

Полиоксидоний в комплексном лечении атопической бронхиальной астмы*

ВЫСОКОАКТИВНЫЕ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДЫ (ГКС) ШИРОКО ИСПОЛЬЗУЮТСЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ С МОМЕНТА ИХ ПОЯВЛЕНИЯ И ЗАРЕКОМЕНДОВАЛИ СЕБЯ КАК ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ (БА). ОДНАКО ДЛИТЕЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ЧАСТО ОКАЗЫВАЛО СИСТЕМНОЕ НЕБЛАГОПРИЯТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НА СОСТОЯНИЕ ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОГО ИММУНИТЕТА, ЧТО ПРИВОДИЛО К ПОВЫШЕНИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БОЛЬНЫХ К БАКТЕРИАЛЬНОЙ, ВИРУСНОЙ И ПАРАЗИТАРНОЙ ИНФЕКЦИЯМ.

Внедрение в практику лечения БА ингаляционных форм глюкокортикостероидов (ИГКС) оказалось высокоэффективным даже при тяжелом течении заболевания [1]. Известно, что ГКС обладают выраженным иммуносупрессивным и антипролиферативным действием (в первую очередь по отношению к Т-клеточному звену иммунитета), однако ингаляционные формы не вызывают системных проявлений при той же терапевтической эффективности [2]. Благоприятное действие ИГКС связано с локальным противовоспалительным эффектом (в основном с подавлением эозинофильного воспаления) и уменьшением гиперчувствительности дыхательной мускулатуры. Однако длительное применение ГКС, оказывающее терапевтический противовоспалительный эффект, в большей или меньшей степени подавляет противоинфекционный иммунный ответ, что способствует развитию инфекционных осложнений. При этом характер инфекций и их локализация зависят от пути введения, применяемой дозы и активности препарата [3].

Многолетний опыт применения ИГКС в лечении БА позволяет предположить, что неблагоприятное действие ИГКС на иммунную систему у больных БА во многих случаях может быть компенсировано и не проявляться полностью при отсутствии повышенной нагрузки на иммунную систему. Целью нашего исследования является анализ исходного состояния иммунитета и потенциальных возможностей поликлональной активации Т-клеточных популяций у больных БА, получающих базисную терапию с использованием ГКС, с последующей оценкой эффективности использования иммуномодулятора Полиоксидония (ПО) в комплексной терапии таких больных.

Материалы и методы

Обследовано 48 пациентов с атопической бронхиальной астмой (АБА) персистирующего течения средней тяжести. Диагноз был установлен на основании анамнеза, данных физикального и инструментального обследования, а также результатов специфической аллергологической диагностики. Все больные находились на базисной поддерживающей терапии ИГКС (будесонид) в суточной дозе 500-1000 мкг в комбинации с β_2 -агонистами короткого действия. Группу сравнения составили 29 здоровых добровольцев. В числе сопутствующих заболеваний были выявлены: аллергический ринит — у 38 больных, хронический гнойно-обструктивный бронхит — у 43, рецидивирующие (до 5-6 раз в год) респираторные инфекции — у 36, в единичных случаях наблюдалось присоединение хронического тонзиллита, хронического пиелонефрита и повторных пневмоний. Возраст больных составил от 18 до 50 лет. Длительность заболевания — от 2 до 20 лет. Наблюдаемые больные с АБА были разделены на две группы. Первая (23 человека) получала базисную терапию, включающую ИГКС (будесонид), 9 человек из группы периодически принимали ГКС парентерально или перорально. Вторая группа больных (25 человек) наблюдалась

Таблица 1. Уровень исходной экспрессии дифференцировочных и активационных маркеров на мононуклеарах доноров и больных АБА, получавших базисную терапию с ИГКС

Показатели	Доноры	Больные АБА
	Маркеры дифференцировки	
CD3+ (%)	73,90 ± 6,50	68,10 ± 6,00
CD4+ (%)	43,80 ± 5,90	39,40 ± 5,40
CD8+ (%)	32,40 ± 2,10	27,10 ± 1,70
CD4+/CD8+ (абсол.)	1,35	1,45
CD19+ (%)	11,00 ± 2,20	10,50 ± 1,30
Маркеры активации		
CD69+ (%)	1,44 ± 0,30	1,34 ± 0,46
CD3+ 69+ (%)	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,03
HLA-DR+ (%)	12,36 ± 2,83	11,89 ± 3,10
CD3+ HLA-DR+ (%)	4,00 ± 1,27	4,90 ± 1,45
Кол-во пациентов в исследовании	n = 29	n = 48

в процессе проведения курса комплексной терапии, включающей базисный прием ИГКС (будесонид) и иммуномодулятор ПО в дозе 6 мг внутримышечно через день в количестве 5 инъекций. В исследованиях клетки получали из периферической крови. Мононуклеарную фракцию выделяли центрифугированием на градиенте плотности перколла («Pharmacia», Швеция) 1,077 при 700 g в течение 25 мин при комнатной температуре. Количество лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, определяли с использованием моноклональных антител (МКАТ) к соответствующим антигенам (набор «IMK Plus», «Becton Dickinson», США). Оценку уровня экспрессии поверхностных антигенов проводили методом трехцветного маркирования. Результаты реакции учитывали на двухлазерном проточном цитофлуориметре «FACSCalibur» («Becton Dickinson») в программе «CellQuest». Настройку прибора по каналам флуоресценции осуществляли с помощью программы «FACSComp» с применением калибровочных частиц CaliBRITE и частиц, меченных APC. Уровень стимулированной экспрессии активационных маркеров на мононуклеарных клетках периферической крови больных АБА и здоровых добровольцев исследовали в условиях краткосрочного культивирования. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента для двух групп и в динамике для одной группы [4].

Результаты исследования

Результаты исследования влияния длительного применения ИГКС в составе базисной терапии у больных АБА на экспрессию активационных маркеров представлены в табл. 1. Проведено сравнение средних показателей экспрессии на мононуклеарах периферической крови маркеров лимфоцитарной дифференцировки и маркеров активации (CD69+ — раннего маркера активации и HLA-DR — позднего маркера активации). Рассматривая материалы исследования, необходимо отметить, что при длительном наблюдении больных АБА, получавших базисную терапию с использованием средних доз ИГКС, про-

центное соотношение Т-клеточных субпопуляций (CD4+ и CD8+) в составе Т-лимфоцитарной популяции (CD3+) сохранялось и их уровень практически не отличался от такового у здоровых доноров (было зафиксировано незначительное и малодостоверное снижение CD8+ Т-лимфоцитов). Показатели соотношения CD4+/CD8+Т-лимфоцитов в сравниваемых группах не отличались и соответствовали средним величинам нормы. Количество активированных лимфоцитов, оцениваемое по уровню экспрессии маркеров ранней активации (CD69+), в общей популяции мононуклеаров не превышало 2%, а в наиболее значимой CD3+ Т-популяции лимфоцитов было минимальным (табл. 1). Более высоким было количество мононуклеаров, экспрессирующих поздние маркеры активации (HLA-DR), которое

составило 12%. Однако эта цифра не отражает истинной степени активации клеток, поскольку для некоторых клеточных популяций экспрессия маркеров HLA-DR характерна и в норме. Поэтому истинный уровень активации Т-лимфоцитов по увеличению поздних активационных маркеров следует оценивать по показателям CD3+ HLA-DR+. Как мы видим, и эти величины однотипны в обеих группах.

Таким образом, следует признать, что базисная терапия АБА с использованием средних доз ИГКС не сопровождается значимыми сдвигами Т-лимфоцитарных популяционно-субпопуляционных и активационных показателей.

Однако следует иметь в виду, что рассмотренные показатели характеризуют уровень экспрессии дифференцировочных и активационных маркеров Т-клеточного звена иммунитета у больных АБА в период восстановления клинического благополучия. Это совершенно не доказывает того, что Т-лимфоциты у больных АБА будут функционировать так же безупречно, как и Т-клетки здоровых людей, в условиях выраженной антигенно-инфекционной нагрузки. Данных о состоянии Т-лимфоцитов больных АБА, получающих ИГКС в составе базисной терапии, в доступной литературе мы не обнаружили. В связи с этим мы провели следующую серию лабораторных исследований, задачей которых было сравнение потенциальных возможностей Т-лимфоцитов доноров и больных АБА при активации их поликлональным митогеном — фитогемагглютинином (ФГА) — в течение 24 часов в культуре клеток. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Результаты исследований свидетельствовали о том, что культивирование мононуклеаров периферической крови у индивидов анализируемых групп в течение 24 часов без добавления митогена не сопровождалось изменением уровня экспрессии ранних маркеров активации (CD69+) как у доноров, так и у больных АБА. В то же время степень активации CD3+ Т-лимфоцитарной популяции несколько возрастала преимущественно в группе доноров и достигала 1,41 ± 0,31% при 0,17 ± 0,02% в исходном состоянии. Прирост был незначителен, однако он оказался боль-

ше, чем в группе больных АБА. Интересно, что при 24-часовом культивировании без добавления ФГА количество клеток, несущих поздние маркеры активации (HLA-DR), несколько уменьшилось, что, видимо, связано с незначительной потерей клеток, несущих в норме маркеры HLA-антигенов II класса. Именно об этом свидетельствуют практически неизменные уровни экспрессии маркера HLA-DR на CD3+Т-лимфоцитах у доноров - $4,0 \pm 1,27\%$ и $4,16 \pm 1,12\%$ в исходном состоянии и через 24 часа культивирования без ФГА (табл. 1, 2).

Использование митогена ФГА при культивировании привело к значительному увеличению количества активированных клеток. При этом наиболее выраженное увеличение отмечено в группе здоровых доноров. Процентное содержание клеток, экспрессирующих ранние маркеры активации, выросло у доноров до $22,92 \pm 3,15\%$. У больных АБА также отмечалось увеличение количества активированных CD69+-моноклеаров, но оно было достоверно меньшим, чем у доноров. Наибольшая разница прослеживалась у CD3+Т-лимфоцитарной популяции доноров и больных ($16,58 \pm 1,98\%$ и $6,58 \pm 1,54\%$ соответственно, $p < 0,01$). Воздействие ФГА увеличивало также экспрессию поздних маркеров активации моноклеаров до $16,91 \pm 1,38\%$ в группе доноров, что практически в 2 раза превышало увеличение степени активации клеток у больных АБА, получавших ИГКС в составе базисной терапии. Таким образом, длительное применение средних доз ИГКС в составе базисной терапии у больных АБА приводило к снижению потенциальных возможностей клеток к активации при использовании поликлонального митогена. Воздействие последнего может быть сопоставимо с выраженной активацией инфекционными агентами. Было проведено сравнение полученных нами результатов с данными опубликованных исследований. Авторы сравниваемых работ использовали в основном высокие дозы ИГКС (флутиказон), что приводило к снижению количества активированных Т-лимфоцитов уже в исходном состоянии с уменьшением выраженности реакций гиперчувствительности замедленного типа как у больных, так и у здоровых добровольцев [5, 6]. Полученные отличия были обусловлены разницей в дозировках и длительности применения ИГКС. Использование более низких доз в наших исследованиях не приводило к уменьшению количества клеток, экспрессирующих активационные маркеры.

Анализируя результаты длительного применения ИГКС по литературным данным, мы предположили, что отсутствие выраженного системного иммуносупрессирующего влияния у препаратов данной группы не отменяет возможности подавления местного иммунитета на уровне дыхательного тракта больных. Многочисленные противовоспалительные и иммуносупрессивные эффекты ГКС реализуются через транскрипционную стимуляцию или репрессию специфических генов. Наиболее характерным механизмом их действия является ингибирование транскрипционного ядерного фактора В (NF-κB). Это приводит к тому, что ГКС воздействуют практически на все клеточные

Таблица 2. Уровень экспрессии активационных маркеров на лимфоцитах доноров и больных АБА, получавших базисную терапию с включением ГКС при стимуляции ФГА

Показатели	Доноры		Больные АБА	
	ФГА-	ФГА+	ФГА-	ФГА+
CD69+ (%)	$1,28 \pm 0,25$	$22,92 \pm 2,51$	$1,42 \pm 0,87$	$16,05 \pm 1,19^*$
CD3+ 69+ (%)	$1,41 \pm 0,31$	$16,58 \pm 1,98$	$0,79 \pm 0,29$	$6,58 \pm 1,54^*$
HLA-DR+ (%)	$9,10 \pm 1,10$	$16,91 \pm 1,38$	$9,52 \pm 1,46$	$9,70 \pm 1,61^*$
CD3+ HLA-DR+ (%)	$4,16 \pm 1,12$	$8,98 \pm 1,47$	$5,76 \pm 1,82$	$6,94 \pm 2,01$
Кол-во пациентов в исследовании	n = 29		n = 48	

* $p < 0,05$ между соответствующими подгруппами доноров и больных АБА.

типы, участвующие в воспалительном и иммунном ответе [7]. В пользу высказанного нами положения свидетельствуют данные о высокой чувствительности больных, находящихся на терапии системными ГКС, к оппортунистическим инфекциям. Применение же ИГКС сопровождалось специфическим локальным осложнением в виде легочного аспергиллеза [8]. С подобными явлениями локального снижения резистентности на уровне респираторного тракта мы встретились у больных АБА, находящихся на базисной терапии с использованием ИГКС. Применяемая терапия оказалась эффективной в снижении частоты и тяжести приступов АБА, однако признаки тяжелого бронхита сохранялись. Пациентов по-прежнему беспокоил приступообразный кашель с выделением слизисто-гноющей мокроты.

В ранее опубликованной нами работе было высказано предположение, что иммуносупрессивный эффект ИГКС у больных АБА может послужить обоснованием включения в комплексное лечение иммуномодуляторов [9, 10]. При выборе иммуномодулятора мы отдали предпочтение Полиоксидонию, как препарату, способному восстанавливать функции многочисленных клеточных типов у больных с патологией легких [11, 12]. Полиоксидоний применяется в комплексном лечении хронических инфекционно-воспалительных процессов различной локализации. Диапазон его иммуностропного действия широк: усиление фагоцитоза и активности естественных киллеров, активация В- и Т-лимфоцитов, стимуляция синтеза антител и др. [13]. Применение в комплексном лечении больных АБА Полиоксидония наряду с базисной терапией, содержащей ИГКС, также сопровождалось снижением частоты и тяжести приступов, однако более существенное влияние препарат оказал на течение осложняющих АБА воспалительных процессов, таких как гнойно-обструктивный бронхит. К концу курса лечения у больных значительно уменьшался кашель и выделение гнойной мокроты.

Функциональные легочные пробы указали на значительный прирост всех скоростных показателей после завершения курса лечения с использованием Полиоксидония (рис. 1). Повысились абсолютные значения ОФВ1, ПОС, МОС 50, МОС 75, что достоверно свидетельствовало об улучшении состояния бронхиальной проходимости.

Как показали наши исследования, Полиоксидоний обладает многокомпонентным механизмом действия и оказывает хо-

Таблица 3. Уровень экспрессии активационных маркеров на лимфоцитах доноров и больных АБА при стимуляции ФГА в зависимости от проводимой терапии

Показатели	Доноры	Больные АБА	
		Базисная терапия	Базисная терапия + Полиоксидоний
CD69+ (%)	22,92 ± 3,51	16,05 ± 1,19	19,84 ± 2,47
CD3+69+ (%)	16,58 ± 1,98	6,58 ± 1,54	12,23 ± 1,63*
HLA-DR+ (%)	16,91 ± 1,38	9,70 ± 1,61	13,06 ± 1,84*
CD3+HLA-DR+ (%)	8,98 ± 1,50	6,94 ± 2,01	7,43 ± 2,36
Кол-во пациентов в исследовании	n = 29	n = 23	n = 25

* $p < 0,05$ между подгруппами больных АБА.

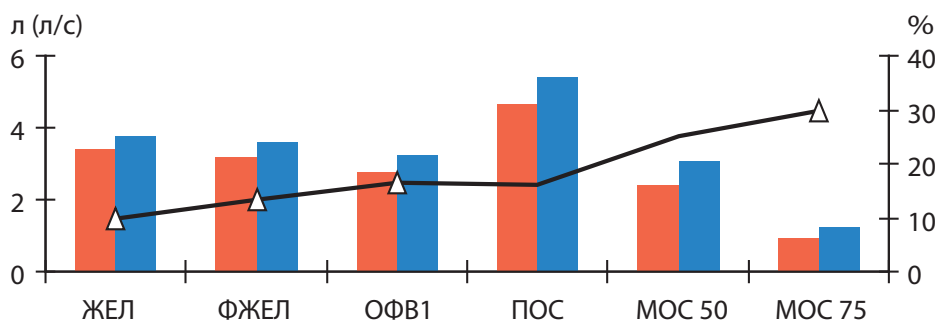
роший клинический эффект в комплексной терапии больных АБА с использованием ИГКС. Дополнительным проявлением противовоспалительного эффекта Полиоксидония явилась стимуляция гуморального иммунитета (повышение уровней IgG и IgA). Состояние клеточного иммунитета у больных, получавших ПО, мы оценивали по уровню экспрессии активационных маркеров на мононуклеарах периферической крови, стимулированных поликлональным Т-лимфоцитарным митогеном ФГА в течение 24 часов в культуре клеток (табл. 3). Включение Полиоксидония наряду с ИГКС в терапию больных АБА обеспечивает восстановление способности Т-лимфоцитов к полноценной активации в ответ на сильные стимулы. Популяция CD3+69+ Т-лимфоцитов, наиболее точно отражающая потенциальные возможности Т-клеток, увеличивалась при использовании Полиоксидония в комплексной терапии АБА.

Выводы

1. Средние дозы ИГКС при лечении больных АБА оказывают

положительный клинический эффект на течение основного заболевания без признаков системного иммунодепрессивного действия.

2. Неблагоприятное действие ИГКС может реализоваться в снижении потенциальных возможностей активации Т-лимфоцитов в ответ на Т-клеточные поликлональные стимулы. Показанием к назначению Полиоксидония является снижение активационных показателей Т-лимфоцитов больных.
3. Использование Полиоксидония в комплексной терапии больных АБА оказывало дополнительный местный противовоспалительный эффект, улучшало качественные показатели синтеза IgG и IgA и повышало потенциальные возможности Т-клеточного звена иммунитета.
4. Больным АБА, находящимся длительное время на базисной терапии с использованием ИГКС, целесообразно включать в состав терапии Полиоксидоний на основании тщательного анализа клинической картины заболевания и состояния системы иммунитета конкретного пациента.



ЖЕЛ – жизненная емкость легких
ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких
ОФВ1 – объем форсированного выдоха за 1 с
ПОС – пиковая объемная скорость
МОС 50 – максимальная объемная скорость в момент выдоха первых 50% ФЖЕЛ
МОС 75 – максимальная объемная скорость в момент выдоха первых 75% ФЖЕЛ

Рисунок 1. Динамика функции легких у больных АБА, находящихся на базисной терапии с включением Полиоксидония (красные столбцы — до лечения, синие столбцы — после лечения, треугольные маркеры — % прироста)