

# ارتباط غلظت ایزونیازید و آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز با سمیت کبدی ناشی از داروی ضد سل

نصیر پورمحمدی<sup>۱</sup>، میهن پورعبدالله توتکابنی<sup>۲</sup>، نسیم حیاتی رودباری<sup>۱</sup>، پیام طبرسی<sup>۳</sup>،  
شادی بنی‌اسدی<sup>۴\*</sup>

- (۱) گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
- (۲) آزمایشگاه پزشکی مولکولی، گروه آسیب‌شناسی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران
- (۳) مرکز تحقیقات سل بالینی و اپیدمیولوژی، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران
- (۴) مرکز تحقیقات بیماری‌های نای، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، مرکز آموزشی، پژوهشی و درمانی سل و بیماری‌های ریوی بیمارستان دکتر مسیح دانشوری، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

## چکیده:

سل یک بیماری عفونی شایع و گاه کشنده است. سمیت کبدی ناشی از داروهای ضد سل در بیماران از مهمترین عوارض این داروها است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین غلظت پلاسمایی ایزونیازید و گلوکاتایون اس-ترانسفراز با سمیت کبدی ناشی از داروهای ضد سل بود. ۱۲۰ بیمار مبتلا به سل ریوی به روش مقطعی با ترکیب دوز ثابت داروهای ضد سل در تهران از مهر ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۴۰۱ تحت درمان قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری غلظت پلاسمایی ایزونیازید و استیل ایزونیازید از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون t دو نمونه مستقل، آزمون مجذور کای و ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معناداری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. ۴۰ بیمار گروه سمیت کبدی و بقیه را گروه بدون سمیت کبدی تشکیل دادند. نسبت شانس ابتلا زنان به سمیت کبدی دو برابر مردان بود. هرچند سن در مقایسه این دو گروه تفاوت معناداری نداشت اما در گروه با سمیت کبدی اندکی بیشتر مشاهده شد. میانگین غلظت پلاسمایی ایزونیازید و گلوکاتایون اس-ترانسفراز در گروه با سمیت کبدی به طور معناداری نسبت به گروه بدون سمیت کبدی بالاتر بود اما میانگین غلظت پلاسمایی استیل ایزونیازید و نسبت استیل ایزونیازید به ایزونیازید به طور معناداری در گروه بدون سمیت کبدی نسبت به گروه با سمیت کبدی بالاتر بود ( $P < 0/001$ ). یک همبستگی مستقیم و متوسط بین غلظت پلاسمایی داروی ایزونیازید و فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز وجود داشت ( $r = 0/667$ ,  $P < 0/001$ ). بیماران دارای غلظت پلاسمایی بالای ایزونیازید احتمال فعالیت گلوکاتایون اس-ترانسفراز بالاتر و همچنین خطر سمیت کبدی را خواهند داشت. بنابراین سنجش گلوکاتایون اس-ترانسفراز در ترکیب با تست‌های کبدی به همراه تعیین غلظت ایزونیازید می‌تواند در شناسایی و درمان بیماران مبتلا به سل کمک شایانی به عمل آورد.

**واژگان کلیدی:** سمیت کبدی، سل، ایزونیازید، گلوکاتایون اس-ترانسفراز

\* نویسنده مسئول:

دکتر شادی بنی‌اسدی، مرکز تحقیقات بیماری‌های نای، پژوهشکده سل و بیماری‌های ریوی، بیمارستان مسیح دانشوری، دارآباد، نیاوران، تهران، ایران، کد پستی: ۱۹۵۶۹-۴۴۴۱۳، پست الکترونیک: [sbaniasadi@yahoo.com](mailto:sbaniasadi@yahoo.com)

## مقدمه:

سل<sup>۱</sup> یک بیماری مسری و یکی از ۱۰ علت اصلی مرگ در سراسر جهان توسط یک عامل عفونی می‌باشد. موارد ابتلا در سال ۲۰۱۹ حدود ۱۰ میلیون نفر بود که ۱/۴ میلیون نفر بعلت این بیماری فوت کردند [۱]. از مهمترین عوامل در بقای بیماران سل و درمان آن‌ها، می‌توان از مقاومت در برابر داروهای ضد سل و عوارض سمیت کبدی این داروها نام برد [۲]. ایزونیاژید<sup>۲</sup>، ریفامپیسین<sup>۳</sup>، پیرازینامید<sup>۴</sup> و اتامبوتول<sup>۵</sup> خط اول درمان سل را تشکیل می‌دهند [۳].

ایزونیاژید یک داروی ضد سل باکتری کش قوی است که در عفونت‌های سل فعال یا نهفته تولید شده توسط میکوباکتریوم توبرکلوزیس<sup>۶</sup> و در هر دو رژیم درمانی و پیشگیری استفاده می‌شود. بسیاری از رژیم‌ها شامل ایزونیاژید به تنهایی یا با سایر عوامل از جمله ریفامپیسین، پیرازینامید، استرپتومایسین<sup>۷</sup> و یا اتامبوتول هستند. ایجاد سمیت کبدی با سایر عوامل خطر مانند افزایش سن، مصرف الکل، استفاده همزمان از داروهای که آنزیم‌های اکسیداتیو سیتوکروم P را القا می‌کنند، بیماری کبدی قبلی یا همزمان مانند هپاتیت ویروسی، عدم تحمل قبلی ایزونیاژید، جنسیت زن، استفاده داروی تزریقی و علل ژنتیکی مانند وضعیت استیلاسیون آهسته، افزایش می‌یابد [۴].

آنزیم‌های متابولیزه کننده داروهای ضد سل که در برابر تهاجم محیطی عمل می‌کنند، شامل ان-استیل ترانسفراز، سیتوکروم P450 و گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز هستند. این آنزیم‌ها از نظر ژنتیکی پلی مورفیک هستند و موجب تغییر خصوصیات فردی در متابولیسم دارو و حساسیت به سرطان می‌شوند [۵]. گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)<sup>۸</sup> یک خانواده چند ژنی از فاز دوم آنزیم‌های متابولیزه کننده است که نقش محافظتی را دارا است؛ بدین گونه که باعث پاک شدن رادیکال‌های آزاد سمی درون سلولی

تولید شده از CYP2E1<sup>۹</sup> و ترکیب آن‌ها با گلوکوتاتیون می‌شود. بیشتر گلوکوتاتیون اس-ترانسفرازها آنزیم‌های محلول هستند و در سیتوزول<sup>۱۰</sup> قرار دارند. گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز پیوستگی شکل احیا گلوکوتاتیون (GSH) به سوبستراهای الکتروفیلیک<sup>۱۱</sup> را کاتالیز می‌کند. بنابر این فعالیت آن به دنبال ماکرومولکول‌های سلولی کاهش پیدا می‌کند. در مسیر متابولیسم ایزونیاژید، گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز متابولیت‌های فعال که توسط اکسیداسیون هیدرازین و استیل هیدرازین<sup>۱۲</sup> تولید می‌شوند را سم‌زدایی می‌کند [۶]. بنابر این اندازه‌گیری آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز می‌تواند به عنوان یک عامل حساس برای آسیب کبدی مورد استفاده قرار گیرد.

در تجویز همزمان ریفامپیسین با ایزونیاژید نه تنها ایزونیاژید افزایش پیدا می‌کند، بلکه باعث افزایش هیدرولیز بیشتر ایزونیاژید به هیدرازین می‌گردد و در نهایت خطر سمیت کبدی افزایش می‌یابد [۷]. نشان داده شده است روزهای ۷ و ۱۴ بستری بیماری غلظت پلاسمايي داروهای ضد سل به ویژه ایزونیاژید و ریفامپیسین بالا می‌رود. بنابراین احتمال سمیت کبدی در این روزها بیشتر می‌باشد [۸].

مطالعه حاضر به منظور بررسی ارتباط سطح پلاسمايي ایزونیاژید و سطح سرمی آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز با سمیت کبدی و همین طور ارتباط سطح پلاسمايي ایزونیاژید با آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز در بیماران سل ایرانی انجام شد. تا آنجا که ما می‌دانیم، این اولین مطالعه‌ای است که تاثیر غلظت ایزونیاژید را بر غلظت آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز و سمیت کبدی به طور هم‌زمان در بیماران مبتلا به سل دریافت کننده داروهای ضد سل ترکیبی<sup>۱۳</sup> (FDC) بررسی می‌کند. با در نظر گرفتن این داده‌ها، این مطالعه به منظور ارزیابی دقیق اثر غلظت ایزونیاژید و آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز بر سمیت کبدی ناشی از دارو و تعیین اینکه آیا اندازه‌گیری آنزیم گلوکوتاتیون اس-ترانسفراز می‌تواند به جای آنزیم‌های

<sup>1</sup> Tuberculosis (TB)

<sup>2</sup> Isonicotinic acid hydrazide (Isoniazid)

<sup>3</sup> Rifampicin

<sup>4</sup> Pyrazinamide

<sup>5</sup> Ethambutol

<sup>6</sup> Mycobacterium tuberculosis

<sup>7</sup> Streptomycin

<sup>8</sup> Glutathione S-transferase

<sup>9</sup> Cytochrome P450 2E1

<sup>10</sup> Cytosol

<sup>11</sup> Electrophilic substrate

<sup>12</sup> Acetylhydrazine

<sup>13</sup> Fixed-dose combination

کبدی به عنوان یک شاخص سنجش سمیت کبدی جایگزین شود، انجام شد.

## مواد و روش‌ها:

### بیماران:

این مطالعه مقطعی بر روی ۱۲۰ بیمار ایرانی مبتلا به سل ریوی در بیمارستان دکتر مسیح دانشوری تهران از مهر ۱۳۹۸ تا خرداد ۱۴۰۱ انجام شد. بیماران مبتلا به سمیت کبدی ناشی از داروهای ضد سل در گروه سمیت کبدی و افراد بدون این علامت در گروه بدون سمیت کبدی قرار گرفتند. پروتکل این پژوهش به تایید کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران (کد اخلاق: IR.IAU.SRB.REC.1397.105) رسید. از هر بیمار رضایت نامه کتبی دریافت شد.

### معیارهای ورود و خروج:

بیماران از نظر آنزیم‌های کبدی، به ویژه آلانین ترانس‌آمیناز<sup>۱</sup> (ALT)، آسپاراتات ترانس‌آمیناز<sup>۲</sup> (AST) و بیلی‌روبین تام قبل از مصرف دارو مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه هیچ دارویی که با داروهای ضد سل تداخل داشته باشد وجود نداشت و اگر این داروها به ندرت تجویز می‌شد، بیمار از مطالعه خارج می‌شد. معیارهای خروج شامل این موارد بودند:

- بیماران با سن کمتر از ۱۶ سال و بالای ۸۰ سال،
- افراد دارای ALT، AST و بیلی‌روبین تام غیر طبیعی،
- افراد با مصرف قبلی الکل،
- موارد مبتلا به بیماری مزمن کبد، هپاتیت، بیماری‌های خودایمنی، HIV<sup>۳</sup>، هیپوکسی، نارسایی احتقانی قلب، عفونت باکتریایی
- هر عامل دیگری که بر سطح ترانس‌آمینازها و بیلی‌روبین سرم تاثیر می‌گذارد و آنها را غیرطبیعی می‌کند.

بیمارانی که شرایط ذکر شده در بالا را نداشتند و کشت مایکوباکتریوم توبرکلوزیس مثبت داشتند در مطالعه وارد شدند [۹].

### نظارت بر بیماران:

داروهای ضد سل مورد استفاده در درمان خط اول شامل چهار داروی FDC<sup>۴</sup> ایزونیازید (۷۵ میلی‌گرم)، ریفامپیسین (۱۵۰ میلی‌گرم)، اتامبوتول (۲۷۵ میلی‌گرم) و پیرازینامید (۴۰۰ میلی‌گرم) بود. افراد زیر ۵۰ کیلوگرم ۳ قرص FDC، افراد بین ۵۰ تا ۸۰ کیلوگرم ۴ قرص FDC و افراد بالای ۸۰ کیلوگرم ۵ قرص FDC دریافت می‌کردند. سمیت کبدی به عنوان سطوح سرمی ALT و AST بیش از سه برابر محدوده طبیعی در بیماران با علائم سمیت کبدی یا سطوح سرمی ALT و AST بیش از پنج برابر و سطوح سرمی بیلی‌روبین بیش از سه برابر محدوده طبیعی در بیماران بدون علامت سمیت کبدی تعریف گردید [۱۰]. مدت درمان تا شروع سمیت کبدی در دو هفته اول است. در این دوره امکان اصلاح ژنومی وجود ندارد. سطح سرمی ALT، AST و بیلی‌روبین بیماران بین روزهای ۷ تا ۱۴ پس از زمان بستری بررسی شد. در مورد سمیت کبدی، نمونه‌برداری در همان روز انجام شد و یا در صورت عدم وجود سمیت کبدی، نمونه‌برداری در روز چهاردهم دو ساعت بعد از مصرف داروی ضد سل انجام گردید [۱۱]. اطلاعات دموگرافیک بیماران شامل مصرف الکل، مصرف مواد مخدر، سابقه سیگار کشیدن، بیماری‌های همراه، وضعیت عفونت‌های ویروسی و سایر داده‌های پزشکی جمع‌آوری شد. پس از روز چهاردهم، همه بیماران از نظر AST، ALT و بیلی‌روبین تام به مدت یک ماه در هفته و سپس ماهانه تا پایان درمان تحت نظر قرار گرفتند.

### جمع‌آوری نمونه خون:

نمونه خون جمع‌آوری شده از بیماران به لوله‌های ژل‌دار حاوی هپارین جهت اندازه‌گیری ایزونیازید و متابولیت آن استیل ایزونیازید<sup>۵</sup> و همچنین آنزیم گلوکاتینون اس-ترانسفراز منتقل شد. لوله‌های ژل‌دار بلافاصله سانتریفیوژ و سرم و پلاسما جداگانه در یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتر ریخته شدند و سپس در ۷۰- درجه سانتیگراد ذخیره گشتند.

<sup>1</sup> Alanine transaminase

<sup>2</sup> Aspartate transaminase

<sup>3</sup> Human immunodeficiency virus

<sup>4</sup> Fixed-dose combination

<sup>5</sup> Acetylisoniazid

## اندازه‌گیری غلظت خونی داروی ایزونیازید و استیل ایزونیازید با روش<sup>۱</sup> HPLC:

در این روش اندازه‌گیری همزمان ایزونیازید و متابولیت آن استیل ایزونیازید در نمونه‌های پلاسما انجام شد که با تری‌کلرواستیک اسید دپروتئینه شده‌اند. از ستون سیلیکا به عنوان فاز قطبی و استاندارد داخلی فامپریدین در این دستگاه استفاده شد.

### معرف‌ها:

ایزونیازید از کمپانی (سیگما آلدریچ، آمریکا) خریداری می‌شود و استیل ایزونیازید با واکنش ایزونیازید با انیدرید استیک با روش توصیف شده توسط اولسون و همکاران سنتز می‌گردد [۱۲].

### آماده‌سازی نمونه:

حجم ۲۵۰ میکرولیتر پلاسما به یک لوله میکروسانتریفیوژ پلی‌پروپیلن ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. استخراج با افزودن استاندارد داخلی (۲۰ میکرولیتر فامپریدین<sup>۲</sup> ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رقیق شده در اسید استیک ۰/۱ درصد معادل ۵۰۰ نانوگرم) و ۵۰۰ میکرولیتر استونیتریل<sup>۳</sup> به لوله و تکان دادن به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. پس از سانتریفیوژ در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر از مایع رویی به لوله دیگری منتقل شد، ۱ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان اضافه شد، به مدت ۱ دقیقه با ورتکس مخلوط شد و به مدت ۲ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از مایع رویی آبی جدا گردید و به لوله دیگری منتقل شد. در نهایت، ۲۰ میکرولیتر برای آنالیز به دستگاه HPLC تزریق شد.

### کالیبراسیون:

طرح کالیبراسیون با استفاده از آنالیز محلول کاری مناسب (استاندارد خارجی) ایزونیازید و استیل ایزونیازید تهیه شده در آب و در بلانک پلاسما هیپارینه شده ساخته شد. غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۳، ۷، ۱۱ و ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای هر دو دارو استفاده و به دستگاه داده شدند [۱۳].

### ابزار دقیق:

پمپ تحویل حلال Smartline 1000 و برنامه کامپیوتری کروماتوگرام از Knauer (برلین، آلمان) بودند. اسپکتروفتومتر Knauer Smartline 2500 در طول موج ۲۶۲ نانومتر استفاده شد. نمونه‌ها توسط انژکتور حلقه‌ای Rheodyne 7725i با حجم موثر ۱۰۰ میکرولیتر استفاده گردید. یک ستون Spherisorb S5W (۲۵۰ × ۴/۶ میلی‌متر، ۵ μ)، که یک ستون سیلیکا و فاز قطبی است، توسط یک فیلتر درون خطی برای جداسازی کروماتوگرافی (واترز، ایالات متحده آمریکا) استفاده شد. فاز متحرک شامل آب - استونیتریل - اسید فسفریک (۲۵۰:۲۵:۰/۴، V/V) است. آنالیزها با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد اجرا شدند.

### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکوتایون اس- ترانسفراز به روش اسپکتروفتومتری UV/Visible:

اندازه‌گیری به روش اصلاح شده Habig انجام شد [۱۴]. اندازه‌گیری فعالیت کل آنزیم‌های گلوکوتایون اس- ترانسفراز پلاسما بر اساس کاتالیز واکنش بین GSH<sup>۴</sup> و CDNB (۱ کلرو۲و۴ دی‌نیتروبنزن)<sup>۵</sup> است که دی‌نیتروفنیل تولید می‌نماید، سرعت این واکنش در شرایط معمولی بدون آنزیم، پایین است. اضافه نمودن گلوکوتایون اس- ترانسفراز موجب افزایش ترکیب رنگی دی‌نیتروفنیل تیواتر می‌گردد. این ترکیب دارای حداکثر جذب در ۳۴۰ نانومتر است که به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای انجام آزمایش ابتدا محلول‌های لازم تهیه و به ترتیب زیر عمل شد. ۸۵۰ میکرولیتر بافر فسفات<sup>۶</sup> (PBS) ۱۰۰ میلی مولار (PH=6.5) با ۵۰ میکرولیتر گلوکوتایون (GSH) ۲۰ میلی مولار ترکیب و ۵۰ میکرولیتر CDNB ۲۰ میلی مولار مخلوط شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه پلاسما برای تست و ۵۰ میکرولیتر آب مقطر برای بلانک به این محلول اضافه شد. محلول را خوب به هم زده و سپس جذب آن در مقابل بلانک در طول موج ۳۴۰ نانومتر در فاصله زمانی ۳ دقیقه ثبت شد. از دستگاه اسپکتروفتومتر CECIL 1240

<sup>4</sup> Glutathione

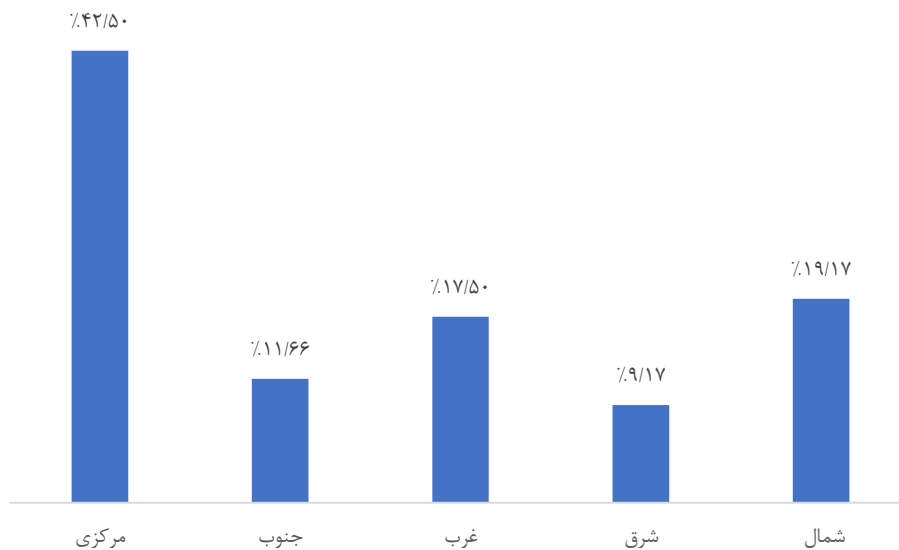
<sup>5</sup> 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene

<sup>6</sup> Phosphate-buffered saline

<sup>1</sup> High-performance liquid chromatography

<sup>2</sup> Fampridine

<sup>3</sup> Acetonitrile



نمودار ۱ - درصد بیماران وارد شده در مطالعه از مناطق شمالی، شرقی، غربی، جنوبی و مرکزی ایران

ترانسفراز، از ضریب همبستگی پیرسون<sup>۳</sup> استفاده شد. نرمال بودن توزیع فراوانی متغیرهای کمی با آزمون ناپارامتریک کلموگروف-اسمیرنوف<sup>۴</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت و تخطی از این پیش فرض دیده نشد ( $P > 0/05$ ). سطح معناداری در آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج:

**مشخصات جغرافیایی و قومیت بیماران مبتلا به سل:** کشور ایران به ۵ بخش مرکزی، جنوبی، شمالی، شرقی و غربی تقسیم می‌شود. از ۱۲۰ بیماری که وارد مطالعه شدند، ۴۲/۵۰٪ مربوط به بخش مرکزی، ۱۱/۶۶٪ مربوط به بخش جنوبی، ۱۹/۱۷٪ مربوط به بخش شمالی، ۹/۱۷٪ مربوط به بخش شرقی و ۱۷/۵۰٪ مربوط به بخش غربی ایران می‌شد (نمودار ۱). این بیماران از نظر قومیت ۵۰٪ فارس، ۱۲٪ مازندرانی، ۹٪ بلوچ، ۸٪ آذری، ۸٪ گیلکی، ۵٪ کرد، ۵٪ لر و ۳٪ عرب بودند.

**مشخصات جمعیت‌شناختی بیماران مبتلا به سل:** از بین ۱۲۰ بیمار سل انتخاب شده در مطالعه حاضر، ۴۰ بیمار سمیت کبدی (گروه با سمیت کبدی) و ۸۰ بیمار باقیمانده که سمیت کبدی نداشتند به عنوان گروه بدون سمیت کبدی انتخاب شدند. همچنین، ۳۱ بیمار از ۴۰ بیمار دارای سطوح سرمی ALT و AST بیش از سه

برای این کار استفاده شد. این دستگاه مقدار فعالیت آنزیم و نمودار واکنش را هم زمان در صفحه، نمایش می‌داد و در صورت لزوم چاپ می‌نمود. لذا هر گونه انحراف نمودار جذب، از خط مستقیم قابل مشاهده بود. آزمایشات برای هر نمونه ۳ بار انجام و نتیجه نهایی به صورت میانگین ثبت شد، کنترل کیفی مواد و دستگاه با استفاده از سرم کنترل انجام شد. ضریب تغییرات نتایج با سرم کنترل حدود ۴ درصد به دست آمد.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج برای داده‌های کمی به صورت "انحراف معیار ± میانگین" و برای داده‌های کیفی به صورت "تعداد (درصد)" گزارش شده است. به منظور مقایسه میانگین متغیرهای کمی (سن، قد، وزن، شاخص توده بدنی و غیره) در بیماران با سمیت کبدی و بدون سمیت کبدی، از آزمون t دو نمونه مستقل<sup>۱</sup> استفاده شد. همچنین، به منظور مقایسه فراوانی متغیرهای کیفی (جنسیت و مصرف سیگار)، در بیماران با سمیت کبدی و بدون سمیت کبدی، از آزمون مجذور کای<sup>۲</sup> استفاده شد. به منظور بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی غلظت ایزونیازید و آنزیم گلوکاتینون اس-

<sup>3</sup> Pearson's correlation coefficient

<sup>4</sup> Kolmogorov-Smirnov

<sup>1</sup> Independent two-sample t-test

<sup>2</sup> Chi-square test

جدول ۱ - مشخصات جمعیت شناختی بیماران مبتلا به سل با سمیت کبدی و بدون سمیت کبدی

| متغیرها   | گروه | دارای سمیت کبدی<br>(تعداد=۴۰) | فاقد سمیت کبدی<br>(تعداد=۸۰) | نسبت<br>شانس | فاصله اطمینان ۹۵% | مقدار P |
|---|------|-------------------------------|------------------------------|--------------|-------------------|---------|
| جنسیت   |      |                               |                              |              |                   | ۰/۰۸۳   |
| مرد   |      | ۲۵ (۶۲/۵)                     | ۶۲ (۷۷/۵)                    | ۱            | -                 |         |
| زن  |      | ۱۵ (۳۷/۵)                     | ۱۸ (۲۲/۵)                    | ۲/۰۶۷        | ۰/۹۰۳ - ۴/۷۲۹     |         |
| سن (سال)  |      | ۵۵/۱۰ ± ۱۹/۵۹                 | ۴۹/۸۳ ± ۱۵/۹۰                | ۱/۰۱۸        | ۰/۹۹۵ - ۱/۰۴۲     | ۰/۱۴۴   |
| گروه سنی (سال)                                      |      |                               |                              |              |                   | ۰/۰۰۱   |
| غیرسالمند (۶۰-۱۷)                                   |      | ۱۸ (۴۵)                       | ۶۰ (۷۵)                      | ۱            | -                 |         |
| سالمند (۸۰-۶۱)                                      |      | ۲۲ (۵۵)                       | ۲۰ (۲۵)                      | ۳/۶۶۷        | ۱/۶۴۳ - ۸/۱۸۱     |         |
| قد (سانتی‌متر)                                      |      | ۱۶۷/۳۵ ± ۱۰/۲۰                | ۱۶۹/۴۸ ± ۹/۸۵                | ۰/۹۷۸        | ۰/۹۴۱ - ۱/۰۱۷     | ۰/۲۷۳   |
| وزن (کیلوگرم)                                       |      | ۶۱/۱۰ ± ۱۱/۸۱                 | ۶۱/۴۵ ± ۱۱/۳۱                | ۰/۹۹۷        | ۰/۹۶۴ - ۱/۰۳۱     | ۰/۸۷۵   |
| شاخص توده بدنی<br>(کیلوگرم بر مترمربع)              |      | ۲۱/۸۳ ± ۳/۸۶                  | ۲۱/۴۶ ± ۳/۹۹                 | ۱/۰۲۴        | ۰/۹۳۱ - ۱/۱۲۷     | ۰/۶۲۸   |
| استعمال دخانیات                                     |      | ۱۴ (۳۵)                       | ۳۶ (۴۵)                      | ۰/۶۵۸        | ۰/۳۰۰ - ۱/۴۴۳     | ۰/۲۹۶   |
| <b>میزان پایه آنزیم‌های کبدی</b>                    |      |                               |                              |              |                   |         |
| آلانین ترانسفراز<br>(واحد بین‌المللی بر لیتر)       |      | ۲۷/۶۳ ± ۱۵/۳۱                 | ۲۰/۷۲ ± ۱۴/۱۸                | ۱/۱۴۹        | ۰/۱۳۲ - ۳/۰۱۹     | ۰/۲۲۵   |
| آسپاراتات ترانس آمیناز<br>(واحد بین‌المللی بر لیتر) |      | ۲۱/۳۳ ± ۱۲/۵۰                 | ۲۱/۹۶ ± ۱۳/۷۴                | ۱/۰۱۳        | ۰/۷۴۹ - ۲/۳۶۱     | ۰/۵۵۳   |
| بیلی‌روبین توتال<br>(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)          |      | ۰/۶۵ ± ۰/۵۲                   | ۰/۶۱ ± ۰/۷۵                  | ۱/۰۰۱        | ۰/۹۳۱ - ۱/۸۲۴     | ۰/۲۱۵   |

داده‌های جدول به صورت "انحراف معیار ± میانگین" و یا "(درصد) تعداد" گزارش شده‌اند.

فاصله مرجع آسپاراتات ترانس آمیناز و آلانین ترانسفراز، ۰-۴۰ واحد بین‌المللی بر لیتر؛ بیلی‌روبین کل، ۱/۵-۰/۲ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر. متغیرهای پیوسته با استفاده از آزمون t دو نمونه مستقل و متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون مجذور کای، در دو گروه دارای و فاقد سمیت کبدی مقایسه شدند.  $P < 0.05$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

طور معناداری بیشتر از گروه فاقد سمیت کبدی بود ( $P = 0.001$ ). قبل از شروع درمان، تفاوت معناداری در سطوح ALT، AST و بیلی‌روبین تام بین دو گروه مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ، جدول ۱).

مقایسه میانگین سطوح پلاسمایی ایزونیازید و استیل ایزونیازید و فعالیت گلوکوتیون اس-ترانسفراز و آنزیم‌های کبدی:

میانگین غلظت پلاسمایی ایزونیازید در گروه دارای سمیت کبدی به طور معناداری نسبت به گروه فاقد سمیت کبدی بالاتر بود ( $P < 0.001$ )، به طوری که با افزایش غلظت پلاسمایی ایزونیازید، شانس سمیت کبدی ۴/۵ برابر می‌شود. اما میانگین غلظت پلاسمایی متابولیت ایزونیازید، استیل ایزونیازید و نسبت استیل ایزونیازید به

برابر محدوده طبیعی تا روز دهم بستری بودند. بنابراین، ایزونیازید به طور موقت متوقف شد. پس از ترخیص و در ویزیت بعدی، ۹ بیمار باقیمانده سمیت کبدی نشان دادند.

بین گروه شاهد و مورد از نظر سن، جنس، شاخص توده بدن<sup>۱</sup> (کیلوگرم بر مترمربع)، قد، وزن و مصرف سیگار تفاوت معناداری وجود نداشت. با این وجود، نسبت شانس ابتلا زنان به سمیت کبدی دو برابر مردان بود. همچنین، در گروه سمیت کبدی میانگین سنی بیماران اندکی بیشتر از گروه فاقد سمیت کبدی بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود ( $P = 0.144$ )، در حالی که فراوانی نسبی (درصد) سالمندان در گروه دارای سمیت کبدی به

<sup>1</sup> Body mass index (BMI)

جدول ۲ - مقایسه میانگین سطوح پلاسمایی ایزونیازید و استیل ایزونیازید و فعالیت گلوکاتیبون اس-ترانسفراز و آنزیم‌های کبدی در بیماران دریافت کننده داروهای ضد سل دارای سمیت کبدی و فاقد سمیت کبدی

| مقدار P | فاصله اطمینان ۹۵٪ | نسبت شانس | فاقد سمیت کبدی (تعداد=۸۰) | دارای سمیت کبدی (تعداد=۴۰) | گروه متغیر  |
|---------|-------------------|-----------|---------------------------|----------------------------|---|
| <۰/۰۰۱  | ۲/۷۴۰ - ۷/۵۴      | ۴/۵۴۸     | ۳/۰ ± ۰/۰۹                | ۵/۳۸ ± ۱/۵۰                | ایزونیازید (میکروگرم بر میلی لیتر)                    |
| <۰/۰۰۱  | ۰/۰۱۳ - ۰/۱۵۷     | ۰/۰۴۵     | ۳/۰۸ ± ۱/۴۱               | ۱/۱۶ ± ۰/۶۴                | استیل ایزونیازید (میکروگرم بر میلی لیتر)              |
| <۰/۰۰۱  | ۰/۰۰۱ - ۰/۰۰۹     | ۰/۰۰۵     | ۱/۲۶ ± ۱/۰۸               | ۰/۲۵ ± ۰/۲                 | استیل ایزونیازید/ایزونیازید                           |
| <۰/۰۰۱  | ۱/۲۷۴ - ۵/۵۷۲     | ۳/۴۹۹     | ۴/۳۶ ± ۱/۲۹               | ۱۲/۶۵ ± ۳/۲۳               | گلوکاتیبون اس- ترانسفراز (واحد بر میلی لیتر در دقیقه) |
| <۰/۰۰۱  | ۱/۰۴۷ - ۱/۱۳۳     | ۱/۰۹۲     | ۲۵/۳۶ ± ۱۲/۲۱             | ۱۵۶/۶۸ ± ۵۳/۴۲             | الانین آمینوترانسفراز (واحد بین المللی بر لیتر)       |
| <۰/۰۰۱  | ۱/۰۵۸ - ۱/۱۳۵     | ۱/۰۹۶     | ۲۶/۹۰ ± ۱۳/۳۵             | ۱۴۷/۷۰ ± ۴۷/۴۶             | اسپارات آمینوترانسفراز (واحد بین المللی بر لیتر)      |
| <۰/۰۰۱  | ۲/۵۱۰ - ۷/۸۴۹     | ۴/۷۰۳     | ۰/۵۴ ± ۰/۲۹               | ۱/۱۷ ± ۰/۶۷                | بیلی روبین کل (میلی گرم بر دسی لیتر)                  |

داده‌های جدول به صورت "انحراف معیار ± میانگین" گزارش شده است. متغیرهای پیوسته با استفاده از آزمون t دو نمونه مستقل، در دو گروه دارای و فاقد سمیت کبدی مقایسه شدند.  $P < ۰/۰۵$  از نظر آماری معنادار در نظر گرفته شد.

برای موثرتر کردن داروهای ضد سل است. اما مصرف ترکیبی این داروها به ویژه ایزونیازید ممکن است باعث سمیت شدید کبدی شود که نگران کننده است [۱۵]. این مطالعه برای اولین بار تاثیر غلظت ایزونیازید را بر فعالیت آنزیم گلوکاتیبون اس-ترانسفراز و سمیت کبدی به طور همزمان در بیماران مبتلا به سل دریافت کننده داروهای ضد سل FDC نشان داد.

در بررسی قومیت افراد وارد شونده در مطالعه مشخص شد که مرکز کشور ایران مخصوصا استان تهران بیشترین تعداد بیمار مطالعه ما را تشکیل دادند. اما اگر تعداد افراد بیمار وارد شونده هر بخش کشور را بر حسب جمعیت آن بخش در نظر بگیریم، احتمالا بخش شمالی کشور ایران (مخصوصا استان گلستان و گیلان) و بعد از آن بخش شرقی ایران (مخصوصا استان سیستان و بلوچستان) در معرض خطر بیشتر ابتلا به سل قرار دارند.

در مطالعه حاضر نسبت شانس ابتلا زنان به سمیت کبدی دو برابر مردان بود. همچنین، در گروه سمیت کبدی میانگین سنی بیماران اندکی بیشتر از گروه فاقد سمیت کبدی بود، ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود.

ایزونیازید در مقایسه دو گروه برعکس است و به طور معناداری در گروه فاقد سمیت کبدی نسبت به گروه دارای سمیت کبدی بالاتر بود ( $P < ۰/۰۰۱$ ).

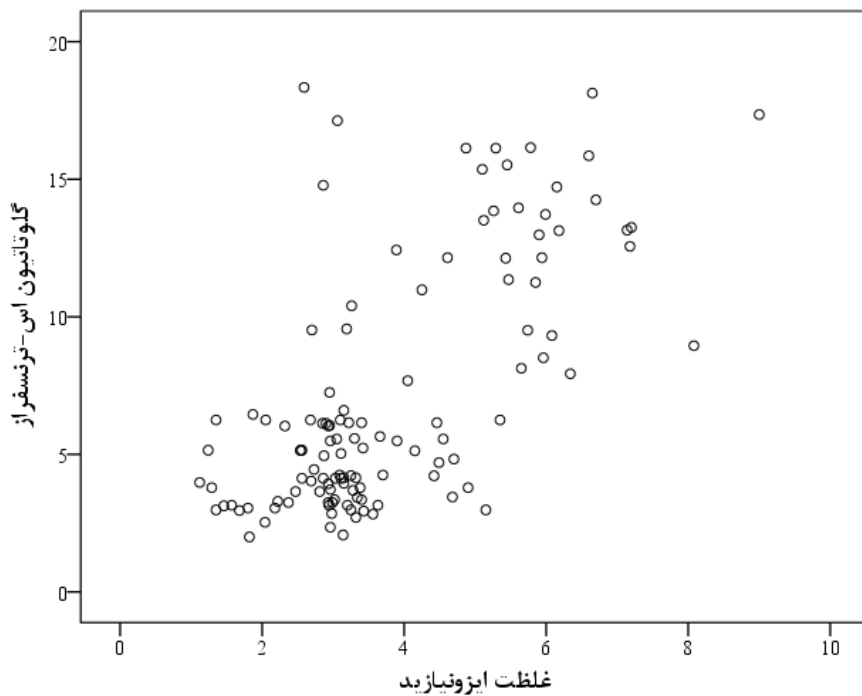
میانگین فعالیت آنزیم گلوکاتیبون اس-ترانسفراز و غلظت آنزیم‌های کبدی (الانین آمینوترانسفراز، اسپاراتات آمینوترانسفراز و بیلی روبین توتال) در گروه دارای سمیت کبدی به طور معناداری نسبت به گروه فاقد سمیت کبدی بالاتر بود ( $P < ۰/۰۰۱$ )، به طوری که با افزایش غلظت آنزیم گلوکاتیبون اس-ترانسفراز، شانس سمیت کبدی ۳/۵ برابر می‌شود (جدول ۲).

### تاثیر داروی ایزونیازید بر فعالیت آنزیم گلوکاتیبون اس-ترانسفراز:

یافته‌های مطالعه همچنین نشان داد که یک همبستگی مستقیم و متوسط بین غلظت پلاسمایی داروی ایزونیازید و فعالیت آنزیم گلوکاتیبون اس-ترانسفراز وجود دارد ( $r = ۰/۶۶۷$ ,  $P < ۰/۰۰۱$ ). (نمودار ۲).

### بحث:

جایگزینی درمان با داروی ضد سل ترکیبی (FDC) به جای داروهای جداگانه ترکیبی یکی از بهترین راهبردها،



نمودار ۲ - همبستگی غلظت ایزونیاژید (میکروگرم بر میلی لیتر) و آنزیم گلوکوتایون اس-ترانسفراز (واحد بر میلی لیتر در دقیقه) در بیماران دریافت کننده داروهای ضد سل

هیدرولیز می‌گردد. اهمیت کمی این مسیر به شدت به پلی مورفیسم ژنتیکی در NAT2 وابسته است. ثابت شده است که افرادی که فنوتیپ استیلاسیون آهسته دارند سمیت بالاتری نسبت به فنوتیپ‌های متوسط و سریع دارند. علت خطر بالاتر استیلاتور آهسته<sup>۶</sup> این طور فرض شد که ایزونیاژید اغلب نمی‌تواند در این حالت استیله شود. اما مستقیماً به هیدرازین سمی هیدرولیز می‌گردد. تجویز همزمان ریفامپیسین با ایزونیاژید، سبب القا در هیدرولیز ایزونیاژید به هیدرازین می‌گردد، که این می‌تواند توضیحی برای افزایش خطر سمیت کبدی باشد [۱۷].

مطالعه ما، گزارش مقاله‌های قبلی را، مبنی بر این که افزایش غلظت ایزونیاژید ناشی از داروهای ضد سل سمیت کبدی را تشدید می‌کند را تایید می‌کند [۱۸-۲۰]. با این حال، چندین مطالعه با این یافته‌ها در تناقض هستند [۲۱، ۲۲]. غلظت ایزونیاژید در گروه با سمیت کبدی نسبت به گروه بدون سمیت کبدی به طور معناداری بالاتر است. همچنین نشان داده شد که غلظت

همچنین فراوانی نسبی (درصد) سالمندان در گروه دارای سمیت کبدی به طور معناداری بیشتر از گروه فاقد سمیت کبدی بود. بنابراین در مانیتورینگ بیمار و تعیین دوز دارو باید سن و جنس را مد نظر قرار داد.

مسیر متابولیک غالب متابولیسم ایزونیاژید استیلاسیون توسط NAT2 است. استیل ایزونیاژید بیشتر به استیل هیدرازین (احتمالاً سمی) و اسید ایزونیکوتینیک<sup>۱</sup> هیدرولیز می‌شود. به نوبه خود، استیل هیدرازین یا به هیدرازین<sup>۲</sup> (احتمالاً سمی) هیدرولیز می‌شود یا به دی‌استیل هیدرازین<sup>۳</sup> (بی ضرر) استیل می‌شود. علاوه بر این، استیل هیدرازین توسط CYP2E1، احتمالاً به مواد واسطه سمی مانند استیل دیازن<sup>۴</sup>، یون استیلونیوم<sup>۵</sup>، رادیکال استیل یا کتن اکسید می‌شود. این واسطه‌های سمی توسط گلوکوتایون اس-ترانسفراز سم‌زدایی می‌شوند. بخشی از ایزونیاژید نیز مستقیماً (بدون دخالت مرحله استیلاسیون) به اسید ایزونیکوتینیک و هیدرازین

<sup>1</sup> Isonicotinic acid

<sup>2</sup> Hydrazine

<sup>3</sup> Diacetylhydrazine

<sup>4</sup> Acetyldiazene

<sup>5</sup> Acetylonium

<sup>6</sup> Slow acetylator

استیل ایزونیازید و نسبت استیل ایزونیازید به ایزونیازید در افراد بدون سمیت کبدی نسبت به افراد با سمیت کبدی، به طور معناداری بالاتر است. این نشان دهنده این نکته است که اکثر بیماران با سمیت کبدی که میانگین غلظت ایزونیازید بالا و معناداری نسبت به افراد بدون سمیت کبدی دارند، دارای استیلاتور آهسته و بالعکس اکثر بیماران بدون سمیت کبدی که میانگین بالای استیل ایزونیازید یا نسبت استیل ایزونیازید به ایزونیازید بالا و معناداری هستند، دارای استیلاتور متوسط و یا سریع می‌باشند [۲۴،۲۳].

یافته‌های مطالعه ما نشان داد که در زمان بروز سمیت کبدی همبستگی مستقیم و متوسطی بین غلظت پلاسمایی ایزونیازید و فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز وجود دارد. این نکته در افراد با سمیت کبدی که اغلب دارای فنوتیپ استیلایون آهسته و غلظت بالای ایزونیازید هستند، کاملاً مشهود است. در زمان سمیت و آسیب کبدی آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز از هیپاتوسیت‌ها وارد خون می‌گردد و بدینگونه غلظت خونی و فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز بالا می‌رود. میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز در گروه با سمیت کبدی به طور معناداری نسبت به گروه بدون سمیت کبدی بالاتر بود. این افزایش در مطالعات قبل که تاثیر داروهای ضد سل را بر روی موش مورد تحقیق قرار داده بودند ثابت شده بود [۲۶،۲۵]. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت بالای گلوکاتایون اس-ترانسفراز ناشی از غلظت بالای ایزونیازید و هیدرولیز مستقیم آن به هیدرازین سمی و در نتیجه سمیت بیشتر کبدی می‌باشد. نشان داده شده است که گلوکاتایون اس-ترانسفراز همیشه زودتر از ترانس آمینازها (ALT و AST) در سرم افزایش می‌یابد. با توجه به وزن مولکولی کم زیر واحد گلوکاتایون اس-ترانسفراز ( $\alpha$ -GST) ۵۲ کیلودالتون و غلظت بالای آن در کبد، مقادیر زیادی از  $\alpha$ -GST خیلی سریع از سلول‌های کبدی آسیب دیده وارد پلاسمای خون می‌شود. نیمه عمر  $\alpha$ -GST کمتر از ۶۰ دقیقه است. علاوه بر این، پس از آزاد شدن  $\alpha$ -GST در پلاسمای غلظت آن پس از ۵ روز به مقادیر طبیعی باز می‌گردد. برخلاف  $\alpha$ -GST، ALT و AST دارای جرم مولکولی بالاتری هستند (به ترتیب ۹۵ و ۹۲ کیلو

دالتون)، و پس از آسیب کبدی، دیرتر از  $\alpha$ -GST در پلاسمای آزاد می‌شوند. ALT در عرض ۵ روز از سلول‌های کبدی آزاد می‌شود و پس از ۱۰ روز به مقادیر طبیعی باز می‌گردد. نیمه عمر ALT بیشتر از  $\alpha$ -GST (۴۸-۷۲ ساعت) است [۲۸،۲۷]. بنابراین افزایش گلوکاتایون اس-ترانسفراز می‌تواند به عنوان یک عامل زودتر و حساس‌تر برای آسیب کبدی ناشی از داروهای ضد سل به ویژه ایزونیازید به جای آنزیم‌های کبدی مورد استفاده قرار گیرد. با این حال هزینه بالا و پیچیدگی سنجش گلوکاتایون اس-ترانسفراز در مقایسه با روش‌های اسپکتروفوتومتری ارزانتر ALT و AST را هم باید در نظر گرفت.

از محدودیت‌های مطالعه می‌توان عدم سنجش پلی‌مورفیسم ژنتیکی آنزیم ان-استیل ترانسفراز ۲ و نبودن فنوتیپ‌های استیلاتور آهسته و متوسط و سریع بیان کرد. زیرا در مطالعه‌های قبل نشان داده شده است که حتی در استیلاتورهای سریع هم احتمال سمیت کبدی وجود دارد [۲۹،۳۰]. ما نمی‌توانیم غلظت سرمی همه داروهای ضد سل را ارزیابی کنیم. تجویز داروی ضد سل ترکیبی FDC، از جمله سایر داروهای ضد سل همراه با ایزونیازید، ممکن است منجر به تغییرات کمی و کیفی در متابولیسم دارو شود و در نتیجه بر سمیت کبدی تاثیر بگذارد. داروی ضد سل ریفاپمپسین نه تنها ایزونیازید را افزایش می‌دهد، بلکه باعث هیدرولیز ایزونیازید به هیدرازین می‌گردد [۲۴]. بنابراین، تاثیر قابل توجهی در افزایش سمیت کبدی و همچنین تداخلات دارویی و دارویی فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک دارد.

### نتیجه گیری:

به طور کلی، نتایج این مطالعه تایید می‌کند که بیماران دارای غلظت بالای ایزونیازید احتمالاً فعالیت آنزیم گلوکاتایون اس-ترانسفراز بالاتر و همچنین خطر سمیت کبدی را خواهند داشت. بنابراین، تعیین غلظت داروی ایزونیازید برای بیماران و یافتن احتمال استیلاتور آهسته و همچنین ترکیب تست گلوکاتایون اس-ترانسفراز به همراه آنزیم‌های کبدی حتی در موارد اولیه سمیت کبدی که تست ALT ممکن است نرمال باشد، در این افراد می‌تواند به درمان سل با دوزهای تجویز شده کمتر و

- chemotherapy induction. *Scientific Reports*. 2022;12(1):1-8.
- 11) Mårtson A-G, Burch G, Ghimire S, Alffenaar J-WC, Peloquin CA. Therapeutic drug monitoring in patients with tuberculosis and concurrent medical problems. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2021;17(1):23-39.
  - 12) Olson WA, Dayton PG, Israili ZH, Pruitt AW. Spectrophotofluorometric assay for isoniazid and acetyl isoniazid in plasma adapted to pediatric studies. *Clinical Chemistry*. 1977;23(4):745-748.
  - 13) Milán-Segovia R, Pérez-Flores G, Torres-Tirado J, et al. Simultaneous HPLC determination of isoniazid and acetylisoniazid in plasma. *Acta Chromatographica*. 2007(19):110-118.
  - 14) Ríos JM, Attademo AM, Horie Y, Ginevro PM, Lajmanovich RC. Sublethal biochemical effects of polyethylene microplastics and TBBPA in experimentally exposed Freshwater Shrimp *Palaemonetes argentinus*. *Biology*. 2023;12(3):391.
  - 15) Campbell JR, Trajman A, Cook VJ, et al. Adverse events in adults with latent tuberculosis infection receiving daily rifampicin or isoniazid: post-hoc safety analysis of two randomised controlled trials. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020;20(3):318-329.
  - 16) Prasad R, Singh A, Gupta N. Adverse drug reactions in tuberculosis and management. *Indian Journal of Tuberculosis*. 2019;66(4):520-532.
  - 17) Klein DJ, Boukouvala S, McDonagh EM, et al. PharmGKB summary: isoniazid pathway, pharmacokinetics (PK). *Pharmacogenetics and Genomics*. 2016;26(9):436.
  - 18) Li JF, Li YS, Zhang YY, et al. Regulation of P300 and HDAC1 on endoplasmic reticulum stress in isoniazid-induced HL-7702 hepatocyte injury. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(9):15299-15307.
  - 19) Liu X, Zhao M, Mi J, et al. Protective effect of bicyclol on anti-tuberculosis drug induced liver injury in rats. *Molecules*. 2017;22(4):524.
  - 20) Huang Y-S, Chern H-D, Su W-J, et al. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology*. 2002;35(4):883-889.
  - 21) Richardson M, Kirkham J, Dwan K, et al. CYP genetic variants and toxicity related to anti-tubercular agents: a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*. 2018;7(1):1-15.

تنظیم شده، جهت به حداقل رساندن سمیت کبدی و کاهش بیماران بستری در بیمارستان کمک کند.

#### سیاس‌گذاری:

نویسندگان از دکتر فاطمه مریم شیخ الاسلامی، دکتر عباس بابایی و خانم لیلا محمدی زیازی به خاطر کمک‌های ارزشمندشان در مورد نسخه خطی، تشکر و قدردانی می‌کنند.

#### منابع:

- 1) World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2019, Latest status of the tuberculosis epidemic. Report. Switzerland: 2019 5 May 2019. Report No.: 2019. WHO Reference number: WHO/CDS/TB/2019.15. available from: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1257851/retrieve>
- 2) Bao Y, Ma X, Rasmussen TP, Zhong X-b. Genetic variations associated with anti-tuberculosis drug-induced liver injury. *Current Pharmacology Reports*. 2018;4(3):171-181.
- 3) Daskapan A, Idrus LR, Postma MJ, et al. A systematic review on the effect of HIV infection on the pharmacokinetics of first-line tuberculosis drugs. *Clinical Pharmacokinetics*. 2019;58(6):747-766.
- 4) Badrinath M, John S. Isoniazid Toxicity. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- 5) Baker JL, Shriner D, Bentley AR, Rotimi CN. 6 pharmacogenomics and infectious diseases in Africa. *The Genetics of African Populations in Health and Disease*. 2019:95-127.
- 6) Wang P, Pradhan K, Zhong X-b, Ma X. Isoniazid metabolism and hepatotoxicity. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016;6(5):384-392.
- 7) Brewer CT. Characterization of the hepatotoxicity of Rifampicin and Isoniazid: The University of Tennessee Health Science Center; 2018. Available from: <https://dc.uthsc.edu/dissertations/463/>
- 8) Garlitska N, Fira L, Lykhatskyi P, Boyko L. Biochemical mechanisms of oxidative stress in animals exposed to hexavalent chromium compounds in the case of isoniazid-rifampicin hepatitis. *Farmacia*. 2021;69(2):253-259.
- 9) Santos EA, Gonçalves JCS, Fleury MK, et al. Relationship of anti-tuberculosis drug-induced liver injury and genetic polymorphisms in CYP2E1 and GST. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2020;23:381-387.
- 10) Mekonnen AT, Wondmeneh TG. Evaluation of liver function tests to identify hepatotoxicity among acute lymphoblastic leukemia patients who are receiving

- 22) Lv X, Tang S, Xia Y, et al. NAT2 genetic polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Chinese community population. *Annals of Hepatology*. 2012;11(5):700-707.
- 23) Ali MH, Alrasheedy AA, Kibuule D, et al. Isoniazid acetylation phenotypes in the Sudanese population; findings and implications. *Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*. 2019;17:100120.
- 24) Toure A, Cabral M, Niang A, et al. Prevention of isoniazid toxicity by NAT2 genotyping in Senegalese tuberculosis patients. *Toxicology Reports*. 2016;3:826-831.
- 25) Sodhi C, Rana S, Mehta S, et al. Study of oxidative-stress in isoniazid-rifampicin induced hepatic injury in young rats. *Drug and Chemical Toxicology*. 1997;20(3):255-269.
- 26) Awodele O, Momoh A, Awolola N, Kale O, Okunowo W. The combined fixed-dose antituberculous drugs alter some reproductive functions with oxidative stress involvement in wistar rats. *Toxicology Reports*. 2016;3:620-627.
- 27) Czuczejko J, Mila-Kierzenkowska C, Szewczyk-Golec K. Plasma  $\alpha$ -glutathione S-transferase evaluation in patients with acute and chronic liver injury. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019; Oct 20;2019:5850787. doi: 10.1155/2019/5850787 2019.
- 28) Loguercio C, Tuccillo C, Caporaso N, et al. Determination of plasma alpha-glutathione S-transferases in patients with HCV-related chronic infection: its significance and possible clinical relevance. *Liver*. 1998;18(3):166-172.
- 29) Fredj NB, Gam R, Kerkni E, et al. Risk factors of isoniazid-induced hepatotoxicity in Tunisian tuberculosis patients. *The Pharmacogenomics Journal*. 2017;17(4):372-377.
- 30) El-Jaick KB, Ribeiro-Alves M, Soares MVG, et al. Homozygotes NAT2\* 5B slow acetylators are highly associated with hepatotoxicity induced by anti-tuberculosis drugs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2022;117.



# Association of Isoniazid and Glutathione S-Transferase Concentration with Antituberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity

Nasir Pourmohamadi<sup>1</sup>, Mihan Pour Abdollah Tontkaboni<sup>2</sup>, Nasim Hayati Roodbari<sup>1</sup>, Payam Tabarsi<sup>3</sup>, Shadi Baniasadi<sup>4\*</sup>

- 1) Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 2) Molecular Medicine Laboratory, Department of Pathology, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 3) Clinical Tuberculosis and Epidemiology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4) Tracheal Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## Abstract:

Tuberculosis is a common and sometimes fatal infectious disease. Hepatotoxicity caused by anti-tuberculosis drugs in patients is one of these drugs' most important side effects. The aim of this study was to investigate the relationship between plasma concentration of isoniazid and glutathione S-transferase with hepatotoxicity caused by anti-tuberculosis drugs. In a cross-sectional study, 120 patients with pulmonary tuberculosis were treated with a fixed dose combination of anti-tuberculosis drugs in Tehran from October 2019 to June 2022. To measure the plasma concentration of isoniazid and acetyl isoniazid, the high-performance liquid chromatography method and the activity of glutathione S-transferase was used by the spectrophotometric method. The collected data were statistically analyzed by SPSS version 22 software. In order to analyze the data, a t-test of two independent samples, the Chi-square test, and Pearson's correlation coefficient were used. The significance level in the tests was considered 0.05. Forty patients were in the hepatotoxicity group and the rest were in the group without hepatotoxicity. The odds ratio of women suffering from hepatotoxicity was twice that of men. Although there was no significant difference in age in the comparison of these two groups, it was slightly more observed in the group with hepatotoxicity. The average plasma concentration of isoniazid and the activity of glutathione S-transferase in the group with hepatotoxicity was significantly higher than in the group without hepatotoxicity, but the average plasma concentration of acetyl-isoniazid and the ratio of acetyl-isoniazid to isoniazid were significantly higher in the group without hepatotoxicity than in the group with hepatotoxicity ( $P < 0.001$ ). There was a direct and moderate correlation between the plasma concentration of the isoniazid drug and the activity of the glutathione S-transferase enzyme ( $P < 0.001$ ,  $r = 0.667$ ). Patients with high plasma concentrations of isoniazid are more likely to have higher glutathione S-transferase activity and risk of hepatotoxicity. Therefore, the measurement of glutathione S-transferase in combination with liver tests along with determining the concentration of isoniazid can help in the identification and treatment of patients with tuberculosis.

**Keywords:** Hepatotoxicity, Tuberculosis, isoniazid, GST

## \* Corresponding Author:

Shadi Baniasadi, PharmD, Ph.D., Tracheal Diseases Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases (NRITLD), Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.  
E-mail address: [sbaniasadi@yahoo.com](mailto:sbaniasadi@yahoo.com)