Противовоспалительное и иммуномодулирующее действие кларитромицина у больных с легочной формой муковисцидоза

А.Л. Пухальский, Г.В. Шмарина, Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, Д.А. Пухальская

В основе структуры макролидов лежит лактонное кольцо, которое может содержать от 12 до 23 атомов углерода, хотя в качестве антибактериальных препаратов используют 14-, 15- и 16-членные макролиды. Наиболее известным из 14-членных макролидов является эритромицин. В настоящее время получен целый ряд его полусинтетических аналогов, в том числе кларитромицин.

Помимо антибактериальной активности, 14- и 15-членные макролиды обладают выраженным противовоспалительным действием. Показано, что макролиды нарушают миграцию нейтрофилов, тормозят в них развитие так называемого "оксидативного взрыва" [1, 2], а также способны подавлять продукцию провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8 и фактор некроза опухоли α (ФНО-α) [3–8].

Существует достаточно обширная литература, посвященная результатам лечения макролидами больных с гнойными процессами в легких, в том числе при диффузном панбронхиолите (ДПБ) и муковисцидозе (МВ). МВ представляет собой одно из наиболее распространенных аутосомно-рецессивных наследственных заболеваний. Мутация в гене, кодирующем один из белков клеточной мембраны, приводит к нарушению электролитного транспорта между клетками и интерстициальной жидкостью, в результате чего всасывание натрия и воды клетками эпителия увеличивается в 2–3 раза. Потеря воды повышает вязкость клеточных секретов, что нарушает функционирование бронхов и легких, поджелудочной железы, кишечника, урогенитального тракта. Наибольшее влияние на продолжительность жизни больных МВ оказывают инфекционные осложнения со стороны органов дыхания. И для ДПБ, и для МВ характерно частое присоединение синегнойной инфекции и наличие массивной нейтрофильной инфильтрации дыхательных путей.

В последние годы за счет применения эритромицина и некоторых других макролидов прогноз для больных ДПБ заметно улучшился: смертность в течение первых 10 лет от начала заболевания снизилась с 80 до 10% [9]. Имеются данные о благоприятном влиянии терапии макролидами на течение легочного процесса и у больных МВ. В процессе лечения существенно повышались форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) и объем форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) [10–12], при этом наш опыт показал, что кларитромицин, помимо положительного клинического эффекта, отличается очень хорошей переносимостью. В нашей практике не было случаев отказа больных от приема препарата, и ряд пациентов продолжают его принимать более чем 2 года.

Механизмы, лежащие в основе терапевтического эффекта макролидов, нельзя считать полностью изученными: кроме продукции цитокинов и свободных радикалов, возможно, существуют и другие мишени для этого класса препаратов.

Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы оценить динамику процессов воспаления у больных МВ в ходе длительной терапии кларитромицином.

Характеристика больных и методы исследования

В исследование были включены 27 больных МВ (средний возраст 12,0 ± 0,6 лет). Диагноз МВ ставили на основании положительной потовой пробы (повышение концентрации хлоридов >60 ммоль/л), типичной клинической картины и генетической верификации. Все пациенты страдали смешанной формой МВ, однако именно степень поражения бронхолегочной системы определяла тяжесть заболевания. Средние показатели $ОФВ_1$ и ФЖЕЛ составляли 65,7 ± 4,4 и 76,2 ± 4,0% от должных величин.

Все больные получали базисную терапию, включавшую муколитики, мультивитамины, высококалорийную диету и микросферические панкреатические ферменты. Кроме того, все больные получали кларитромицин (Клацид, Эбботт Лабораториз, США) в

Александр Леонидович Пухальский – докт. мед. наук, главный научный сотрудник Медико-генетического научного центра (МГНЦ) РАМН.
Галина Васильевна Шмарина – канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник МГНЦ РАМН.
Николай Иванович Капранов – профессор, зав. отделом муковисцидоза МГНЦ РАМН.
Наталия Юрьевна Каширская – докт. мед. наук, главный научный сотрудник МГНЦ РАМН.
Дарья Александровна Пухальская – мл. научный сотрудник МГНЦ РАМН.

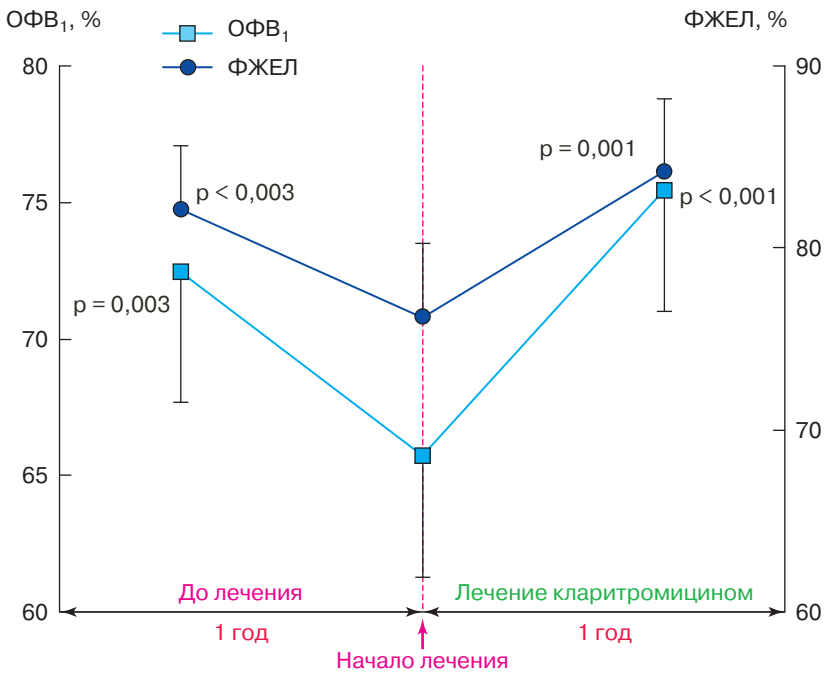

Рис. 1. Динамика ФЖЕЛ и $ОФВ_1$ (в % от должных величин).

дозе 250 мг через день. В случаях острых бронхолегочных осложнений выбор антибиотикотерапии зависел от результатов микробиологического исследования мокроты и выраженности клинических симптомов. Так, больным, инфицированным P. aeruginosa, назначали цефалоспорины III поколения в комбинации с аминогликозидами или ципрофлоксацин.

Все исследования проводили сначала до назначения кларитромицина, а затем повторно каждые 3 мес. У больных с хронической синегнойной инфекцией и плохой функцией легких ($ОФВ_1$ и ФЖЕЛ < 70% от должных величин) исследования проводили после рутинного 2-недельного курса антибиотиков.

Для изучения пролиферации лимфоцитов периферической крови, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА), клетки культивировали в присутствии меченого тимидина, после чего их радиоактивность оценивали в жидкостном сцинтилляционном фотометре. Активность ФНО-α в мокроте определяли с помощью цитокинчувствительной клеточной линии L929 [13]. Уровень ФНО-α в плазме, а также содержание ИЛ-4, ИЛ-8 и интерферона-α (ИФН-α) в мокроте и плазме крови определяли иммуноферментным методом.

Результаты

В течение 1 года, предшествовавшего курсу лечения кларитромицином, у большинства больных имело место снижение показателей $ОФВ_1$ и ФЖЕЛ. В ходе лечения кларитромицином наблюдалось статистически значимое повышение этих показателей (рис. 1).

Динамика маркеров воспаления in situ

Длительный прием относительно небольших доз кларитромицина сопровождался устойчивым снижением уровня ФНО-α в мокроте (рис. 2), которое можно было наблюдать уже через 3 мес после начала лечения. Через 1 год приема кларитромицина содержание ФНО-α в мокроте оказалось существенно ниже исходных показателей и ниже результатов всех промежуточных измерений.

Изменение содержания ИЛ-8 в мокроте было менее выраженным (см. рис. 2). Как и в случае с ФНО-α, его концентрация снижалась уже через 3 мес лечения. Через 6 мес уровень ИЛ-8 значимо не отличался от исходного, однако через 1 год был существенно ниже, чем до начала приема препарата.

Уровни обоих провоспалительных цитокинов, ФНО-α и ИЛ-8, заметно снижались через 3 мес терапии. Этот эффект отчасти может быть объяснен сезонными колебаниями маркеров воспаления, которые наблюдаются при хронической легочной патологии. В нашем исследовании точка “3 мес” приходилась на июнь, тогда как следу-

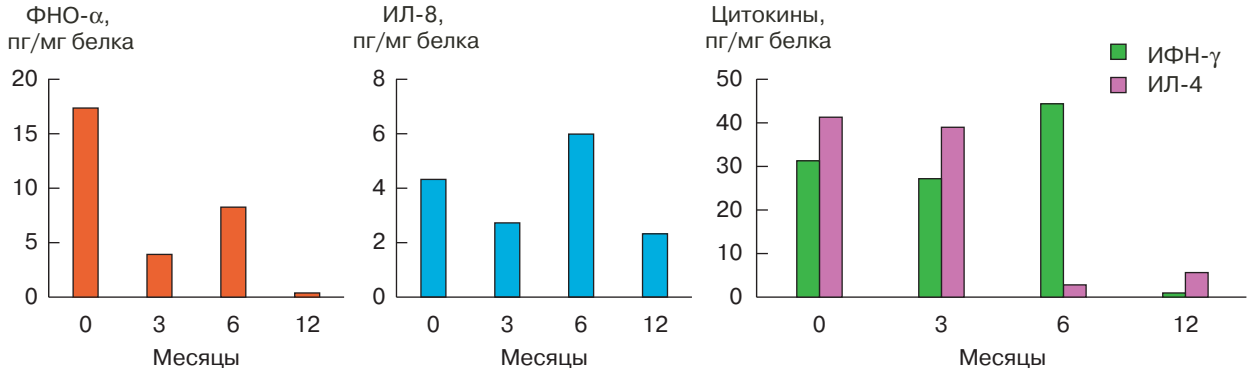

Рис. 2. Динамика содержания цитокинов в мокроте в ходе лечения кларитромицином.

ющий сбор материала происходил в октябре. В то же время точка "12 мес" также приходилась на холодное время года (март), поэтому низкий уровень провоспалительных цитокинов через год от начала лечения следует отнести исключительно на счет терапевтического воздействия препарата.

В течение первых 6 мес лечения существенных изменений уровня ИФН-γ в мокроте не наблюдалось, однако через 1 год у большинства больных этот цитокин в мокроте не определялся (см. рис. 2). Падение содержания в мокроте ИЛ-4 было гораздо более выраженным: его 10-кратное снижение можно было обнаружить начиная с 6-го месяца наблюдения (см. рис. 2).

Маркеры воспаления в периферической крови

В процессе лечения кларитромицином в периферической крови было обнаружено заметное снижение содержания ИЛ-4 (10-кратное через 1 год терапии). Изменения уровня ИФН-γ не достигали уровня значимости (рис. 3). ИЛ-8 и ФНО-α в периферической крови большинства пациентов не обнаруживались в течение всего периода наблюдения.

До лечения все больные демонстрировали относительно низкий уровень пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на ФГА (18634 ± 1587 импульсов в 1 мин). В результате приема кларитромицина имело место устойчивое повышение интенсивности пролиферативного ответа, наиболее выраженное через 3 мес (75304 ± 9817 имп/мин). Можно думать, что этот подъем также частично связан с сезонными колебаниями маркеров воспаления (забор крови производился в июне). Тем не менее и через 6, и через 12 мес терапии (заборы крови в октябре и марте) наблюдалось значимое повышение интенсивности пролиферативного ответа лимфоцитов периферической крови на ФГА (39603 ± 5138 и 57091 ± ± 5622 имп/мин).

Соотношение уровней ИФН-γ/ИЛ-4 до лечения было относительно низким как в мокроте – 1,1, так и в периферической крови – 2,7. Через 6 мес эти соотношения статистически значимо повышались – до 16,9 и 4,6 соответственно. Через 1 год от начала терапии в периферической крови сохранялась тенденция, в соответствии с которой ИФН-γ продолжал превалировать (соотношение ИФН-γ/ИЛ-4 равно 4,4). Что касается мокроты, то через 12 мес это соотношение не представлялось возможным вычислить, так как ИФН-γ в мокроте не определялся.

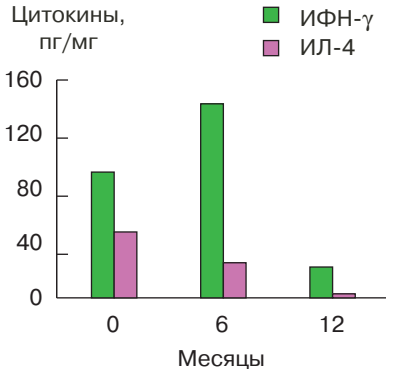

Рис. 3. Динамика содержания цитокинов ИЛ-4 и ИФН-γ в плазме в ходе лечения кларитромицином.

Обсуждение

Широко распространено мнение о том, что длительное применение 14-членных макролидов приводит к иммуносупрессии. Оно опирается, в частности, на данные исследований in vitro, согласно которым макролиды оказывают прямой эффект на продукцию цитокинов, вовлеченных в реакцию воспаления (торможение продукции ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО-α; стимуляция продукции ИЛ-10) [14, 15], а также на результаты экспериментов ex vivo [16, 17]. В нашем исследовании также было показано значительное снижение в мокроте уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ФНО-α. Более того, было обнаружено существенное снижение концентрации регуляторных цитокинов ИЛ-4 и ИФН-γ как в мокроте, так и в периферической крови. В то же время существенно повышалась интенсивность ответа лимфоцитов периферической крови на ФГА, что не согласуется с выводом об иммуносупрессивном эффекте длительного применения макролидов.

В литературе имеются хорошо документированные данные об эффективности длительного применения макролидов при злокачественных новообразованиях [18, 19]. Было показано, что этот эффект не связан с наличием у этой группы препаратов какой-либо цитотоксической активности, а является результатом усиления противоопухолевого иммунитета. Эти данные, а также тот факт, что использование макролидов у больных с ДПБ не сопровождается увеличением частоты присоединения синегнойной инфекции [9], также противоречат выводу о том, что длительное применение макролидов влечет за собой развитие иммуносупрессии.

Можно предположить, что терапевтический эффект макролидов у больных с легочной патологией связан не только с их противовоспалительной активностью, но и с иммуномодулирующими свойствами. На экспериментальных моделях это, в частности, было показано для 14-членного макролида рокситромицина. Рокситромицин обнаружил способность модулировать продукцию цитокинов Th_2-типа, причем какого-либо влияния на пролиферативный ответ лимфоцитов обнаружено не было [20].

Представленные нами данные находятся в полном соответствии с описанными выше результатами. Нам удалось показать, что длительная терапия кларитромицином сопровождается существенным изменением соотношения ИФН-γ/ИЛ-4 в пользу ИФН-γ. Такой сдвиг цитокинового профиля наблюдался как в мокроте, так и в периферической крови. При этом интенсивность пролиферативного ответа лимфоцитов, стимулированных ФГА, повышается. Эти результаты показывают, что в результате лечения кларитромицином происходит переключение иммунного ответа в сторону Th_1-типа. Следует думать, что улучшение функции внешнего дыхания у больных, получавших длительный курс кларитромицина, связано с такого рода перестройкой иммунной системы. Этот вывод подтверждает ранее опублико-

ванные результаты, показавшие, что иммунный ответ, развивающийся по Th_1-типу, улучшает течение легочного процесса при МВ [21]. Близкие результаты были получены при использовании модели хронической синегнойной инфекции на мышах, где было показано, что при доминировании ответа по Th_1-типу интенсивность воспаления в легких уменьшается [22, 23].

В заключение можно констатировать, что терапевтический эффект в результате длительного введения больным муковисцидозом 14-членного макролидного антибиотика кларитромицина связан не только с противовоспалительным эффектом этого препарата, но также с его иммуномодулирующими свойствами, в частности с переключением иммунного ответа с Th_2- на Th_1-тип.

Список литературы

1. Hand W.L. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 1990. V. 34. P. 863.
2. Khair O.A. et al. // Eur. Respir. J. 1995. V. 8. P. 1451.
3. Shultz M.J. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 1998. V. 42. P. 1605.
4. Konno S. et al. // Life Science. 1992. V. 51. P. 107.
5. Hardy R.D. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 2003. V. 47. P. 1640.
6. Labro M.T. // J. Antimicrob. Chemother. 1998. V. 41. Suppl. B. P. 37.
7. Jaffé A., Bush A. // Pediatr. Pulmon. 2001. V. 31. P. 464.
8. Wales D., Woodhead M. // Thorax. 1999. V. 54. Suppl. 2. S. 58.
9. Yanagihara K. et al. // Int. J. Antimicrob. Agents. 2001. V. 18. P. 83.
10. Jaffé A. et al. // Lancet. 1998. V. 351. P. 420.
11. Pukhalsky A. et al. // Le Pédiatre. 2001. V. 36. P. 14.
12. Walter J. // Thorax. 2002. V. 57. P. 212.
13. Ruff M.R., Gifford G.E. // Lymphokines / Ed. by Pick E. New York, 1981. P. 235.
14. Morikawa K. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 1994. V. 38. P. 2643.
15. Morikawa K. et al. // Antimicrob. Agents Chemother. 1996. V. 40. P. 1366.
16. Konno S. et al. // Life Science. 1992. V. 51. P. 107.
17. Konno S. et al. // Life Science. 1993. V. 52. P. 25.
18. Mikasa K. et al. // Chemother. 1997. V. 43. P. 288.
19. Sakamoto M. et al. // Chemother. 2001. V. 47. P. 444.
20. Johansen H.K. et al. // Behring. Inst. Mitt. 1997. V. 98. P. 269.
21. Moser C. et al. // APMIS. 1999. V. 107. P. 1093.
22. Moser C. et al. // APMIS. 2000. V. 108. P. 329.
23. Asano K. et al. // Int. Immunopharmacol. 2001. V. 1. P. 1913.

Книги издательства "АТМОСФЕРА"

Заболевания легких при беременности / Под ред. А.Г. Чучалина, В.И. Краснопольского, Р.С. Фассахова. 88 с.

Монография посвящена актуальной для практического здравоохранения проблеме терапии заболеваний легких при беременности. Подробно освещены особенности клинической фармакологии средств, применяемых в терапии заболеваний легких у беременных; детально излагаются вопросы диагностики и лечения пневмонии, туберкулеза легких и бронхиальной астмы при беременности. Отдельная глава посвящена современным подходам к диагностике и лечению внутриутробных пневмоний.

Для пульмонологов, акушеров-гинекологов, педиатров и врачей общей практики.

Терновой С.К., Синицын В.Е., Гагарина Н.В. *Неинвазивная диагностика атеросклероза и кальциноза коронарных артерий*

Монография посвящена новым методам неинвазивной диагностики коронарного атеросклероза – электронно-лучевой и мультиспиральной компьютерной томографии. Рассматриваются вопросы патоморфологии кальциноза атеросклеротических бляшек, значимость коронарного кальциноза при ишемической болезни сердца и ряде других заболеваний. Дается обзор инструментальных методов выявления коронарного кальциноза. Подробно рассматривается опыт использования электронно-лучевой и мультиспиральной компьютерной томографии для скрининга атеросклероза в популяции, прогнозирования течения ишемической болезни сердца и оценки эффектов медикаментозных и оперативных вмешательств. Даются рекомендации по оценке результатов скрининга коронарного кальциноза с помощью томографических методов. Рассматриваются вопросы сочетанного применения скрининга кальциноза и неинвазивной коронарной ангиографии с помощью современных методик компьютерной томографии. 144 с., ил.

Для рентгенологов, специалистов по лучевой диагностике, кардиологов и специалистов по функциональной диагностике.

Всю дополнительную информацию можно получить на сайте www.atmosphere-ph.ru