

РОЛЬ ПИРИДОКСИНА ГИДРОХЛОРИДА В РАЗВИТИИ ТОЛЕРАНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ К ТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ИЗОНИАЗИДА

К. И. УСОВ^{1,2}, Т. А. ГУСЬКОВА³, Г. Г. ЮШКОВ¹

¹НИИ биофизики ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет», г. Ангарск, Россия

²ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ», г. Иркутск, Россия

³Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова, г. Ярославль, Россия

Цель исследования: оценить влияние непрерывного и курсового (прерывистого) применения пиридоксина гидрохлорида в сочетании с изониазидом на скорость развития толерантности организма крыс в условиях токсикологического эксперимента.

Материалы и методы. В экспериментах использовали препарат изониазид (таблетки, 0,3 г) и субстанцию пиридоксина гидрохлорида (порошок, 50,0 г). В качестве экспериментально-биологических моделей использовали белых крыс-самцов.

Основные результаты. Приведены данные экспериментальных исследований токсикологической толерантности крыс к противотуберкулезному препарату изониазиду при его совместном применении с пиридоксина гидрохлоридом. Полученные результаты свидетельствуют о влиянии пиридоксина гидрохлорида на скорость развития толерантности организма к токсическому действию изониазида. Показано, что прерывистое (короткими курсами) совместное применение пиридоксина гидрохлорида с изониазидом в сравнении с непрерывным (постоянным) его использованием приводит к более медленному развитию токсикологической толерантности крыс к изониазиду.

Ключевые слова: среднесмертельная доза (DL₅₀), противотуберкулезный препарат изониазид, пиридоксина гидрохлорид (витамин B₆), толерантность

Для цитирования: Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г. Роль пиридоксина гидрохлорида в развитии толерантности организма животных к токсическому действию изониазида // Туберкулез и болезни лёгких. – 2018. – Т. 96, № 6. – С. 51-57. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-6-51-57

ROLE OF PYRIDOXINE HYDROCHLORIDE IN THE DEVELOPMENT OF TOLERANCE TO THE TOXIC ACTION OF ISONIAZID IN ANIMALS

K. I. USOV^{1,2}, T. A. GUSKOVA³, G. G. YUSHKOV¹

¹Research Institute of Biophysics by Angarsk State Technical University, Angarsk, Russia

²Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

³M. V. Dorogov Center for Pharmaceutical Technology Transfer, Yaroslavl, Russia

The objective of the study: to assess the impact of continuous and course (intermittent) use of pyridoxine hydrochloride in combination with isoniazid on the rate of tolerance development in rats under conditions of a toxicological experiment.

Subjects and methods. Isoniazid (tablets, 0.3 g.) and the substance of pyridoxine hydrochloride (powder, 50.0 g.) were used for the experiment. Male white rats were used as experimental biological models.

Main results. The article presents data on experimental study of toxicologic tolerance of rats to the anti-tuberculosis drug of isoniazid with its administration simultaneously with pyridoxine hydrochloride. The obtained data provided the evidence about the impact of pyridoxine hydrochloride on the rate of how fast the host developed the tolerance to the toxic action of isoniazid. It has been proved that intermittent (by short courses) use of pyridoxine hydrochloride with isoniazid versus its continuous use resulted in a slower development of toxicological tolerance to isoniazid in rats.

Key words: median lethal dose (DL₅₀), the anti-tuberculosis drug of isoniazid, pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆), tolerance

For citations: Usov K.I., Guskova T.A., Yushkov G.G. Role of pyridoxine hydrochloride in the development of tolerance to the toxic action of isoniazid in animals. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2018, Vol. 96, no. 6, P. 51-57. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-6-51-57

Начиная с 1998 г. стандарты Минздрава РФ по лечению больных туберкулезом органов дыхания предусматривают обязательное назначение пиридоксина гидрохлорида (витамина B₆) в дозе 60-100 мг/сут всем больным, получающим изониазид, независимо от пути его введения, для улучшения переносимости последнего [13]. Фиксированные дозы пиридоксина гидрохлорида также включены в целый ряд комбинированных противотуберкулезных препаратов (ПТП) [10]. В отличие от российского стандарта лечения туберкулеза, международные рекомендации при применении изониазида в суточной дозе

длительно не требуют постоянного назначения витамина B₆ лицам без выявленного гиповитаминоза, диспротеинемии и алкоголизма [13].

Это обстоятельство, а также проведенные ранее исследования толерантности организма к изониазиду [6] предопределили актуальность настоящего исследования.

Цель исследования: оценить влияние непрерывного и курсового (прерывистого) применения пиридоксина гидрохлорида на скорость развития толерантности организма крыс в условиях токсикологического эксперимента с изониазидом.

Материалы и методы

В соответствии с действующими нормативными документами и методическими рекомендациями, принятыми на территории РФ для проведения экспериментальных токсикологических исследований, а также на основе многолетнего экспериментального опыта сотрудников лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ НИИ биофизики ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет» по изучению ПТП в качестве экспериментально-биологической модели выбраны белые нелинейные крысы-самцы массой 180-200 г [3, 5, 10, 12]. Критериями включения животных в эксперимент являлись: заключение Службы ветеринарии Иркутской области, отсутствие видимых проявлений заболеваний, однородность по массе тела, в ряде случаев – по анализу периферической крови и некоторым другим показателям в соответствии с принятыми в лаборатории стандартными операционными процедурами и паспортом состояния лабораторных животных. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария) (ветеринарное удостоверение 238 № 0019883). Эксперименты проведены в соответствии с этическими требованиями по работе с экспериментальными животными, изложенными в следующих нормативно-правовых документах: «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.) [14], «Правила надлежащей лабораторной практики» (приложение к приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) [15] и разрешены локальным этическим комитетом.

Проводили сравнительное изучение влияния фиксированных (неизменных на протяжении всего эксперимента) токсических доз: изониазида без пиридоксина гидрохлорида (1-я опытная группа) и пиридоксина гидрохлорида без изониазида (2-я опытная группа), изониазида с пиридоксина гидрохлоридом в условиях сочетанного непрерывного введения (3-я опытная группа), в условиях сочетанного прерывистого (курсового) введения пиридоксина гидрохлорида (4-я опытная группа). Изониазид вводили ежедневно, внутрижелудочно, 1 раз в сутки до наступления гибели, всем группам крыс, включенных в эксперимент, в дозах, дробных от среднесмертельной, установленной и рассчитанной по методу Кербера [8]: 1/2 (600 мг/кг), 1/4 (300 мг/кг) и 1/6 (200 мг/кг) от DL_{50} .

Пиридоксина гидрохлорид вводили внутрижелудочно в суточной дозе 60 мг/кг (в 20 раз ниже среднесмертельной дозы изониазида [8]) во всех сериях эксперимента, включенных во 2-ю и в 3-ю опытные группы. Длительность применения пиридоксина гидрохлорида во 2-й и 3-й опытных группах определялась индивидуальной продолжительностью жизни каждого животного после его включения в экспери-

мент, введение пиридоксина гидрохлорида осуществляли до наступления гибели. Курсовое введение пиридоксина гидрохлорида (4-я опытная группа) представляло собой 10-дневное внутрижелудочное введение пиридоксина гидрохлорида в суточной дозе 60 мг/кг. Показанием к назначению 10-дневного курсового введения пиридоксина гидрохлорида в условиях эксперимента являлись: ежемесячное определение ксантуреновой кислоты в моче крыс, ежедневный осмотр животных с определением неврологического статуса, проявлений судорог с оценкой их тяжести по шкале Мареша [7]. Экскрецию ксантуреновой кислоты в суточной моче крыс, как диагностически значимого биомаркера измененного обмена триптофана на фоне длительного воздействия ПТП, приводящего к дефициту пиридоксина в организме подопытных животных [9], определяли спектрофотометрическим методом. Мочу собирали в обменные клетки чешской фирмы Simax. Во всех группах регистрировали уровень летальности животных, максимальную продолжительность жизни (в сутках), а также максимальную продолжительность жизни последнего подопытного животного в экспериментальной группе и среднюю продолжительность жизни (в часах и сутках) каждого подопытного животного от начала эксперимента до наступления его гибели.

Начиная с конца 1-го мес. введения изониазида в дозе 200 мг/кг (1/6 от DL_{50}) определяли функциональную способность ЦНС подопытных крыс суммировать подпороговые импульсы при свободном положении животного по методике определения суммационно-подпорогового показателя (СПП), с использованием электростимулятора ЭС-50-1 (Россия) в конструкции В. Д. Бартенева [4]. Детоксицирующую функцию печени оценивали по длительности сна животных после внутрибрюшинного введения 2%-ного раствора гексенала в дозе 90 мг/кг [12]. Рандомизацию крыс на группы проводили по принципу исследуемого диапазона доз, каждая группа состояла из 20 крыс-самцов ($n = 20$).

В экспериментах использованы препарат изониазид производства ОАО «Московское производственное химико-фармацевтическое объединение им. Н. А. Семашко» (таблетки, 0,3 г) и субстанция пиридоксина гидрохлорида производства ДСМ «Нутришнл Продактс Гмбх», Германия (порошок, 50,0 г). Животным вводили лекарственные средства однократно, внутрижелудочно в виде суспензии в дистиллированной воде, с помощью металлического атравматичного зонда. Длительность применения изониазида определялась индивидуальной продолжительностью жизни каждого подопытного животного после его включения в эксперимент, введение изониазида осуществляли до наступления гибели. Дозирование проводили по количеству активного вещества (изониазида) в таблетке, индивидуально для каждого подопытного животного с учетом ежедневного предварительного

(за 15 мин до введения) мониторингования массы тела. Перед введением препарата изониазид таблетки растирали в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл [3, 12].

Для обработки полученных результатов применяли методы математической статистики, реализованные в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2010, входящем в состав лицензионного пакета офисных приложений для комплексной обработки данных Microsoft Office 2010 (Microsoft Co., США); правообладатель лицензии ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет». Вычисляли среднее арифметическое значение (M), стандартную ошибку среднего арифметического значения (m), проводили оценку значимости различий средних величин по t -критерию, коэффициенту ранговой корреляции Спирмена. Методики расчета показателей соответствуют общепринятым, изложенным в руководстве по математической статистике для медико-биологических исследований [1].

Результаты исследования

Результаты экспериментального токсикологического исследования влияния пиридоксина гидрохлорида, вводимого в дозе 60 мг/кг, на скорость развития толерантности к изониазиду, вводимому в токсических дозах, дробных от (ранее установленной) среднесмертельной ($DL_{50} = 1\ 233 \pm 43$ мг/кг – крысы-самцы [8]), представлены в табл. 1. Ранее проведенные исследования [6] по изучению клиники острой токсичности изониазида показали, что при его введении в среднесмертельной дозе летальность наступала не позднее 1-х сут от момента введения, выжившие животные постепенно

выходили из состояния визуально определяемой интоксикации, в более поздние сроки наблюдения летальность отсутствовала. При введении среднесмертельной дозы пиридоксина гидрохлорида ($DL_{50} = 10\ 000 \pm 531$ мг/кг – крысы-самцы [11]) на 3-4-е сут у подопытных крыс-самцов проявлялись признаки тяжелого неврологического нарушения – в двигательной сфере с развитием парализа задних конечностей на фоне усиления проявлений мышечной гипотонии и наступлением летальности к 7-м сут наблюдения.

Данные сравнительного анализа показателей (летальность, средняя (СПЖ) и медианная продолжительность жизни (МПЖ), табл. 1) свидетельствовали о влиянии пиридоксина гидрохлорида (вводимого на протяжении всего эксперимента непрерывно, совместно с токсическими дозами изониазида) на снижение чувствительности крыс к токсическим дозам изониазида и на повышение скорости развития толерантности крыс к изониазиду. Введение пиридоксина гидрохлорида в дозе 60 мг/кг с изониазидом в дозах 600, 300 и 200 мг/кг (что соответствовало $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ и $\frac{1}{6}$ от DL_{50} изониазида) приводило к достоверному (двукратному) увеличению СПЖ крыс по сравнению с животными, не получавшими пиридоксина гидрохлорид.

Результаты изучения влияния пиридоксина гидрохлорида (в дозе 60 мг/кг) на СПЖ крыс при его курсовом (прерывистом) введении совместно с непрерывным введением изониазида в дозе 200 мг/кг ($\frac{1}{6}$ от DL_{50}) представлены в табл. 2. Выявленный в условиях данного эксперимента неврологический симптомокомплекс нежелательных эффектов, вызванный введением изучаемых лекарственных средств, условно разделен на ранний этап (1-60-е сут

Таблица 1. Летальность, средняя (СПЖ) и максимальная (МПЖ) продолжительность жизни крыс при ежедневном пероральном введении препарата изониазид с пиридоксина гидрохлоридом (витамин В₆) и без него, $n = 120$ (ежедневное введение препаратов до наступления летальности всех подопытных крыс)

Table 1. Morality, the median and maximum life time of rats under the daily oral administration of isoniazid with pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆) and without it, $n = 120$ (daily administration of drugs till achieving lethal outcomes in all rats)

Дозы изониазида и пиридоксина гидрохлорида	Летальность*					СПЖ, ч ($M \pm m$)	МПЖ, сут
	через 1 нед.	через 1 мес.	через 3 мес.	через 6 мес.	через 1 год		
600 мг/кг изониазида ($\frac{1}{2}$ от DL_{50})	5/20	15/15	–	–	–	290,4 \pm 27,3 (1)	20
600 мг/кг изониазида ($\frac{1}{2}$ от DL_{50}) + 60 мг/кг пиридоксина	0/20	14/20	6/6	–	–	585,6 \pm 48,6 (1)	35
300 мг/кг изониазида ($\frac{1}{4}$ от DL_{50})	0/20	2/20	6/18	12/12	–	2 613,6 \pm 235,5 (2)	170
300 мг/кг изониазида ($\frac{1}{4}$ от DL_{50}) + 60 мг/кг пиридоксина	0/20	0/20	2/20	8/18	10/10	4 725,6 \pm 347,9 (2)	319
200 мг/кг изониазида ($\frac{1}{6}$ от DL_{50})	0/20	0/20	4/20	11/16	5/5	3 821,9 \pm 257,4 (3)	216
200 мг/кг изониазида ($\frac{1}{6}$ от DL_{50}) + 60 мг/кг пиридоксина	0/20	0/20	0/20	4/20	14/16	6 834,2 \pm 434,9 (3)	366**
Уровень значимости различий между экспериментальными группами, получавшими и не получавшими пиридоксина гидрохлорид $p(t)$						$p(t)_{1-1; 2-2; 3-3} < 0,001$	

Примечание: * – в числителе – число погибших крыс (летальность), в знаменателе – общее число животных в группе с учетом хронологической летальности крыс в экспериментальной группе; ** – максимальная продолжительность жизни 10% подопытных крыс превысила 1 календарный год и составила 418 сут для последнего подопытного животного в группе, в условиях ежедневного введения препаратов до наступления гибели

Таблица 2. Степень судорожной активности, неврологические признаки лекарственной нейротоксичности, средняя продолжительность жизни крыс, $n = 80$ (ежедневное введение препаратов до наступления гибели всех подопытных крыс)

Table 2. The degree of convulsive activities, neurological manifestations of neurotoxicity, the median life time of rats, $n = 80$ (daily administration of drugs till achieving lethal outcomes in all rats)

Схемы внутривенного введения препаратов и их дозы	Частота (%) и тяжесть (баллы по шкале Мареша) судорожной активности (1-60-й день)	Неврологические признаки нейротоксичности за 60 дней до наступления гибели	СПЖ, сут ($M \pm m$)
Непрерывное введение изониазида 200 мг/кг	100%, 3 балла	Судороги, центральный односторонний гемипарез конечностей; мышечная гипотония [6]	159,2 \pm 10,7 (1)
Непрерывное введение пиридоксина г/х 60 мг/кг	100%, 1 балл	Парапарез задних конечностей [11], сенситивная атаксия. Парестезии, мышечная гипотония, нарушение болевого восприятия	205,3 \pm 3,5 (2)
Непрерывное введение пиридоксина г/х 60 мг/кг с изониазидом 200 мг/кг	40%, 1 балл	Парапарез задних конечностей; сенситивная атаксия; прогрессирующая мышечная гипотония, атония мышц	284,8 \pm 18,1 (3)
Прерывистое (курсовое) введение пиридоксина г/х 60 мг/кг с непрерывным введением изониазида 200 мг/кг	35%, 1 балл	Интермиттирующая мышечная гипотония, заторможенность, вялость, сонливость, малоподвижность	213,3 \pm 11,4 (4)
Уровень значимости различий между экспериментальными группами $p(t)$			$p(t)3-4 < 0,05$ $p(t)1-4 < 0,01$ $p(t)1-2 < 0,001$

наблюдения за крысами, характеризовавшийся проявлением фрагментарной судорожной активности крыс, преимущественно наблюдавшейся через 1-3 ч после введения препаратов) и поздний этап (60 дней до наступления гибели, который характеризовался устойчивыми и усиливающимися по степени тяжести неврологическими нарушениями, приводящими к гибели животных).

Курсовое введение пиридоксина гидрохлорида достоверно снижало скорость развития толерантности к изониазиду по сравнению с данными по СПЖ крыс, получавших пиридоксин непрерывно на протяжении всего эксперимента (табл. 2).

В картине интоксикации, вызванной введением лекарственной комбинации изониазид в дозе 200 мг/кг + пиридоксина гидрохлорид в дозе 60 мг/кг, судорожная активность крыс на ранних этапах проявления нежелательных эффектов (1-60-й день эксперимента с максимумом выраженности их проявления у 70% крыс, при длительности введения лекарственных средств с 34-го дня и у 30% крыс – с 41-го дня от начала введения) по степени и тяжести была ниже и находилась вне зависимости от курсового и непрерывного применения пиридоксина в сравнении с описанной ранее клинической картиной отравления изониазидом при его многократном введении в токсических дозах [6]. На поздних этапах проявления нежелательных эффектов в группах с непрерывным введением пиридоксина в высокой дозе при оценке неврологического статуса крыс установлено развитие афферентного парапареза задних конечностей, арефлексии, сенситивной атаксии (эффекты наступали у 70% крыс после 11 мес., у 10% – после 1 календарного года и 1 мес. длительности введения лекарственных средств). Эти признаки можно отнести именно к нейротоксическим эффектам длительно применяемого пиридоксина [11], а не

изониазида (табл. 2). В группах с курсовым (прерывистым) применением пиридоксина и без него таких эффектов в условиях эксперимента не получено, характерным признаком являлось проявление интермиттирующей мышечной гипотонии с синхронным колебанием массы тела крыс. В опытной группе крыс (группа 2) с длительным введением одного пиридоксина гидрохлорида в дозе 60 мг/кг выявлены мышечная гипотония, парестезии (табл. 2), проявляющиеся аберрациями поведения: избыточным грумингом с использованием передних лап и попытками вовлечения задних лап, подергиванием головы и туловища, судорогами с вовлечением головы и передних конечностей, часто с потерей контроля над поддержанием позы. После прекращения судорог крысы занимали позу, при которой стремились к избеганию контакта стоп конечностей с поверхностью пола клетки, пальцы на лапках были раздвинуты в стороны. За 1-2 нед. до наступления биологической смерти у животных развивался парапарез задних конечностей (рефлекс сгибания задней конечности не определялся, болевая реакция на сжатие, покалывание отсутствовала), усиливались признаки проявления сенситивной атаксии (у 90% крыс к началу 7-го мес. применения пиридоксина гидрохлорида наступали данные явления).

Масса тела крыс достоверно снижалась в группах с применением пиридоксина, но более интенсивно – в группе с непрерывным его введением. Снижение массы тела крыс по сравнению с таковой у крыс из группы динамического контроля за 60 дней до наступления гибели составила 43% для крыс с непрерывным введением пиридоксина и 12% – для крыс с курсовым введением. У крыс из опытной группы (группа 1), получавших только изониазид без пиридоксина, наблюдался достоверный прирост массы тела (32%) по сравнению с крысами из группы динамического контроля, в последнем случае прирост массы тела

наблюдался не из-за преобладания синтетических процессов, а вследствие задержки воды в брюшной (развитие асцита) и плевральной полостях (признаки гидроторакса), определяемой макроскопически при незамедлительном вскрытии павших крыс.

Результаты диагностического исследования лекарственно-индуцированной ксантурурии (экскреции ксантуреновой кислоты почками в мочу подопытных крыс), вызванной многократным введением изониазида (доза 200 мг/кг) в условиях сочетанного его введения с пиридоксина гидрохлоридом, представлены на рис. 1.

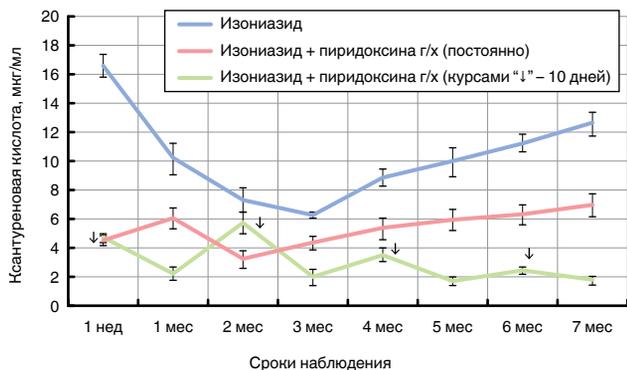


Рис. 1. Динамика ксантурурии у крыс (мкг/мл), индуцированной многократным пероральным введением изониазида, в дозе 200 мг/кг (1/5 от DL_{50} изониазида), в сочетании с курсовым (прерывистым) и непрерывным введением пиридоксина гидрохлорида, а также без него

Fig. 1. Changes in xanthinuria in rats (mg/ml), induced by multiple oral administrations of isoniazid in the dose of 200 mg/kg (1/5 of DL_{50} of isoniazid), in combinations with course (intermittent) and continuous administration of pyridoxine hydrochloride and without it

Выявление в моче крыс ксантуреновой кислоты в количествах выше 2 мкг/мл явилось основанием для назначения крысам 10-дневного курса пиридоксина гидрохлорида в дозе 60 мг/кг. Содержание ксантуреновой кислоты в моче крыс, превышающее 2 мкг/мл, имело прямую значимую корреляцию ($r_s = 0,975$) с регистрацией проявления минимальной и средней тяжести судорожной активности у крыс. Как видно из рис. 1, курсовое введение пиридоксина гидрохлорида снижало уровень экскреции ксантуреновой кислоты в мочу крыс, в то же время непрерывное назначение пиридоксина гидрохлорида с изониазидом не приводило к снижению уровня ксантурурии у крыс.

Данные о функциональном состоянии ЦНС крыс по ее способности к суммации подпороговых импульсов приведены на рис. 2. Функциональные возможности печени крыс, оцененные по продолжительности наркотического сна [12], вызванного внутрибрюшинным введением гексенала в дозе 90 мг/кг, представлены на рис. 3.

На рис. 2 представлены результаты измерения СПП в относительных величинах (по отношению к

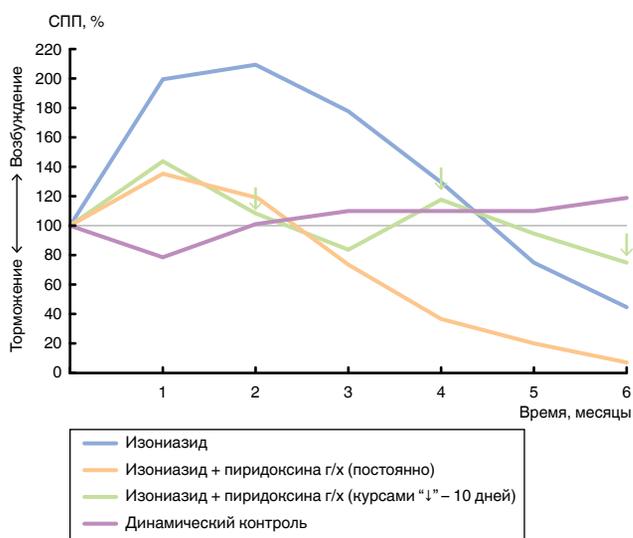


Рис. 2. Динамика суммационно-подпорогового показателя у крыс, получавших изониазид в дозе 200 мг/кг (1/5 от DL_{50} изониазида) в сочетании с курсовым (прерывистым) и непрерывным применением пиридоксина гидрохлорида и без него

Fig. 2. Changes in the summation-threshold index in the rats receiving isoniazid in the dose of 200 mg/kg (1/5 of DL_{50} of isoniazid), in combinations with course (intermittent) and continuous administration of pyridoxine hydrochloride and without it

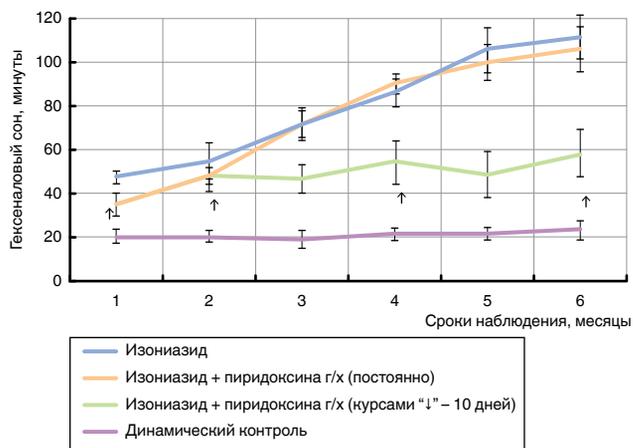


Рис. 3. Динамика продолжительности наркотического сна у крыс, получавших изониазид, в дозе 200 мг/кг (1/5 от DL_{50} изониазида) в сочетании с курсовым (прерывистым) и непрерывным применением пиридоксина гидрохлорида, а также без него

Fig. 3. Changes in duration of drug-induced sleep in the rats receiving isoniazid in the dose of 200 mg/kg (1/5 of DL_{50} of isoniazid), in combinations with course (intermittent) and continuous administration of pyridoxine hydrochloride and without it

фоновому контролю, $p > 0,05$). Изменения СПП во всех опытных группах крыс на конец 2-го мес. эксперимента имели общую направленность, свидетельствующую о преобладании процессов возбуждения в ЦНС над процессами торможения. Ко 2-му мес. экс-

перимента процессы возбуждения в ЦНС достигли максимума (при $p \leq 0,05$) в группах крыс, получавших ежедневно только изониазид в дозе 200 мг/кг. Изменения СПП имели прямую значимую корреляцию ($r_s = 0,922$) с визуальным проявлением у крыс судорог, а в 10% случаев подаваемый с диагностической целью электрический ток при регистрации СПП инициировал развитие самостоятельно проходящих кратковременных судорог с тяжестью проявления в 2-3 балла по шкале Мареша.

Изменения СПП у крыс групп 1 и 3 начиная с 3-го мес. имели общую направленность к снижению, что свидетельствовало о достоверно нарастающем формировании процессов торможения ЦНС, проявляющихся в снижении возбудимости ЦНС (при $p \leq 0,05$) – максимум проявлений приходился на опытную группу 3, с непрерывным сочетанным введением пиридоксина с изониазидом.

В опытной группе 4, с прерывистым (курсовым) применением пиридоксина гидрохлорида с изониазидом, регистрируемые величины СПП начиная со 2-го мес. не имели значимых различий с группами интактного контроля. Курсовое назначение пиридоксина (группа 4) не приводило к фатальному торможению ЦНС по сравнению с его непрерывным применением (группа 3).

У крыс, получавших только изониазид в дозе 200 мг/кг, наблюдалась обратная динамика, свидетельствующая о достоверном возрастании уровня возбудимости с 1-го по 3-й мес. (при $p \leq 0,05$), которая сменялась нарастающим снижением возбудимости в ЦНС.

Исследование влияния пиридоксина гидрохлорида, применяемого совместно с изониазидом, на неспецифические ферментативные системы печени с помощью гексеналовой пробы выявило во всех подопытных группах крыс достоверное увеличение продолжительности сна (рис. 3), $p < 0,05$, к концу 6-го мес. регистрации показателя по отношению к контрольной группе интактных крыс. В 30% случаев на 5-6-й месяц у подопытных крыс наблюдалось

наступление глубокого и продолжительного сна – более 2 ч. Животные теряли способность к самостоятельному пробуждению, рефлекс у крыс, включая корнеальный (роговичный), были угнетены. В этих случаях незамедлительно подкожно вводили дыхательные analeптики (раствор кофеина-бензоата натрия, кордиамина). В крайне редких случаях, когда не удавалось достичь пробуждения, после введения растворов кофеина или кордиамина внутривенно в хвостовую вену крыс вводили раствор бемегида (антагонист гексенала), после чего во всех случаях наступало пробуждение с проявлением инициируемой введением analeптика нежелательной реакции – судорог, тяжестью до 2 баллов по шкале Мареша.

Заключение

Совместное непрерывное применение пиридоксина гидрохлорида с изониазидом приводило к двукратному увеличению скорости развития толерантности к вводимым токсическим дозам изониазида и усиливало проявление признаков нейротоксичности, свойственных не только изониазиду, но и пиридоксину [11] в условиях их многократного длительного введения. Курсовое применение пиридоксина гидрохлорида (короткими, 10-дневными курсами в высокой дозе) приводило к замедлению скорости развития толерантности к токсическим дозам изониазида и снижало проявление неврологических признаков нейротоксичности изониазида. Применение пиридоксина гидрохлорида с изониазидом приводило к достоверному снижению массы тела, что расценивали как проявление нежелательного побочного эффекта, который был выражен в большей степени при непрерывном применении пиридоксина с изониазидом. Полученные экспериментальные данные могут быть приняты к сведению специалистами при составлении рациональных режимов химиотерапии туберкулеза с использованием изониазида, применяемого совместно с пиридоксина гидрохлоридом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – С. 81-266.
2. Компанцева Е. В., Овчаренко Л. П., Халата А. В. Фармакокинетическая и общетоксическая оценка гранул изониазида и пиридоксина гидрохлорида // Экология человека. – 2007. – № 2. – С. 7-10.
3. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 804-809.
4. Рылова М. Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте. – М.: Медицина, 1964. – С. 33-40.
5. РД 64-126-91 «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». – М., 1991. – 115 с.

REFERENCES

1. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. [Medical biological statistics]. Moscow, Praktika Publ., 1999, pp. 81-266.
2. Kompantseva E.V., Ovcharenko L.P., Khalata A.V. Pharmacokinetic and general toxic assessment of granules of isoniazid and pyridoxine hydrochloride. *Ekologiya Cheloveka*, 2007, no. 2, pp. 7-10. (In Russ.)
3. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv, Ch. 1*. [Guidelines on pre-clinical trials of medications. Part 1]. Moscow, Grif I K Publ., 2012, pp. 804-809.
4. Rylova M.L. *Metody issledovaniya khronicheskogo deystviya vrednykh faktorov sredi v eksperimente*. [Methods of studying the chronic action of harmful environmental factors in the experiment]. Moscow, Meditsina Publ., 1964, pp. 33-40. (In Russ.)

6. Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г. Развитие токсикологической толерантности к изониазиду в условиях эксперимента // Токсикологический вестник. – 2017. – № 2. – С. 2-11.
7. Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г. Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование комбинированного противотуберкулезного препарата, содержащего и не содержащего пиридоксина гидрохлорид // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 16-24.
8. Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г. Чувствительность животных различных возрастных групп к изониазиду в условиях токсикологического эксперимента // Токсикологический вестник. – 2016. – № 5. – С. 36-43.
9. Усов К. И., Юшков Г. Г., Машанов А. В. Ксантуреновая кислота как диагностически значимый биомаркер при длительном применении современных противотуберкулезных препаратов (экспериментальное исследование) // Биофармацевтический журнал. – 2016. – Т. 6, № 8. – С. 45-49.
10. Усов К. И., Юшков Г. Г., Машанов А. В. Острая токсичность противотуберкулезных препаратов, содержащих и не содержащих пиридоксина гидрохлорид (экспериментальное исследование) // Туб. и болезни легких. – 2014. – № 12. – С. 76-82.
11. Усов К. И., Юшков Г. Г., Шульгина Н. А. К изучению формирования физиологического отклика животного на однократное воздействие мегадозы витамина В6 в условиях эксперимента // Мед. академический журнал. – 2010. – № 5. – С. 36-37.
12. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005. – С. 244-253.
13. http://www.medicinform.net/tuberculos/book/tb_book9.htm.
14. <http://www.docs.cntd.ru/document/456016716>.
15. <http://www.docs.cntd.ru/document/420350679>.
5. RD 64-126-91 "Pravila doklinicheskoj otsenki bezopasnosti farmakologicheskikh sredstv (GLP)". [RD 64-126-91. Rules of pre-clinical safety assessment of pharmacological agents (GPL)]. Moscow, 1991, 115 p.
6. Usov K.I., Guskova T.A., Yushkov G.G. Development of toxic tolerance to isoniazid in the experiment. *Toksikologicheskij Vestnik*, 2017, no. 2, pp. 2-11. (In Russ.)
7. Usov K.I., Guskova T.A., Yushkov G.G. Comparative experimental toxicological study of combinations of anti-tuberculosis drugs, containing and not containing pyridoxine hydrochloride. *Voprosy Biologicheskoy, Meditsinskoy i Farmatsevticheskoy Khimii*, 2017, vol. 20, no. 4, pp. 16-24. (In Russ.)
8. Usov K.I., Guskova T.A., Yushkov G.G. Sensitivity of animals from different age groups to isoniazid under conditions of a toxicological experiment. *Toksikologicheskij Vestnik*, 2016, no. 5, pp. 36-43. (In Russ.)
9. Usov K.I., Yushkov G.G., Mashanov A.V. Xanthurenic acid as a valuable diagnostic factor in continuous use of modern anti-tuberculosis drugs (an experimental study). *Biofarmatsevticheskij Zhurnal*, 2016, vol. 6, no. 8, pp. 45-49. (In Russ.)
10. Usov K.I., Yushkov G.G., Mashanov A.V. Acute toxicity of anti-tuberculosis drugs, containing and not containing pyridoxine hydrochloride. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2014, no. 12, pp. 76-82. (In Russ.)
11. Usov K.I., Yushkov G.G., Shulgina N.A. On the study of formation of a physiological response of an animal to single action of megadose of B6 in the experiment. *Med. Akademicheskij Zhurnal*, 2010, no. 5, pp. 36-37. (In Russ.)
12. Khabriev R.U. *Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmatsevticheskikh veshchestv*. [Manual on the experimental (pre-clinical) study of new pharmaceutical substances]. Moscow, Meditsina Publ., 2005, pp. 244-253.
13. http://www.medicinform.net/tuberculos/book/tb_book9.htm.
14. <http://www.docs.cntd.ru/document/456016716>.
15. <http://www.docs.cntd.ru/document/420350679>.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

НИИ биофизики ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет»,
665835, Иркутская область, г. Ангарск, ул. Партизанская, д. 2.

Усов Константин Ильич

кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабораторией токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ.
Тел.: 8 (3955) 95-70-68.
E-mail: konstausov@yandex.ru

Юшков Геннадий Георгиевич

кандидат медицинских наук, доцент, научный сотрудник лаборатории токсикологических испытаний и исследований ИЛЦ.
E-mail: prof_ushkov@mail.ru

Гуськова Татьяна Анатольевна

Центр трансфера фармацевтических технологий им. М. В. Дорогова,
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, заместитель председателя Всероссийской общественной организации токсикологов, ведущий научный сотрудник отдела доклинических исследований.
150010, г. Ярославль, ул. Технопарковая, д. 11/2.
E-mail: tagus@rambler.ru

FOR CORRESPONDENCE:

Research Institute of Biophysics by Angarsk State Technical University,
2, Partizanskaya St., Angarsk, Irkutsk Region, 665835

Konstantin I. Usov

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of Laboratory of Toxicological Tests and Testing Laboratory Center.
Phone: +7 (3955) 95-70-68.
E-mail: konstausov@yandex.ru

Gennady G. Yushkov

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Researcher of Laboratory of Toxicological Tests and Testing Laboratory Center.
E-mail: prof_ushkov@mail.ru

Tatiana A. Guskova

M.V. Dorogov Center for Pharmaceutical Technology Transfer, Doctor of Medical Sciences, Professor, Correspondent Member of the Russian Academy of Sciences, Honoured Researcher of the Russian Science, Deputy Head of All-Russian Public Organization of Toxicologists, Leading Researcher of Pre-clinical Trials Department.
11/2, *Tekhnoparkovaya St.*, Yaroslavl, 150010
E-mail: tagus@rambler.ru