

## **СТАНДАРТИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ТУБЕРКУЛЁЗА ЛЁГКИХ, ВЛИЯНИЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА МИКОБАКТЕРИИ**

Л. Д. Тодорико, И. В. Еременчук

*Кафедра фтизиатрии и пульмонологии Буковинского государственного  
медицинского университета*

E-mail: pulmonology@bsmu.edu.ua, тел. +38 050 660-79-59

Введение. В последние десятилетия в Украине на фоне стабилизации уровня заболеваемости туберкулезом легких (ТБ) отмечается рост штаммов, резистентных к одному или нескольким антимикобактериальным препаратам (АМБП). Каждый год процент возникновения новых случаев ТБ с первичной лекарственной устойчивостью увеличивается. В мире около 50 млн. человек инфицировано штаммами микобактерий туберкулеза (МБТ), резистентными к АМБП.

Характерной особенностью микобактерий туберкулеза является их чрезвычайная изменчивость, благодаря которой они способны быстро привыкать к АМБП. Важной задачей современной фтизиатрии остается проблема синтеза новых бактерицидных препаратов, которые улучшат и усовершенствуют стандартную химиотерапию. Существует много исследований по синтезу новых соединений с различными химическими свойствами, однако их влияние на резистентные штаммы МБТ не изучено, что указывает на актуальность данной тематики.

На сегодняшний день разработка и усовершенствование способов лечения (стандартных, эмпирических и индивидуальных) больных с мультирезистентным туберкулезом легких очень важна, поскольку количество таких больных возрастает, а увеличение распространенности мультирезистентных МБТ приводит к снижению качества лечения и, как следствие, увеличению показателя смертности и поддержанию источника эпидемии в целом.

Цель исследования. Изучить эффективность стандартного режима химиотерапии у больных с впервые диагностированным мультирезистентным туберкулезом легких и провести анализ эффективности действия новых синтезированных гетероциклических соединений на микобактерии туберкулеза.

Материалы и методы. В исследование включено 43 больных на МРТБ с наличием бактериовыделения, которые находились на стационарном лечении в Черновицком областном противотуберкулезном диспансере; микобактерии туберкулеза, выделенные больными с впервые диагностированным туберкулезом легких. Оценивали:

- прекращение бактериовыделения (по мазку/культуре, уменьшение, продолжение, появление);
- очаговые и инфильтративные изменения по результатам рентгенологического исследования (исчезновение, уменьшение, увеличение, появление пневмосклероза, без изменений);
- каверны (исчезновение, регрессия, увеличение, появление каверн, без изменений);
- клинические проявления ((в т.ч. периферическая кровь), исчезновение, уменьшение, увеличение, появление клинических проявлений, без изменений);
- рост микобактерий туберкулеза на питательных средах.

Оценку эффективности лечения проводили 2 раза:

- Через 2-6 мес. после проведения коррекции лечения и перевода пациента на стандартный или индивидуальный режим химиотерапии.
- Во время выписки из стационара.

Исследование противотуберкулезного действия и активности N'-[(1H-имидазол-5-ил)-метилен]пиперидина гидрохлорида (I-VII) проводилось по следующей методике: для приготовления разведений используют химически чистые субстанции препаратов, которые разводят диметилсульфоксидом и 96% этиловым спиртом. В качестве питательной среды используют среду Левенштейна-Иенсена.

Готовят гомогенную бактериальную суспензию в 0,9% растворе хлорида натрия. Для этого культуру, выросшую на твердой питательной среде Левенштейна-Иенсена, снимают тампоном, предварительно смоченным в стерильном 0,9% растворе хлорида натрия. Тампон погружают в пробирку, содержащую 2,0 мл стерильного 0,9% раствора хлорида натрия, культуру смывают в жидкость, предварительно растирая по внутренним стенкам пробирки. Пробирку оставляют на 30 мин. при комнатной температуре. Бактериальную смесь разводят стерильным физиологическим раствором хлорида натрия до разведений  $10^{-2}$  (K<sub>1</sub>) и  $10^{-4}$  (K<sub>2</sub>). Подогревают панель, содержащую исследуемые соединения, до комнатной температуры, добавляют по 0,1 мл подготовленной суспензии с концентрацией  $10^{-2}$  кл/мл в каждый флакон со средой Левенштейна-Иенсена, которая содержит исследуемые соединения, и в один из контролей K<sub>1</sub>. Во второй контроль добавляют 0,1 мл суспензии с концентрацией  $10^{-4}$  кл/мл K<sub>2</sub>. Плотные закрытые флаконы инкубируют при температуре  $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$ . Оценку результатов проводят через 21 день.

Используемые статистические методы обработки результатов исследования: пакет Microsoft Office Professional 2000 (Excel) и методы вариационной и ранговой статистики.

Результаты исследования и их обсуждение.

У всех больных бактериовыделение определяли методом бактериоскопии мазка (прямая бактериоскопия или флотация), а затем бактериологическим (посев на питательные среды). В основном устойчивость МБТ к АМБП определялась в среднем через 2-6 мес.

Изучение профиля мультирезистентности штаммов МБТ, выделенных больными, лечившимися в Черновицком областном противотуберкулезном диспансере, позволило констатировать: устойчивость к 2-м основным препаратам (HR) установлена в 27,9% случаях, к 3-м — (HR + (S, Z, E, Et, K)) и 4-м (HR + (SE, SZ, ZEt)) АМБП — в 27,9% и к 5-ти (HR + (SEZ, SEEt)) химиопрепаратам — в 16,3% случаях. Анализ установленного нами характера резистентности позволил выяснить, что наибольшую часть в структуре мультирезистентности штаммов микобактерий среди обследованных пациентов, занимает расширенная устойчивость МБТ, которая установлена у 67,4% больных и формируется за счет резистентности к стрептомицину (HRS, HRSE, HRSZ, HRSEZ, HRSEEt) у 53,5% пациентов, пипразинамида (HRZ, HRSZ, HRSEZ) — у 27,9%, этамбутола (HRE, HRSEZ, HRSEEt, HRSEZ) — у 37,2%. По нашему мнению, это означает, что препараты I ряда теряют свою эффективность и у таких больных для обеспечения полноценного режима терапии целесообразно применять, кроме препаратов II ряда (в случае их плохой переносимости), антибактериальные препараты широкого спектра действия, имеющие противотуберкулезные свойства, в частности, респираторные фторхинолоны, макролиды и другие.

Полученные данные медикаментозной чувствительности МБТ по одному препарату соответствовали предназначенному режиму химиотерапии у 6,9% пациентов, по двум препаратам — у 16,3% больных, по трем препаратам — у 37,2% обследуемых, по четырем — у 16,3%. Только у 23,3% случаев резистентность МБТ не совпадала с назначенным режимом химиотерапии из-за того, что назначался эмпирический режим с учетом возможной резистентности МБТ.

Исследования указывают на то, что данные пациенты при получении основного курса химиотерапии из 4-5 препаратов, принимали 1-3, чувствительные к АМБП лекарства. Итак, пациенты, которые лечились 4-5-компонентной схемой АМБП, только в 23,3% случаев получали один активный к МБТ препарат, 34,9% больных — 2 таких препарата и 13,9% больных — 3 лекарственных средства, которые были чувствительными из предложенной схемы химиотерапии. Полноценный основной режим химиотерапии получали только 27,9% пациентов.

После получения теста медикаментозной чувствительности МБТ к АМБП клинические формы туберкулеза, в зависимости от результатов химиорезистентности, распределились следующим образом. Среди 43 больных с ВДТБ мультирезистентность МБТ к химиопрепаратам диагностирована при диссеминированном туберкулезе в 62,7% случаях (наибольшую часть составила устойчивость к комбинации HR+SE (11,6%)) и в 37,3% случаях диагностировалась резистентность с вероятным преобладанием устойчивости к HR (в 18,6 %) при инфильтративной клинической форме.

Клиническая форма туберкулеза не всегда отражает выраженность и тяжесть протекания данного заболевания. Мы провели анализ распро-

странности специфического процесса в легких с рентгенографическими данными. Мультирезистентные штаммы при поражении обоих легких встречались у 100% обследованных с резистентностью к HR + Z, HR + E, HR + Et, HR + K, HR + SZ, HR + ZEt. При поражении одной и двух долей резистентность определялась в 50% всех случаев (в основном до 5-ти препаратов — HR+SEEt).

В целом, после получения резистентности МБТ к АМБП стандартный режим химиотерапии назначался в 46,5% случаях, индивидуальный режим — у 53,5% пациентов. Данные режимы (Приказ МЗ Украины от 22.10. 2008 г. № 600) формировались на основе препаратов 2-го ряда — канамицина, этионамида, ПАСК и фторхинолонов — офлоксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина.

Следующая оценка режимов химиотерапии проводилась через 6 мес. После проведения коррекции лечения и перевода пациента на стандартный или индивидуальный режимы химиотерапии было установлено, что прекращение бактериовыделения произошло как при стандартном, так и индивидуальном режимах химиотерапии, соответственно у 85% и 39,1% случаях. Однако, эффективность почти в 2,17 раза достоверно была выше при применении стандартного режима химиотерапии. Достоверных различий по режимам химиотерапии не было выявлено в случае частичного рассасывания очагово-инфильтративных изменений, которые произошли у 70% и 60,9% случаев. Установлено, что при предложенных режимах химиотерапии существенно отличается показатель регрессии каверн — 65% (стандартный режим) против 21,7% (индивидуальная схема антимикобактериальной терапии). Положительная динамика клинического анализа крови наблюдалась при стандартном режиме у 85% пациентов и у 34,8% — при индивидуальном, а улучшение клинических проявлений соответственно — у 80% и 43,8% пациентов.

Из полученных данных напрашиваются выводы относительно эффективного режима химиотерапии после получения теста медикаментозной чувствительности. Несмотря на индивидуальный подбор химиотерапии в условиях существующей устойчивости к АМБП, предпочтение получил стандартный режим химиотерапии, достоверная вероятность,  $p=0,001$ .

Пациенты с мультирезистентным туберкулезом легких (диагноз установлен согласно приказу № 600 МЗ Украины от 22.10.2008 г.) требуют интенсивной, контролируемой химиотерапии с длительным пребыванием на стационарном лечении, в среднем лечение продолжалось  $16,8 \pm 7,2$  мес. Последующую оценку режимов проводили при выписке из стационара. При стандартном режиме химиотерапии полное прекращение бактериовыделения установлено у 90% больных, при индивидуальном — только в 56,5% случаев; полное рассасывание очагово-инфильтративных изменений наблюдалось у 50% и 26,1% лиц соответственно. Регрессия каверн при стандарте обнаружена у 55% пациентов, при индивидуальном режиме — у 21,7%. Нормализация показателей общего анализа крови при стандартном и индивидуальном режимах химиотерапии отмечена соот-

ветственно — у 90% и 65% лиц. Отсутствие основных клинических проявлений наблюдалось у 90% лиц при стандартном режиме химиотерапии и у 39% — при индивидуальном.

Итак, у пациентов с мультирезистентным туберкулезом легких эффективной программой химиотерапии является стандартный режим (по сравнению с индивидуальным), данные достоверны ( $p=0,03$ ).

В связи со стабилизацией легочного процесса и прекращением бактериовыделения у пациентов с мультирезистентным туберкулезом легких из стационара выписаны 72,1% пациентов. Учитывая периодические обострения данного заболевания, 9,4% пациентов через некоторое время поступили снова. С посмертным эпикризом выписано 4,7% больных.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что характерной особенностью МБТ является их чрезвычайная изменчивость, благодаря которой они способны быстро привыкать к антибактериальным препаратам и, в частности, к фармакоэкономическому и эффективному препарату I ряда — изониазиду. Одной из задач нашего исследования является синтез новых эффективных соединений на основе молекулы изониазида, которые обладали бы выраженной противотуберкулезной активностью, особенно при химиорезистентном туберкулезе.

По этой причине, проведен первый этап синтеза 22 гетероциклических соединений и исследование их действия на МБТ. Использованы микобактерии, выделенные из мокроты 5-ти больных с впервые диагностированным туберкулезом легких с сохраненной чувствительностью к АМБП. По терапевтическому действию ближайшим аналогом к заявленным соединениям является гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид) — один из применяемых недорогостоящих и эффективных лекарственных средств из ряда применяемых при терапии туберкулеза.

Учитывая потенциальную противотуберкулезную активность ряда производных имидазола, решение поставленной задачи достигается синтезом новых структур, которые содержат изониазидный и имидазольный фрагменты — N'-[(имидазол-5-ил)метил]изоникотиногидразидов.

Для получения заявленных соединений нами разработана препаративная удобная одностадийная схема, основанная на конденсации доступных 4(2)-замещенных 1-алкил(арил)-5-формилимидазолов. При их нагревании с гидразидом изоникотиновой кислоты в уксусной кислоте образуются соответствующие N'-[(1H-имидазол-5-ил)метил]изоникотиногидразиды (I-VII), процент выхода которых 75-85 %.

Всего поставлено 125 проб с концентрацией соединений 1 мкг/мл (22 соединения на 5 больных (110) + 2 контроля на 5 больных (10) с разведением  $10^{-2}$  и  $10^{-4}$  (чистая среда) + 1 пробирка на 5 больных (5) с растворителем ДМСО). Определение активности синтезированных соединений по отношению к штаммам МБТ проводили методом пропорций (метод Канетти), который сводится к выявлению пропорции между чувствительными и устойчивыми особями в популяции штамма МБТ, выделенного от больного. Если количество устойчивых особей к какому-либо ан-

тибактериальному препарату в популяции будет меньше 1,0%, такой штамм считается чувствительным к данному препарату. Если устойчивость особей в популяции более 1,0% — штамм считается устойчивым к данному препарату. Для исследования использовали штаммы МБТ от 10-ти впервые диагностированных больных туберкулезом легких. По рекомендациям ВОЗ исследовали концентрации, при которых определяют устойчивость МБТ к изониазиду: 1,0 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,1 мкг/мл и 0,05 мкг/мл.

Суммированные результаты свидетельствуют, что по своей противотуберкулезной активности новые синтезированные соединения при концентрации в питательной среде 0,05 мкг/мл в 4 раза активнее, чем использованный в качестве тест-объекта общеизвестный препарат изониазид.

Таким образом, новые синтезированные соединения могут быть прототипами для создания высокоэффективных противотуберкулезных лекарственных средств и, в частности, для лечения химиорезистентных форм туберкулеза легких.

Выводы.

1. Оценка режимов химиотерапии в фазе продолжения и при выписке из стационара, несмотря на индивидуальный подбор химиопрепаратов, показала, что эффективным оказался стандартный режим за счет использования препаратов 2-го ряда и фторхинолонов (ЕК(Аm)ZEt(PASS) Q или EZEt(PASSQ), достоверная вероятность ( $p=0,001$ ).

2. Новые синтезированные соединения, содержащие изониазидный и имидазольный фрагменты — N'-[(имидазол-5-ил)метилени]изоникотиногидразидов могут быть прототипами для создания высокоэффективных противотуберкулезных лекарственных средств и, в частности, для лечения химиорезистентных форм туберкулеза легких.

УДК 616-002.5 - 07

## **ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ТУБЕРКУЛЁЗА С ШИРОКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ МБТ**

Е. А. Торкатюк, Г. С. Баласанянц

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации, г. Санкт-Петербург*

E-mail: Elena.torkatyuk@gmail.com, тел. +7 921 753-43-05