

## Новые перспективы лечения туберкулеза органов дыхания

П.К. Яблонский, Т.И. Виноградова, М.В. Павлова, Н.В. Сапожникова, С.Н. Васильева, Л.И. Арчакова, А.С. Гуцин<sup>1</sup>  
ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России

<sup>1</sup>ОАО «Фармасинтез»

### Резюме

В доклинических исследованиях нового противотуберкулезного препарата Перхлозон® (тиоуреидоиминометилпиридиния перхлората) установлены его основные фармакологические свойства, доказана высокая эффективность, безопасность, перспективность его использования в лечении туберкулеза. Клинические исследования I - III фазы позволили получить данные о клинической эффективности и переносимости препарата. Применение Перхлозона в составе комплексной терапии в течение 3 месяцев достоверно увеличивает частоту прекращения бактериовыделения и закрытия полостей распада у пациентов с туберкулезом, в т.ч. лекарственно-резистентным туберкулезом легких по сравнению со стандартными схемами химиотерапии, включающих фторхинолоны.

**Ключевые слова:** туберкулез органов дыхания, экспериментальный туберкулез, противотуберкулезный препарат Перхлозон®, эффективность и безопасность

Устойчивая динамика снижения показателей заболеваемости и смертности от туберкулеза характеризует современное положение эпидемиологической ситуации в Российской Федерации. Однако при этом сохраняется массивное ядро бактериовыделителей (по данным 2011 года – 69,3 на 100 тыс. населения, общее число бактериовыделителей к началу 2012 года составляло 99190). Сохраняется рост заболеваемости с

туберкулезом с устойчивостью к основным, наиболее эффективным противотуберкулезным препаратам - множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ туберкулез): в 2011 году доля таких больных среди впервые выявленных больных туберкулезом органов дыхания с бактериовыделением составляла 19,8%, общее число больных туберкулезом с МЛУ к началу 2012 года составляло 33 744. Российская Федерация по-прежнему остается в числе стран с самым большим распространением туберкулеза с МЛУ

Появление штаммов *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) к препаратам стандартной антибактериальной терапии как один из итогов полувековой истории противотуберкулезной терапии также является отличительной чертой современной эпидемиологической ситуации. Наблюдаемое изменение биологических свойств возбудителя оказывает значительное влияние на процесс бактериовыделения и существенно определяет патоморфоз заболевания. Лекарственная резистентность микобактерий туберкулеза является одним из основных факторов, ограничивающих эффективность противотуберкулезной терапии. Эффективность стандартных режимов химиотерапии в настоящее время остается на низком уровне. Доля впервые выявленных больных туберкулезом с эффективным курсом химиотерапии в гражданском секторе здравоохранения в 2009 году составила 68,9%, а доля больных с рецидивом заболевания – 51,7% [1,2,8].

Таблица 1

Годы введения в практику противотуберкулезных препаратов

Препараты	Год введения
стрептомицин	1943
изониазид	1952
цикloserин	1955
канамицин, амикацин	1957
рифампицин	1965
этионамид	1966
капреомицин	1967
этамбутол	1968
пиразинамид	1970
лемефлоксацин, офлоксацин	1987
<b>ПЕРХЛОЗОН</b>	<b>2012</b>

Лечение туберкулеза с МЛУ МБТ - чрезвычайно сложная задача, требующая огромных организационных и материальных ресурсов. Учитывая общественную значимость этого заболевания в оценке здоровья населения и дополнительную угрозу глобальной борьбе с туберкулезом, которую представляет МЛУ - туберкулез, необходима разработка новых противотуберкулезных препаратов [2]. Решение ее невозможно без создания новых противотуберкулезных препаратов (ПТП). Однако новые препараты с заявленной противотуберкулезной активностью не появлялись в распоряжении фтизиатров в течение многих десятилетий.

В лаборатории экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России в период с 1978 по 1988 гг. проведен скрининг более 1000 новых соединений из различных химических классов по установлению их активности в отношении *M. tuberculosis*. Наиболее перспективным оказалось вещество тиоуреидоиминометилпиридиния перхлорат, синтезированное в Иркутском институте химии СО РАН и названное в последующем «Перхлозон» [3]. В исследованиях на модели экспериментального лекарственно-чувствительного туберкулеза на двух видах животных (мыши и кролики) в условиях монотерапии перхлозоном установлены его высокие протективные и терапевтические свойства: лечебный эффект нового вещества в дозе 30 мг/кг был сопоставим с изониазидом и амикацином, превосходил этамбутол и ципрофлоксацин; а в дозе 20 мг/кг – равноценен офлоксацину. Основные доклинические исследования, проведенные в 1987 – 2006 гг. в ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России в соответствии со стандартом GLP показали, что перхлозон является малотоксичным веществом, не оказывает структурно-функциональных нарушений жизненно важных органов и систем, а также раздражающего действия на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Перхлозон обладает умеренной эмбриотоксичностью, преимущественно при введении его в период органогенеза. Тератогенное действие перхлозона проявляется только в дозе 100 мг/кг (в пять раз выше терапевтической), также при введении в период органогенеза. Нарушений в развитии плаценты и сдвигов в формировании пола не происходит. При длительном введении животным перхлозон не нарушает репродуктивную функцию, не влияет на качество развития потомства, не проявляет иммунотоксических и мутагенных свойств [4,5,6,7].

**Цель исследования:** Установить противотуберкулезную активность препарата в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, оценить его клиническую эффективность и безопасность применения в комплексной терапии туберкулеза легких, в том числе с МЛУ.

**Материалы и методы.** Противотуберкулезная активность перхлозона *in vitro* изучена в отношении 14 культур микобактерий туберкулеза (МБТ), выделенных от больных туберкулезом, с устойчивостью к 5-6 противотуберкулезным препаратам. Использованы стандартные методы двукратных разведений в жидкой синтетической среде Сотона с 10% нормальной лошадиной сыворотки и абсолютных концентраций на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена. Критерием противотуберкулезной активности являлась величина минимальной ингибирующей концентрации (МИК, мкг/мл). Опыты по экспериментальной химиотерапии поставлены на модели туберкулеза у белых беспородных мышей, зараженных путем инокуляции в хвостовую латеральную вену бактериальной взвеси (1x10<sup>6</sup> КОЕ в 0,2 мл) клинического штамма №5419 (устойчивость к 10 мкг/мл изониазида, 40 мкг/мл рифампицина, 10 мкг/мл стрептомицина, 30 мкг/мл этамбутола). В контрольной группе химиотерапия (ХТ) включала протионамид, амикацин, офлоксацин, пара-аминосалициловую кислоту (ПАСК) и циклосерин. В опытной группе офлоксацин заменяли на перхлозон (20 мг/кг, перорально). Эффективность комбинации препаратов оценивали по следующим критериям: летальность, биометрические показатели легких, макро- и микроскопическая оценка их пораженности, высеваемость МБТ, фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов (пМф).

Клиническую эффективность препарата оценивали в открытом рандомизированном исследовании. Контрольные группы больных туберкулезом легких, в том числе и с МЛУ, получали лечение препаратами по I режиму (изониазид в дозировке 10 мг/кг массы тела, рифампицин - 10 мг/кг, пипразинамид -25мг/кг, этамбутол – 25-30 мкг/кг) – 20 человек (группа IA), и препаратами по IV (офлоксацин – 0,8 г/сутки, протионамид – 0,75 г/сутки, ПАСК – 8-10 г/сутки, циклосерин – 0,75 г/сутки) – 15 человек (группа IIA). В опытной группе I (31человек) перхлозон в дозировке 14 мг/кг заменял в комбинации препаратов I режима этамбутол, а в группе II (29 человек) в комбинации препаратов IV режима – офлоксацин. Группы сопоставимы по клинко-рентгено-лабораторным данным. Все пациенты имели деструктивные изменения в легочной ткани, являлись бактериовыделителями. Эффективность терапии оценивали через 1 и 3 месяца от начала терапии по основным показателям - прекращению бактериовыделения и закрытию полостей распада.

Для статистической обработки полученных данных использовали методы Вилкоксона-Манна-Уитни и Стьюдента-Фишера.

#### **Результаты и их обсуждение**

В опытах *in vitro* перхлозон оказывал выраженное ингибирующее действие на жизнеспособность

**Таблица 2**

Показатели тяжести течения экспериментального генерализованного лекарственно-устойчивого туберкулеза мышей, получавших перхлозон в составе комплексной терапии

Условия опыта	Коэффициент массы легких (усл. ед.)	Индекс поражения легких (усл. ед.)	КОЕ МБТ из селезенки
контроль заражения	3,58±0,27	3,5±0	125,0±14,0
АОfPtPASCs	1,81±0,16*	2,86±0,09*	93,0±38,2
APtPASCs + перхлозон	1,55±0,07*	2,41±0,1*	55,8±18,9*

\* - различия достоверны при сравнении с контролем заражения ( $p < 0,05$ )

лекарственно устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза. При этом МИК вещества варьировала от 0,78 до 6,25 мкг/мл.

На модели экспериментального МЛУ туберкулеза доказано (табл.1), что замена фторхинолонов на Перхлозон® способствовала существенному повышению эффективности лечения по протективному и терапевтическому действию по сравнению с базовой ХТ: регистрировали снижение летальности мышей и потери их массы тела в 1,2 раза ( $p < 0,02$ ), сокращение степени пораженности легких в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) и высеваемости МБТ в 2,2 раза ( $p < 0,05$ ).

Исследование функциональной активности перитонеальных макрофагов показало, что использование перхлозона в комплексной терапии экспериментального МЛУ туберкулеза привело к достоверной активации фагоцитарных реакций пМФ, где отмечено достоверное повышение (до уровня интактных мышей) поглотительной (по фагоцитарной активности) и стимуляция переваривающей функции пМФ ( $p = 0,05$ ,  $p < 0,01$ ) по сравнению с базовой схемой, лечение которой не привело к нормализации фагоцитоза, значимо угнетенного у зараженных нелеченных животных (табл. 2).

Таким образом, доклинические исследования показали, что перхлозон – активное противотуберкулезное вещество, обладающее выраженным антимикобактериальным действием *in vivo* и *in vitro*, протективным и терапевтическим эффектом, способностью активировать фагоцитарную функцию макрофагов, а также усиливать эффективность других противотуберкулезных препаратов.

Клинические исследования I фазы, проведенные ГНИЦ профилактической медицины (Москва) и ГНЦ Институт иммунологии РАМН (Москва) показали, что однократный прием перхлозона в дозах 400, 800, 1200, 1600 мг не нарушает функциональную активность систем организма, не оказывает негативного влияния на оцениваемые параметры (АД, ЧСС, температуру тела и лабораторные показатели). При однократном приеме перхлозона были выявлены связанные с его приемом

**Таблица 3**

Показатели фагоцитоза у мышей с лекарственно устойчивым генерализованным туберкулезом, получавших перхлозон в составе комплексной терапии

Условия опыта	Фагоцитарная активность (%)	Фагоцитарное число (кол-во дрожжевых клеток)	Показатель завершенности фагоцитоза (кол-во дрожжевых клеток)	Индекс завершенности фагоцитоза (усл.ед.)
интактные	63 (53-68)	6,54 (4,71-9,27)	317,2 (210-513)	2,35 (1,61-3,36)
контроль заражения	42,5 * (40-47)	4,99 (4,71-5,38)	100 * (74-120)	1,45 * (1,28-1,64)
АОfPtPASCs	51,4* (44-60)	6,88 (4,9-10,57)	206,8 (149-279)	2,12 (1,3-2,75)
APtPASCs перхлозон	64,0 (50-71)	9,92* (6,85-13,41)	500,8* *** (303-799)	3,47* *** (3,03-4,64)

\* - различия достоверны при сравнении с интактными

\*\*\* - различия достоверны при сравнении мышей, леченных перхлозоном+ ПТП, с соответствующими ПТП

нежелательные явления, такие как: сонливость, головная боль, гиперемия лица, слабость. После приема внутрь препарат Перхлозон® быстро всасывается в системный кровоток и достигает максимальных значений в течение 1,5-3 часов, период полувыведения составляет 12-24 часов.

Эффективность перхлозона при лечении больных с впервые выявленным туберкулезом легких, в т. ч. МЛУ, была изучена в трех центрах:

- ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России
- ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России
- БУЗ Орловской области «Орловский областной противотуберкулезный диспансер».

В ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России в исследование были включены 95 больных туберкулезом органов дыхания в возрасте от 18 до 45 лет, более половины из них - лица мужского пола.

В структуре клинических форм заболевших преобладал инфильтративный туберкулез легких с долевыми и полисегментарными поражениями (у 95,8% больных). Симптомы интоксикации различной степени выраженности установлены у 69 (72,6%) пациентов. Изменение гематологических показателей крови выявлено у 91 (95,8%) больного, ускорение СОЭ от 20 до 45 мм/час у 87 (95,6%), лейкоцитоз зарегистрирован у 36 (37,9%), лимфопения – у 36 (39,6%) пациентов. Деструктивные формы туберкулеза установлены у всех больных, в том числе у 32 больных (33,7) - сформированные полости распада, у остальных - пневмониогенные полости и несформированные деструктивные изменения. Бактериовыделение зарегистрировано у всех пациентов, в том числе с помощью молекулярно-генетических методов. У 29 больных выявлена МЛУ МБТ

К концу 1 месяца лечения в группе I у пациентов с лекарственно чувствительным туберкулезом симптомы интоксикации прекратились у 29 больных (93,5%), в контрольной группе IA – у 13 (65,0%). Прекращение бактериовыделения по результатам бактериоскопии к 1 месяцу в группе I достигнуто у всех больных, в контрольной группе - у 17 (85%). Значительное рассасывание инфильтративных изменений в легочной ткани установлено у 34 больных (97,1%) группы I, и только у 11 (55%) – в контрольной. Через три месяца все больные с лекарственной чувствительностью МБТ в группах I и IA были абациллированы, закрытие полостей распада к этому сроку достигнуто у 68,1% и 35%, соответственно (см. рисунки 1 и 2)

В группе II больных с МЛУ МБТ прекращение бактериовыделения по результатам бактериоскопии к концу 1 месяца лечения было достигнуто у 18 пациентов (62,1%), а в контрольной группе IIA - у 5 пациентов (33,3%), к 3 месяцам – у 21 больного (72,4%) группы II, и у 8 больных (55,3%) в контрольной группе IIA. Значительная регрессия инфильтративных изменений в легочной ткани отмечена у 17 больных (60,0%) группы II и 5 (35,7%) – в группе IIA, у закрытие полостей распада – у 14 больных (48,0%) и у двух (13,2%), соответственно. Выраженная рентгенологическая динамика наблюдалась даже при неполном курсе лечения перхлозоном (16-30 дней).



Рисунок 1. Прекращение бактериовыделения при лечении перхлозоном, % больных. А – через 1 месяц, Б – через 3 месяца после начала лечения.



Рисунок 2. Рентгенологическая динамика через 3 месяца лечения перхлозоном, доля пациентов в %. А – со значительной регрессией инфильтративных и воспалительных процессов, Б – с закрывшимися полостями распада

Нежелательные реакции были отмечены у 10 больных, принимавших перхлозон, в том числе только диспепсические явления – у 4 больных, кожные аллергические изменения – у одного больного. У одного

пациента, получавшего перхлозон, возникли серьезные нежелательные реакции - токсико-аллергические проявления на коже и отек Квинке, ликвидация которых потребовала отмены перхлозона и назначения гормонов в высоких дозах. В контрольной группе побочные явления определяли у четырех больных в виде тошноты и рвоты.

Таким образом, проведенное экспериментально-клиническое исследование показало достаточно высокую эффективность нового препарата Перхлозон® и перспективность его использования в лечении туберкулеза. Применение перхлозона в составе комплексной терапии в течение 3 месяцев достоверно увеличивает частоту абациллирования и закрытия полостей распада у пациентов с лекарственно-резистентным туберкулезом легких по сравнению со стандартными схемами химиотерапии, включающих фторхинолоны.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева И.В., Эргешов А.Э., Самойлова А.Г., Киселева Ю.Ю., Иванов А.К., Яблонский П.К. Отдаленные результаты применения стандартных режимов химиотерапии у больных туберкулезом органов дыхания // Туберкулез и болезни легких. - 2012. - №4. - С. 3-8.
2. Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью: Пер. с англ. / Ред. И. Бастиан, Ф.Порталс. - М.: Медицина и жизнь, 2003. - 368 с.
3. Патент RU № 1621449 Перхлорат-4-тиоуреидоиминометил пиридиния, обладающий туберкулостатической активностью / В.Н. Елохина, А.Е. Александрова, А.С. Нахманович, Р.А. Щеголева, Р.А. Карнаухова, Т.И. Виноградова, И.Д. Калихман (гос. рег. 25.10.1993)
4. Виноградова Т.И. Совершенствование этиотропной терапии туберкулеза (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 1994. – 39 с.
5. Виноградова Т.И., Александрова А.Е., Антоненкова Е.В., Елохина В.Н., Нахманович А.С. Конструирование и исследование новых веществ, обладающих противотуберкулезной активностью: оригинальное соединение «перхлозон» как возможное средство этиотропной терапии туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – 1999. - № 3. – С.45-47.
6. Патент RU № 2423977 Противотуберкулезное лекарственное средство на основе 4-тиоуреидоимино-метилпиридиния перхлората, способ его получения и способ лечения / А.С. Гущин, Т.И. Виноградова, П.К.Яблонский, Г.А.Батюнин, Н.В. Заболотных, С.Н. Васильева, А.В. Малыгин (Заявка 2010115705/15, 20.04.2010 Опубликовано 20.07.2011)
7. Яблонский П.К., Павлова М.В., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Арчакова Л.И., Малыгина Е.И., Сапожникова Н.В., Чернохаева И.В., Краснов В.А., Кульчавеня Е.В., Петренко Т.И., Рейхруд Т.А., Нарышкина С.Л., Жукова Е.М., Елохина В.Н., Амосова С.В., Трофимов Б.А., Гущин А.С. Первый опыт применения нового противотуберкулезного препарата ПЕРХЛОЗОН® во фтизиатрии // Совершенствование медицинской помощи больным туберкулезом: материалы Всероссийской науч.-практ.конф. – СПб., 2011. – С. 269-270.