

териальную терапию, по возможности, следует проводить в домашних условиях, что наряду с улучшением качества жизни пациента (привычная среда обитания, питание, уход и др.) позволяет избежать перекрестного инфицирования госпитальными штаммами среди больных в условиях стационара, предотвращает распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов (MRSA, грамотрицательных бактерий).

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубков М.Н., Меньшиков Д.Д., Гугуцидзе Е.Н. и др. Микробиологическая диагностика смешанных анаэробно-аэробных инфекций в хирургии. Антибиотики и химиотер. 1995; 2: 46—50.

2. Fahy J.V., Keogh M.T., Crummy E.J., Fitzgerald M.X. Bacteraemia and fungaemia in adults with cystic fibrosis. J. Infect. 1991; 22: 241—245.
3. FitzSimmons S.C. The changing epidemiology of cystic fibrosis. J. Pediatr. 1993; 122: 1—9.
4. Govan J.R.W., Brown P.H., Maddison J. et al. Evidence for transmission of *Pseudomonas cepacia* by social contact in cystic fibrosis. Lancet 1993; 342: 15—19.
5. Hodson M.E., Geddes D.M. Cystic fibrosis. London: Chapman; 1995.
6. Hoiby N., Doring G., Schiøtz P.O. Pathogenic mechanisms of chronic *P.aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. Antibiot. Chemother. 1987; 39: 69—76.
7. Pedersen S.S. Prevention early treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection. Copenhagen: Righospitalet; 1992.
8. Schwab U.E., Wald A.E., Carson J.L. et al. Increased adherence of *Staphylococcus aureus* from cystic fibrosis lungs to airway epithelial cells. Am. Rev. Respir. Dis. 1993; 148: 365—369.

Поступила 19.04.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК [616.24-003.4-004]-053.2-[085.33:577.182.62].015.3

Т.В.Лубская, Н.И.Капранов, Н.Ю.Каширская, Л.А.Шабалова, А.Л.Пухальский,
Г.В.Шмарина, С.Н.Кокаровцева

КЛИНИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ МАЛЫХ ДОЗ МАКРОЛИДОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ МУКОВИСЦИДОЗА У ДЕТЕЙ

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

LONG-TERM LOW-DOSE THERAPY WITH MACROLIDES IN CYSTIC FIBROSIS

T.V.Lubskaya, N.I.Kapranov, N.J.Kashirskaya, L.A.Shabalova, A.L.Pukhalsky, G.V.Shmarina, S.N.Kokarovtseva.

Summary

Background — Modulation of the immune response is an attractive alternative approach to therapy in CF. In this regard macrolides with their additional anti-inflammatory properties may be useful in the treatment of CF lung disease.

Objective — to assess action and potential mechanisms of long-term low-dose therapy with 15- and 14-member lactone ring macrolides in children with CF.

Methods — Twenty-five CF patients (14 m, 11f; age range 6.5—16 yrs) were treated with azithromycin (SUMAMED®) in the dose 250 mg 2 times a week or clarithromycin in dose 250 mg every other day and basic therapy (enzymes; mucolytics, including rhDNase; vitamins). The patients were routinely evaluated every three months. This evaluation included anthropometric measurements (Wt/Ht, %), physical examination, pulmonary function test (FEV₁, FVC), microbiology of sputum (respiratory cultures), inflammatory markers in the sputum samples (neutrophil elastase activity, TNF-α, IL-4, IL-8, IFNγ concentrations) and in peripheral blood (sensitivity of lymphocytes to antiproliferative effect of glucocorticoids).

Results — During the six-month period before the start of macrolides most patients had experienced a decline in FVC and FEV₁ (−3.3±2% and −2±1.5% predicted, respectively). Following the treatment the lung disease progression became slower (FVC: 7.0±2.1% and FEV₁: 7.1±2.1%, both *p*=0.02). The effect was more pronounced in the patients with FVC<70 %. Before macrolides treatment this subjects showed a loss of the mean semiannual changes in FVC (−6.0±3.0%) and FEV₁ (−3.3±2.4%). After six month treatment with macrolides we noticed a significant improvement in lung function (FVC: 8.6±3.6 %, FEV₁: 9.4±3.0%, both *p*=0.03). The patients with poor lung function showed an essential elevation of neutrophil elastase activity (from 60.0±15.1 to 130.1±30.4 U/mg protein; *p*=0.05) and decrease of TNF-β (from 68.0±34.1 to 9.3±2.3 IU/mg protein; *p*=0.02) in their sputum. Authors postulate that elastase activity elevation is associated with destruction of neutrophils following the antiinflammatory treatment.

Discussion — Our preliminary findings suggest some potential mechanisms, by which long-term low-dose 15- and 14-member lactone ring macrolides therapy may be beneficial in CF.

Использование в терапии больных муковисцидозом МВ препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием, является привлекательной альтернативой. Как потенциальные иммуномодуляторы в современных исследованиях рассматриваются макролиды. В нашем исследовании 25 детям больным МВ к индивидуально подобранной базисной терапии был добавлен азитромицин (Сумамед®) в дозе 250 мг через 2 дня или кларитромицин (Клацид®) в дозе 250 мг через день в течение 6 мес и более. Результаты оценивались ежеквартально по клинической картине с учетом количества и степени тяжести обострений хронического бронхолегочного процесса, числа эпизодов ОРВИ, курсов антибактериальной терапии, по показателям функции внешнего дыхания (ФВД) — ФЖЕЛ и ОФВ₁, маркерам воспаления в мокроте — активность нейтрофильной эластазы, интерлейкин-8 (ИЛ-8), интерлейкин-4 (ИЛ-4), интерферон-γ (ИФγ), фактор некроза опухоли α (ФНОα) и в крови — чувствительность лимфоцитов к антипролиферативному действию дексаметазона, а также степени обсемененности мокроты *Pseudomonas aeruginosa* с определением чувствительности ее к антибиотикам (антибиотикограмма). В течение 6 мес до начала исследования большинство пациентов имели снижение показателей ФВД: среднее полугодовое изменение ФЖЕЛ $-3,3 \pm 2\%$ в целом по группе, а ОФВ₁ $-2,0 \pm 1,5\%$. За 6 мес исследования среднее полугодовое изменение ФЖЕЛ и ОФВ₁ достоверно улучшилось (соответственно $7,0 \pm 2,1$ и $7,1 \pm 2,1\%$; $p=0,02$ для обоих показателей). Эффект был более выраженным у пациентов с ФВД < 70%. Через 3 и 6 мес получено достоверное снижение уровня ФНОα в мокроте. В группе больных с ФЖЕЛ < 70% на фоне снижения уровня ФНОα в мокроте произошло значимое повышение активности нейтрофильной эластазы, что, по-видимому, является результатом массовой гибели нейтрофилов вследствие депривации факторов роста, в частности снижения уровня провоспалительных цитокинов. Произошло значимое повышение чувствительности лимфоцитов крови к действию глюкокортикоидов, что указывает на позитивные изменения в очаге воспаления в легких.

Муковисцидоз (МВ) — наследственное, аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутацией гена МВТР (трансмембранный регулятор МВ). Следствием мутации гена является нарушение структуры и функции белка МВТР, который локализуется в апикальной части мембраны эпителиальных клеток и регулирует электролитный (преимущественно хлоридный) обмен между этими клетками и межклеточной жидкостью. Нарушение электролитного обмена приводит к повышению вязкости секретов и дисфункции жизненно важных органов. В результате нарушения механизмов самоочищения в бронхолегочной системе создаются условия для инфицирования (преимущественно золотистым стафилококком и синегнойной палочкой), развивается хроническое гнойное воспаление, приводящее к нарушению легочной функции, деструкции бронхов, диффузному пневмофиброзу и дыхательной недостаточности.

Многие годы лечение легочных проявлений МВ фокусировалось на уменьшении воспаления дыхательных путей посредством контроля бактериальной инфекции и эффективного туалета бронхиального дерева путем мобилизации вязкого слизистого секрета. Современная этиопатогенетическая концепция поражения легких при МВ предполагает, что в разрушение легочной ткани больший вклад вносит чрезмерный иммунный ответ организма, а не прямое повреждающее действие микробных агентов. Иммунологические нарушения значительно возрастают при длительной колонизации синегнойной палочкой, способной формировать на поверхности клеток дыхательных путей микроколонию, которые образуют вокруг себя биопленку (мукоид), охраняющую их от действия защитных факторов макроорганизма и противосинегнойных препаратов. В процессе своего размножения микроколонию продуцируют вирулентные факторы, которые повреждают клетки макроорганизма, стимулируют выработку медиаторов

воспаления, повышают проницаемость капилляров, вызывают лейкоцитарную инфильтрацию [10].

В такой ситуации лечение антибиотиками малоэффективно, приводит лишь к некоторому клиническому улучшению и снижению степени микробной обсемененности, но не способно искоренить синегнойную инфекцию и подавить чрезмерный иммунный ответ. Таким образом, использование в терапии больных МВ препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием, является привлекательной альтернативой [8].

В современных исследованиях макролиды рассматриваются как потенциальные иммуномодуляторы. Способность макролидов ослаблять воспалительный ответ обсуждалась еще 20 лет назад, когда было показано благоприятное влияние эритромицина на течение тяжелой стероидозависимой бронхиальной астмы. Недавно была продемонстрирована эффективность этих антибиотиков в лечении диффузного панбронхиолита — заболевания, характеризующегося хроническим воспалением бронхиол и также нередко сочетающегося с хронической колонизацией синегнойной палочкой.

Противовоспалительное и иммуномодулирующее действие макролидов связывают с их способностью влиять на хемотаксис нейтрофилов, воздействовать на выработку воспалительных цитокинов, увеличивать эндогенную продукцию глюкокортикоидов и антиоксидантными свойствами [1].

Макролиды тормозят образование альгината биопленок путем ингибирования гуанозин-D-маннозадегидрогеназы — одного из ферментов, необходимого для синтеза альгината. Предполагают, что макролиды наряду с препятствием адгезии *Ps. aeruginosa*, подавляют образование биофильма синегнойной палочкой, облегчая фагоцитирование бактерий нейтрофилами и повышая чувствительность микроорганизмов к бактерицидному действию сыворотки [1].

Характеристика больных

Возраст, годы	МРИ, %	Мутация гена CFTR	ФЖЕЛ, %	ОФВ ₁ , %	Флора, выделяемая при бактериологическом исследовании мокроты
7	98	ΔF508/CFTRdele2,3(21kb)	82,2	71,8	<i>Ps.aer.muc.</i> (хронич.)
14	98	ΔF508/ΔF508	89,3	77,8	То же
11	75	ΔF508/W1282X	57,5	43,4	" "
8	89	ΔF508 / —	81,4	74,5	" "
11	85	W1282X/ —	85,4	55,8	" "
16	70	ΔF508 / —	56,0	40,3	" "
10	72	G542X/—	35,1	32,6	" "
12	84	ΔF508 / —	68,3	54,1	<i>Ps.aer.muc.</i> (хронич.), <i>St.aureus</i>
10	91	ΔF508/CFTRdele2,3(21kb)	78,5	65,9	То же
6	87	ΔF508 / —	67,8	64,2	" "
8	86	3821ΔT(19ex)/—	65,7	61,4	" "
15	71,5	ΔF508/N1303K	46,9	39,0	" "
14	80	ΔF508 / F508del	48,7	40,3	" "
14	91	2184insA/ —	43,1	52,2	<i>Ps.aer.</i> (нерегул.), <i>Sten.malt.</i> , <i>St.aur.</i>
16	81	ΔF508 / ΔF508	94,8	91,6	<i>Ps.aer.</i> (нерегул.), <i>St.aureus</i>
10	93	ΔF508/CFTRdele2,3(21kb)	80,9	76,4	То же
10	97	ΔF508 / —	101,2	96,9	" "
13	87	—/—	88,3	74,1	" "
14	81	—/—	77,7	58,0	<i>Alcaligenes x/xylosoxidans</i>
12	78	ΔF508 / —	66,5	44,9	<i>Sten.maltoph.</i> , <i>St.aureus</i>
16	94	—/—	54,1	45,4	То же
16	86	—/—	81,8	89,4	<i>St.aureus</i>
10	95	ΔF508 / ΔF508	88,9	74,9	То же
13	120	ΔF508 / —	99,4	113,4	" "
10	101	—/—	117,1	102,8	" "

В нашем исследовании у детей больных МВ к индивидуально подобранной базисной терапии был добавлен азитромицин (Сумамед®) в дозе 250 мг через 2 дня или кларитромицин (Клацид®) в дозе 250 мг через день в течение 6 мес и более. Азитромицин и кларитромицин — полусинтетические производные эритро-

мицина А. Азитромицин является первым представителем подкласса азалидов, разработан фармацевтической компанией "Pliva" (Хорватия) путем включения атома азота в 14-членное лактонное кольцо между 9-м и 10-м атомами углерода, превращая кольцо в 15-атомное. Кларитромицин — 6-о-метилэритромицин

Таблица 2

Характеристика изменения показателей ФВД за 6 мес до и через 6 мес после начала приема макролидов по группам больных

Показатель	Средняя величина изменения ФЖЕЛ (%Д)		Средняя величина изменения ОФВ ₁ (%Д)	
	за 6 мес до начала исследования (1)	за 6 мес после начала исследования (2)	за 6 мес до начала исследования (1)	за 6 мес после начала исследования (2)
Группа больных в целом	-3,3±2%	+7,0±2,1% <i>p</i> _{1,2} =0,02	-2,0±1,5%	+7,1±2,1% <i>p</i> _{1,2} =0,02
Группа больных с хроническим высевом <i>Ps.aer.</i>	-5,3±2,5%	+9,2±4,0%	-5,0±2,5%	+10,1±3,0%
Группа больных с нерегулярным высевом <i>Ps.aer.</i>	-1,8±2,5%	+5,4±2,0%	+0,2±2,5%	+5,0±2,5%
Группа больных с ФЖЕЛ < 70%	-6,0±3,0%	+8,6±3,6% <i>p</i> _{1,2} =0,03	-3,3±2,4%	+9,4±3,0% <i>p</i> _{1,2} =0,03
Группа больных с ФЖЕЛ > 70%	-0,2±2,6%	+5,2±2,2%	-0,5±3,0%	+4,7±2,9%

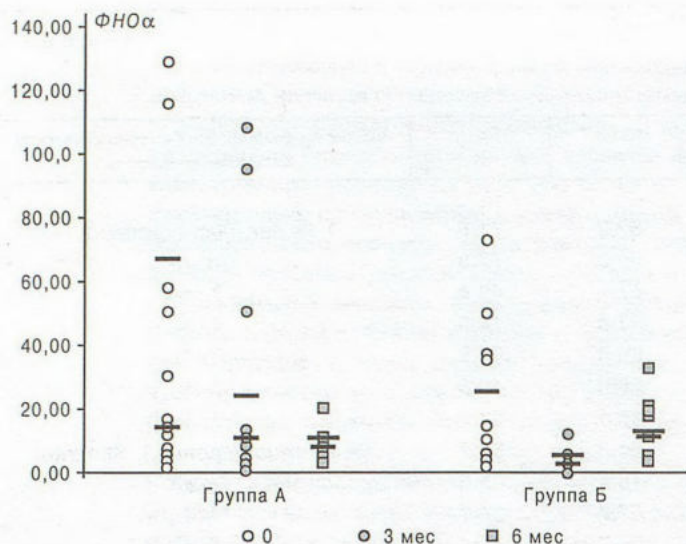


Рис. 1. Изменение концентрации ФНО α в мокроте больных МВ на фоне длительного приема малых доз макролидов.

Каждая точка соответствует отдельному наблюдению. Горизонтальные широкие линии — средние значения, горизонтальные узкие линии — медианы ($p_{1,2}=0,3$; $p_{1,3}=0,02$; $p_{5,7}=0,3$). Группа А — больные МВ с ФЖЕЛ < 70%. Группа Б — больные МВ с ФЖЕЛ > 70% — здесь и на рис. 2, 3.

отличается от эритромицина наличием метоксигруппы в позиции 6-го лактонного кольца и является 14-членным макролидом. Оба препарата сходны по характеру сахаров (дезозаминоза и кладиноза), составляющих боковые цепи, которые определяют действие макролидов на синегнойную палочку [1,8].

Исследуемую группу составили 25 детей в возрасте от 6 до 16 лет (14 мальчиков и 11 девочек). Одним из главных критериев при отборе кандидатов было наличие синегнойной палочки в мокроте. У 13 больных более 2 лет при бактериологическом исследовании мокроты выделялась мукоидная форма синегнойной палочки (хроническая колонизация *Pseudomonas aeruginosa* *mic.* — *Ps. aer. mic.*), у 5 больных наблюдался нерегулярный высеv *Pseudomonas aeruginosa* в сочетании с другой грамотрицательной флорой (*Pseudomonas species*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xyl/xylosoxidans*) или золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*). В группу также вошло 7 детей без синегнойной инфекции. Больные различались как по показателям функции внешнего дыхания (ФЖЕЛ от 35,1 до 117,1%Д; ОФВ₁ от 32,6 до 113,4%Д), так и по массоростовому индексу (МРИ). Это разнообразие возможно связано с генетическими факторами, длительностью заболевания, различной степенью тяжести его течения, обусловленной как индивидуальными особенностями организма, так и социальными причинами. Характеристика больных приведена в табл. 1.

Результаты оценивались ежеквартально по клинической картине с учетом количества и степени тяжести обострений хронического бронхолегочного процесса, числа эпизодов ОРВИ, курсов антибактериальной терапии, в том числе и профилактических, показателям ФВД — ФЖЕЛ и ОФВ₁, маркерам воспаления: в мокроте — активность нейтрофильной эластазы, интер-

лейкин-8 (ИЛ-8), интерлейкин-4 (ИЛ-4), интерферон- γ (ИФ γ), фактор некроза опухоли α (ФНО α) и в крови — чувствительность лимфоцитов к антипролиферативному действию дексаметазона, а также степени обсемененности мокроты *Pseudomonas aeruginosa* с определением чувствительности ее к антибиотикам (антибиотикограмма).

Определение ФВД осуществляли на аппарате "Eutest" регулярно до начала исследования и затем (не реже 1 раза в 3 мес). Маркеры воспаления в мокроте и в крови определяли в Лаборатории иммуногенетики МГНЦ РАМН. Материал собирали у больных в стадии клинической ремиссии хронического бронхолегочного процесса или после курса интенсивной внутривенной антибактериальной терапии. Больные вели индивидуальные ежедневные дневники наблюдения по основным параметрам (температура тела, частота дыхания, частота пульса, интенсивность кашля, количество мокроты, частота и характер стула, боли в животе, дни приема антибиотиков).

При анализе было выявлено, что в течение 6 мес до начала исследования большинство пациентов имели снижение показателей ФВД: среднее полугодовое изменение ФЖЕЛ $-3,3 \pm 2\%$ в целом по группе, а ОФВ₁ $-2,0 \pm 1,5\%$. За 6 мес исследования среднее полугодовое изменение ФЖЕЛ и ОФВ₁ достоверно улучшилось (соответственно $7,0 \pm 2,1$ и $7,1 \pm 2,1\%$; $p=0,02$ для обоих показателей). Эффект был более выраженный у пациентов с ФВД < 70%. До начала приема макролидов у этой группы больных ФЖЕЛ в среднем снизилась на $6,0 \pm 3,0\%$ и ОФВ₁ на $3,3 \pm 2,4\%$ за 6 мес. Через полгода на фоне приема макролидов отмечено достоверное улучшение функции легких: ФЖЕЛ на $8,6 \pm 3,6\%$, ОФВ₁ на $9,4 \pm 3,0\%$ ($p=0,03$ для обоих показателей). Эти данные представлены в табл. 2.

Положительная динамика выявлена при анализе факторов воспаления в мокроте и крови, в частности содержание ФНО α в мокроте и чувствительность лимфоцитов периферической крови к антипролиферативному действию дексаметазона.

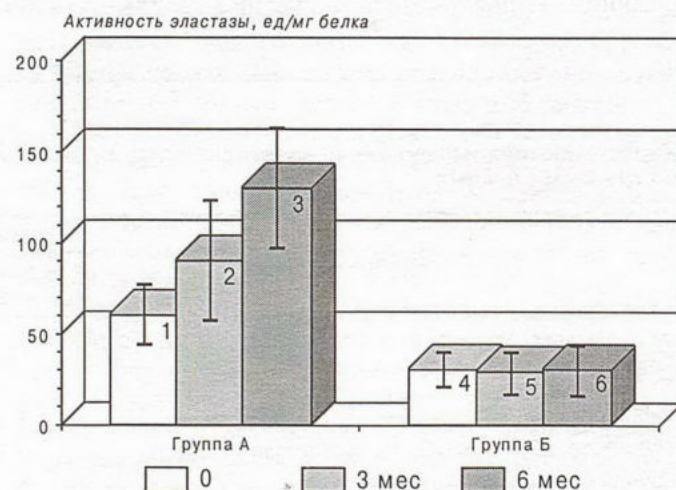


Рис. 2. Изменение средних значений активности нейтрофильной эластазы в образцах мокроты больных МВ при длительном приеме малых доз макролидов ($p_{1,2}=0,3$; $p_{1,3}=0,05$; $p_{4,5}=0,8$; $p_{5,6}=0,9$).

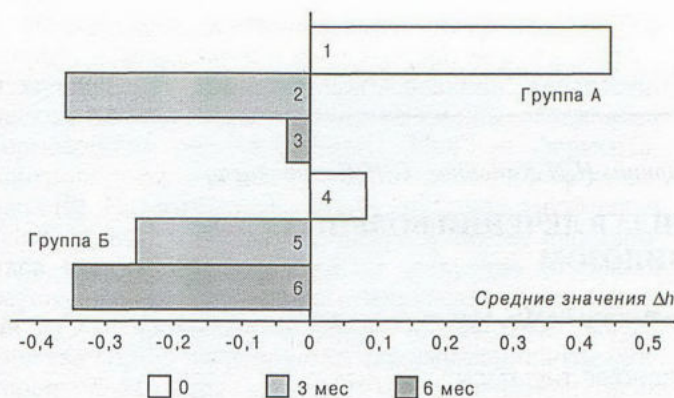


Рис.3. Чувствительность лимфоцитов периферической крови к антипролиферативному действию дексаметазона у больных МВ на фоне длительного приема малых доз макролидов. Результаты представлены в виде средних значений величины Δh.

ФНОα является цитокином широкого спектра действия, который способен оказывать как физиологические, благоприятные, так и патологические эффекты. Источником ФНОα в дыхательных путях являются макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы и эпителиальные клетки. К факторам, стимулирующим синтез ФНОα, относятся бактериальные эндотоксины, липополисахариды бактериальных стенок, вирусные антигены, иммунные комплексы. Основные благоприятные эффекты ФНОα состоят в стимуляции механизмов специфической и неспецифической защиты (активация макрофагальной системы), поддержании тканевого гомеостаза (регуляции клеточного роста). При респираторной патологии ФНОα играет ключевую роль в воспалительной реакции, так как способствует экспрессии некоторых молекул, запускающих воспалительный ответ, и обеспечивает миграцию клеток (в частности, нейтрофилов) в очаг воспаления [4].

Через 3 и 6 мес получено достоверное снижение уровня ФНОα в мокроте. Данные представлены на рис.1.

В группе больных с ФЖЕЛ<70% на фоне снижения уровня ФНОα в мокроте произошло значимое повышение активности нейтрофильной эластазы (рис.2), что, по-видимому, является результатом массовой гибели нейтрофилов вследствие депривации факторов роста, в частности снижения уровня провоспалительных цитокинов.

Для выявления системного действия макролидов оценивали чувствительность лимфоцитов периферической крови к действию глюкокортикоидов. Лимфоциты, выделенные из венозной крови больных, стимулировали фитогемагглютинином (ФГА) и инкубировали в присутствии различных концентраций дексаметазона. Интенсивность пролиферативного ответа оценивали по включению ³H-тимидина. Результаты выражали в виде величины Δh, представляющей интегративный показатель чувствительности клеток к антипролиферативному действию глюкокортикоидных гормонов [2]. Положительные значения Δh свидетельствуют о рези-

стентности лимфоцитов к действию глюкокортикоидов, т.е. о наличии в периферической крови большого количества активированных лимфоцитов. Так, в начале исследования величина Δh (среднее значение по группе в целом) была положительной (+0,11±0,17). Через 6 мес ее значения переместились в область отрицательных величин (-0,20±0,2; p=0,04), т.е. в периферической крови стали преобладать покоящиеся лимфоциты, чей пролиферативный ответ на стимуляцию ФГА может быть легко заблокирован глюкокортикоидами. В первые 3 мес эффект был более выраженным в группе больных с ФЖЕЛ<70%. Среднее значение величины Δh изменилось от 0,44±0,2 до -0,35±0,3. Данные представлены на рис.3. Значительное повышение чувствительности клеток указывает на позитивные изменения в очаге воспаления в легких.

Выводы

1. Длительный прием малых доз макролидов замедляет прогрессирование хронического бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом (по данным клинико-функциональных показателей и маркеров воспаления).
2. Анализ маркеров воспаления (снижение уровня ФНОα, повышение чувствительности лимфоцитов к антипролиферативному действию дексаметазона) у больных муковисцидозом на фоне приема малых доз макролидов свидетельствует об их противовоспалительном действии.
3. Полученные результаты позволяют рекомендовать длительное применение малых доз макролидов больным муковисцидозом особенно с хронической колонизацией синегнойной палочкой и низкими показателями функции внешнего дыхания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Макролиды в современной клинической практике. Смоленск: Русич; 1998.
2. Певницкий Л.А., Пухальский А.Л., Капранов Н.И. и др. Иммунологический мониторинг больных муковисцидозом. Значение различных лабораторных показателей. Вестн. РАМН 2000; 5: 40—46.
3. Самсыгина Г.А. Макролиды. В мире лекарств 1999; 3—4: 67—72.
4. Чучалин А.Г. Актуальные проблемы пульмонологии. В кн.: Сборник трудов Всероссийского науч. о-ва пульмонологов. М.; 2000. 362—373.
5. Labro M. Anti-inflammatory activity of macrolides: a new therapeutic potential? J. Antimicrob. Chemother. 1998; 41 (suppl.B): 37—46.
6. Anstead M., Kuhn R., Hartford L. et al. Effect of chronic azithromycin on lung function in cystic fibrosis. In: North American on cystic fibrosis conference. Berlin; 1999. Abstr. 421.
7. Pirzada O., Taylor C. Long term macrolide antibiotics improve pulmonary function in cystic fibrosis. Ibid. Abstr. 348.
8. Warner J.O. Immunology of cystic fibrosis. Br. Med. Bull. 1992; 48 (4): 893—911.
9. Hoiby N. Pseudomonas in cystic fibrosis: past, present, future: The Joseph Levy Memorial Lecture. Montreal; 1998.

Поступила 25.06.01