

ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ И ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫЕ СРЕДСТВА

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-3-13-16

ПЛЕЙОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ РИФАМПИЦИНА

В. В. Новицкий, В. А. Серебрякова, О. И. Уразова, А. И. Венгеровский¹

Представлены данные о иммуномодулирующем, противовоспалительном и нейропротективном действии антибиотика рифампицина, значении этих эффектов при химиотерапии рифампицином туберкулеза. Рифампицин повышает экспрессию ядерного рецептора pregnane X receptor, нарушает функции Toll-подобных рецепторов, препятствует активации ядерного фактора транскрипции NF- κ B и металлопротеиназ в легких, увеличивает синтез оксида азота и тормозит образование простагландина E₂. Нейропротективное действие рифампицина обусловлено торможением продукции β -амилоида и агрегации α -синуклеина в головном мозге.

Ключевые слова: рифампицин; иммуномодулирующее, противовоспалительное, нейропротективное действие; туберкулез.

Полусинтетический антибиотик рифампицин получают модификацией природного рифамицина SV — продукта жизнедеятельности почвенного гриба *Streptomyces mediterranei* [39]. В настоящее время рифампицин является основным лекарственным средством химиотерапии впервые выявленных больных туберкулезом [41]. Его бактерицидное действие обусловлено высокоаффинным связыванием с β -субъединицей бактериального изофермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы с нарушением транскрипции мРНК и трансляции белка [5, 9]. Резистентность микобактерий туберкулеза к рифампицину вызвана мутацией гена *rpoB*, кодирующего β -субъединицу фермента [10, 12, 37]. В клетках млекопитающих рифампицин ингибирует митохондриальную РНК-полимеразу и тормозит синтез РНК в митохондриях [2].

Помимо противомикробного действия, рифампицин оказывает плеiotропное иммуномодулирующее действие. В первых клинических исследованиях, проведенных в 1970-е гг., установлено, что рифампицин у больных туберкулезом легких обратимо тормозит реакции спонтанного розеткообразования и ослабляет пролиферативный ответ лимфоцитов на фитогеммагглютинин и туберкулин [16, 34]. Дальнейшие экспериментальные и клинические исследования выявили способность рифампицина нарушать фагоцитоз [25, 26, 35], антигенпрезентирующую функцию макрофагов [38] и хемотаксис нейтрофилов [29]. В мононуклеарных лейкоцитах здоровых доноров антибиотик уменьшал вызванную липополисахаридом (ЛПС) продукцию интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли α

(ФНО- α), увеличивал секрецию интерлейкинов-6 и -10 [4, 54]. У больных туберкулезом легких рифампицин увеличивал стимулированную белковым антигеном микобактерий продукцию интерлейкина-2, подавлял вызванную этим антигеном секрецию интерферона γ и интерлейкина-10, потенцировал тормозящее действие белкового антигена на выделение мононуклеарными клетками интерлейкина-12 и трансформирующего фактора роста β [4].

Механизм иммуномодулирующего эффекта рифампицина является предметом дискуссии. По одной из версий, рифампицин усиливает тормозящее влияние глюкокортикоидных гормонов на иммунитет. Селективный антагонист рецептора глюкокортикоидов RU480 ослабляет тормозящее влияние рифампицина на апоптоз Т-лимфоцитов линии Jurkat. Авторы считают, что рифампицин уменьшает апоптоз в результате активации глюкокортикоидного рецептора [8, 15, 46]. В работах других ученых данное предположение опровергается. Так, в клетках линии A549 карциномы легких человека рифампицин не активировал рецептор глюкокортикоидов [18], синтетический стероид дексаметазон уменьшал секрецию ФНО- α в малых концентрациях, а рифампицин нарушал секрецию только в высоких концентрациях [26]. Возможные механизмы иммуносупрессивного действия рифампицина — активация ядерного рецептора pregnane X receptor (PXR), известного также как steroid and xenobiotic receptor (SXR), а также сенсibilизация этого рецептора к действию глюкокортикоидов [18, 53].

В формировании иммунного ответа значительную роль играет суперсемейство трансмембранных Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptor, TLR), распознающих консервативные структуры микроорга-

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Россия, 634050, ул. Московский тракт, 2.

низмов. В иммунном ответе на заражение микобактериями туберкулеза участвуют Toll-подобные рецепторы TLR2, TLR4 и TLR9 [28, 52]. Рецепторы TLR2 связывают гликолипиды клеточной стенки микобактерий (липоманнан, липоарабиноманнан), липопротеин 19-kDa, белок 38-kDa. Лигандами рецепторов TLR4 служат ЛПС и белок теплового шока 60/65 микобактерий [23, 28]. Рецепторы TLR4 функционируют в комплексе с корецепторами — молекулой CD14 и белком миелоидной дифференцировки 2 (MD-2), распознающими бактериальные ЛПС [33, 45]. Взаимодействие рецептора TLR4 в комплексе с белком MD-2 с лигандами инициирует внутриклеточный сигнальный каскад: активацию ядерного фактора транскрипции NF- κ B, продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α , интерферона γ , интерлейкинов-1 β , -12) и хемокинов [32, 33].

Одной из молекулярных мишеней рифампицина является корецептор TLR4 — белок MD-2. После связывания с белком MD-2 рифампицин подавляет вызванную ЛПС передачу сигналов с рецепторов TLR4, что тормозит продукцию фактора NF- κ B [45]. Кроме того, рифампицин препятствует стимулированной ЛПС экспрессии генов рецепторов TLR2, TLR4 и CD14 в полиморфно-ядерных лейкоцитах [29].

Полифункциональный транскрипционный фактор NF- κ B регулирует реакции воспаления, врожденный и приобретенный иммунитет. Его активная форма представляет собой гетеродимер из субъединиц p65, p50 или p52. Димеры фактора NF- κ B в покоящихся клетках блокированы белком I κ B (inhibitors of κ B). ФНО- α , интерлейкин-1 β и ЛПС бактерий вызывают фосфорилирование белка I κ B с его последующим протеолизом. Свободный фактор NF- κ B перемещается в ядро и регулирует экспрессию генов, кодирующих продукцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α , интерлейкинов-1, -6, -8, -12), хемокинов, белковых ингибиторов и активаторов апоптоза (с-IAP1, с-IAP2, FasL, Bcl-2, TRAF-1, TRAF-2), экспрессию костимулирующих молекул (CD80, CD86, CD40) и молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1, E-селектина) [17, 19, 53]. Рифампицин в опухолевых клетках линии Jurkat тормозил активацию фактора NF- κ B, вызванную ФНО- α и форболмиристатацетатом [31], в клетках линии RAW 264.7 уменьшал стимулированную ЛПС экспрессию мРНК TLR2 за счет подавления активности NF- κ B [22]. Торможение под влиянием рифампицина функций фактора NF- κ B *in vitro* и *in vivo* обусловлено активацией рецептора PXR [53]. Фактор NF- κ B и рецептор PXR находятся в состоянии отрицательной взаиморегуляции: при активации фактора NF- κ B экспрессия рецептора PXR уменьшается, повышение экспрессии рецептора PXR сопровождается снижением активности NF- κ B [53]. Кроме того, рифампицин тормозит фосфорилирование и протеолиз белка I κ B, что затрудняет перемещение фактора NF- κ B в ядро клеток [31].

Рифампицин неоднозначно влияет на апоптоз иммунокомпетентных клеток. Он не изменял апоптоз макрофагов, вызванный туберкулином у мышей [13], но препятствовал апоптозу Т-лимфоцитов CD4⁺ и CD8⁺ крови, опухолевых Т-лимфоцитов линии Jurkat и клеток линии A549 [38, 46]. В этих клетках рифампицин снижал активность каспаз-3, -8, экспрессию CD95L и проапоптотического белка Bax, но повышал экспрессию антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-XL, FLIPL [15, 46]. Функциональный антагонизм с факторами апоптоза частично обусловлен активацией рецептора PXR и подавлением NF- κ B сигнального пути. В клетках линии A549, рифампицин тормозил свободно-радикальное окисление и продукцию ФНО- α и интерлейкина-6, инициирующих каспазный каскад и апоптотическую гибель клеток [46].

В клетках эпителиального происхождения (SPEV), клетках линии THP-1 и культуре лимфоцитов рифампицин усиливал апоптоз. В культуре лимфоцитов здоровых доноров и больных туберкулезом легких он увеличивал число CD95⁺-лимфоцитов и annexin V⁺-лимфоцитов, находящихся в состоянии апоптоза [3]. В культуре моноцитов человека линии THP-1 рифампицин вызывал апоптоз во всех фазах клеточного цикла, включая митоз; в дозах 10 и 25 мкг/мл увеличивал число клеток в состоянии апоптоза, в токсической дозе 50 мкг/мл повышал количество некротизированных клеток. Под влиянием рифампицина уменьшалась продукция свободных радикалов кислорода, что свидетельствует о рецепторном механизме апоптоза [1]. В клетках эпителиального происхождения (SPEV) рифампицин уменьшал число митохондрий, вызывал деформацию их крист с выходом в цитоплазму цитохрома С. Рифампицин блокировал пролиферацию эпителиальных клеток на стадии G₁/S и вызывал их трансформацию в фибробласты. Такой эпителиально-мезенхимальный переход может приводить к развитию фиброза легких у больных туберкулезом [2].

Иммуносупрессивное действие рифампицина в отношении клеточно-опосредованных реакций иммунитета компенсируется рядом иммуностимулирующих эффектов: торможением продукции матричных металлопротеиназ (ММП) [36], ростом экспрессии сигнальной молекулы CD1b с усилением антигенпрезентирующей функции моноцитов периферической крови [40], нарушением метаболизма арахидоновой кислоты [6, 48] и стимуляцией продукции оксида азота [49, 50].

Туберкулез характеризуется обширной деструкцией и ремоделированием внеклеточного матрикса легких при участии стромальных матриксных металлопротеиназ (ММП). Они представляют собой кальцийзависимые, цинксодержащие эндопептидазы и функционируют при нейтральном значении pH [36, 44]. В жидкости бронхоальвеолярного лаважа больных туберкулезом легких повышена концентрация ММП-1, -2, -3, -7, -8, -9. Между активностью ММП-3, -7, -8 и степенью повреждения паренхимы легких установлена положи-

тельная корреляция. Рифампицин подавляет экспрессию генов ММП и уменьшает их секрецию эпителиальными клетками бронхов [36].

Ключевое значение в развитии иммунного ответа при туберкулезе имеет презентация Т-лимфоцитами CD⁴⁺ и CD⁸⁺ микобактериальных антигенов (миколовых кислот, липоарабиноманнана) в соединении с молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса и молекулой CD1b.

Рифампицин повышает опосредованную гранулоцитарно-моноцитарным колониестимулирующим фактором и интерлейкином-4 экспрессию молекулы CD1b на мембране моноцитов, что обеспечивает более активную презентацию микобактериальных антигенов и развитие Т-клеточных реакций [40].

При туберкулезе важным фактором иммунной защиты служит оксид азота [47]. Как меж- и внутриклеточный агент он регулирует экспрессию молекулы межклеточной адгезии 1 типа (ICAM-1), синтез хемокинов (IP-10, CXCL-1, RANTES, MCP-1) и цитокинов (ФНО- α , интерлейкинов-1 β , -8, интерферона γ) и в результате этих эффектов усиливает бактерицидное действие макрофагов на микобактерии [7, 21]. Рифампицин в эпителиальных клетках легких линии A549 и клетках печени HepG2 потенцировал стимулированную цитокинами экспрессию мРНК индуцируемой формы синтазы оксида азота и продукцию оксида азота [49, 50].

Противомикробное действие рифампицина частично обусловлено торможением продукции простагландина E₂ [48]. Рифампицин в культуре клеток микроглии линии BV2 уменьшал активность циклооксигеназы-2 и синтез простагландина E₂ [6]. При экспериментальном туберкулезе у мышей высокая концентрация простагландина E₂ регистрировалась на поздней стадии повреждения легких. Это сопровождалось подавлением клеточного иммунитета и прогрессированием патологии. Простагландин E₂ нарушал фагоцитарную активность макрофагов и эффекторные функции Т-лимфоцитов, так как подавлял продукцию ФНО- α , интерферона γ , оксида азота, повышал секрецию интерлейкина-10 [48]. В альвеолярных клетках линии A549 рифампицин значительно тормозил вызванное интерлейкином-1 β освобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов вследствие уменьшения активности фосфолипазы A₂. Ингибирование фермента обусловлено нарушением мобилизации ионов кальция из внутриклеточных депо [48]. При заражении микобактериями туберкулеза мышей линии BALB/c с низкой активностью циклооксигеназы-2 бактериемия выражена намного слабее, чем у аутобредных животных. У мышей этой линии возрастают продукция интерлейкина-12, интерферона γ , экспрессия мРНК индуцируемой синтазы оксида азота [27].

Рифампицин оказывает нейропротективное действие. При экспериментальном паркинсонизме, вызван-

ном у мышей 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином, он защищал от деструкции нейроны черной субстанции среднего мозга и стриатума [30, 43]. На модели множественной системной атрофии у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий α -синуклеин, рифампицин уменьшал образование и агрегацию этого белка, в результате чего препятствовал гибели нейронов [42]. Как известно, ЛПС микобактерий туберкулеза усиливают синтез α -синуклеина в макрофагах и лимфоцитах, а антитела против складчатой формы этого белка вызывают дофаминергическую нейродегенерацию в черной субстанции среднего мозга.

На моделях нейродегенеративных заболеваний и в экспериментах *in vitro* рифампицин подавлял образование фибриллярной формы β -амилоида, формирующего околососудистые сенильные бляшки [30, 43, 51]. В модели аутоиммунного энцефаломиелита у мышей рифампицин уменьшал вызванную агрегатами β -амилоида воспалительную инфильтрацию и демиелинизацию в спинном мозге [24]. При туберкулезе легких у пожилых пациентов с болезнью Альцгеймера рифампицин в дозе 450 мг/день при приеме в течение не менее 12 мес замедлял прогрессирование деменции [20]. Нейропротективные эффекты рифампицина обусловлены антиоксидантным действием, торможением продукции ФНО- α , интерлейкинов-1 β , -6, -17A, простагландина E₂ [24]. Представленные данные позволяют рассматривать рифампицин в качестве потенциального лекарственного средства для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Рифампицин уменьшал образование новых сосудов в сетчатке глаза при ее экспериментальном повреждении кислородом, тормозил в культуре пролиферацию эндотелиальных клеток пупочной вены человека. Это свидетельствует о способности рифампицина препятствовать излишней васкуляризации [11]. При инъекции рифампицина в большой дозе (от 100 до 250 мкг) в стекловидное тело кроликов линейно уменьшалось количество ганглиозных клеток сетчатки. Рифампицин улучшал структуру и функции сетчатки при введении в дозах ниже 50 мкг [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о том, что рифампицин в дополнение к бактерицидному действию обладает иммуномодулирующим, нейропротективным и антиангиогенным влиянием. Эти эффекты необходимо учитывать при назначении антибиотика больным туберкулезом. Детального изучения требуют нейропротективное действие рифампицина, установленное при моделировании нейродегенеративных заболеваний, и его способность тормозить формирование новых сосудов в сетчатке при экспериментальной ретинопатии.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. В. Ерохина, Е. А. Александрова, А. В. Прокопенко и др., *Туберкулез и болезни легких*, **86**(11), 49 – 55 (2009).
2. М. В. Ерохина, А. В. Курьина, Г. Е. Онищенко, *Биохимия*, **78**(10), 1473 – 1482 (2013).
3. О. А. Васильева, В. А. Серебрякова, О. И. Уразова и др., *Антибиотики и химиотер.*, **55**(11 – 12), 25 – 29 (2010).
4. В. А. Серебрякова, О. А. Васильева, О. И. Уразова и др., *Туберкулез и болезни легких*, **86**(7), 58 – 65 (2009).
5. P. Alifano, C. Palumbo, D. Pasanisi, A. Talc, *J. Biotechnol.*, **202**(1), 60 – 77 (2015).
6. W. Bi, L. Zhu, C. Wang, et al., *Brain Res.*, **1395**(1), 12 – 20 (2011).
7. J. Braverman, S. A. Stanley, *J. Immunol.*, **199**(5), 1805 – 1816 (2017).
8. Ö. Cakici, S. Aksak, D. Unal, et al., *Int. J. Ophthalmol.*, **6**(5), 596 – 599 (2013).
9. S. Chakraborty, K. Y. Rhee, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, **5**(8), a021147 (2015).
10. J. Chen, P. Peng, Y. Du, et al., *BMC Infect. Dis.*, **17**(1), 300 (2017).
11. Y. Chikaraishi, N. Matsunaga, M. Shimazawa, H. Hara, *Experim. Eye Res.*, **86**(1), 131 – 137 (2008).
12. J. Y. Feng, L. G. Jarlsberg, K. Salcedo, et al., *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **21**(7), 766 – 773 (2017).
13. D. Gil, L. F. Garcia, M. Rojas, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **190**(2), 111 – 119 (2003).
14. B. P. Goldstein, *J. Antibiot. (Tokyo)*, **67**(9), 625 – 630 (2014).
15. S. Gollapudi, S. Jaidka, S. Gupta, *J. Clin. Immunol.*, **23**(1), 11 – 22 (2003).
16. S. Gupta, M. H. Grieco, I. Siegel, *Ann. Intern. Med.*, **82**(4), 484 – 488 (1975).
17. M. S. Hayden, S. Ghosh, *Genes Dev.*, **26**(3), 203 – 234 (2012).
18. A. S. Herr, G. M. Wochnik, M. C. Rosenhagen, et al., *Mol. Pharmacol.*, **57**(4), 732 – 737 (2000).
19. B. Hoesel, J. A. Schmid, *Mol. Cancer*, **12**(1), 86 – 91 (2013).
20. T. Iizuka, K. Morimoto, Y. Sasaki, et al., *Dement. Geriatr. Cogn. Dis. Extra*, **7**(2), 204 – 214 (2017).
21. H. Jamaati, E. Mortaz, Z. Pajouhi, et al., *Front Microbiol.*, **8**(10), 200 – 208 (2017).
22. S. K. Kim, Y. M. Kim, C. E. Yeum, et al., *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, **13**(6), 475 – 482 (2009).
23. L. Liu, J. Liu, G. Niu, et al., *Mol. Med. Rep.*, **11**(4), 2921 – 2926 (2015).
24. K. Ma, X. Chen, J. C. Chen, et al., *J. Neurochem*, **139**(6), 1151 – 1162 (2016).
25. S. Minić, M. Bojić, J. Vukadinov, et al., *Med. Pregl.*, **62**(7 – 8), 327 – 330 (2009).
26. G. Mlambo, L. B. Sigola, *Int. Immunopharmacol.*, **3**(4), 513 – 522 (2003).
27. R. J. Moreno, E. I. García, H. M. García, et al., *Immunology*, **106**(2), 257 – 266 (2002).
28. E. Mortaz, I. M. Adcock, P. Tabarsi, et al., *J. Clin. Immunol.*, **35**(1), 1 – 10 (2015).
29. X. Mu, T. Ubagai, T. Kikuchi-Ueda, et al., *Chemotherapy*, **59**(6), 395 – 401 (2014).
30. Y. Oida, K. Kitaichi, H. Nakayama, et al., *Brain Res.*, **1082**(1), 196 – 204 (2006).
31. A. A. Pahlevan, D. J. Wright, L. Bradley, et al., *J. Antimicrob. Chemother.*, **49**(3), 531 – 534 (2002).
32. B. S. Park, J. O. Lee, *Exp. Mol. Med.*, **45**, e66 (2013).
33. F. Peri, V. Calabrese, *J. Med. Chem.*, **57**(9), 3612 – 3622 (2014).
34. F. L. Ruben, A. Winkelstein, I. G. Fotiadis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **5**(4), 383 – 387 (1974).
35. K. Sano, H. Tomioka, K. Sato, et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **48**(6), 2132 – 2139 (2004).
36. S. Singh, A. Kubler, U. K. Singh, et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **58**(8), 4657 – 4665 (2014).
37. A. Singh, S. Grover, S. Sinha, et al., *J. Cell Biochem.*, **118**(12), 4594 – 4606 (2017).
38. Y. Smani, J. Dominguez-Herrera, J. Pachon, *J. Infect. Dis.*, **203**(8), 1110 – 1119 (2011).
39. B. Sorenson, P. Whaley, *Int. J. Pharm. Compd.*, **17**(2), 162 – 164 (2013).
40. L. Tentori, G. Graziani, S. A. Porcelli, et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **42**(3), 550 – 554 (1998).
41. S. Tiberi, R. Buchanan, J. A. Caminero, et al., *Presse Med.*, **46**(2), e41 – e51 (2017).
42. K. Ubhi, E. Rockenstein, M. Mante, et al., *Neuroreport*, **19**(13), 1271 – 1276 (2008).
43. T. Umeda, K. Ono, A. Sakai, et al., *Brain*, **139**(5), 1568 – 1586 (2016).
44. R. P. Verma, C. Hansch, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**(6), 2223 – 2268 (2007).
45. X. Wang, P. M. Grace, M. N. Pham, et al., *FASEB J.*, **27**(7), 2713 – 2722 (2013).
46. R. Yerramasetti, S. Gollapudi, S. Gupta, *J. Clin. Immunol.*, **22**(1), 37 – 47 (2002).
47. J. Y. Yhi, D. W. Park, J. H. Min, et al., *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **20**(9), 1174 – 1180 (2016).
48. Y. Yuhas, I. Azoulay-Alfaguter, E. Berent, S. Ashkenazi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **51**(12), 4225 – 4230 (2007).
49. Y. Yuhas, E. Berent, S. Ashkenazi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **55**(12), 5541 – 5546 (2011).
50. Y. Yuhas, E. Berent, R. Cohen, S. Ashkenazi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**(4), 1539 – 1545 (2009).
51. B. Yulug, L. Hanoglu, E. Kilic, W. R. Schabitz, *Brain. Res. Bul.*, **107**(1), 37 – 42 (2014).
52. Y. Zhang, T. Jiang, X. Yang, et al., *PLoS One*, **8**(5), e633 – 657 (2013).
53. C. Zhou, M. M. Tabb, E. L. Nelson, et al., *J. Clin. Invest.*, **116**(8), 2280 – 2289 (2006).
54. H. M. Ziglam, I. Daniels, R. G. Finch, *J. Chemother.*, **16**(4), 357 – 361 (2004).

Поступила 20.11.18

PLEIOTROPIC EFFECTS OF RIFAMPICIN

V. V. Novitskii, V. A. Serebryakova, O. I. Urazova, and A. I. Vengerovskii

Siberian State Medical University, ul. Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

The literature review summarizes data on the immunomodulatory, anti-inflammatory and neuroprotective action of the antibiotic drug rifampicin, and assesses the significance of these effects in tuberculosis chemotherapy with rifampicin. Rifampicin increases the expression of nuclear pregnane X receptor, disturbs the function of Toll-like receptors, prevents the activation of nucleic transcription factor NF- κ B and metalloproteinases in the lungs, enhances the nitric oxide synthesis, and decreases the prostaglandin E₂ production. The neuroprotective action of rifampicin is due to the inhibition of β -amyloid production and α -synuclein aggregation in the brain.

Keywords: rifampicin; immunomodulatory activity, anti-inflammatory activity, neuroprotective action; tuberculosis.