 13,51$  год.; AUC –  $245,63 \pm 51,64$  мкг/мл\*год. Середньодобовий рівень ДК і рівень через 24 год. після прийому рифампіцину позитивно корелював з AUC рифампіцину (розрахункове значення t-критерію становило 2,439 і 2,657 відповідно при критичному значенні t-критерію – 1,988) (табл. 2). Також вміст ДК корелював з  $T_{1/2}$  (4-6 год.) і  $T_{1/2}$  (6-24 год.). Причому якщо з першим показником корелювала концентрація ДК через 4 і 6 год. після введення рифампіцину (розрахункове значення t-критерію становило 2,426 і 4,191), то з другим показником – через 24 год. і середньодобовий показник (розрахункове значення t-критерію становило 3,281 і 2,424 відповідно).

Кореляція між показниками фармакінетики рифампіцину та про-/антиоксидантної систем

Показники про- та антиоксидантної системи		Розрахункове значення t-критерію		
		AUC рифампіцину	T <sub>1/2</sub> рифампіцину (4-6 год.)	T <sub>1/2</sub> рифампіцину (6-24 год.)
Дієнові кон'югати	2 год.	1,225	0,799	0,557
	4 год.	0,725	2,426*	1,128
	6 год.	1,666	4,191*	1,780
	24 год.	2,657*	-0,147	3,281*
	Серед.	2,439*	1,516	2,424*
Каталаза	2 год.	-1,835	-3,530*	1,081
	4 год.	-1,350	-1,689	0,284
	6 год.	-1,760	-0,217	2,591*
	24 год.	-2,104*	-1,991*	2,082*
	Серед.	-2,018*	-2,905*	2,662*
Антиоксидантний індекс	2 год.	-1,194	-4,650*	1,427
	4 год.	-0,078	-3,329*	0,278
	6 год.	-2,605*	-1,743	1,379
	24 год.	-3,210*	-2,508*	1,299
	Серед.	-2,764*	-2,652*	0,804

Примітка: \* - розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988

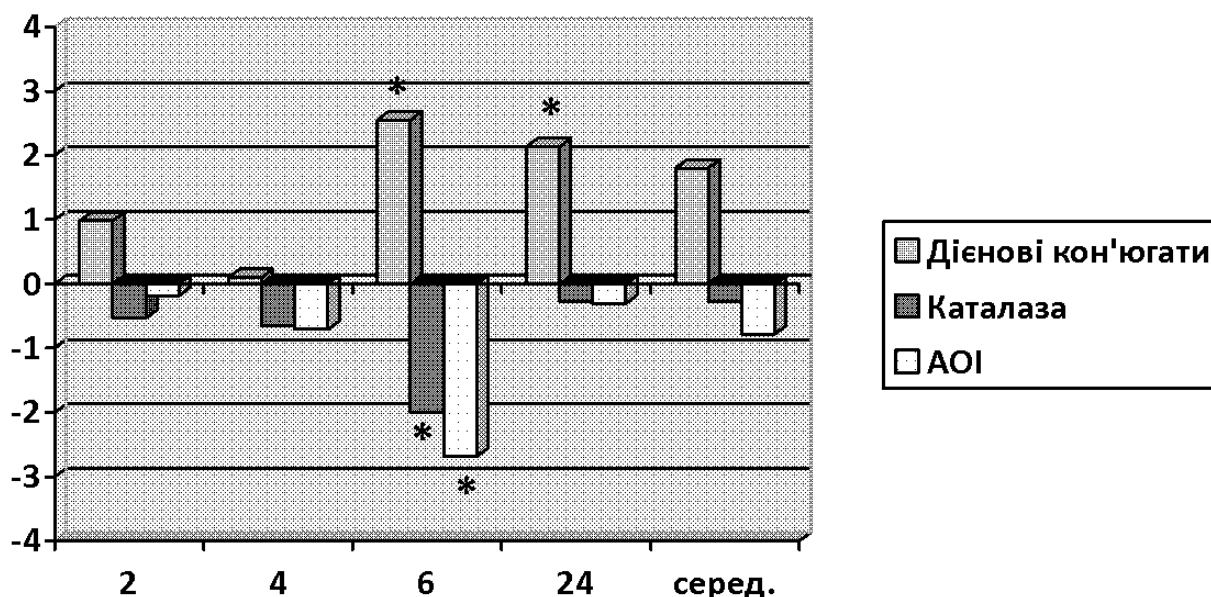


Рис. 2 Кореляція між концентрацією рифампіцину та відповідними часовими показниками про-/антиоксидантної систем (по осі абсцис – час після введення рифампіцину (серед. – середньодобовий показник), по осі ординат – розрахунковий t-критерій)

Примітка: \* - розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988

Активність каталази через 24 год. після введення рифампіцину, а також середньодобова активність каталази характеризувались оберненою кореляцією з AUC рифампіцину - розрахункове значення t-критерію становило -2,104 і -2,018 відповідно. Також активність каталази відзначалась оберненою кореляцією з T<sub>1/2</sub> (4-6 год.) рифампіцину. Так, розрахункове значення t-критерію через 2 і 24 год. після введення рифампіцину становило -3,530 і -1,991 відповідно; для середньодобової активності каталази -2,905. Водночас між активністю каталази і T<sub>1/2</sub> (6-24 год.) рифампіцину спостерігалась пряма кореляція, яка відзначалась через 6, 24 год. після застосування рифампіцину, а також у середньодобовому значенні - розрахункове значення t-критерію становило 2,591; 2,082 і 2,662 відповідно.

Після обчислення антиоксидантного індексу для кожного хворого на туберкульоз було встановлено наявність оберненої кореляції між цим індексом і рівнем AUC через 6, 24 год. після прийому рифампіцину і середньодобовим рівнем (розрахункове значення t-критерію становило -2,605; -3,210 і -2,764 відповідно). Період напіввиведення рифампіцину в часовому інтервалі 4-6 год. обернено корелював з антиоксидантним індексом майже на протязі доби після прийому препарату. Так, розрахункове значення t-критерію через 2 год. становило -4,650, через 4 год. -3,329, через 24 год. -2,508, в середньому на протязі доби -2,652 (рис. 3). Вірогідної кореляції між T<sub>1/2</sub> (6-24 год.) рифампіцину і антиоксидантним індексом не відзначалось.

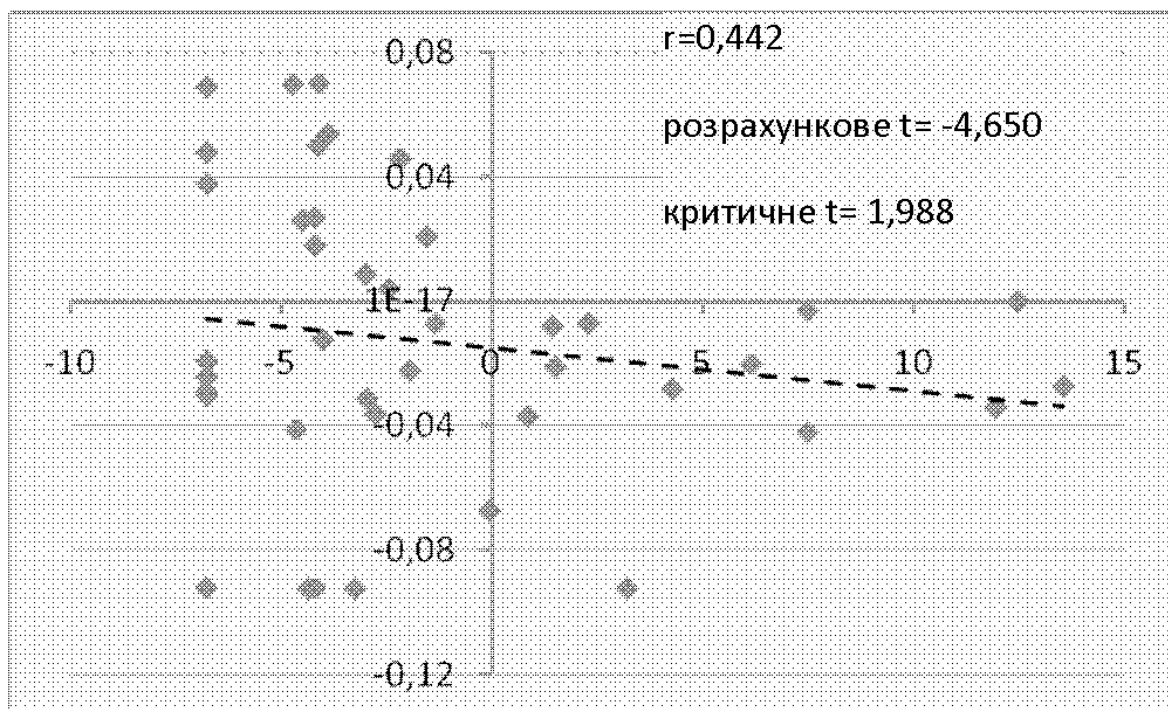


Рис. 3 Кореляція між  $T_{1/2}$  (4-6 год.) рифампіцину та антиоксидантним індексом через 2 год. після введення препарату (штрихом позначено лінію тренду; по осі абсцис –  $T_{1/2}$  (4-6 год.) рифампіцину, по осі ординат – антиоксидантний індекс)

Отримані дані засвідчили, що зменшення концентрації рифампіцину на протязі доби після введення асоціювалось з певним зменшенням вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів (ДК) і зростанням активності ферменту антиоксидантної системи – каталази, а також антиоксидантного індексу. Також було відзначена пряма кореляція між концентрацією рифампіцину в крові хворих і рівнем ДК, а також обернена кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом через 6 год. після застосування рифампіцину. Взаємозв'язок між вмістом рифампіцину і вмістом продуктів перекисного окислення ліпідів підтвердився наявністю прямої кореляції між АUC і вмістом ДК і оберненої кореляції між АUC і активністю каталази і антиоксидантним індексом. Швидкість елімінації рифампіцину, яка виражалась через період напіввиведення, також корелювала з станом про-/антиоксидантної системи. Так, чим повільніше виводився рифампіцин з організму в інтервалі 4-6 год. після введення, тим вищим був вміст продуктів перекисного окислення ліпідів (ДК) і нижчою активність каталази і рівень антиоксидантного індексу.

Таким чином, вміст рифампіцину в крові у хворих на туберкульоз є фактором, що прямо корелює з рівнем продуктів перекисного окислення ліпідів і обернено корелює із активністю антиоксидантної системи, що може бути фактором розвитку токсичних ефектів рифампіцину під час лікування туберкульозу.

## Висновки

1. Зменшення концентрації рифампіцину у хворих на туберкульоз асоціювалось зі зменшенням рівня дієвих кон'югатів і збільшенням активності каталази.
2. Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз через 6 год. після прийому препарату прямо корелювала з рівнем дієвих кон'югатів і обернено корелювала з активністю каталази.
3. Період напіввиведення рифампіцину (4-6 год.) і АUC прямо корелювали з вмістом дієвих кон'югатів і обернено – з активністю каталази і антиоксидантним індексом.

## Література

1. Базелюк О.М. Оптимізація ведення вагітності та пологів у жінок, хворих на активний туберкульоз легень : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 2008. – 20 с.
2. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.
3. Мажак К.Д. 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, Н.Р. Гречуха [та ін.] // 3б. наук.-практ. конференції «Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи їх подолання». – К., 2008. – С. 90-95.
4. Наказ МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. "Про затвердження протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз" [Текст] : нормативні директивні правові документи. – К., 2006. – 87 с.
5. Чубарян В.Т. Клинико-фармакологический подход к индивидуальному дозированию изониазида и рифампицина у больных туберкулезом легких : Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Ростов-Дону (РФ), 1994. – 20 с.
6. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии / Стальная И.Д. – М. : Медицина, 1977. – С.63.
7. Zaitzeva S.I. Treatment of cavity 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. – V.5, №12. – P.1154-1162.

## Реферат

СВЯЗЬ МЕЖДУ ФАРМАКОКИНЕТИКИ РИФАМПИЦИНА И СОСТОЯНИЕМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

Антоненко П.Б.

Ключевые слова: рифампицин, туберкулез, перекисное окисление липидов

Целью данной работы было исследование возможной связи между содержанием рифампицина и маркерами состояния про- и антиоксидантной систем у больных туберкулезом. Содержание рифампицина, уровень диеновых конъюгатов (ДК) и активность каталазы измеряли в венозной крови через 2, 4, 6 и 24 час. после приема стандартной дозы препарата. Образцы крови были получены от 84 больных с впервые диагностированным туберкулезом легких в Одесском областном противотуберкулезном диспансере в 2012 г. Уменьшение концентрации рифампицина у больных туберкулезом ассоциировалось с уменьшением уровня диеновых конъюгатов и увеличением активности каталазы. Концентрация рифампицина у больных туберкулезом через 6 час. после приема препарата прямо коррелировала с уровнем диеновых конъюгатов и обратно коррелировала с активностью каталазы.

## Summary

RELATION BETWEEN RIFAMPICIN PHARMACOKINETICS AND STATUS OF LIPID PEROXYDATION IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

Antonenko P.

Key words: rifampicin, tuberculosis, catalase, diene conjugates

It is well known that tuberculosis (TB) is associated with activation of oxidant system and inhibition of antioxidant systems. Successful treatment usually normalizes this imbalance. Among the courses of such imbalance in oxidant-antioxidant system the leading position ranks the tuberculosis intoxication by itself that provokes the systemic intoxication as well as the action of antituberculosis agents.

The aim of this work was to investigate possible relation between pharmacokinetics rifampicin (R), the most effective antituberculosis antibiotic, and the level of pro- and antioxidant system markers in TB patients.

The study involved 84 patients with pulmonary TB which was first diagnosed at Odesa TB dispensary in 2012. There were 39 (46,4 %) females and 45 (53,6%) of mean age 35,9 years. All the patients were given the injections of rifampicin in a dose of 8-12 mg/kg of body wt daily. Rifampicin concentration was detected in venous blood taken from the patients in 2, 4, 6 and 24 hrs after introducing its standard doses (8-12 mg/kg/day) according to Chubaryan V.T., 1994. The drug was extracted by allying chloroform and KOH and then the drug concentration was measurement by spectrophotometer SP-46. The level of diene conjugates and catalase activity in blood serum were measured by heptane-isopropyl spirit and hydrogen peroxide with ammonia molibdate correspondently and following spectrophotometry. In addition we calculated antioxidant index as ratio of catalase activity to level of diene conjugates.

Dropping of R concentration in TB patients may be associated with the decrease of diene conjugates level and increase of catalase activity. The maximal level of diene conjugates – 1.663 mol/l - was observed 2 hrs after R intake and the lowest level – 1,521 – in 24 hrs. Ccatalase was observed to demonstrate the opposite dynamics. Six hours after R ingestion a direct correlation was found between R concentration and diene conjugates level (estimated t-criteria 2,556, critical t-criteria hereinafter 1,998) on one hand and reverse correlation between R concentration and catalase activity (estimated t-criteria -1,991).

In addition it was calculated starting and terminal half-life of R -  $T_{1/2}$  (4-6 hrs) and  $T_{1/2}$  (6-24 hrs) correspondently and AUC (area under the curve) of R. So,  $T_{1/2}$  (4-6 год.) for R was 6,76±2,03 hrs;  $T_{1/2}$  (6-24 hrs.) – 36,23±13,51 hrs; AUC – 245,63±51,64 mcg/ml\*hrs. Daily average level of diene conjugates directly correlate with AUC of R (estimated t-criteria was 2,439) and  $T_{1/2}$  (6-24 hrs) (estimated t-criteria was 2,424). The half-life of R (4-6 hrs) was in direct correlation with diene conjugates 4 and 6 hrs after R intake (estimated t-criteria were 2,426 and 4,191 correspondently).

Daily average activity of catalase was in reverse correlation with AUC of R (estimated t-criteria was -2,018) and  $T_{1/2}$  (4-6 hrs) of R (estimated t-criteria was -2,905). Also catalase activity 2 hrs after R ingestion has been in reverse correlation with  $T_{1/2}$  (4-6 hrs) - estimated t-criteria was -3,530.

Antioxidant index has been in reverse correlation with diene conjugates level 6 and 24 hrs after R ingestion (estimated t-criteria were -2,605 and -3,210 correspondently).  $T_{1/2}$  (4-6 hrs) of R also was in reverse correlation with antioxidant index. For example, estimated t-criteria 2 hrs after R intake was -4,650; 4 hrs after R intake -3,329; 24 hrs after -2,508.

Thus, the obtained data have shown the direct correlation between R concentration in blood of TB patients and diene conjugates concentration, and the reverse correlation between R concentration and catalase activity, antioxidant index. The connection between R concentration and oxidant/antioxidant balance has been proved by revealing of direct correlation between AUC of R and diene conjugates on one hand and reverse correlation between AUC of R and catalase activity and antioxidant index on the other hand. Slow elimination of R (high  $T_{1/2}$  (4-6 hrs)) associate with high level of lipids peroxidation products and low activity of catalase. So, rifampicin contributes to oxidant/antioxidant imbalance during TB treatment.