

Клинико-функциональные и биохимические показатели эффективности монтелукаста у детей с бронхиальной астмой

Е.В.Середа¹, О.Ф.Лукина¹, С.В.Лукьянов², А.С.Духанин², А.Ю.Симонова¹

¹Научный центр здоровья детей РАМН;

²Российский государственный медицинский университет, Москва

У 56 детей с бронхиальной астмой в течение 2 мес применялась терапия монтелукастом. До и после лечения проводилось клиническое обследование, исследование функции внешнего дыхания и определение базальной и стимулированной лейкотриеном D₄ и формилметионин-лейцилфенилаланином концентрации ионов кальция в полиморфоядерных лейкоцитах. На фоне лечения монтелукастом отмечалось уменьшение клинической выраженности бронхообструкции, улучшение функции внешнего дыхания и снижение стимулированной концентрации ионов кальция в эозинофилах.

Ключевые слова. бронхиальная астма, лейкотриен, монтелукаст, эозинофилы

Clinicofunctional and biochemical indices of montelukast efficiency in children with bronchial asthma

E.V.Sereda¹, O.F.Lukina¹, S.V.Luk'yanov², A.S.Dukhanin², A.Yu.Simonova¹

¹Research Institute of Paediatrics, Scientific Centre for Children's Health, Russian Academy of Medical Sciences;

²Russian State Medical University, Moscow

Montelukast was used for two months in treatment of a total of 56 children suffering from bronchial asthma. Before and after treatment, all the patients were subjected to clinical examination including study of the external respiration function, determination of basal and stimulated by leukotriene D₄ and formylmethionine-leucylphenylamine concentration of calcium ions in polymorphonuclear leukocytes. Montelukast-mediated treatment was accompanied and followed by a decrease in the clinical manifestation of bronchial obstruction, improved external respiration function, and a decrease in the stimulated concentration of Ca ions in eosinophiles.

Key words: bronchial asthma, leukotriene, montelukast, eosinophiles

Частота бронхиальной астмы у детей в последние годы достигла 10% (у взрослых 5%) и продолжает расти. Поэтому разработка эффективных методов фармакотерапии этого заболевания имеет огромное значение.

По современным представлениям, в патогенезе бронхиальной астмы большое значение имеют цистеиниловые лейкотриены: C₄, D₄ и E₄ [1]. Они действуют на гладкую мускулатуру бронхов через единый рецептор I типа, вызывая бронхоконстрикцию. Лейкотриены также повышают проницаемость сосудов микроциркуляторного русла, что приводит к отеку стенки бронхов, вызывают усиленную секрецию слизи бронхиальными железами и замедление мукоцилиарного транспорта. Они могут повреждать эпителий слизистой оболочки бронхов, способствуют гипертрофии слизистых желез, пролиферации гладкомышечных клеток дыхательных путей и субэпителиальному фиброзу, влияют на активность афферентных нервов и усиливают гиперреактивность бронхов, повышая их чувствительность к гистамину, гиперпноэ и холодному воздуху. Большое значение имеет прово-

скалительное действие лейкотриенов [2]. В частности, они вызывают приток в слизистую оболочку бронхов эозинофилов, роль которых при бронхиальной астме признана ключевой [3].

Показано, что вызываемые лейкотриенами спазм гладкой мускулатуры бронхов, повышенная проницаемость сосудов, гиперсекреция слизи, замедление мукоцилиарного транспорта и инфильтрация эозинофилами устраняются или предотвращаются антагонистами рецептора I типа [4, 5]. Они оказывают противовоспалительное действие, подавляя клеточные и неклеточные компоненты воспаления в бронхах, вызываемого антигенной провокацией. Эти препараты ослабляют как ранний, так и поздний астматический ответ. Продemonстрирована эффективность применения блокаторов лейкотриеновых рецепторов для лечения различных клинических форм бронхиальной астмы: атопической, аспириновой, астмы физического усилия. Эти препараты применялись в качестве основного патогенетического средства при легком и среднетяжелом течении заболевания и в сочетании с глюкокортикостероидами при тяжелом течении бронхиальной астмы [6–8].

В настоящее время создано несколько препаратов-блокаторов лейкотриеновых рецепторов: монтелукаст, зафирлукаст, пранлукаст, иралукаст, побилукаст, верлукаст, циналукаст и др. Из них лишь монтелукаст разрешен к применению у детей с 6 лет. Он является одним из наименее токсичных препаратов этой группы и наиболее удобным в педиатрической практике.

Для корреспонденции:

Середа Елена Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения пульмонологии Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119019, Москва, Ломоносовский проспект, 2/62
Телефон: (095) 134-9331

Статья поступила 05.06.2003 г., принята к печати 12.11.2003 г.

детская лекарственная форма (жевательные таблетки по 5 мг) для приема внутрь 1 раз в день [9, 10].

Эффективность и безопасность монтелукаста были изучены примерно у 2600 пациентов в возрасте от 15 лет и старше. Из них 544 человека получали монтелукаст не менее 6 мес, 253 – в течение 1 года и 21 пациент – в течение 2 лет. В плацебо-контролируемых исследованиях показано, что монтелукаст увеличивает объем форсированного выдоха в утренние часы, а также утренний и вечерний показатели пикфлоуметрии, уменьшает симптомы бронхиальной астмы в дневное и ночное время, снижает потребность в β_2 -агонистах [7]. Эффект от назначения монтелукаста отмечался с первых дней лечения. При применении препарата достоверно уменьшалась частота обострений бронхиальной астмы, в периферической крови снижалось количество эозинофилов на 15% от исходного уровня по сравнению с больными, принимавшими плацебо. Толерантности к монтелукасту или ухудшения течения заболевания не наблюдалось. Частота побочных явлений, в том числе вследствие прекращения приема монтелукаста, была такой же, как в группе пациентов, получавших плацебо. У взрослых больных с легким течением бронхиальной астмы в течение 12 нед терапии монтелукастом отмечалось значительное повышение толерантности к физической нагрузке. Монтелукаст уменьшал степень и продолжительность снижения объема форсированного выдоха до уровня, не больше чем на 5% отличающегося от преднагрузочного [8]. Одновременно уменьшалась потребность в β_2 -агонистах при физической нагрузке или после нее. Однократный прием 100 или 250 мг монтелукаста приводил к значительному повышению объема форсированного выдоха у взрослых больных бронхиальной астмой, применяющих ингаляционные глюкокортикостероиды [9].

Эффективность монтелукаста также изучалась у 320 детей в возрасте от 6 до 14 лет. Из них 143 ребенка получали препарат не менее 3 мес и 44 – в течение 6 мес и более [10]. В другое мультицентровое рандомизированное двойное слепое исследование было включено 336 детей. На фоне 8-недельного лечения монтелукастом отмечалось достоверное повышение утреннего значения объема форсированного выдоха с 1,85 до 2,01 л, снижение количества эозинофилов в периферической крови (на 13%) и в мокроте по сравнению с группой детей, получавших плацебо [11].

Важнейшим передаточным звеном для активизации таких важных при бронхиальной астме клеточных реакций, как дегрануляция и хемотаксис, является ион кальция [12]. Поэтому есть основания предполагать, что лекарства, воздействующие на эти процессы через рецепторный аппарат клетки, оказывают влияние на внутриклеточную концентрацию ионов кальция [13]. Это может быть одним из показателей их эффективности.

Целью работы явилось изучение клинической эффективности монтелукаста, его влияния на функцию внешнего дыхания и концентрацию ионов кальция в полиморфоядерных лейкоцитах у детей с бронхиальной астмой.

Пациенты и методы

Клинические наблюдения включали 56 детей от 6 до 15 лет с бронхиальной астмой.

Всем детям на 2 мес был назначен монтелукаст ежедневно по 1 жевательной табл. (5 мг) вечером за 1 ч до еды или че-

рез 2 ч после еды. По показаниям (для купирования приступа) допускалось применение короткодействующих ингаляционных селективных β_2 -адреномиметиков или ингаляционных М-холинолитиков. Часть детей с тяжелым течением бронхиальной астмы (7 пациентов) получали ингаляционные глюкокортикостероиды. Другие лекарственные средства отменялись за 2–4 нед до обследования и назначения монтелукаста. Обследование проводилось непосредственно перед назначением препарата и сразу после его отмены. Оно включало клиническую оценку состояния больного и степени выраженности бронхообструктивного синдрома (у всех детей), исследование функции внешнего дыхания (у 48 детей), фармакологическую пробу с β_2 -адреномиметиком (у 19), пробу с дозированной физической нагрузкой (бег на тредмиле; у 17), исследование базальной и стимулированной индукторами концентрации ионов кальция в полиморфоядерных лейкоцитах периферической крови (у 19).

Показатели функции внешнего дыхания определялись по кривой поток–объем форсированной жизненной емкости легких на приборе «Мастер-Скрин». Кроме этого, они включали объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁), индекс Тиффно, пиковую объемную скорость выдоха, мгновенную объемную скорость в точках прохождения кривой через ординаты, соответствующие 25, 50 и 75% жизненной емкости легких (МОС₂₅, МОС₅₀, МОС₇₅). Фармакологическую пробу с фенотеролом и тест с дозированной физической нагрузкой считали положительными при увеличении или уменьшении соответственно ОФВ₁ на 10–15% и более от исходного значения.

Для определения концентрации ионов кальция в лейкоцитах утром натощак из локтевой вены брали 10 мл крови в пробирку с 1 мл 10% раствора Na₂-ЭДТА. Исследовали базальный и стимулированный уровень ионов кальция в эозинофилах и нейтрофилах. В качестве стимулятора кальциевого ответа использовали селективный активатор эозинофилов лейкотриен D₄ в конечной концентрации 50 нМ, а также избирательный активатор нейтрофилов формилметионин-лейцилфенилаланин в конечной концентрации 30 нМ. Подбор оптимальных концентраций индукторов осуществляли в предварительной серии экспериментов так, чтобы они соответствовали значению ЕС₅₀ (ЕС₅₀ – концентрация стимулятора, при которой увеличение внутриклеточного уровня ионов кальция составляет 50% от максимальной величины).

Внутриклеточную концентрацию ионов кальция определяли с помощью флуоресцентного индикатора – зонда ФУРА-2/АМ [14]. Данное вещество в силу своей гидрофобности проникает через мембрану клетки в цитоплазму, где под действием эстераз гидролизует до тетраисоты. При взаимодействии с кальцием резко меняется конформация этого соединения, что отражается в изменении параметров флуоресценции. К образцу клеток объемом 3 мл (50 млн/мл) добавляли раствор ФУРА-2/АМ в диметилсульфоксиде до конечной концентрации 6 мкМ и инкубировали при 25 °С в течение 40 мин. Затем клетки дважды отмывали HEPES-буфером следующего состава: NaCl 140 мМ, KCl 5 мМ, MgSO₄ 1 мМ, глюкоза 5 мМ, Na₂HPO₄ 1 мМ, CaCl₂ 1 мМ, HEPES 10 мМ. Суспензию клеток 2 мл (3 млн/мл) помещали в ячейку спектрофлуориметра «Hitachi MPF-3», термостатируемую при 37 °С. Длина оптического пути составляла 1 см, ширина щелей – 6 и 8 нм. Длины волн возбуж-

дения – 350 и 385 нм, регистрации – 500 нм. Концентрация ионов кальция пропорциональна отношению концентраций связанной и свободной форм зонда. Ее рассчитывали на основании измерений при двух длинах волн возбуждения (F_1 и F_2), используя формулу: $[Ca^{2+}] = K_d(R - R_{мин}) / (R_{макс} - R_{мин})$, где $R = F_1/F_2$, F_1 – интенсивность флуоресценции, регистрируемая при 500 нм, длина волны возбуждения 350 нм; F_2 – интенсивность флуоресценции, регистрируемая при 500 нм, длина волны возбуждения 385 нм; K_d – равновесная константа диссоциации комплекса зонда ФУРА-2 с кальцием при $pH = 7,35$ ($K_d = 225$ нм). Для определения параметров $R_{макс}$ и $R_{мин}$ необходимо соблюсти условие, когда практически весь зонд находится в связанном и свободном состоянии соответственно. Для определения $R_{макс}$ цитоплазматическую мембрану лейкоцитов, содержащихся в среде с насыщающей для ФУРА концентрацией ионов кальция (более 1000 Кд), разрушают 40 мкМ дигитонином. $R_{мин}$ определяют, добавляя после этого 5 мМ $MnCl_2$, который вытесняет ионы кальция из комплекса с красителем.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel. Расчет доверительных интервалов биохимических показателей и оценку достоверности различий между ними проводили с помощью t -критерия Стьюдента при уровне значимости $p = 0,05$. Достоверность различий показателей функции внешнего дыхания до и после терапии монтелукастом проводили с помощью непараметрического парного U -критерия Уилкоксона–Манни–Уитни при уровне значимости $= 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

До назначения монтелукаста у 8 (14,3%) детей было установлено легкое течение бронхиальной астмы, что проявлялось в периодическом (не чаще 1 раза в месяц) возникновении приступов затрудненного дыхания или приступообразного кашля, для купирования которых применялась однократная ингаляция β_2 -адреномиметика. При этом противовоспалительная терапия не проводилась или применялись ингаляционные препараты кромонового ряда. У 31 (55,4%) ребенка заболевание имело среднетяжелое течение, что было обусловлено более частым возникновением приступов удушья и более трудным их купированием. В этом случае до назначения монтелукаста проводилась базисная противовоспалительная терапия недокромиллом или кромогликатом натрия в сочетании с курсовым лечением β_2 -адреномиметиками или препаратами теофиллина в течение 5–7 дней. Тяжелое течение бронхиальной астмы имело место у 17 (30,3%) детей. Оно выражалось в ежедневном возникновении приступов затрудненного дыхания, ночных приступов, требующих нередко внутривенного применения глюкокортикоидов. У 7 таких детей в качестве базисных препаратов не менее 6 мес применялись ингаляционные глюкокортикостероиды.

Положительный клинический эффект монтелукаста отмечен у 52 из 56 детей на 3–4 нед лечения монтелукастом. Это проявлялось в прекращении или урежении приступов бронхиальной астмы, в том числе ночных. Так, частота приступов снизилась с $1,61 \pm 2,59$ до $0,16 \pm 0,46$ в сут ($p < 0,05$).

У 4 из 7 детей с тяжелым течением бронхиальной астмы подключение к лечению монтелукаста позволило без ухудше-

Таблица. Влияние монтелукаста на показатели функции внешнего дыхания (в % к должному уровню) у детей с бронхиальной астмой ($n = 19$)

Показатель	До лечения монтелукастом			После лечения монтелукастом		
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>mt</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>mt</i>
ФЖЕЛ	86,1	16,7	7,7	91,8	13,2	6,1
ОФВ ₁	71,8	15,6	7,2	79,7	12,5	5,8
ИТ	89,3	11,3	5,2	93,0	9,3	4,3
ПСВ	77,4	19,5	9,0	87,3	16,7	7,7
МОС ₇₅	64,9	20,4	9,4	75,4	19,1	8,8
МОС ₅₀	55,6	19,4	8,9	64,8	16,7	7,7
МОС ₂₅	52,6	20,2	9,3	60,3	17,8	8,2

M – среднее арифметическое, *SD* – стандартное отклонение, *mt* – доверительный интервал;

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких;

ИТ – индекс Тиффно;

ПСВ – пиковая скорость выдоха.

ния состояния снизить дозу ингаляционных глюкокортикостероидов в 2 раза. Двум детям удалось полностью отменить ингаляционные глюкокортикостероиды без обострения заболевания. У 1 ребенка, несмотря на сочетанное применение монтелукаста и фликсотиды, улучшение не наблюдалось. Из 10 детей с тяжелым течением бронхиальной астмы, не получавших глюкокортикостероиды, монтелукаст признан эффективным у 8 и неэффективным у 2 детей. Переносимость монтелукаста была хорошей. Побочных эффектов препарата ни в одном случае не зарегистрировано.

Катамнестическое наблюдение в течение 8–12 мес показало, что после отмены монтелукаста длительность клинической ремиссии при легком и среднетяжелом течении бронхиальной астмы составила 4–6 мес (у 93% пациентов), частота приступов снизилась до 1–3 в год. При тяжелом течении заболевания у 82% детей в этот период отмечалось снижение частоты и тяжести приступов и уменьшение потребности в β_2 -адреномиметиках в 3–4 раза, что позволило отменить ингаляционные глюкокортикостероиды в 5 из 7 случаев.

По данным функциональной диагностики исходные нарушения бронхиальной проходимости имели место у 36 из 48 обследованных детей. У 30 детей эти нарушения были умеренно выраженными, у 6 – значительными. На фоне лечения монтелукастом происходило существенное увеличение форсированной жизненной емкости легких, ОФВ₁, пиковой скорости выдоха и МОС₇₅. Индивидуальный анализ функциональных параметров выявил положительную динамику у 25 (69%) пациентов: повышение до нормальных значений показателей функции внешнего дыхания у 11 и уменьшение степени нарушения бронхиальной проходимости еще у 13 детей. У остальных больных существенных изменений функциональных показателей не отмечено.

У 10 из 19 детей зафиксирована положительная проба с β_2 -адреномиметиком. У всех 17 детей при пробе с физической нагрузкой (дозированный бег на тредмиле) выявлялся постнагрузочный бронхоспазм. ОФВ₁ снижался в среднем с 86 от должного значения до 68,5%, то есть более чем на 15%, при этом выявлялись генерализованные нарушения бронхиальной проходимости. У большинства детей для купирования индуцированного физической нагрузкой бронхоспазма приходилось прибегать к ингаляции сальбутамола.

На фоне лечения монтелукастом проба с β_2 -адреномиметиком оставалась положительной только у 4 из 10 детей. Толерантность к физической нагрузке, по данным провокационного

теста (отсутствие постнагрузочного бронхоспазма), повысилась у 12 из 17 пациентов

Средние данные по результатам исследования функции внешнего дыхания у 19 детей, у которых до и после лечения монтелукастом был изучен внутриклеточный кальциевый обмен, представлены в таблице. На фоне терапии монтелукастом у них отмечалось статистически достоверное увеличение форсированной жизненной емкости легких и ОФВ₁.

В результате исследования внутриклеточной концентрации ионов кальция определено, что ее базальный уровень до лечения составлял $88,2 \pm 4,2$ нМ, после лечения – $86,8 \pm 4,2$ нМ, стимулированный формилметионин-лейцилфенилаланином уровень до лечения – $297,2 \pm 25,8$ нМ, после лечения – $285,4 \pm 26,5$ нМ, стимулированный лейкотриеном D₄ – $278,2 \pm 18,7$ и $226,1 \pm 15,6$ нМ, соответственно (см. рисунок)

При сравнении базального уровня концентрации ионов кальция в полиморфоядерных лейкоцитах до и после лечения монтелукастом статистически значимых различий не обнаружено ($p = 0,64$). Не отмечено статистически значимых различий и в значениях стимулированной формилметионин-лейцилфенилаланином концентрации ионов кальция (то есть стимулированной концентрации ионов кальция в нейтрофилах) до и после лечения ($p = 0,07$), хотя отмечается тенденция к снижению. Установлено статистически достоверное снижение стимулированной лейкотриеном D₄ концентрации ионов кальция (то есть стимулированной концентрации ионов кальция в эозинофилах) на фоне терапии монтелукастом ($p = 0,02$). Таким образом, монтелукаст приводил к достоверному снижению интенсивности индуцированного кальциевого ответа в эозинофилах и тенденции к такому снижению в нейтрофилах. Иными словами, монтелукаст, блокируя лейкотриеновые рецепторы, избирательно снижает кальциевый ответ эозинофилов на стимуляцию лейкотриенами.

Обнаружена корреляционная зависимость между снижением стимулированной концентрации ионов кальция в эозинофилах, с одной стороны, и возрастанием форсированной жизненной емкости легких ($r = -0,67$) и ОФВ₁ ($r = -0,43$), с другой стороны, на фоне лечения монтелукастом.

Снижение выраженности индуцированного внутриклеточного подъема концентрации ионов кальция может приводить к

уменьшению выделения медиаторов аллергии и воспаления, замедлению хемотаксиса эозинофилов [12]. Как известно, эозинофилы имеют большое значение в позднем астматическом ответе, который представляет собой хроническое аллергическое воспаление [1]. Поэтому снижение стимулированной концентрации ионов кальция в эозинофилах вследствие блокады лейкотриенового рецептора I типа является, по-видимому, важным аспектом противоаллергического и антиобструктивного действия монтелукаста и одним из оснований использования его в качестве патогенетического (противовоспалительного) средства при бронхиальной астме у детей.

Полученные данные позволяют рекомендовать монтелукаст в качестве альтернативного препарата для проведения базисной терапии при легком или среднетяжелом течении бронхиальной астмы и в качестве дополнительного средства при тяжелом течении этого заболевания у детей.

Таким образом, терапия монтелукастом приводит к уменьшению клинической выраженности бронхообструкции, улучшению функции внешнего дыхания и снижению стимулированной концентрации ионов кальция в эозинофилах у детей с бронхиальной астмой.

Литература

- 1 Бронхиальная астма. Под ред. А.Г. Чучалина. В 2 томах. Т. 1. М., 1997
- 2 Wenzel S E Arachidonic acid metabolites mediators of inflammation in asthma. *Pharmacother* 1997, 17(1) 2 3–12
- 3 Kay A B Eosinophils as effector cells in immunity and hypersensitivity disorders. *Clin Exp Immunol* 1985, 62 1–12
- 4 Aharony D Pharmacology of leukotriene receptor antagonists. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157(6) 2 214–8 discussion 218–9, 247–8
- 5 Tan R A The role of antileukotriens in asthma management. *Curr Opin Pulm Med* 1998, 4(1) 25–30
- 6 Середа Е В, Лукина О Ф, Лукьянов С В, Платонова М М Эффективность сингуляра (монтелукаста) при бронхиальной астме у детей. *Болезни органов дыхания у детей*. М., 1999
- 7 Reiss T F, Chervinsky P, Dockhorn R J, et al Montelukast, a once-daily leukotriene receptor antagonist, in the treatment of chronic asthma: a multicenter, randomized, double-blind trial. Montelukast Research Study Group. *Arch Intern Med* 1998, 158(11) 1213–20
- 8 Leff J A, Busse W W, Pearlman D, et al Montelukast, a leukotriene-receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *N Engl J Med* 1998, 339(3) 147–52
- 9 Reiss T F, Sorkness C A, Stricker W, et al Effects of montelukast (MK-0476), a potent cysteinyl leukotriene receptor antagonist, on bronchodilation in asthmatic subjects treated with and without inhaled corticosteroids. *Thorax* 1997, 52(1) 45–8
- 10 Kemp J P, Dockhorn R J, Shapiro G G, et al Montelukast once daily inhibits exercise-induced bronchoconstriction in 6- to 14-year-old children with asthma. *J Pediatr* 1998, 133(3) 424–8
- 11 Knorr B, Matz J, Bernstein J A, et al Montelukast for chronic asthma in 6- to 14-year-old children: a randomized, double-blind trial. Pediatric Montelukast Study Group. *JAMA* 1998, 279(15) 1181–6
- 12 Руководство по иммунофармакологии. Пер. с англ. Под ред. М.М. Дейла, Дж. К. Формена. М., 1998
- 13 Авдонин Т В, Тканук В А Рецепторы и внутриклеточный кальций. М., 1984
- 14 Орлов С Н, Лабас Ю А Концентрация свободного кальция в цитоплазме. Методы регистрации, достижения и артефакты. *Биологические мембраны* 1989, (9) 901–38

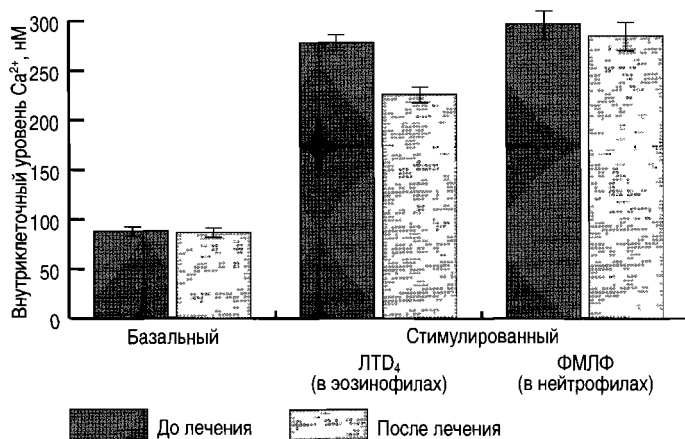


Рисунок. Влияние монтелукаста на базальный и стимулированный уровень ионов кальция в полиморфоядерных лейкоцитах. LTD₄ – лейкотриен D₄; ФМЛФ – формилметионин-лейцилфенилаланин.