

Ewa Augustynowicz-Kopeć, Zofia Zwolska

Z Zakładu Mikrobiologii IGIChP w Warszawie,
Kierownik :Prof. dr. hab. biol. Z. Zwolska

TYP ACETYLACJI IZONIAZYDU (INH) U CHORYCH NA GRUŻLICĘ LECZONYCH W IGICHP W WARSZAWIE W LATACH 1990-1997. ANALIZA WSKAŹNIKÓW BIOLOGICZNEJ DOSTĘPNOŚCI I ACETYLACJI INH U SZYBKICH I WOLNYCH ACETYLATORÓW

TYPE OF ISONIAZID (INH) ACETYLATION DETERMINED IN TUBERCULOSIS PATIENTS TREATED
IN INSTITUTE OF TUBERCULOSIS AND LUNG DISEASES IN WARSAW IN PERIOD 1990-1997

Summary: The researched has dealt with the type of acetylation in 237 TB patients treated with standard course of chemotherapy with a dose of 300 mg of INH in period 1990-1997 in National Research Institute of Tuberculosis and Lung Disease in Warsaw. Blood samples were taken before (time 0) and 1, 3, 6 and 24 h after drug administration. Plasma concentrations of isoniazid were determined with biological methods. Two indices of acetylation rate – I_3 and C_6 have been used to determine an acetylation type. Majority of the treated patients (68,8%) have shown fast type of INH acetylation. After similar dose of isoniazid different profile of absorption and excretion of the drug and significant differences ($p < 0,01$) in INH concentrations, acetylation rate and bioavailability between 163 fast and 74 slow acetylators have been observed. In plasma of 38,6 % fast acetylators drug concentration 3h after ingestion of a dose did not achieve the concentration of 1 mcg/ml. In plasma of 29,7 % slow acetylators, concentrations of INH 6h after ingestion were higher than 2 mcg/ml.

Key words: tuberculosis, type of INH acetylation, significant differences in bioavailability of INH.

PNEUMONOL. ALERGOL. POL., 2002, 70, 3-4, 180-192

Wstęp Metabolizm głównego leku przeciwprątkowego izoniazydu, polimorfizm jego acetylacji szybkość eliminacji, a co za tym idzie możliwość wywołania efektów toksycznych, jest związana z aktywnością N-acetylotransferazy 2 (NAT 2) (8). Można więc przypuszczać, że typ acetylacji chorego może stanowić czynnik potencjalnego ryzyka związanego z pojawianiem się objawów uszkodzenia wątroby indukowanych przez INH. Badania prowadzone w ubiegłych latach na powyższy temat wyrażały często sprzeczne opinie. W tamtych doświadczeniach rozpatrywano typ acetylacji u ludzi w modelu bimodalnym. W aktualnie prowadzonych badaniach japońskich z zastosowaniem metod biologii molekularnej techniki PCR-RFLP stwierdzono, że trzy mutacje determinują polimorfizm aktywności enzymu NAT 2 (NAT 2*5, NAT 2*6, i NAT 2*7) (20, 23). Ponadto stwierdzono silną korelację pomiędzy genotypem NAT 2* i częstością występowania podwyższonego poziomu transaminaz u chorych leczonych na gruźlicę.

Oznacza to, że badania nad fenotypem acetylacji nie zostały zarzucone, a wprost przeciwnie rozwijają się nadal przy użyciu nowoczesnych technik genotypowania.

1. Celem pracy było zbadanie typu acetylacji u chorych leczonych rutynowo z powodu gruźlicy w IGiCHP w latach 1990-1997
2. Analiza wskaźników acetylacji i biodostępności INH u chorych-szybkich i wolnych acetylatorów

Materiały i metody

Materiał stanowiły surowice 327 chorych na gruźlicę diagnozowanych i leczonych w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w latach 1990-1997. Wśród chorych było 101 kobiet i 136 mężczyzn.

Pobierano 7 ml krwi żyłnej do probówek typu Vacutainer. Krew pozostawiała w temperaturze pokojowej do czasu wytworzenia skrzepu, następnie wirovano ją (3000 g. przez 15 minut), oddzielano surowicę i zamrażano w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do czasu wykonania analizy.

Chorym pobierano 4 próbki krwi w czasie 0, 1, 3 i 6 h podczas ich rutynowego leczenia. Próbki krwi przyjmowano do badań z informacją: nazwisko, wiek chorego, waga ciała w dniu pobrania krwi i stosowana dawka leku. W dniu badania przeliczano podaną dawkę INH na kg m.c. chorego.

Metoda badania stężeń INH i zastosowane kryteria określania typu acetylacji opisano szczegółowo w pracy (1).

Analiza farmakokinetyczna i statystyczna.

Parametry farmakokinetyczne wyliczono w oparciu o otwarty model jednokompartментowy według programu Pharm/PCS na podstawie uzyskanych stężeń INH.

C_{\max} (maksymalne stężenie w mcg/ml) i t_{\max} (czas, po którym osiągnięte jest stężenie maksymalne w godzinach) były wartościami doświadczalnymi, odczytanymi z krzywej stężeń.

AUC (AUC_{0-t} oraz $AUC_{0-\infty}$ całkowite pole pod krzywą zmian stężenia w czasie w mcg/ml/h) wyliczono w programie komputerowym jako sumę trójkątów i trapezów (wg 1.).

Wyliczono również średnią C_{\max} i średnią z t_{\max} . W obliczeniach uwzględniono: średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe, wartości maksymalne i minimalne dla każdego parametru.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników (wartości średnie i SD) przeprowadzano za pomocą programu komputerowego według testu t- Studenta dla par połączonych, analizą wariancji ANOVA stosując przedziały ufności 0,05 i 0,01 (wg 1).

Wyniki

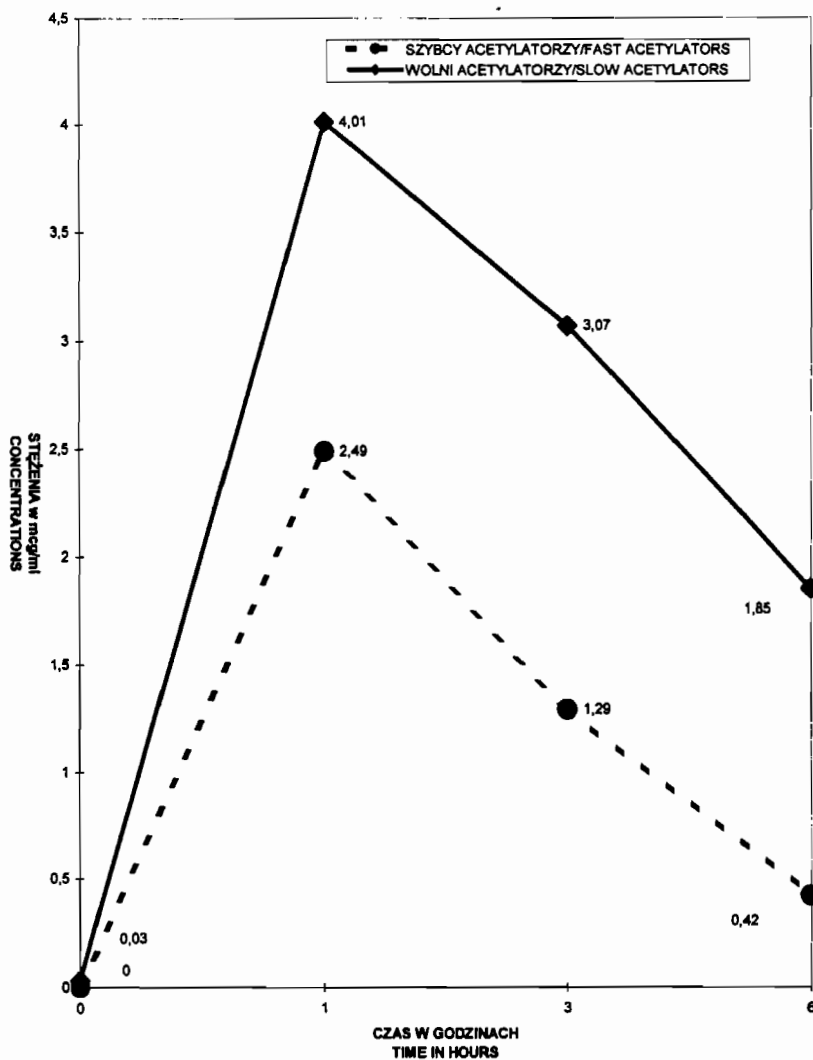
Różnice w biologicznej dostępności INH u szybkich i wolnych acetylatorów.

Na podstawie otrzymanych w badaniach wartości stężeń INH, opisanych kryteriów i wyników analizy do szybkiego typu acetylacji INH (SA) zaliczono 163 osoby (69 %), w tym 66 kobiet (40%) i 97 mężczyzn (60%) w wieku od 19 do 87 lat, (mediana 54 lata). Masa ciała pacjentów wahała się od 36 do 108 kg – średnia waga $59,7 \pm 12,7$ kg. Do wolnego typu acetylacji (WA) zaliczono 74 osoby (31 %) w tym 34 kobiety (46%) i 40 mężczyzn (54%) w wieku od 23 do

85 lat, (mediana 55,5). Masa ciała pacjentów wahała się w tej grupie od 40 do 90 kg – średnia waga $58,8 \pm 11,48$ kg.

Analiza stężeń i wskaźników acetylacji u SA i WA

Analiza stężeń INH u 163 chorych SA i 74 chorych WA otrzymujących zbliżone dawki leku wykazała, że w badanych przedziałach czasu, średnie stężenia leku były u wolnych acetylatorów 2-4 razy wyższe niż u szybkich. W 1 godz od podania wynosiły one 2,49 vs 4,01; w 3 godz. 1,29 vs 3,07; w 6 godz. 0,42 vs 1,85 mcg/ml. ($p < 0,01$). Podobnie, wskaźniki acetylacji i biodostępności były wyższe u WA niż u SA ($p < 0,01$) (Ryc.1 i Tab I.).



Rycina 1. Średnie stężenia INH w surowicy chorych o szybkim i wolnym typie acetylacji.
Figure 1. Mean INH concentration in patients: fast and slow type of acetylation.

Typ acetytacji INH u chorych na gruźlicę

Tabela I Średnie wartości i zakres stężeń INH w surowicy chorych szybkich i wolnych acetylatorów oraz wskaźników acetytacji i biodostępności leku
 Table I Mean values and range of INH concentrations in fast and slow acetylator's serum and INH acetylation and bioavailability indicators

Badane wskaźniki Examined indices	Typ acetytacji Type of acetylation		
	SA /fast	WA / slow	p
Średnie stężenia leku w surowicy w mcg/ml (zakres) Mean serum drug's concentration (range)			
1h	2,49 (6,4-0,23)	4,0 (10-0,4)	<0,01
3h	1,29 (3,5-0,14)	3,1 (9,2-1,4)	<0,01
6h	0,42 (2,3-0,0)	1,85 (7-0,7)	<0,01
Wskaźniki acetytacji / acetylation indices			
I ₃	0,4 (0,84-0,13)	0,78 (1,63-0,36)	<0,01
C ₆	0,42 (2,3-0,0)	1,85 (7,0-0,68)	<0,01
Wskaźniki biodostępności /bioavailability indices			
C _{max} mcg/ml	2,59	4,28	<0,01
AUC mcg/ml/h	7,59	17,10	<0,01
Podana dawka INH mg/kgm.c. / INH dose per kg b.w.			
x, zakres / mean range	4,76 (7,84-1,33)	4,87 (9,38-1,96)	NS

Użyte dwa kryteria wyznaczania fenotypu acetytacji INH – I₃ i C₆ w różnych odsetkach umożliwiły określenie typu acetytacji. Wskaźnik inaktywacji I₃ pozwolił zidentyfikować 95% SA, i 73% WA. Wartość graniczna C₆ pozwoliła w 83% ustalić szybki typ acetytacji, a w 99% wolny typ acetytacji. (Tab.II.)

Tabela II Przydatność różnych wskaźników do określania fenotypu acetytacji INH
 Table II Aptitude of different indices for phenotype acetylator's determination

Typ acetytacji Type of acetylation	Wskaźniki Indices			
	tylko I ₃ / only I ₃ ≤0,65 (SA) >0,65 (WA)		tylko C ₆ / only C ₆ <0,8 mcg/ml (SA) > 0,8 mcg/ml (WA)	
	Liczba przypadków / No of cases	%	Liczba przypadków No of cases	%
SA	175	(95)	152	(83)
WA	67	(73)	91	(99)

I₃ – indeks acetytacji. Przyjęto, że 0,65 rozróżnia wolnych (WA) i szybkich acetylatorów
 I₃ – index of acetylation. Value of 0,65 is treated as limit differntiating slow and fast acetylators.
 C₆ – stężenie INH po 6 godzinach po podaniu leku. Przyjęto, że wartością graniczną jest 0,8 mcg/ml.
 C₆ – concentration of INH in serum after 6 hours after ingestion value 0,8 mcg is limit differntiating slow and fast acetylators.

Opierając się na kryteriach Vivien i wsp. (36), wg których do działania przeciwpłatkowego konieczne jest osiągnięcie w surowicy stężenia, co najmniej 1 mcg INH/ml w 3h od podania leku stwierdzono, że u 63 (38,6%) chorych z szybkim typem acetytacji takie wartości nie zostały osiągnięte, natomiast u 25 chorych nie osiągnęły nawet wartości 0,5 mcg/ml. (Tab III i IV.)

Tabela III Stężenia INH (mcg/ml) u chorych o szybkim typie acetytacji, u których $C_3 < 0,5$ mcg/ml.
 Table III INH concentration (mcg/ml) in patients, fast acetylators, with $C_3 < 0,5$ mcg/ml.

Chory LP Patient no	Płeć Sex	Stężenia INH w czasie (godz) INH concentration in time units (hours)			Dawka INH mg/kg.c. dose INH	I_3
		1	3	6		
1	K	1,05	0,14	0	5,17	0,14
2	M	1,58	0,2	0	3,73	0,21
3	K	1,7	0,21	0	4,55	0,17
4	M	1,4	0,22	0	2,78	0,29
5	K	1,1	0,26	0	2,78	0,31
6	M	2,6	0,28	0	3,81	0,23
7	M	1,85	0,28	0	4,05	0,22
8	M	0,34	0,3	0,24	1,81	0,5
9	M	1,3	0,3	0	3,33	0,27
10	K	1,15	0,33	0	3,33	0,27
11	K	2,8	0,35	0	4,29	0,22
12	M	1,1	0,36	0	2,78	0,34
13	M	0,82	0,37	0	1,33	0,72
14	K	0,63	0,39	0,28	3,64	0,27
15	M	1,9	0,39	0	4,29	0,23
16	K	1,3	0,42	0	3,41	0,3
17	M	1,8	0,42	0	1,99	0,51
18	M	0,47	0,43	0	3,49	0,29
19	K	1,5	0,44	0,22	5	0,2
20	M	3,8	0,45	0,29	4,9	0,21
21	M	0,99	0,45	0,24	4,59	0,22
22	M	1,7	0,46	0	4,21	0,21
23	M	2,8	0,46	0	2,25	0,47
24	K	0,93	0,49	0	4,84	0,22
25	M	1,2	0,5	0	4,62	0,21

C_3 – stężenie leku w 3 godz po podaniu INH

C_3 – concentration of INH in serum after 3 hours.

Typ acetylacji INH u chorych na gruźlicę

Tabela IV. Stężenia INH (mcg/ml) chorych o szybkim typie acetylacji, u których $1 > C_3 > 0,5 \text{ mcg/ml}$.
 Table IV. INH concentration in patients, fast acetylators, with $1 > C_3 > 0,5 \text{ mcg/ml}$.

Chory LP Patient no	Płeć Sex	Stężenia INH w czasie (godz) INH concentration in time units (hours)			Dawka INH mg/kg.c. dose INH	I_3
		1	3	6		
		1	M	0,4		
2	K	1,25	0,58	0	3,8	0,31
3	K	1,4	0,6	0,4	2,95	0,41
4	K	2,5	0,62	0	4,88	0,25
5	K	3,3	0,62	0	5,66	0,22
6	K	2,2	0,63	0	6,38	0,19
7	M	1,8	0,64	0,3	5,24	0,23
8	K	1	0,66	0	5,17	0,24
9	M	0,58	0,66	0,17	3,57	0,35
10	M	1,7	0,66	0,54	2,86	0,43
11	K	2	0,68	0,3	4,08	0,31
12	M	1,5	0,68	0,49	3,28	0,39
13	M	1,25	0,7	0,17	4,48	0,13
14	M	2,9	0,72	0	5,75	0,23
15	K	1,7	0,77	0,55	2,6	0,53
16	M	2,3	0,78	0	6,82	0,2
17	K	3	0,8	0,54	3,33	0,47
18	M	3,2	0,8	0	4,29	0,32
19	M	1,2	0,8	0,18	3,92	0,36
20	M	2,3	0,8	0	5,3	0,31
21	K	1,1	0,82	0,36	5,63	0,25
22	M	2,4	0,86	0,2	6,06	0,24
23	M	2,35	0,86	0	4,55	0,32
24	M	3,4	0,88	0	5,66	0,26
25	K	1,9	0,9	0,71	4,84	0,3
26	K	3,3	0,9	0,18	5,26	0,17
27	K	1,5	0,9	0,46	5,66	0,26
28	M	3,1	0,9	0,37	3,08	0,48
29	M	1,7	0,9	0	3,33	0,45
30	M	0,23	0,9	0,36	4,62	0,54
31	M	2	0,92	0,64	4,62	0,33
32	K	1,4	0,94	0,76	5,2	0,3
33	M	2,64	0,94	0,33	5,62	0,27
34	M	2,2	0,95	0,9	5	0,31
35	M	4	0,96	0	2,56	0,6
36	M	1,7	0,98	0,18	4,8	0,32
37	M	0,58	0,98	0,45	3,39	0,46
38	M	2,9	0,98	0	5,97	0,26

Opierając się na kryteriach tych samych autorów (36), wg których wykrywane stężenie 2 mcg INH/ml surowicy w 6 h od podania dawki terapeutycznej (C_6) u WA może być związane z działaniami ubocznymi stwierdzono, że u 22 chorych (33% badanych), takie stężenia leku zostały przekroczone. (Tab.V.)

Tabela V Stężenia INH (mcg/ml) u chorych o wolnym typie acetylacji u których $C_6 > 2$ mcg/ml.
Table V INH concentration in patients of slow type of acetylation, which have $C_6 > 2$ mcg/ml.

Chory LP Patient no	Płeć Sex	Stężenia INH w czasie (godz) INH concentration in time units (hours)			Dawka INH mg/kg.m.c. dose of INH (mg per kg b.w.)	I_3
		1	3	6		
		1	K	1,3		
2	K	7,2	5	2,7	5,11	0,73
3	K	6,3	3	2,4	6,82	0,53
4	K	7,4	4,1	2,6	6,45	0,72
5	K	4,6	3,7	2,8	5,17	0,84
6	K	3	2,6	2,4	2,78	1,15
7	K	5	3,2	2,6	5	0,76
8	K	1,7	3,4	2,9	4,26	0,93
9	K	6,2	3,4	2,1	4,32	0,74
10	K	5,49	4,74	2,28	5,75	0,93
11	K	10	6,8	2,5	7,5	0,98
12	K	5,4	3,6	2,6	4,88	0,86
13	M	3,8	3,5	3,3	4,3	0,95
14	M	1,4	3,7	4	6,36	0,67
15	M	7	9,2	7	6	1,63
16	M	2,7	3,7	2,3	4,69	0,9
17	M	2,8	3	2,4	3,37	1,06
18	M	4,2	3,6	2,2	6,58	0,63
19	M	2,8	3,3	2,6	4,69	0,83
20	M	5,49	3,05	2,11	4,69	0,78
21	M	6,36	3,8	2,28	7,06	0,62
22	M	1,5	4,6	2,7	5,19	1

Dyskusja

INH ulega w wątrobie procesowi acetylacji w sposób polimorficzny, a dwa wyraźnie odróżniające się typy, SA i WA osiągają po jednakowej dawce, różne stężenia leku w surowicy. Również proces eliminacji leku jest u WA znacznie dłuższy niż u SA (1).

Zjawisko acetylacji INH było znane od dawna i intensywnie badane już w pierwszych latach stosowania leku w gruźlicy, zarówno w aspekcie praktycznym jak i poznawczym. Tak drastycznie determinowało ono niskie stężenia izoniazydu w surowicy chorych, że nazwane zostało „inaktywacją leku”. Rożniewicz (27) nazwał chorych z wysokim stężeniem INH w surowicy osobnikami „normalnymi”, zaś z niskim stężeniem – „inaktywatorami”.

Obecnie, kiedy gruźlica pozostaje nadal poważnym zagrożeniem zdrowotnym świata, a ponadto pojawiła się gruźlica lekooporna, wśród analizy wielu różnych przyczyn tej sytuacji nie należy zaniedbywać fenomenu acetytacji, determinującego często niedostateczne stężenie INH u szybkich acetylatorów.

W Raporcie Ekspertów WHO w 1973 r. podkreślono rolę oznaczania fenotypu acetytacji w przypadku stosowania leków, ulegających biotransformacji pod wpływem enzymu N-acetylotransferazy w wątrobie (26).

W 1994 r. Międzynarodowa Unia Przeciwgruźlicza zaleciła szczegółowe badania nad częstością występowania lekooporności pierwotnej i wtórnej u chorych na gruźlicę w różnych krajach świata. Aktualnie, opublikowane dane dotyczące 120 krajów świadczą, że największa liczba przypadków gruźlicy lekoopornej na świecie dotyczy izoniazylu.

Badania dotyczące epidemiologii gruźlicy lekoopornej w Polsce przeprowadzone w ramach w/w programu wykazały tą samą prawidłowość (38)

We własnych badaniach, wśród 237 chorych leczonych w IGiChP dominowali SA (69%). Wyniki nasze odbiegają od innych badań przeprowadzonych w Polsce. Pawłowska i wsp. (25) stwierdziły przewagę wolnych acetylatorów (59,6 %) nad szybkimi acetylatorami (40,4 %). wśród 300 chorych na gruźlicę. Należy zauważyć, że autorki badały typ acetytacji u chorych z nowo wykrytą gruźlicą płuc, więc stosunek typów acetytacji mógł w tej grupie być zbliżony do tego jaki obserwowano wielu autorów u zdrowych ludzi w badaniach populacyjnych.

Podobne odsetki WA zidentyfikowali Czaplinska-Jóźwiak i wsp. (7) u 54% wśród 98 chorych na nowo wykrytą gruźlicę płuc, Viznerowa i wsp. (37) u 58 % wśród 421 chorych, Venkatarman i wsp. (35) u 54 % wśród 124 badanych chorych ze świeżą gruźlicą płuc. Wśród 130 szwedzkich chorych na gruźlicę, wolny typ acetytacji stwierdzono jeszcze częściej bo u 75 % chorych (15). Tak duży odsetek wolnego typu acetytacji stwierdzony w tych badaniach jest nieporównywalny z badaniami innych autorów europejskich dotyczącymi rasy kaukaskiej białej (36,37) jest natomiast podobny do badań skandynawskich (33).

Hanngren i wsp. (15) zwracają uwagę, że w różnych populacjach mogą istnieć etniczne odmienności determinujące różnice w metabolizowaniu leków i należy zachować ostrożność w ekstrapolowaniu kliniczno-farmakologicznych danych z jednego kraju do drugiego.

Materiał zbadany i przedstawiony w niniejszej pracy pochodzi od chorych hospitalizowanych w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc, do którego na ogół trafiają przypadki trudne do diagnostyki i leczenia oraz chorzy-chronicy z niepowodzeniami w poprzednich kuracjach przeciwprątkowych.

Ustalenie na podstawie piśmiennictwa klinicznych skutków osobniczo odmiennego metabolizmu INH jest niezwykle trudne ze względu na niemożliwość porównania eksperymentów i obserwacji klinicznych u różnych autorów. Do określenia typu acetytacji używane są różne dawki testowe, różny odstęp czasu między podaniem leku a pobraniem krwi, różne są metody badania stężenia czynnego INH, które w metodach biologicznych mają swoje, często subtelne modyfikacje i wreszcie różne przedziały kwalifikacyjne w podziale na szybkich i wolnych acetylatorów. Różny jest też materiał kliniczny, różne leki są kojarzone z INH oraz różny jest udział chorych z prątkami opornymi na INH.

Middlebrook i Dressler (21) obserwowali szybkie powstawanie lekooporności prątków na INH u SA. Natomiast Schmiedel (31) i wsp. opisywali przypadki chorych z szybkim typem acetylacji, u których prątki gruźlicy zachowywały stale wrażliwość na lek.

Według autorów francuskich (36), chorzy SA z powodu obniżonej biodostępności INH są „niedodawkowani” i wykazują gorsze wyniki leczenia niż WA. Określenie modelu inaktywacji jest z punktu widzenia klinicznego bardzo ważnym badaniem, cenniejszym nawet niż wykonanie testu lekowrażliwości na INH.

Różni autorzy (12, 16, 30, 36) stwierdzili u WA wcześniejsze odprątkowanie i lepsze wyniki leczenia gruźlicy w porównaniu z S.A.

INH jest bardzo szybko eliminowany z surowicy SA i po około 4-5 h od podania stwierdza się bardzo małe jego stężenia lub nie stwierdza się go w ogóle. Podobne zjawisko obserwowano u zdrowych ochotników (1).

Czy są i jakie istnieją możliwości podwyższenia stężeń INH i opóźnienia jego eliminacji z ustroju chorych – szybkich acetylatorów ?

Wielu badaczy, posługując się różnymi metodami, stwierdziło, że równoczesne podawanie PAS nawet 2 – 3 x podwyższa stężenie czynnego INH w surowicy.

Znaczenie PAS w leczeniu gruźlicy wiązało się głównie z farmakologiczną „ochroną” poprzez opóźnienie acetylacji INH (13). Czaplinska-Jóźwiak i wsp. (7) podjęli próbę zwiększenia dawki leku u chorych na gruźlicę SA, tak aby w 3 h od podania osiągnąć w surowicy stężenie 1,65 mcg/ml. Po 3 miesiącach leczenia uzyskali odprątkowanie u 80 % chorych, podobnie jak u wolnych acetylatorów.

Badania przeprowadzone w południowych Indiach oceniające skuteczność leczenia zestawem leków INH + SM podawanych 2 razy w tygodniu nie wykazały różnic w szybkości odprątkowania wolnych i szybkich acetylatorów. Jednak, gdy leki te podawano 1 raz w tygodniu, wyniki były gorsze u SA (34).

Bednarski (2) przedstawił chorego na gruźlicę płuc, który jak się okazało po 6 miesięcznym, bezskutecznym leczeniu przeciwprątkowym, szybko acetylował INH. Leczenie, które przez 2 miesiące odbywało się codziennie RMP, PZA i INH, a następnie przez 4 miesiące RMP i INH 2 razy tygodniowo, nie spowodowało odprątkowania chorego. W 3 miesiącu leczenia stwierdzono w płwocinie prątki gruźlicy odporne na INH. Odprątkowanie nastąpiło dopiero po wyłączeniu INH i leczeniu skojarzeniem RMP, PZA, SM i EMB. Zdaniem autora niedostateczne stężenia INH w surowicy pacjenta, zwłaszcza gdy podawano lek 2 razy tygodniowo, spowodowały wytworzenie się lekooporności.

Badania prowadzone przez Gow i wsp. (14) nad skutecznością leczenia 530 przypadków gruźlicy układu moczowo-płciowego związaną z typem acetylacji chorych nie wykazały ewidentnego związku pomiędzy dwoma analizowanymi zjawiskami. Chorzy byli leczeni według różnych schematów, INH, SM, PZA, tiosemikarbazonem, wiomycyną, codziennie, dwa razy i jeden raz w tygodniu. Nawroty choroby wystąpiły u około 10 % chorych. Autorzy pracy sugerowali, że wiarygodne stwierdzenie braku takiego związku wymaga dalszych, wieloosrodkowych badań.

Opierając się na kryteriach Vivien i wsp., (36) wg których do działania przeciwprątkowego konieczne jest w surowicy stężenie INH co najmniej 1 mcg/ml

w 3 h od podania leku stwierdzono, że wśród badanych przez nas chorych aż u 63 SA (38,5% wszystkich SA) nie osiągnięto tego stężenia. Natomiast u 25 chorych nie osiągnięto nawet wartości 0,5 mcg/ml.

Nie badano wpływu "niedodawkowania" na przebieg choroby, szybkość odprątkowania i ewentualne pojawienie się INH oporności. Jednak z wrywkowych, własnych analiz wynika, że u 15 chorych leczonych w IGiCHP którzy wydalali prątki odporne na INH – 12 chorych (80 %) należało do SA

Według części badaczy u chorych, ze szczególnie wzmożoną acetylacją wskazane jest podawanie związków tego leku o przedłużonym działaniu. Do najpopularniejszych preparatów należy INH-matrix, badany i stosowany u chorych również w Polsce. Niestety, w dostępnej literaturze polskiej nie znaleziono publikacji dotyczącej wyników stosowania takiego preparatu izoniazydu. INH-matrix był dokładnie badany przez Ellarda (9) i Tripathy (34) zarówno pod względem skuteczności, stężeń, szybkości pojawiania się metabolitów jak i działań ubocznych. Wykazano, że szybcy acetylatorzy powinni otrzymywać INH-matrix w dawce 30 mg/kg oraz, że monoacetylohydrazyna częściowo antagonizuje z przeciwpłątkowym działaniem INH i działanie to jest bardziej wyraźne, niż przy stosowaniu INH – preparatu klasycznego.

Wielu autorów podkreśla, że odmienności w metabolizowaniu INH determinujące stężenia leku i jego metabolitów wywierają wpływ na dynamikę leczenia gruźlicy i występowanie objawów ubocznych u chorych. Z doniesień wynika, że u WA znacznie częściej występują objawy niepożądane związane z kumulacją i toksycznym działaniem leków łącznie z występowaniem zaburzeń neuropsychicznych i pokarmowych w czasie leczenia INH (28). Podczas leczenia stwierdzano zwiększenie aktywności aminotransferaz w surowicy, wskazujące na uszkodzenie wątroby przez toksyczne metabolity INH (15). Poza tym uważa się, że INH tworzy kompleks hydrazonowy z pirydoksalem, co prowadzi do szybkiej eliminacji witaminy B₆, zwłaszcza gdy jednocześnie podawano PAS.

Podawanie witaminy B₆ podczas stosowania INH chroni przed wystąpieniem objawów ze strony układu nerwowego. W klasycznej pracy Devadatta z 1960 r. wykazano występowanie neuropatii u 20 % WA chorych na gruźlicę i tylko u 3% SA (wg. 17). Dane te potwierdził Ellard w 1976 r. (10). Piśmiennictwo na temat związku między uszkodzeniem wątroby a stosowaniem INH jest bardzo obszerne. Autorzy większości prac obserwowali je u WA i tylko nieliczni u SA. U chorych z oddziałów psychiatrycznych, u których stosowano 1-roczną profilaktykę INH, objawy hepatotoksyczne obserwowano u 10-20 %, głównie SA (3). Prace te są krytykowane przez innych autorów (4, 11). Sauvaget i wsp. (29) obserwowali objawy hepatotoksyczne głównie u wolnych acetylatorów, u których w surowicy w 3 h od podania stwierdzali stężenia leku wyższe niż 2 mcg/ml.

W badaniach Kutta i wsp. (18) mała tolerancja dwufenylohydantoiny obserwowana u chorych na padaczkę i gruźlicę dotyczyła tylko wolnych acetylatorów. Autorzy postulują, aby u tych chorych rutynowo oznaczać typ acetylacji i u WA redukować dawkę INH.

Zaobserwowano również u leczonych RMP i INH podwyższoną aktywność transaminaz w jednakowym stopniu u chorych należących do obu typów acety-

lacji. Jednak podwyższona aktywność transaminaz i wyższe stężenia bilirubiny, występowały częściej u WA. Są oni bardziej narażeni na ryzyko wystąpienia objawów hepatotoksyczności po RMP (8, 28).

Jednym z metabolitów izoniazydu o dużym znaczeniu jest acetylohydrazyna powstająca w wyniku hydrolizy acetyloizoniazydu. Jest ona częściowo metabolizowana do dwuacetylohydrazyny przy udziale N-acetylotransferazy, a częściowo prawdopodobnie przez układ mikrosomalny oksydaz, do metabolitów powodujących toksyczne uszkodzenie wątroby (5). Z powodu polimorfizmu acetylacji dwuacetylohydrazyny jej wydalanie, podobnie jak INH, jest u SA większe niż u WA.

Oprócz szybkości acetylacji substancji leczniczych na rozwój polekowych objawów niepożądanych wpływa również predyspozycja genetyczna do ujawnienia się niektórych chorób uwarunkowanych fenotypem acetylacji. Stwierdzono np, że u WA znacznie częściej występuje samoistny jak i polekowy toczeń rumieniowaty (19) oraz łuszczyca (32).

Badania prowadzone przez Patkowskiego i wsp. (24) wykazały, że wśród alergików istnieje przewaga WA. Wszyscy przebadani przez autorów chorzy na astmę atopową należeli do fenotypu wolnej acetylacji.

Cofta i wsp. (6) stwierdzili statystycznie znamienne, częstsze występowanie fenotypu wolnej acetylacji wśród chorych na raka płuca w porównaniu z grupą kontrolną. Kiełczewska-Mrozikiewicz i wsp. (17) stwierdzili wolny typ acetylacji u 71 % chorych na cukrzycę insulinozależną i z objawami retinopatii. Postawili oni hipotezę, że neuropatie występują znacznie częściej u chorych na cukrzycę, u których stwierdza się wolny typ acetylacji (17).

Z przedstawionych danych wynika, jak duże praktyczne znaczenie ma określenie fenotypu acetylacji w wielu jednostkach chorobowych, a w leczeniu gruźlicy wydaje się ono bezsporne.

W analizowaniu własnego materiału chorych na gruźlicę zastosowano 2 kryteria: indeks acetylacji I_3 (wartość graniczna 0,65) i stężenie resztkowe w 6 h (wartość graniczna 0,8 mcg/ml).

Wskaźnik C_6 u chorych pozwolił zidentyfikować 83% szybkich acetylatorów. I_3 jako wskaźnik był przydatny w u 95% szybkich acetylatorów.

W przypadku odróżnienia wolnego typu acetylacji, zastosowana wartość graniczna I_3 pozwoliła zidentyfikować 73 % chorych na gruźlicę, wartość graniczna C_6 – 99 % chorych.

Nie stosowano wskaźnika $t_{0,5}$ u chorych, ze względu na niewystarczająco częste pobieranie próbek krwi od nich. Wartości $t_{0,5}$ wyliczone z tak niewielu próbek surowicy mogą być obarczone znacznym błędem.

Uzyskanie pełnej informacji o wartościach stężeń INH, typie acetylacji i stężeniach resztkowych jest możliwe po pobraniu krwi w czasie: przed podaniem leku w 1,3 i 6 h po podaniu leku. Do obliczenia indeksu acetylacji konieczna jest informacja o stężeniu osiąganym po 3 h, dokładna dawka leku i masa ciała chorego. Stężenie INH oznaczone w próbce krwi pobranej w 6 h również bardzo dobrze rozróżnia typ acetylacji.

W celu sprawdzenia czy chory przyjmuje lek, należy pobrać krew po 1 h.

Wnioski

1. Wśród 237 leczonych na gruźlicę w IGiChP dominował fenotyp szybkiej acetylacji. Stwierdzono go u 68,8 % chorych.
2. Zastosowanie oddzielnie 2 różnych kryteriów acetylacji I₃ i C₆ umożliwiło u chorych odróżnienie 83-95 % szybkich i 73-99 % wolnych acetylatorów.
3. Stwierdzono różnice w biodostępności INH u chorych, szybkich i wolnych acetylatorów.
4. U 1/3 chorych z szybkim fenotypem acetylacji stężenia po 3 h od podania dawki leczniczej nie osiągały w surowicy wartości 1 mcg/ml.
5. U 1/3 chorych z wolnym typem acetylacji stężenia po 6 h od podania dawki leczniczej przekraczały wartość 2 mcg/ml.

Piśmiennictwo

- 1 Augustynowicz-Kopeć E., Zwolska Z., Niemirowska-Mikulska H.: Biodostępność izoniazidu u zdrowych ochotników- szbkich i wolnych acetylatorów INH. *Pneum i Alerg Polska* 2001, 70, 3-4, 52.
- 2 Bednarski Z.: Trudności w leczeniu gruźlicy płuc u chorego szybko inaktywującego izoniazyd (INH). *Wiad. Lek.* 1984, 37, 12, 937.
- 3 Bernstein R.E.: Letter to the editor. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1981, 121, 429
- 4 Brown A.: Risks of isoniazid therapy. *Ann. Int. Med.* 1976, 86, 6, 828.
- 5 Clark D.: Genetically determined variability in acetylation and oxidation. Therapeutic implications. *Drugs* 1985, 29, 342.
- 6 Cofta Sz., Łowicki Z., Młynarczyk W.: Fenotyp acetylacji u chorych na raka płuca. *Pneum. Alerg. Pol.* 1995, 63, 7-8, 407.
- 7 Czaplńska-Jóźwik E., Szymański A., Dutkiewicz J.: Wskaźnik inaktywacji INH oznaczony metodą biologiczną i jego zastosowanie w monitorowaniu leczenia przeciwprątkowego. *Pneum. Pol.* 1986, 40, 12, 535.
- 8 Deguchi T., Mashimo M., Suzuki T.: Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem.* 1990, 265, 12757-12760
- 9 Ellard G.A.: A slow-release preparation of isoniazid: Pharmacological aspects. *Bull. Int. Union Tuberc.* 1976, 51, 143.
- 10 Ellard G.A.: Variations between individuals and populations in the acetylation of isoniazid and its significance for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin. Pharmac. Ther.* 1976, 19, 5, 610.
- 11 Ellard G.A., Mitchison D.A., Girling D.J., Nunn A.J., Fox W.: The hepatotoxicity of isoniazid among rapid and slow acetylators of the drug. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1978, 118, 628.
- 12 Evans D.A.P., Manley K.A., Mc Kusick V.: Genetic control of isoniazid metabolism in man. *Brit. Med. J.* 1960, 2, 485.
- 13 Gangadharam P.R.I., Devadatta S., Fox W., Narayanan N.C., Selkon J.B.: Rate of inactivation of isoniazid in South Indian patients with pulmonary tuberculosis. Serum concentrations of isoniazid, produced by three regimens of isoniazid alone and one of isoniazid plus PAS. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 1961, 25, 793.
- 14 Gow J.G., Evans D.A.P.: A study of the influence of the isoniazid inactivator phenotype on reversion in genito-urinary tuberculosis. *Tubercle, Lond.* 1964, 45, 136.
- 15 Hanngren A., Borga O., Sjöqvist F.: Inactivation of isoniazid (INH) in swedish tuberculosis patients before and during treatment with para-aminosalicylic acid (PAS). *Scand. J. Resp. Dis.* 1970, 51, 61.
- 16 Iwainy H., Kauffmann G., Siegel D., Gerscher Ch.: Über den Einfluß des INH-Stoffwechsels auf die Benandlung der lungen-tuberkulose. *Beit. Klin. Tuberk.* 1960, 122, 324.
- 17 Kielczewska-Mrozikiewicz D., Łowicki Z., Mrozikiewicz P., Chmara E.: Fenotyp acetylacji u chorych z cukrzycą insulinozależną powikłaną retinopatią. *Probl. Ter. Mon.* 1993, 4, 225.
- 18 Kutt H., Brennan R., Deheja H., Verebely K.: Diphenylhydantoin intoxication. A complication of Isoniazid Therapy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1970, 101, 377.
- 19 Larson R., Karlsson E., Molin L.: Spontaneous systemic lupus erythematosus and acetylator phenotype. *Acta Med. Scand.* 1977, 201, 3, 223.

- 20 Mashimo M., Suzuki T., Abe M., Deguchi T. : Molecular genotyping of N-acetylation polymorphism to predict phenotype. *Hum. Genet.* 1992, 90, 139-143
- 21 Middlebrook G., Dressler S. : How much INH reaches the tubercle bacilli in your patients ? (Broszura z National Jewish Hospital, Denver) cyt. za Roźnieckim, 1960.
- 22 Modai J., Coulaud J.P., Vivien J.M., Berthelot G., Bergogne-Berezin E. : Influence de la rifampicine sur le métabolisme de l'isoniazide. *Nouv. Presse med.* 1978, 7, 1263.
- 23 Ohno M., Yamaguchi I., Yamamoto I. i wsp. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *Int J.Tuberc Lung Dis* 2000 4(3); 256-261
- 24 Patkowski J., Orzechowska-Juzwenko K., Milejski P., Malolepszy J., Nittner-Marszalska M. : Fenotyp acetylacji w chorobach alergicznych i w nadwrażliwości na leki. *Pol. Tyg. Lek.* 1992, 47, 38, 846.
- 25 Pawłowska I., Rakowska I. : Oznaczanie fenotypu inaktywacji INH u chorych na gruźlicę płuc metoda pośrednią na modelu sulfametazyny. *Pneum. Pol.* 1978, 46, 605-612.
- 26 Pharmacogenetics : Report of WHO Scientific Group. *Wld. Hlth. Org. Technical Report Series* 1973, 524, 19.
- 27 Roźniecki J. : O istocie i skutkach klinicznych osobniczo odmiennej inaktywacji INH u ustroju ludzkim. *Gruźlica* 1961, 29, 949.
- 28 Satinder L.A.L., Singhal S.N., Burley D.M., Crossley G. : Effect of Rifampicin and Isoniazid on Liver Function. *Brit. Med. J.* 1972, 1, 148.
- 29 Sauvaget J., Sainte-Laudy J., Canavate A. : Acquisitions récentes sur le métabolisme de l'isoniazide et de la rifampicine. Leurs conséquences thérapeutiques. *Pouman* 1979, 35, 287.
- 30 Schmiedel A. : Die hochgradige Isoniazid Inaktiveierung im Körper , ihre Häufigkeit, ihr wesen und klinische Bedeutung. *Beit. Klin. Tuberk.* 1958, 119, 206
- 31 Schmiedel A. : Weitere Untersuchungen über das Wesen und die klinische Bedeutung der hochgradigen Isoniazidinaktiveierung im Körper. *Beit. Klin. Tuberk.* 1960, 122, 232.
- 32 Skretekiewicz J. : Znaczenie fenotypu acetylacji dla dawkowania niektórych leków. *Przeg. Lek.* 1981, 38, 2, 307.
- 33 Tiitinen H., Mattila M.J., Eriksson A.W. : Comparison of the isoniazid inactivation in Finns and Lapps. *Ann. Med. intern. Fenn.* 1968, 57, 161.
- 34 Tripathy S A : A slow-release preparation of isoniazid therapeutic efficacy and adverse side effects. *Bull. Int. Union Tuberc.* 1976, 51, 133.
- 35 Venkatarman P., Menon N.K., Nair N.G.K., i wsp. : Classification of subjects as slow or rapid inactivators of isoniazid, based on the ratio of the urinary excretion of acetylisoniazid to isoniazid. *Tubercle* 1972, 53, 84.
- 36 Vivien J.N., Thibier R., Lepeule A. : La pharmacocinetique de l'isoniazide dans la race blanche. *Rev. Fr. Mal. Respir.* 1973, 1, 5-6, 753.
- 37 Viznerova A., Slavikova Z., Ellard G.A. : The determination of the acetylator phenotype of tuberculosis patients in Chechoslovakia using sulphadimidine. *Tubercle* 1973, 54, 67.
- 38 Zwolska Z., Augustynowicz-Kopeć E., Klatt M. : Primary and acquired drug resistance in Polish tuberculosis patients: results of a study of a national drug resistance surveillance programme. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000, 4 (9): 832-838.

Wpłynęła: 10.10.2001