

Противотуберкулезная активность на фоне лекарственноной устойчивости возбудителя в эксперименте как основа перспективы использования препарата тиозонид

А.Ю. Савченко², М.С. Буренков³, П.С. Байдин³, Г.В. Раменская¹,
Н.В. Перова⁴, В.Г. Кукас⁵

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), 119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

² Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, 143442, Российская Федерация, Московская область, Красногорский район, пос. Светлые Горы, владение 1

³ АО «Фарм-Синтез», 111024, Российская Федерация, Москва, ул. 2-я Кабельная, 2, стр. 46

⁴ Институт медико-биологических исследований и технологий, 123557, Российская Федерация, Москва, Б. Тишинский пер., 43/20, стр. 2

⁵ Филиал «Клиническая фармакология», Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, 109240, Российская Федерация, Москва, ул. Яузская, 11

Аннотация

Цель исследования: экспериментальная оценка эффективности и переносимости терапии множественного лекарственно-устойчивого туберкулеза (МЛУ ТБ) инновационным препаратом тиозонид *in vitro* и *in vivo*.

Материал и методы. Проведены исследования на культурах *M. tuberculosis*, чувствительных к терапии и устойчивых к изониазиду и рифампицину. Поставлены серии экспериментов на мышах линии C57Bl/6, зараженных *M. tuberculosis*, устойчивой к полихимиотерапии (ПХТ). Проведена оценка эффективности лечения экспериментального полирезистентного ТБ с применением стандартных схем ПХТ и с включением в них препарата тиозонид.

Результаты. Показана противотуберкулезная активность тиозонида *in vitro*, в том числе в отношении штаммов *M. tuberculosis*, устойчивых к изониазиду и рифампицину. Показана способность тиозонида повышать выживаемость мышей, зараженных МЛУ ТБ, по сравнению с выживаемостью на фоне традиционной ПХТ. По рассчитанному индексу эффективности (ИЭ) химиотерапии, в том числе с применением противотуберкулезного препарата (ПТП) тиозонид, выявлена способность последнего увеличивать эффективность лечения экспериментального МЛУ ТБ. Отмечен рост массы подопытных животных на фоне терапии тиозонидом, что может говорить о хорошей переносимости препарата.

Выводы. Тиозонид при включении в схему ПХТ экспериментального МЛУ ТБ увеличивает эффективность традиционного лечения и хорошо переносится подопытными животными, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного лекарственного агента для лечения ТБ с множественной устойчивостью возбудителя к ПТП.

Ключевые слова:	противотуберкулезная активность, <i>M. tuberculosis</i> с множественной устойчивостью к препаратам, полихимиотерапия в эксперименте.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование проведено при поддержке АО «Фарм-Синтез».

✉ Савченко Алла Юрьевна, e-mail: alursav@mail.ru.

Соответствие принципам этики:	исследование одобрено этическим комитетом Института медико-биологических исследований и технологий и проведено согласно всем требованиям по работе с экспериментальными животными (отчет о проведении исследования от 2008 г.).
Для цитирования:	Савченко А.Ю., Буренков М.С., Байдин П.С., Раменская Г.В., Перова Н.В., Кукес В.Г. Противотуберкулезная активность на фоне лекарственной устойчивости возбудителя в эксперименте как основа перспективы использования препарата тиозонид. <i>Сибирский медицинский журнал</i> . 2020;35(1):125–132. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-1-125-132 .

Anti-tuberculosis activity in the presence of drug resistance as a rationale for prospect use of thiosonide

Alla Yu. Savchenko², Mikhail S. Burenkov³, Petr S. Baidin³,
Galina V. Ramenskaya¹, Nadezhda V. Perova⁴, Vladimir G. Kukes⁵

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
8, Trubetskaya str., p. 2, Moscow, 119991, Russian Federation

² Scientific Center for Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency,
Svetlye Gory Village, Krasnogorsk District, Moscow region, 143442, Russian Federation

³ Joint-Stock Company "Pharm-Sintez",
2, build. 46, Cabelnaya 2nd str., Moscow, 111024, Russian Federation

⁴ Institute for Medical-Biological Research and Technologies
43/20, build. 2, B. Tishinsky per., Moscow, 123557, Russian Federation

⁵ Clinical Pharmacology Branch, Scientific Center for Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency,
11, Yauzskaya str., Moscow, 109240, Russian Federation

Abstract

Objective. To provide *in vitro* and *in vivo* experimental evaluation of the efficacy and tolerability of treatment for multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) with an innovative drug thiosonide.

Material and Methods. The study was performed using *M. tuberculosis* cultures sensitive to therapy and resistant to isoniazid and rifampicin. A series of experiments using C57Bl/6 mice infected with *M. tuberculosis* resistant to polychemotherapy (PCT) was performed. The efficacy of treatment of experimental drug-resistant tuberculosis using standard mono- and polychemotherapy regimens with and without drug thiosonide was evaluated.

Results. The study demonstrated *in vitro* anti-tuberculosis activity of thiosonide including the activity against *M. tuberculosis* strains resistant to isoniazid and rifampicin. The ability of thiosonide to increase the survival rate of mice infected with MDR-TB compared with survival in the presence of traditional chemotherapy was shown. The calculated index of the effectiveness of therapy with the use of anti-tuberculosis drug thiosonide revealed its ability to improve the treatment of experimental MDR-TB. An increase in the mass of experimental animals was observed in the case of therapy with thiosonide, which indicates good drug tolerability.

Conclusions. Thiosonide, added to the experimental MDR-TB polychemotherapy regimen, increased the treatment efficiency while reducing the number and severity of side effects of pharmacotherapy. This fact makes it possible to consider thiosonide as a promising drug for MDR-TB treatment.

Keywords:	experimental multidrug-resistant tuberculosis, <i>M. tuberculosis</i> with multiple drug resistance, polychemotherapy in experiment.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Financial disclosure:	the study was supported by Joint-Stock Company "Pharm-Sintez".
Adherence to ethical standards:	the study was approved by the Ethical Committee of Institute for Medical-Biological Research and Technologies and conducted in accordance with all requirements for working with experimental animals (the Report on the study from 2008).

For citation:

Savchenko A.Yu., Burenkov M.S., Baidin P.S., Ramenskaya G.V., Perova N.V., Kukes V.G. Anti-tuberculosis activity in the presence of drug resistance as a rationale for prospect use of thiosonide. *The Siberian Medical Journal.* 2020;35(1):125–132. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2020-35-1-125-132>

Введение

Каждый год около 10 млн человек во всем мире заболевают туберкулезом (ТБ). По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), примерно четверть населения мира являются носителями *M. tuberculosis*. Даже в сравнительно благополучной Германии, где заболеваемость ТБ снижалась в течение нескольких десятилетий, в 2015 г. она выросла до 7,3 новых случаев на 100 тыс. человек [1]. По данным ВОЗ, в 2018 г. было отмечено около полумиллиона новых случаев рифампицин-устойчивого ТБ, из которых 78% с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ ТБ) [2]. В России удалось стабилизировать ситуацию с ТБ: в целом за последние 10 лет заболеваемость в стране снизилась на 43,2%; заболеваемость ТБ детей от 0 до 14 лет – на 36,6%; смертность – на 63,7%. При этом, к сожалению, в период с 2014 по 2016 г. на 52,3% возросло число пациентов с ТБ с широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (ШЛУ ТБ). ШЛУ ТБ характеризуется высокой летальностью (от 28 до 43%), более высокой стоимостью и длительностью лечения не только по сравнению с терапией лекарственно-чувствительного ТБ, но и МЛУ ТБ, а также дополнительной устойчивостью к препаратам второго ряда – некоторым фторхинолонам [3, 4]. Среди причин возникновения устойчивости возбудителя называют длительные курсы терапии, развитие нежелательных побочных реакций на фоне лечения [5]. Но, вероятно, одной из причин роста МЛУ ТБ является замедленное внедрение в практику новых противотуберкулезных препаратов (ПТП), эффективных в отношении МЛУ микобактерий ТБ (МБТ). Среди новых ПТП превалируют зарубежные: бедаквилин (Janssen), деламанид (Otsuka), претоманид (Mylan) [6, 7]. Из отечественных оригинальных препаратов, разрешенных к применению, можно назвать только перхлозон (производитель АО «Фармасинтез») [8]. В этой связи оправдан активный поиск новых противотуберкулезных средств, одним из которых является препарат из группы диарилхинолинов с рабочим названием тиозонид (производитель АО «Фарм-Синтез»), инновационное лекарственное средство, показавшее специфическую противотуберкулезную активность в доклиническом исследовании [9], что обусловило изучение противотуберкулезных свойств препарата тиозонид в эксперименте с использованием модели лекарственно-устойчивой формы возбудителя заболевания.

Материал и методы

Изучаемый препарат тиозонид по химической структуре представляет собой $\{1R,2S+1S,2R\}\text{-1-(6-Бром-2-хлорхинолил-3-ил)-4-(диметиламино)-2-(нафтилин-1-ил)-1-фенилбутан-2-ол}$ (порошок белого или белого с желтоватым оттенком цвета, нерастворим в воде, не растворим в изотоническом растворе, 1 г/л растворим

в метаноле, 10 г/л – в хлороформе (раствор облучают на ультразвуковой бане в течение 10 мин [10]).

Согласно поставленным задачам, были проведены следующие экспериментальные исследования. Изучалась противотуберкулезная активность тиозонида с использованием лабораторного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, чувствительного ко всем ПТП, штамма *M. tuberculosis* MS-115 с множественной лекарственной устойчивостью (устойчив к рифампицину, изониазиду, стрептомицину, этамбутолу и пиразинамиду), штамма *M. tuberculosis* CN-40 с устойчивостью к изониазиду. Была определена бактериостатическая активность (концентрации, ингибирующие рост субстанции) препарата тиозонид по росту МБТ на агаризированной среде Дюбо ускоренным методом по цветной реакции Грисса на 10-й день после посева. Кроме того, исследовано воздействие тиозонида на рост культуры МБТ в динамике на жидкой питательной среде Дюбо по изменению оптической плотности среды при 600 нм. Противотуберкулезную активность исследуемого препарата тиозонид исследовали в сравнении с аналогичными показателями роста МБТ на фоне изолированно применяемых препаратов изониазид и рифампицин.

Была оценена эффективность экспериментальной терапии тиозонидом и ее переносимость у нелинейных мышей-самцов, зараженных МЛУ ТБ. Для заражения использовали клинический изолят МБТ № 5419 СПБНИИФ, устойчивый к изониазиду (10 мкг/мл), рифампицину (40 мкг/мл), стрептомицину (10 мкг/мл), этионамиду (30 мкг/мл), выделенный от больного со впервые выявленным ТБ легких. Микобактериальную супензию для заражения мышей готовили *ex tempore* из трехнедельного штамма второй генерации, культивируемого на картофельно-глицериновой среде Павловского. Заражающая доза составляла 1×10^7 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 0,2 мл физиологического раствора. Супензию МБТ вводили мышам в латеральную хвостовую вену (0,2 мл). Распределение лабораторных животных в эксперименте представлено в таблице 1. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986) [11].

Мониторинг развития туберкулезного процесса осуществляли, начиная с 8-го дня после заражения, путем визуального осмотра легких при ежедневном вскрытии 23 мышей. На 17-й день после инфицирования, когда в легких были макроскопически подтверждены (по результатам контрольных вскрытий) множественные субмилиарные (менее 1 мм) и единичные милиарные (более 1 мм) очаги специфического воспаления, зараженные мыши были распределены на группы в зависимости от терапии (см. табл. 1).

Таблица 1. Распределение мышей в эксперименте по определению эффективности терапии тиозонидом туберкулеза с МЛУ МБТ**Table 1. The distribution of mice in the experiment to determine the effectiveness of treatment of multidrug-resistant tuberculosis with thiosonide**

№ группы N of group	Наименование группы Group name	Получаемая терапия (противотуберкулезные препараты, дозы, способ введения) Therapy received (anti-TB drugs, doses, route of administration)	Количество животных Number of animals
1	Контроль заражения МЛУ ТБ MDR TB infection control	Мыши без лечения Mice without treatment	8
2	Контроль полихимиотерапии без включения тиозонида (ПХТ) Control of polychemotherapy without thiosonide (PCT)	Изониазид ² (25 мг/кг) + амикацин ² (30 мг/кг) + этамбутол ¹ (50 мг/кг) + левофлоксацин ¹ (20 мг/кг) - Isoniazid ² (25 mg/kg) + amikacin ² (30 mg/kg) + ethambutol ¹ (50 mg/kg) + levofloxacin ¹ (20 mg/kg) - control of polychemotherapy	14
3	Полихимиотерапия с включением тиозонида 25 мг/кг (ПХ + Т25) Polychemotherapy with thiosonide 25 mg/kg	Тиозонид ¹ (25 мг/кг) + изониазид ² (25 мг/кг) + амикацин ² (30 мг/кг) + этамбутол ¹ (50 мг/кг) + левофлоксацин ¹ (20 мг/кг) Thiosonide ¹ (25 mg/kg) + isoniazid ² (25 mg/kg) + amikacin ² (30 mg/kg) + ethambutol ¹ (50 mg/kg) + levofloxacin ¹ (20 mg/kg)	14
4	Полихимиотерапия с включением тиозонида 100 мг/кг (ПХТ + Т100) Polychemotherapy with thiosonide 100 mg/kg	Тиозонид ¹ (100 мг/кг) + изониазид ² (25 мг/кг) + амикацин ² (30 мг/кг) + этамбутол ¹ (50 мг/кг) + левофлоксацин ¹ (20 мг/кг) Thiosonide ¹ (100 mg/kg) + isoniazid ² (25 mg/kg) + amikacin ² (30 mg/kg) + ethambutol ¹ (50 mg/kg) + levofloxacin ¹ (20 mg/kg)	14

Примечание: способ введения препарата: ¹ – внутрижелудочно; ² – подкожно.

Note: routes of drug administration: ¹ – intragastric; ² – subcutaneous.

Лечение во всех подопытных группах наблюдения начинали с 17-го дня после заражения, курс лечения – 8 нед. Базовая полихимиотерапия (ПХТ) составлена из четырех ПТП в высших терапевтических дозах согласно массе тела – изониазид, амикацин, этамбутол и левофлоксацин.

Оценивали переносимость терапии подопытными животными. В течение исследования регистрировали общие поведенческие реакции мышей, потребление ими кормов и воды в баллах. Еженедельно осуществляли мониторинг динамики массы тела животных, для взвешивания использовали электронные весы с точностью взвешивания $\pm 0,1$ г.

Индекс поражения легких устанавливали по совокупности экссудативных и продуктивных изменений в условиях единицах – баллах. Биометрические показатели – коэффициенты массы (КМ) легких и селезенки – определяли по формуле: КМ = масса органа (г)/масса тела животного (г) $\times 100\%$.

Бактериологический показатель (число колоний МБТ в посевах дозированного гомогената легких на среду Левенштейна – Йенсена) подсчитывали через три недели инкубации в термостате при температуре $+37^{\circ}\text{C}$.

Также была проведена оценка терапевтического эффекта исследуемого препарата. Для этого вычисляли средний суммарный показатель (ССП), составленный из суммы частных величин: КМ легких и селезенки, индекса поражения легких и бактериологического показателя. Дополнительно был рассчитан индекс эффективности (ИЭ) лечения – долевая разница показателей тяжести течения туберкулезной инфекции в контрольных группах и в группах животных, получавших исследуемую субстанцию, по формуле: ИЭ = $(pk-no)/nk \times 100\%$, где pk и no – средние значения показателей в контрольной и опытной группах соответственно.

Полученные данные подвергались статистической обработке при помощи программы STATISTICA 6.0 for Windows [12]. Количественные показатели представлены в виде $M \pm SE$, где M – среднее значение, а SE – стандартная ошибка среднего. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывалась частота в процентах. Для проверки значимости различий качественных переменных применяли критерий хи-квадрат. Использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса (сравнение данных в экспериментах *in vitro*

и *in vivo*), метод Каплана – Мейера и критерий Мантея – Кокса для презентации и сравнительной оценки выживаемости животных. Если достигнутый уровень значимости различий не превышал 0,05, их считали статистически значимыми [13, 14].

Результаты

В таблице 2 представлены данные изучения противотуберкулезной активности препарата тиозонид *in vitro*. Они свидетельствуют о высокой бактериостатической активности препарата как в отношении лекарственно-чувствительного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, так и штаммов с лекарственной устойчивостью к изониазиду CN-40 и множественной лекарственной устойчивостью МЛУ к препаратам первого ряда MS-115.

Анализ показателей минимальных ингибирующих концентраций (МИК) с использованием критерия Краскала – Уоллиса показал, что они эквивалентны в отношении лекарственно-чувствительной культуры H37Rv в эксперименте на агаризованной среде Дюбо. В случае культур МБТ с различными типами лекарственной устойчивости значения МИК были неоднородны за счет значительно более низких МИК препарата тиозонид. В жидкой среде Дюбо спектр значений МИК показал неоднородность за счет более высокого значения МИК препарата тиозонид по сравнению с таковым для препаратов изониазид или рифампицина. Рост возбудителя MS-115 на агаризованной среде тиозонид ингибирировал более эффективно, нежели изолированно применяемые препараты изониазид или рифампицина.

Гибель мышей в результате прогрессирования экспериментального МЛУ ТБ в группе контроля заражения началась на 26-й день от момента инокуляции инфекта, и к 68-му дню летальность составила 100% (рис. 1).

Таблица 2. Сравнительная характеристика минимальных ингибирующих концентраций противотуберкулезных препаратов (мкг/мл) для различных штаммов *M. tuberculosis*

Table 2. Comparative characteristics of the minimum inhibitory concentrations of anti-TB drugs (μg/mL) for different strains of *M. tuberculosis*

Препараторы Drug	Значения МИК на агаризованной среде Дюбо MIC values on the Dubos agar medium			Значения МИК на жидкой среде Дюбо MIC values on the Dubos liquid medium		
	H37Rv	CN-40	MS-115	H37Rv	CN-40	MS-115
Изониазид Isoniazid	0,190	50,000	200,000	0,050	12,50	> 50,000
Рифампицин Rifampicin	0,190	0,190	> 200,000	0,050	0,050	> 50,000
Тиозонид Thiosonide	0,190	0,190	0,190	3,125	3,125	3,125
Уровень значимости различий, критерий Краскала – Уоллиса Significance of differences level, Kruskall-Wallis test	$H = 2,0;$ $p = 0,37$	$H = 14,0;$ $p = 0,0009$	$H = 14,0;$ $p = 0,0009$	$H = 14,0;$ $p = 0,0009$	$H = 14,0;$ $p = 0,0009$	$H = 11,0;$ $p = 0,0041$

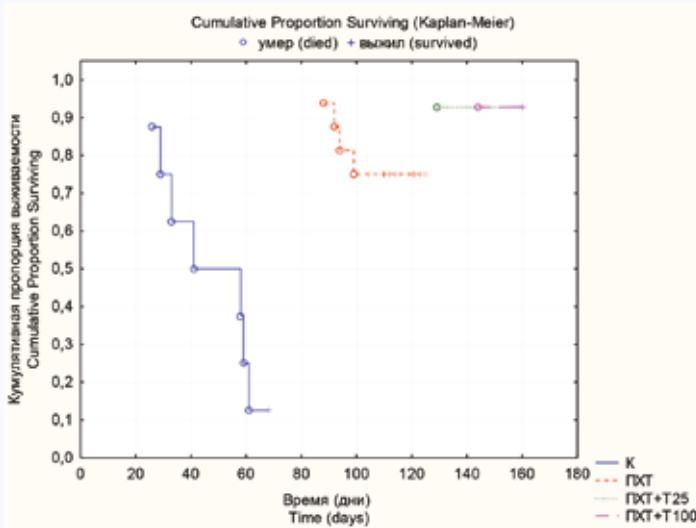


Рис. 1. Сравнительная характеристика выживаемости подопытных животных в группах изучения экспериментальной терапии множественного туберкулеза
Примечание: К – контроль заражения, ПХТ – полихимиотерапия, ПХТ + Т25 – полихимиотерапия + тиозонид 25 мг/кг, ПХТ + Т100 – полихимиотерапия + тиозонид 100 мг/кг.

Fig. 1. Comparative characteristics of the experimental animal survival in the study groups of experimental treatment for multidrug-resistant tuberculosis
Note: K – infection control, ПХТ – polychemotherapy, ПХТ + Т25 – polychemotherapy + thiosonide 25 mg/kg, ПХТ + Т100 – polychemotherapy + thiosonide 100 mg/kg.

Сравнительный анализ выживаемости подопытных животных с использованием теста Мантея – Кокса показал значимые различия этого показателя в группах животных, получавших тиозонид в дозе 25 мг/кг или

100 мг/кг по сравнению с таковым в группе мышей, получавших ПХТ без включения тиозонида. В группах животных, леченных ПХТ в комбинации с тиозонидом в дозе 25 мг/кг или 100 мг/кг, погибли двое мышей

из 28 (по одному животному в группе) после 125-го дня наблюдения (7,1%).

Наблюдалось протективное действие изучаемого препарата: оно проявлялось в виде положительной динамики массы тела больных животных. До заражения масса тела мышей в среднем составляла $22,4 \pm 0,2$ г, в процессе экспериментального ТБ после заражения МЛУ МБТ она снизилась в среднем до $17,6 \pm 0,1$ г. Затем после 125-дневной ПХТ с применением тиозонида в дозе 25 мг/кг или 100 мг/кг масса тела увеличилась почти до начальных значений (до $21,6 \pm 0,1$ и $21,3 \pm 0,2$ соответственно; $H = 20,3$; $p < 0,001$ в случае дозировки тиозонида 25 мг/кг и $H = 19,6$; $p < 0,001$ – в случае дозировки тиозонида 100 мг/кг).

Тиозонид в дозе 25 мг/кг и 100 мг/кг на фоне базовой ПХТ, включавшей изониазид (25 мг/кг), амикацин (30 мг/кг), этамбутол (50 мг/кг), левофлоксацин (20 мг/кг), приводил к росту ИЭ лечения: +7,6% ($p < 0,05$) и 12,2% ($p < 0,01$) соответственно (табл. 3).

Таблица 3. Оценка терапевтического эффекта у мышей, зараженных МЛУ МБТ, с применением тиозонида в различных дозах через 8 недель полихимиотерапии

Table 3. Evaluation of the therapeutic effect of thiosonide in various doses after 8 weeks of chemotherapy in mice infected with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*

Показатели Indicators	Контроль, ПХТ без включения тиозонида, $n = 14$	ПХТ + тиозонид 100 мг/кг, $n = 14$	ПХТ + тиозонид 25 мг/кг, $n = 14$
Коэффициент массы легких, усл. ед. Lung mass coefficient (conv. un.)	$1,31 \pm 0,1$	$1,15 \pm 0,08$ $p_{1-2} < 0,01$ ИЭ + 12,2% IE + 12,2%	$1,21 \pm 0,09$ ИЭ + 7,6% IE + 7,6%
Коэффициент массы селезенки, усл. ед. Spleen mass coefficient (conv. un.)	$0,86 \pm 0,07$	$0,75 \pm 0,07$ $p_{1-2} < 0,01$ ИЭ + 12,8% IE + 12,8%	$1,27 \pm 0,28$ ИЭ 47,67 IE 47,67%
Индекс поражения легких, усл. ед. Index of lung lesions (conv. un.)	$2,75 \pm 0,09$	$2,55 \pm 0,13$ $p_{1-2} < 0,05$ ИЭ + 7,27 IE + 7,27%	$2,52 \pm 0,13$ $p_{1-3} < 0,05$ ИЭ + 8,36 IE + 8,36%
Высев МБТ из селезенки, КОЕ Seeding MBT from the spleen (CFU)	$150,0 \pm 17,7$	$150,0 \pm 17,7$ ИЭ = 0 IE = 0%	$95,8 \pm 4,43$ $p_{1-3} < 0,01$ ИЭ + 36,13 IE + 36,13%
ССП AT	38,73	38,61	25,2

Примечание: ПХТ – полихимиотерапия; ИЭ – индекс эффективности; ССП – средний суммарный показатель; оценка значимости различий при помощи критерия Краскела – Уоллиса.

Note: PCT – polychemotherapy; IE – efficiency index; AT – average total. Evaluation of the significance of differences was done using the Kruskall – Wallis test.

Тиозонид в дозе 100 мг/кг значимо снижал индекс поражения легких и селезенки, не изменял число КОЕ МБТ при высеве из селезенки. Тиозонид в дозе 25 мг/кг

способствовал уменьшению высева МБТ из селезенки на фоне ПХТ, снижал индекс поражения легких.

Обсуждение

Необходимость разработки новых активных препаратов для борьбы с МЛУ ТБ усугубляется появлением ТБ с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ ТБ) [15], определяемого как МЛУ ТБ с дополнительной устойчивостью к фторхинолонам и хотя бы одному из препаратов второго ряда. Кроме того, описаны случаи тотально-го лекарственно-устойчивого ТБ были отмечены в Китае, Индии, Африке и Восточной Европе, при котором МБТ устойчивы ко всем доступным терапевтическим средствам [16].

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что тиозонид обладает антимикобактериальной активностью. Особую важность имеют результаты, демонстрирующие высокую активность в отношении лекарственно-устойчивых штаммов МБТ, что еще раз подчеркивает перспективность изученного соединения в свете роста лекарственной устойчивости патогена с МЛУ и ШЛУ. Подобные эффекты отмечены у сравнительно недавно зарегистрированных лекарственных средств для терапии МЛУ ТБ бедаквилина и деламанида [17, 18].

Препарат тиозонид при исследовании *in vitro* показал выраженную антимикобактериальную активность: он ингибирировал рост культуры лекарственно-чувствительного лабораторного штамма *M. tuberculosis* H37Rv, культуры штамма *M. tuberculosis* CN-40 с моноустойчивостью к изониазиду и культуры штамма *M. tuberculosis* MS-115 с МЛУ в жидкой и агаризованной среде Дюбо. Учитывая, что эффект наблюдался при относительно низких концентрациях, тиозонид может рассматриваться как перспективный препарат для терапии устойчивых форм ТБ, включая МЛУ возбудителя.

На основании данных, полученных в эксперименте по изучению противотуберкулезной активности препарата тиозонид *in vivo* на модели экспериментального генерализованного МЛУ ТБ, можно сделать заключение, что изучаемый препарат является перспективным для дальнейших клинических исследований. Он значительно увеличивает выживаемость мышей, зараженных МЛУ ТБ, в условиях терапии с применением тиозонида в дозировке 25 мг/кг и 100 мг/кг. Помимо увеличения выживаемости на фоне приема тиозонида отмечен прирост массы подопытных животных, что, вероятно, может свидетельствовать в пользу хорошей переносимости тиозонида.

Таким образом, проведенные исследования показали хорошую переносимость тиозонида животными, а также его способность повышать эффективность терапии экспериментального ТБ, устойчивого к изониазиду, рифампицину, стрептомицину и этионамиду. Эти результаты позволяют сделать заключение о безусловной перспективности дальнейшего изучения тиозонида в качестве ПТП, учитывая высокую потребность фтизиатрии в разработке эффективных технологий лечения больных ТБ с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя.

Литература

1. Suárez I., Fünger S.M., Kröger S., Rademacher J., Fätkenheuer G., Rybníkář J. The diagnosis and treatment of tuberculosis. *Dtsch. Arztbl. Int.* 2019;116(43):729–735. DOI: 10.3238/artztbl.2019.0729.
2. Global Tuberculosis Report. Executive summary 2019. URL: https://www.who.int/tb/publications/global_report/GraphicExecutiveSummary.pdf?ua=1.
3. Нечеева О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России. *Туберкулез и болезни легких.* 2018;96(8):15–24. DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-15-24.
4. Стерликов С.А., Русакова Л.И., Сон И.М. Исходы случаев лечения туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью: результаты трехлетнего наблюдения. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики.* 2018;2:14–26. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ishody-sluchayev-lecheniya-tuberkulyoza-s-shirokoy-lekarstvennoy-ustoychivostyu-rezulattytryohletnegonablyudeniya> (дата обращения: 05.08.2019).
5. Филиньюк О.В., Фелькер И.Г., Янова Г.В., Буйнова Л.Н., Колоколова О.В. Факторы риска неэффективной химиотерапии больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью. *Туберкулез и болезни легких.* 2014;(1):20–26. DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-1-20-26.
6. Li Y., Sun F., Zhang W. Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging. *Drug Dev. Res.* 2019;80(1):98–105. DOI: 10.1002/ddr.21498.
7. Keam S.J. Pretomanid: First Approval. *Drugs.* 2019;79(16):1797–1803. DOI: 10.1007/s40265-019-01207-9.
8. Яблонский П.К., Виноградова Т.И., Левашев Ю.Н., Павлова М.В., Зильбер Э.К., Старшинова А.А. и др. Доклинические и клинические исследования нового противотуберкулезного препарата «Перхлозон». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2016;18(1):42–48.
9. Бочарова И.В., Буренков М.С., Лепеха Л.Н., Смирнова Т.Г., Черноусова Л.Н., Демихова О.В. Доклинические исследования специфической активности нового противотуберкулезного препарата тиозонида. *Туберкулез и болезни легких.* 2014;6:46–50. DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
10. Меньшикова Л.А. Фармакокинетическое исследование оригинального лекарственного средства тиозонида: дис. ... канд. фармацевт. наук. М.: 2016:117.
11. Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act. *Vet. Q.* 1986;8(4):346–349. DOI: 10.1080/01652176.1986.9694067.
12. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: Филинъ; 1997:608.
13. Harris M., Taylor G. *Medical statistics made easy.* London: Taylor and Francis; 2006:114.
14. Шарашова Е.Е., Холматова К.К., Горбатова М.А., Гржбовский А.М. Применение анализа выживаемости в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS. *Наука и здравоохранение.* 2017;5:5–28.
15. Esposito S., D'Ambrosio L., Tadolini M., Schaaf H.S., Caminero Luna J., Marais B. et al. ERS/WHO Tuberculosis Consilium assistance with extensively drug-resistant tuberculosis management in a child: case study of compassionate delamanid use. *European Respiratory Journal.* 2014;44(3):811–815. DOI: 10.1183/09031936.00060414.
16. Klopper M., Warren R.M., Hayes C., Gey van Pittius N.C., Streicher E.M., Müller B. et al. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(3):449–455. DOI: 10.3201/EID1903.120246.
17. Gler M.T., Skripconoka V., Sanchez-Garavito E., Xiao H., Cabrera-Rivero J.L., Vargas-Vasquez D.E. et al. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;366(23):2151–2160. DOI: 10.1056/NEJMoa1112433.
18. Cohen J. Infectious disease. Approval of novel TB drug celebrated – with restraint. *Science.* 2013;339(6116):130. DOI: 10.1126/science.339.6116.130.

References

1. Suárez I., Fünger S.M., Kröger S., Rademacher J., Fätkenheuer G., Rybníkář J. The diagnosis and treatment of tuberculosis. *Dtsch. Arztbl. Int.* 2019;116(43):729–735. DOI: 10.3238/artztbl.2019.0729.
2. Global Tuberculosis Report 2019. Executive summary 2019. URL: https://www.who.int/tb/publications/global_report/GraphicExecutiveSummary.pdf?ua=1 (In Russ.).
3. Nечаева О.Б. TB situation in Russia. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2018;96(8):15–24 (In Russ.). DOI: 10.21292/2075-1230-2018-96-8-15-24.
4. Sterlikov S.A., Rusakova L.I., Son I.M. Outcomes of treatment cases of drug-resistant tuberculosis: results of a three-year follow-up. *Modern problems of public health and medical statistics.* 2018;2:14–27. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ishody-sluchayev-lecheniya-tuberkulyoza-s-shirokoy-lekarstvennoy-ustoychivostyu-rezulattytryohletnegonablyudeniya> (05.08.2019) (In Russ.).
5. Filinuk O.V., Fel'ker I.G., Yanova G.V., Bujnova L.N., Kolokolova O.V. Risk factors for ineffective chemotherapy for multidrug-resistant tuberculosis patients *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2014;(1):20–26 (In Russ.). DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-1-20-26.
6. Li Y., Sun F., Zhang W. Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging. *Drug Dev. Res.* 2019;80(1):98–105. DOI: 10.1002/ddr.21498.
7. Keam S.J. Pretomanid: First Approval. *Drugs.* 2019;79(16):1797–1803. DOI: 10.1007/s40265-019-01207-9.
8. Yablonskij P.K., Vinogradova T.I., Levashev Yu.N., Pavlova M.V., Zil'ber E.K., Starshinova A.A. et al. Preclinical and clinical studies of the new anti-tuberculosis drug perchlozone®. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2016;18(1):42–48 (In Russ.).
9. Bocharova I.V., Burenkov M.S., Lepekha L.N., Smirnova T.G., Chernousova L.N., Demihova O.V. Preclinical studies of the specific activity of the new anti-TB drug thiosonide. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2014;(6):46–50 (In Russ.). DOI: 10.21292/2075-1230-2014-0-6-46-50.
10. Men'shikova L.A. Pharmacokinetic study of the original drug thiosonide: Dis. ... Cand. Pharm. Sci. Moscow; 2016:117 (In Russ.).
11. Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act. *Vet. Q.* 1986;8(4):346–349. DOI: 10.1080/01652176.1986.9694067.
12. Borovikov V.P., Borovikov I.P. Statistical analysis and data processing in Windows. Moscow: Filin; 1997:608 (In Russ.).
13. Harris M., Taylor G. *Medical statistics made easy.* London: Taylor and Francis; 2006:114.
14. Sharashova E.E., Holmatova K.K., Gorbatova M.A., Grzhibovskij A.M. The use of survival analysis in healthcare using the SPSS statistical software package. *Science and Health.* 2017;5:5–28 (In Russ.).
15. Esposito S., D'Ambrosio L., Tadolini M., Schaaf H.S., Caminero Luna J., Marais B. et al. ERS/WHO Tuberculosis Consilium assistance with extensively drug-resistant tuberculosis management in a child: case study of compassionate delamanid use. *European Respiratory Journal.* 2014;44(3):811–815. DOI: 10.1183/09031936.00060414.
16. Klopper M., Warren R.M., Hayes C., Gey van Pittius N.C., Streicher E.M., Müller B. et al. Emergence and spread of extensively and totally drug-resistant tuberculosis, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;19(3):449–455. DOI: 10.3201/EID1903.120246.
17. Gler M.T., Skripconoka V., Sanchez-Garavito E., Xiao H., Cabrera-Rivero J.L., Vargas-Vasquez D.E. et al. Delamanid for multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;366(23):2151–2160. DOI: 10.1056/NEJMoa1112433.
18. Cohen J. Infectious disease. Approval of novel TB drug celebrated – with restraint. *Science.* 2013;339(6116):130. DOI: 10.1126/science.339.6116.130.

Информация о вкладе авторов

Савченко А.Ю. – разработка гипотезы и концепции исследования, проведение экспериментальной части исследования, формирование

Information on author contributions

Savchenko A.Yu. – development of research hypothesis and study concept, conducting the experimental part of the study, forming the

электронной базы полученных результатов, написание первой версии статьи.

Буренков М.С. – организация исследования и сбор материала, одобрение окончательной версии статьи перед ее подачей для публикации.

Байдин П.С. – статистическая обработка результатов исследования, одобрение окончательной версии статьи перед ее подачей для публикации.

Раменская Г.В. – анализ результатов статистической обработки материала и их интерпретация, рецензирование первой версии статьи, ее редактирование, одобрение окончательной версии статьи перед ее подачей для публикации.

Перова Н.В. – корректировка дизайна исследования и электронной базы полученных результатов, проведение экспериментальной части, работа с литературными источниками, одобрение окончательной версии статьи перед ее подачей для публикации.

Кукес В.Г. – постановка цели и задач исследования, разработка методологии и комплекса процедур для их решения, одобрение окончательной версии статьи перед ее подачей для публикации.

Сведения об авторах

Савченко Алла Юрьевна, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакомоделирования, Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства. ORCID 0000-0003-2734-5036.

E-mail: alursav@mail.ru.

Буренков Михаил Сергеевич, канд. биол. наук, менеджер по до-клиническим исследованиям, АО «Фарм-Синтез». ORCID 0000-0002-1158-9004.

E-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru.

Байдин Петр Сергеевич, канд. мед. наук, руководитель медицинского отдела, АО «Фарм-Синтез». ORCID 0000-0002-5297-3758.

E-mail: pbaidin@pharm-sintez.ru.

Раменская Галина Владиславовна, д-р фармацевт. наук, профессор, директор Института фармации, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет). ORCID 0000-0001-8779-3573.

E-mail: ramenskaia@mail.ru.

Перова Надежда Викторовна, д-р биол. наук, заместитель директора Института медико-биологических исследований и технологий. ORCID 0000-0003-2215-8944.

E-mail: 89266076625@mail.ru.

Кукес Владимир Григорьевич, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, научный консультант, Филиал «Клиническая фармакология», Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства. ORCID 0000-0002-5112-6928.

E-mail: Elmed@yandex.ru.

Савченко Алла Юрьевна, e-mail: alursav@mail.ru.

electronic database of results, and writing the first version of the article.

Burenkov M.S. – organization of research and material collection and approval of the final version of the article before submitting it for publication.

Baidin P.S. – statistical processing of research results and approval of the final version of the article before submitting it for publication.

Ramenskaya G.V. – analysis and interpretation of the results of statistical processing of the material, reviewing the first version of the article, editing the manuscript, and approval of the final version of the article before submitting it for publication.

Perova N.V. – adjustment of the research design and the electronic database of obtained results, performing the experimental part of the study, work with literature sources, and approval of the final version of the article before submitting it for publication.

Kukes V.G. – setting goals and objectives of the study, development of the methodology and procedures for achieving the goals, and approval of the final version of the article before submitting it for publication.

Information about the authors

Alla Yu. Savchenko, Leading Research Scientist, Pharmaceutical Modeling Laboratory, Scientific Center for Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency. ORCID 0000-0003-2734-5036.

E-mail: alursav@mail.ru.

Mikhail S. Burenkov, Cand. Sci. (Biol.), Manager for Pre-Clinical Research, Joint-Stock Company "Pharm-Sintez". ORCID 0000-0002-1158-9004.

E-mail: mburenkov@pharm-sintez.ru.

Petr S. Baidin, Cand. Sci. (Med.), Head of the Medical Department, Joint-Stock Company "Pharm-Sintez". ORCID 0000-0002-5297-3758.

E-mail: pbaidin@pharm-sintez.ru.

Galina V. Ramenskaya, Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Director of the Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). ORCID 0000-0001-8779-3573.

E-mail: ramenskaia@mail.ru.

Nadezhda V. Perova, Dr. Sci. (Biol.), Deputy Director of the Institute for Medical-Biological Research and Technologies. ORCID 0000-0003-2215-8944.

E-mail: 89266076625@mail.ru.

Vladimir G. Kukes, Dr. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Clinical Pharmacology Branch, Scientific Center for Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency. ORCID 0000-0002-5112-6928.

E-mail: Elmed@yandex.ru.

Alla Yu. Savchenko, e-mail: alursav@mail.ru.

Received October 24, 2019

Поступила 24.10.2019