

ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СРЕДСТВА

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ИММУНОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА ТУБОСАН

Б. С. Кибрик, А. В. Павлов, О. Г. Челнокова¹

Изучены противотуберкулезные свойства тубосана, зарегистрированного в РФ в качестве иммуностимулирующего средства. На 53 клинических штаммах микобактерий туберкулеза (МБТ) установлено, что тубосан оказывает бактерицидный эффект на лекарственно чувствительные штаммы МБТ и бактериостатический эффект на устойчивые штаммы МБТ. Применение тубосана в лечении 102 больных лекарственно устойчивым деструктивным туберкулезом позволило достичь значительной клинико-рентгенологической инволюции процесса с перспективой клинического излечения 75 % больных. Результаты исследования показали, что тубосан обладает противотуберкулезными и иммуностропными свойствами. Применение тубосана целесообразно для комплексного лечения лекарственно устойчивого туберкулеза.

Ключевые слова: тубосан; туберкулез; лечение; лекарственная устойчивость МБТ

ВВЕДЕНИЕ

После успехов, достигнутых в 20-ом веке по снижению заболеваемости и смертности от туберкулеза, в начале 21-го века туберкулез вновь приобрел черты “скоротечной чахотки”, угрожающей обществу. Эффективность лечения больных по закрытию полостей распада не превышает 30 – 50 %. Клинического излечения удается достичь лишь у 30 % больных. Увеличение числа больных с множественной устойчивостью МБТ (микобактерий туберкулеза) к противотуберкулезным препаратам наблюдается с 3 – 10 % в 2005 г. до 20 – 50 % в 2009 – 2010 гг. среди впервые выявленных больных с бактериовыделением и достигает 70 – 80 % среди больных с хроническими деструктивными формами и рецидивами заболевания [1, 5, 9]. Актуальным является поиск путей преодоления лекарственной устойчивости микобактерий и создание новых противотуберкулезных препаратов, действующих на лекарственно устойчивые штаммы МБТ.

Целью исследования явилось изучение противотуберкулезных свойств тубосана *in vitro* и повышение эффективности лечения больных деструктивным туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью МБТ при использовании тубосана в комплексном лечении.

Тубосан — метилдиоксотетрагидропиримидин сульфонизоникотиноил гидразид — зарегистрирован в России в фармакологической группе иммуностимуляторов (ЛСР 006593/08 – 140808, Код АТХ L03). Метилдиоксотетрагидропиримидин сульфонизоникотиноил гидразид был впервые синтезирован и использо-

ван для лечения лепры и туберкулеза Н. М. Голощаповым [3, 6, 7]. Тубосан готовится из субстанции кристафон, идентичной субстанции изофон, зарегистрированной в 1999 г., но полученной по новой технологической схеме синтеза и защищенной патентом РФ [2].

В исследовании поставлены задачи по выявлению противотуберкулезного действия тубосана на лекарственно чувствительные и устойчивые штаммы МБТ *in vitro*. Изучена эффективность применения тубосана как противотуберкулезного препарата с иммуностропным действием у больных деструктивным туберкулезом при лекарственной устойчивости МБТ и непереносимости изониазида.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучена бактериостатическая и бактерицидная активность тубосана в концентрации 0,06172 ммоль/мл, 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл, 0,3086 ммоль/мл на 53 клинических штаммах МБТ, выделенных от больных деструктивными формами туберкулеза. Выбор данных концентраций препарата обусловлен результатами доклинических исследований, в которых представлена антимикобактериальная активность метилдиоксотетрагидропиримидин сульфонизоникотиноил гидразида в концентрации 60 мкг/мл эквивалентной 0,18516 ммоль/мл [3, 6, 7]. Нами был изучен более широкий диапазон концентраций препарата для выявления бактерицидных и бактериостатических свойств тубосана в отношении лекарственно чувствительных и лекарственно устойчивых к изониазиду клинических штаммов МБТ. Исследование проводили в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [8]. В исследовании использована среда Левенштейна-Йенсена. Подсчет колоний на среде проводили

¹ Ярославская государственная медицинская академия, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5.

через 21 день [4]. Сравнение противотуберкулезной активности тубосана проводили с изониазидом в концентрации 0,00729 ммоль/мл и 0,0729 ммоль/мл. Выбор изониазида в качестве препарата сравнения обусловлен его известной выраженной противотуберкулезной активностью, а так же тем, что изониазид является наиболее близким гомологом из противотуберкулезных препаратов [8]. В сложившейся практике выделяют две концентрации изониазида — критическую концентрацию 1 мкг/мл — эквивалентную 0,00729 ммоль/мл и максимально терапевтически достижимую 10 мкг/мл — эквивалентную 0,0729 ммоль/мл, позволяющую в ряде случаев преодолеть лекарственную устойчивость МБТ [4]. Эффективность действия препарата оценивали как бактерицидную при полном подавлении роста МБТ по сравнению с контролем. При уменьшении массивности роста МБТ в соотношении контроль/опыт +++/++, ++/+, +++/+ действие тубосана оценивали как бактериостатическое. Обращали внимание на изменение внешнего вида колоний в сравнении контроль/опыт. Изменение культуральных свойств — рост влажных гладких колоний с изменением цвета — оценивали как формирование S колоний и учитывали в качестве дополнительного проявления бактериостатического действия препарата при наличии характерных R колоний — шероховатых, сухих, с сероватым или желтоватым оттенком на средах с контролем [4].

В исследовании проспективно наблюдали 102 больных туберкулезом легких с деструкциями и бактериовыделением с применением тубосана в течение 2 – 5 месяцев в дозах 800 мг в сутки при весе больного до 60 кг и 1200 мг в сутки при весе больного 60 кг и более — основная группа. Суточную дозу препарата больные получали перорально в виде капсул по 200 мг в 2 – 3 приема за 30 мин до еды. Выбор суточной дозы тубосана обусловлен результатами доклинических исследований о бактерицидной и бактериостатической концентрации препарата 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл и его фармакокинетикой с достижением данных концентраций в крови и тканях через 40 – 60 мин после приема с сохранением в течение 4 – 6 ч [3]. Важной характеристикой наблюдаемых больных, принимавших тубосан, являлось наличие у 82 больных лекарственной устойчивости МБТ. В том числе у 65 больных выявлена множественная лекарственная устойчивость, у 11 больных выявлена широкая лекарственная устойчивость. У 20 больных наблюдалась непереносимость изониазида. Тубосан применяли в комплексном лечении в сочетании с 3 – 4 противотуберкулезными препаратами согласно спектру лекарственной устойчивости МБТ. Использовали комбинации основных и резервных препаратов в суточных дозах: рифампицин — 0,6 г, амикацин — 1 г, рифабутин — 0,45 г, авелокс — 0,5 г, циклосерин — 0,5 г, пизаринамид — 1,5 г, ПАСК — 12 г, протионамид — 0,75 г, капреомицин — 1 г. Контрольную группу составили

40 больных деструктивными формами туберкулеза с бактериовыделением. Из них у 20 больных наблюдалась множественная лекарственная устойчивость МБТ, у 20 больных наблюдалась непереносимость изониазида. Комплексное лечение больных контрольной группы включало комбинацию из 4 противотуберкулезных препаратов согласно спектру лекарственной устойчивости МБТ с применением препаратов и доз аналогичных основной группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение противотуберкулезной активности тубосана *in vitro* позволило наблюдать бактерицидное и бактериостатическое действие препарата как в отношении лекарственно чувствительных, так и лекарственно устойчивых клинических штаммов МБТ. При сохранении чувствительности МБТ к изониазиду 0,00729 ммоль/мл отсутствовал рост МБТ на всех 16 образцах. При лекарственной устойчивости МБТ к изониазиду 0,00729 ммоль/мл и чувствительности к изониазиду 0,0729 ммоль/мл на средах с тубосаном 0,18516 ммоль/мл и 0,24688 ммоль/мл рост культуры МБТ во всех 23 образцах также отсутствовал. В образцах с тубосаном 0,06172 ммоль/мл и 0,3086 ммоль/мл наблюдалось значительное уменьшения количества колоний по сравнению с контролем и изониазидом 0,00729 ммоль/мл. При лекарственной устойчивости МБТ к изониазиду 0,00729 и 0,0729 ммоль/мл на 3 из 14 образцов с тубосаном в концентрации 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл, 0,3086 ммоль/мл проявлял бактерицидное действие. На 10 образцах отмечено выраженное бактериостатическое действие тубосана 0,18516 и 0,24688 ммоль/мл в виде уменьшения массивности роста колоний МБТ, в одном случае наблюдалось умеренное бактериостатическое действие. На всех средах с тубосаном в концентрациях 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл, 0,3086 ммоль/мл, где наблюдался рост колоний МБТ, отмечено изменение вида колоний на S-тип. Из 24 случаев множественной и 12 случаев широкой лекарственной устойчивости МБТ в 10 случаях тубосан в концентрациях 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл проявлял бактерицидное действие и в 26 случаях бактериостатическое действие. В случаях широкой лекарственной устойчивости МБТ, в том числе при устойчивости к изониазиду 0,0729 ммоль/мл, отмечена наименьшая бактериостатическая активность тубосана.

При использовании тубосана в комплексном лечении у 72 % больных наблюдалось ускоренное на 2 – 3 недели, по сравнению с контрольной группой, значительное уменьшение и купирование симптомов интоксикации в течение 2 месяцев. В контрольной группе у 28 % больных с положительной динамикой уменьшение симптомов заболевания отмечали лишь на 6 – 7-й неделе лечения.

До начала лечения тубосаном у всех больных были констатированы серьезные нарушения в клеточном

звене иммунитета. Применение тубосана привело к увеличению содержания общего количества Т-клеток и улучшению показателей фагоцитоза. Переносимость тубосана была хорошей в суточных дозах 800 и 1200 мг, в том числе у больных с непереносимостью изониазида и сопутствующей патологией.

В течение 3–5 месяцев применения тубосана у 75 % больных получена значительная динамика рентгенологической картины в течение 6–12 месяцев с учетом исходно распространенного процесса в виде закрытия полостей распада у 30 % больных и уменьшения размеров деструкций до 0,5–2 см у 45 % больных. В контрольной группе у 40 % больных отмечена незначительная динамика процесса с сохранением полостей и формированием хронических деструктивных форм.

В результате исследования *in vitro* получены данные о высокой противотуберкулезной активности тубосана в концентрациях 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл. Бактерицидное действие тубосан проявил в отношении лекарственно чувствительных штаммов МБТ и устойчивых к изониазиду 0,00729 ммоль/мл при сохраненной чувствительности к изониазиду 0,0729 ммоль/мл. В отношении лекарственно устойчивых штаммов МБТ к изониазиду 0,0729 ммоль/мл наблюдалось бактериостатическое действие тубосана. Полученные данные свидетельствуют о наличии противотуберкулезного действия тубосана в концентрациях 0,18516 ммоль/мл, 0,24688 ммоль/мл в отношении лекарственно чувствительных и лекарственно устойчивых штаммов МБТ, в том числе с множественной и широкой лекарственной устойчивостью. Сочетание противотуберкулезного действия тубосана с низкой токсичностью препарата по сравнению с изониазидом и наличие ранее известных иммуностимулирующих свойств позволяет отнести тубосан к новым препаратам с противотуберкулезной активностью для лечения лекарственно устойчивого туберкулеза.

Клинические наблюдения показали возможность повышения эффективности лечения больных деструктивным лекарственно устойчивым туберкулезом при использовании тубосана в комплексном лечении в течение 2–5 месяцев. Наблюдалась ускоренная клинико-рентгенологическая инволюция процесса. Дости-

нуто восстановление показателей иммунной системы. Выявленная противотуберкулезная активность тубосана, иммуномодулирующие свойства, хорошая переносимость препарата привели к положительным результатам лечения с перспективой клинического излечения 75 % больных лекарственно устойчивым деструктивным туберкулезом.

ВЫВОДЫ

1. Бактериологически установлено, что тубосан обладает противотуберкулезным действием, оказывая бактерицидный эффект на лекарственно чувствительные штаммы МБТ и изониазид-резистентные (0,00729 ммоль/мл). В отношении изониазид-резистентных штаммов 0,0729 ммоль/мл тубосан в концентрации 0,18516 ммоль/мл и 0,24688 ммоль/мл проявляет бактериостатическую активность.

2. Применение тубосана позволило достичь значительной клинико-рентгенологической инволюции процесса с перспективой клинического излечения 75 % больных деструктивным лекарственно устойчивым туберкулезом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. С. Кибрик, Е. С. Устюжанина, О. Ю. Соснина, *Туберкулез и болезни легких*, № 5, 196–197 (2011).
2. В. В. Макаров, С. И. Валешный, В. П. Ильин и др., Патент РФ 2458059 (2011).
3. Е. Н. Голощапова, Н. М. Голощапов, А. А. Заварзин, *Изофон новый бифункциональный иммуномодулятор*, Москва (2002).
4. *Культуральные методы диагностики туберкулеза*, В. В. Ерохин (ред.), Москва (2008).
5. М. В. Шилова, *Туберкулез в России в 2010 году*, ООО “РПЦ Прима”, Москва (2012).
6. Н. М. Голощапов, Т. П. Филиппских, Л. Е. Костюк и др. АС 968989 (1996).
7. Н. М. Голощапов, Е. Н. Голощапова, Т. П. Филиппских и др., Патент РФ 2141322 (1999).
8. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).
9. Т. Ю. Салина, Т. И. Морозова, *Медицинский альманах*, № 4, 59–62 (2011).

Поступила 04.05.12

BACTERIOLOGICAL SUBSTANTIATION OF THE ANTITUBERCULOSIS EFFECT OF IMMUNOTROPIC DRUG TUBOSAN

B. S. Kibrik, A. V. Pavlov, and O. G. Chelnokova

Yaroslavl State Medical University, ul. Revolyutsionnaya 5, Yaroslavl, 150000, Russia

The antituberculosis effect of tubosan registered in the Russian Federation as an immunostimulant drug has been studied on a series of 53 clinical strains of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT). It is established that tubosan produces a bactericidal effect on drug-sensitive MBT strains and a bacteriostatic effect on resistant MBT strains. Use of tubosan for the treatment of 102 patients with drug-resistant destructive tuberculosis showed evident clinical-radiological involution process, with prospects of clinical recovery for 75% of patients. Results of this study show that tubosan possesses both antituberculosis and immunostimulant properties. It is recommended to use tubosan for complex treatment of patients with drug-resistant tuberculosis.

Keywords: tubosan; tuberculosis; treatment; drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*