

**Е.И.Гусев, Т.Л.Демина, А.Н.Бойко, А.В.Буглак, И.А.Беляева, Н.Ф.Смирнова,  
Т.Г.Алексеева, М.В.Пашенков, Б.Скуркович, Д.Келли, С.Скуркович**

## АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ ВТОРИЧНО-ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

*Российский государственный медицинский университет, г. Москва,  
ABC Labs, Роквилл, США*

**Р е ф е р а т.** Для лечения активных форм вторично-прогрессирующего рассеянного склероза проведено предварительное клиническое испытание двух направлений антицитокиновой терапии: курса антител к цитокинам ( $\gamma$ ИНТ,  $\alpha$ ИНТ и ФНО $\alpha$ ) и курса циклоспорина А (препарат сандиммун). Данные предварительного исследования антител к цитокинам свидетельствуют о возможности проведения дальнейших клинических испытаний антител к  $\gamma$ ИНТ и в меньшей степени к ФНО $\alpha$  при активных формах прогрессирующего РС. Получены результаты, свидетельствующие о возможности использования сандиммуна при неуклонно прогрессирующих формах вторично-прогрессирующего течения заболевания, когда благоприятный клинический эффект совпадал с подавлением продукции цитокина ИЛ-2 и снижением активности иммунцитов.

*Е.И.Гусев, Т.Л.Демина, А.Н.Бойко, А.В.Буглак, И.А.Беляева,  
Н.Ф.Смирнова, Т.Г.Алексеева һәм башкалар*

### ИКЕНЧЕЛ КӨЧЭЮЧЭН ЧЭЧЕЛГЭН СКЛЕРОЗГА АНТИЦИКОН ДЭВА

Икенчел көчәүчән склерозның актив формаларын дәваллау өчен антицикон дәванлы башлангыч клиник сынаулар антигәнчекләргә цитокиннарға сынау ( $\gamma$ ИНТ,  $\alpha$ ИНТ һәм ФНО $\alpha$ ) һәм циклоспорин А (сандиммун препараты) курсы юнәлешендә үткәрелә. Антигәнчекләргә цитокиннарға сынауның башлангыч тикшерү мәгълүматлары антигәнчекләргә  $\gamma$ ИНТга клиник сынаулар үткәрү мөмкинлеге булуы һәм көчәүчән РСның актив формалары вакытында ФНО $\alpha$  кимрәк булуы турында сөйләләр. Уңайлы клиник йогынты барышында цитокин ИЛ-2 продукциясен бастыруга һәм иммунцитларның активлыгын кимегә тәңгәл булганда чирнең икенчел көчәүчән агышында сандиммунны куллану мөмкинлеге турында нәтижәләр алынды.

*E.I.Gusev, T.L.Demina, A.N.Boiko, A.V.Buglak,  
I.A.Beljaeva, N.F.Smirnova, T.G.Aleksejeva, et al.*

### ANTICYTOKINE THERAPY OF SECONDARILY-PROGRESSING MULTIPLE SCLEROSIS (MS)

For treating active forms of secondarily-progressing multiple sclerosis a preliminary clinical trial was performed by two courses: antibody-to-cytokine course ( $\gamma$ INT,  $\alpha$ INT and TNF $\alpha$ ) and cyclosporin A-course (sandimmun). Data of preliminary test of antibodies to cytokines evidence to possibility of performing further clinical trials "antibodies to  $\gamma$ INT and to TNF $\alpha$  (to a lesser degree)" during active forms of progressive MS. Were obtained the results, evidencing to a possible use of sandimmun in constantly progressive forms of secondarily progressing disease, when favourable clinical effect coincided with suppression of cytokine IL-2 production and lowering of activeness of immunocytes.

**Л**ечение рассеянного склероза (РС) является одной из наиболее актуальных проблем современной неврологии. Этиология заболевания пока неясна, что делает невозможным этиотропное лечение. Не вызывает сомне-

ния, что при этом заболевании большое значение имеют нарушения в иммунной системе. Наиболее вероятные теории патогенеза РС основаны на том, что нарушения в иммунорегуляции возникают как следствие неизвестного пока внешнего воздействия, возможно, инфекции, на предрасположенных лиц и приводят к развитию воспалительной и аутоиммунной реакции на антигены миелина [11, 18]. В результате этого происходят повышение уровня экспрессии молекул адгезии и антиген-представления на эндотелии сосудов мозга и микроглии, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера и привлечение в ткань мозга активированных клеток [9, 10]. В свою очередь, эти клетки стимулируют проникновение большого количества лимфоцитов, сенсibilизированных к разным антигенам мозга, что приводит к срыву толерантности и развитию аутоиммунных реакций.

Ключевое значение в процессе активации клеток крови и повреждении миелина имеют воспалительные цитокины интерлейкин-2 (ИЛ-2),  $\gamma$ -интерферон ( $\gamma$ ИНТ) и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ) [2, 9, 10, 18]. Поэтому современные подходы к патогенетической терапии РС основаны на селективной иммуносупрессии через подавление активности этих цитокинов. Наиболее разработан этот подход при ремиттирующем течении заболевания. Основным методом лечения обострений РС остаются пульс-дозы кортикостероидов, которые оказывают противовоспалительный эффект и подавляют продукцию ИЛ-2 [3]. Одним из наиболее перспективных препаратов для предупреждения обострений РС является  $\beta$ -интерферон — антагонист  $\gamma$ ИНТ и ФНО $\alpha$  [6, 7]. В то же время при вторично-прогрессирующем РС патогенетическое лечение пока основано на тотальной иммуносупрессии, имеющей большое количество побочных эффектов [16].

Мы провели предварительные испытания двух методов селективной антицитокиновой терапии вторично-прогрессирующего РС с использованием антител к цитокинам  $\gamma$ ИНТ и ФНО $\alpha$ , а также циклоспорина А, влияющего на синтез ИЛ-2 и в меньшей степени —  $\gamma$ ИНТ.

Использование специфичных антител, нейтрализующих действие цитокинов, является одним из возможных путей антицитокиновой терапии. Исследования в экспериментальных моделях показали, что антитела к ФНО $\alpha$  могут подавлять развитие демиелинизации [14, 15].

В лаборатории Advanced Biotherapy Concepts (ABC, Роксвил, США) были получены гетерогенные овечьи и козы антигены к различным цитокинам. Предварительные клинические испытания этих антигенов при различных заболеваниях человека с аутоиммунными механизмами развития и при СПИДе показали положительный клинический эффект при хорошей переносимости препаратов. Это явилось основанием для проведения первоначальных испытаний этих антигенов при РС.

Предварительные клинико-иммунологические исследования проведены у 22 больных (11 женщин и 11 мужчин) с достоверным РС по критериям Позера [13]. Обследовали только больных с активным течением РС. Критерием активности служило углубление неврологического дефицита согласно шкале Disability Status Scale — DSS [17] на один балл в течение последних 2 месяцев. Неврологический статус (по шкалам Functional System — FS и DSS [17]) оценивали до лечения, через 7 дней, один месяц и три месяца после курса лечения антигенами.

Общепризнанное обследование включало клинические и биохимические анализы крови и мочи. Было выполнено иммунологическое исследование, у части больных — МРТ в динамике. У большинства больных (91%) имело место вторично прогрессирующее течение РС. Все больные были ознакомлены с протоколом предварительных испытаний и письменно подтвердили свое согласие добровольно участвовать в исследовании. Перед началом лечения каждому больному ставили кожные пробы с соответствующими антигенами по общепринятому методу. Оценивали местные и общие аллергические реакции. Перед началом клинических испытаний образцы препаратов были протестированы на концентрацию соответствующих антигенов в образцах указанных выше препаратов. Антигены вводили в дозе по 2 мл подкожно один раз в день в течение 5 дней.

После негативной кожной пробы 6 больным был начат курс антигенов к ФНО $\alpha$ . У одной больной возникла выраженная местная аллергическая реакция, и введение препарата было прекращено после второй инъекции. 5 больным курс этих антигенов был проведен полностью. Незначительная местная аллергическая реакция на фоне введения препарата была отмечена у одного пациента, в этом случае препарат не отменяли. На фоне лечения и после курса антигенов к ФНО $\alpha$  достоверных изменений средних показателей клинического статуса не выявлено (табл. 1). В то же время прослеживалась тенденция к стабилизации состояния больных и даже к некоторому снижению средних показателей. Через 3 месяца после курса у всех 5 больных показатель по шкале DSS увеличен не был, что можно предварительно расценить как положительный клинический эффект в виде замедления

Т а б л и ц а 1

Динамика клинических показателей у 5 больных РС, получивших курс антигенов к ФНО $\alpha$  (А) и у 6 больных, получивших курс антигенов к  $\gamma$ ИНТ (М $\pm$ m)

Показатели	До курса	Через неделю	Через месяц	Через 3 месяца
Антигены к ФНО $\alpha$				
Сумма по FS	16,8 $\pm$ 3,76	15,8 $\pm$ 3,77	14,8 $\pm$ 4,15	15,25 $\pm$ 2,42
DSS	5,80 $\pm$ 1,09	5,60 $\pm$ 1,26	5,60 $\pm$ 1,26	5,75 $\pm$ 0,87
CD16+ -клетки	8,0 $\pm$ 2,18	11,2 $\pm$ 1,92	10,8 $\pm$ 2,46	14,33 $\pm$ 2,9
Антигены к $\gamma$ ИНТ				
Сумма по FS	13,0 $\pm$ 1,63	11,57 $\pm$ 1,9	10,43 $\pm$ 2,0	8,0 $\pm$ 3,1
DSS	4,29 $\pm$ 0,99	4,14 $\pm$ 1,08	4,0 $\pm$ 1,05	3,2 $\pm$ 1,14

прогрессирования заболевания. Комплексное клиническое и биохимическое обследование не выявило отрицательных побочных изменений. Математически достоверных изменений в иммунологических показателях до курса и после него не было, что может быть частично обусловлено небольшим числом наблюдений. В то же время привлекало внимание отчетливая тенденция к увеличению содержания одной из субпопуляций иммунных клеток крови — CD16+ -клеток (табл. 1). Большинство этих клеток функционально являются естественными киллерами. С учетом небольшого количества наблюдений достоверность этих изменений требует уточнения.

После отрицательной кожной пробы полный курс антигенов к  $\gamma$ ИНТ получили 6 больных. Ни в одном случае аллергических реакций не возникало. При использовании этих антигенов уменьшение индекса по шкале DSS на один и более баллов отмечено у 3 больных, что привело к некоторому уменьшению среднего показателя (табл. 1). Математически достоверных изменений средних показателей суммы баллов FS и индекса DSS в этой группе, как и изменений иммунологических показателей также не было. Тем не менее во всех случаях за 3 месяца наблюдения дальнейшего прогрессирования не определялось, что можно расценить как положительный клинический эффект.

После отрицательных кожных проб сочетание антигенов к ФНО $\alpha$  и  $\gamma$ ИНТ получили 5 больных РС. При этом у 2 больных из-за выраженных местных реакций курс антигенов был прекращен. У одного пациента через месяц неврологический дефицит существенно снизился по шкалам FS и DSS, у остальных больных клинический эффект отсутствовал или был незначительным. В одном случае тяжесть заболевания продолжала нарастать, то есть сохранялось вторичное прогрессирование. Поскольку в группах оказалось разное число больных в зависимости от сроков наблюдения, математическое сравнение средних показателей клинического и иммунного статусов произвести было невозможно.

Таким образом, комбинированное введение препаратов нецелесообразно из-за уве-



личения риска аллергических реакций и незначительного клинического эффекта.

5 больным была сделана попытка провести курс антител к  $\alpha$ ИИТ, но из-за выраженных местных и системных побочных реакций, которые у 2 больных привели к отчетливому ухудшению клинического состояния, испытания этих антител были прекращены.

Результаты данного предварительного ограниченного испытания антител к цитокинам при активной форме РС показали возможность и целесообразность проведения дальнейших рандомизированных испытаний антител к цитокинам  $\gamma$ ИИТ и ФНО $\alpha$ . У всех больных при небольших сроках наблюдения (до 3 месяцев) активность заболевания снизилась, а в ряде случаев уменьшилась и степень неврологического дефицита. Использованная доза не вызвала выраженных побочных изменений за исключением местных реакций у отдельных больных.

Длительную историю имеют испытания циклоспорина А при РС. Этот препарат получил название иммунологического скальпеля, так как он избирательно подавляет Т-хелперы, продуцирующие основные воспалительные цитокины ИЛ-2 и  $\gamma$ ИИТ, снижает уровень экспрессии рецептора к ИЛ-2 и молекул антиген-представления [8]. Клинические испытания показали в целом благоприятное влияние этого препарата на течение РС [12]. Основные осложнения при использовании циклоспорина А связаны с его потенциальной нефротоксичностью. Для выявления этого побочного влияния обязательным является еженедельный контроль уровня мочевины и креатинина в сыворотке. У многих больных курсы циклоспорина А не приводили к изменениям в темпе нарастания вторичного прогрессирования РС. Неясными оставались клинко-иммунологические показания и противопоказания к его применению.

Длительные динамические клинко-иммунологические исследования, проведенные на нашей кафедре, позволили выявить стадию изменений в иммунорегуляции у больных РС [1, 4, 5]. Этот подход явился основой для разработки метода индивидуального подбора иммуномодулирующей терапии при РС в зависимости от стадии активности патологического процесса и с учетом особенностей иммунорегуляции. Используя этот подход, мы выбрали 20 больных с достоверным РС [13] (16 женщин и 4 мужчин) и злокачественным течением заболевания. У большинства этих больных (80%) было вторично-прогрессирующее течение РС. Во всех случаях курсы кортикостероидов не могли остановить прогрессирования заболевания. Иммунологическим критерием явилось резкое повышение показателей продукции и рецепции ИЛ-2, спонтанной активности клеток в тестах *in vitro*, характерное для подострой стадии активности иммунопатологического процесса [5]. Эти больные получали препарат сандиммун (циклоспорин А

в форме *per os* производства фирмы "Sandoz") по схеме 3 мг на кг массы тела в течение двух недель, затем по 5 мг на кг массы тела до трех месяцев. Ни в одном случае не возникло существенных нефротоксических побочных эффектов. Наиболее часто отмечались гипертрихоз и повышение массы тела.

Т а б л и ц а 2

Изменение клинических и иммунологических показателей до курса лечения сандиммуном и после него (циклоспорином А) у 20 больных с неуклонно прогрессирующим вторично-прогрессирующим течением РС (М $\pm$ м)

Показатели	До лечения	Через месяц	Через 3 месяца
Сумма по FS	13,3 $\pm$ 2,7	11,4 $\pm$ 2,6	8,7 $\pm$ 2,8
DSS	4,12 $\pm$ 0,63	3,58 $\pm$ 0,82	2,64 $\pm$ 0,76
CD4+ -клетки в крови, %	47,3 $\pm$ 3,7	36,4 $\pm$ 2,8*	38,5 $\pm$ 2,1
РБТЛ на ФГА, имп/мин	99820 $\pm$ 16135	54432 $\pm$ 12996*	57729 $\pm$ 10816
Показатель продукции ИЛ-2	2,59 $\pm$ 0,31	1,62 $\pm$ 0,17*	1,80 $\pm$ 0,15*

П р и м е ч а н и е. \* Различия достоверны по сравнению с показателями до лечения (P<0,05).

Комплексное клинко-иммунологическое обследование, включавшее оценку неврологического статуса по шкалам FS и DSS [17], и иммунологические исследования, проводили до лечения, через месяц и через 3 месяца после лечения. Во всех случаях после курса сандиммуна наблюдалась стабилизация заболевания, а в ряде случаев — и некоторое улучшение состояния больных (табл. 2). Положительный клинический эффект сопровождался достоверным снижением содержания CD4+ -клеток в крови, пролиферативной активности клеток в РБТЛ на митогены и показателей продукции ИЛ-2 *in vitro*, что было наиболее заметно на фоне и через месяц после курса сандиммуна (табл. 2). У 15 (75%) больных существенно замедлились темпы прогрессирования заболевания на протяжении последующего года наблюдения, что достоверно отличалось от данных контрольной группы, получавшей курсы кортикостероидов. В ряде случаев были проведены повторные курсы препарата через 3—4 месяца.

Таким образом, при неуклонно прогрессирующих формах вторично-прогрессирующего РС возможно применение направленной антицитокиновой терапии, используя, например, сандиммун, но при тщательном контроле возможных побочных эффектов и точном определении соответствующей стадии активности иммунопатологического процесса. Данные пилотного исследования свидетельствуют о возможности проведения дальнейших клинических

ких испытаний антител к  $\gamma$ ИНТ и в меньшей степени к ФНО $\alpha$  при активных формах прогрессирующего РС.

Большой проблемой при использовании таких антител является то, что, будучи чужим для человека белком, они не только вызывают местные и системные аллергические реакции, но и индуцируют синтез вторичных антител, нейтрализующих их действие. Поэтому длительное использование таких антител невозможно, так как снижается их эффективность по связыванию цитокинов-мишеней. Иммунный ответ на чужеродные белки может неспецифически стимулировать аутоиммунный процесс в ткани мозга и стать причиной ухудшения течения заболевания. Дальнейшие исследования эффективности антител к цитокинам при вторично-прогрессирующем РС может быть связано с исследованием человеческих или химерных антител. Обсуждать наличие положительного клинического эффекта этих антител можно только на основе рандомизированных испытаний с использованием плацебо и данных длительного динамического наблюдения за активностью заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н., Татарникова М.Ю. // Журн. невропатол. и психиатр.—1992.—№ 2.—С.14—18.
2. Arason B.G.W., Reder A.T. // Clin. Neuropharmacol.—1994.—Vol.17.—P.495—547.
3. Goodkin D.E. // West J. Med.—1994.—Vol.161.—P.292—298.

4. Gusev E.I., Demina T.L., Boiko A.N., Pinegin B.V. // J. Neurol.—1994.—Vol.241.—P.500—510.
5. Gusev E.I., Demina T.L., Boiko A.N., Favorova O.O. In: Milonas I (ed). Proceedings of the 10th ECTRIMS Congress.—University Studio Press, Thessaloniki, Greece, 1995.—P.201—203.
6. IFNB Multiple Sclerosis Study Group, the University of British Columbia, MS/MRI Analysis Group. Interferon beta-1b in the treatment of MS: final outcome of the randomized controlled trial.—Neurology.—1995.—Vol.45.—P.1277—1285.
7. Jacobs L., Cookfair D.L., Rudick R.A. et al. // Ann. Neurol.—1996.—Vol.39.—P.285—294.
8. Kahan B.D. // J. Med.—1989.—Vol.321.—P.1725—1739.
9. Khoury S.J., Weiner H.L., Hafler D.A. In: Cook S (ed). Handbook of multiple sclerosis.—N.Y., 1990.—P.129—150.
10. Kirk J. // J. Neuroimmunol.—1991.—Vol.32.—P.87—94.
11. McFarlin D.E. // Ann. Allergy.—1990.—Vol.64.—P.433—444.
12. Multiple Sclerosis Study Group. Efficacy and toxicity of cyclosporine in chronic progressive multiple sclerosis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial.—Ann. Neurol.—1990.—Vol.27.—P.591—605.
13. Poser C.M., Paty D.W., Scheinberg L. et al. // Ann. Neurol.—Vol.13.—P.227—231.
14. Ruddle N.H., Beyman C.M., McGrath M.L. et al. // J. Exp. Med.—1990.—Vol.172.—P.1193—1200.
15. Selmaj K., Rain C.S. // Ann. Neurol.—1991.—Vol.30.—P.694—700.
16. The Canadian Cooperative Multiple Sclerosis Study Group. The Canadian cooperative trial of cyclophosphamide and plasma exchange in progressive multiple sclerosis // Lancet.—1991.—Vol.337.—P.441—446.
17. Weiner H.L., Ellison G.W. // Arch. Neurol.—1983.—Vol.40.—P.704—710.
18. Whitaker I.N. // Ann. Neurol.—1994.—Vol.36.—P.103—107.

Поступила 07.02.97.

УДК 616.832—004.2—085.28

**И.А.Завалишин, Б.Т.Хайдаров, М.Н.Захарова, Л.С.Адарчева,  
А.С.Ниязбекова, В.П.Кузнецов, Д.Л.Беляев, А.А.Бабаянц**

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛЕЙКОЦИТАРНОГО ИНТЕРФЕРОНА ПРИ РЕМИТТИРУЮЩЕМ ТЕЧЕНИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

НИИ неврологии РАМН, НИИЭМ им. Н.Ф.ГАМАЛЕИ РАМН, г. Москва

**Р е з ю м е.** Представлены результаты наблюдения 58 пациентов с ремиттирующим типом течения рассеянного склероза, которые получали человеческий лейкоцитарный интерферон (ЧЛИ) в течение 3 лет. Улучшение в течении болезни, снижение частоты обострений и неврологического дефицита, нормализация нарушений цитокинов позволяют рекомендовать ЧЛИ в лечении рассеянного склероза.

**И.А.Завалишин, Б.Т.Хайдаров, М.Н.Захарова  
һәм башкалар**

**КЕШЕ ЛЕЙКОЦИТАР ИНТЕРФЕРОНЫН ЧӨЧӨЛҮЧӨН  
СКЛЕРОЗ ВАКЫТЫНДА ЧИРНЕҢ БИЛГЕЛӘР  
ЮГАЛЫП ЯИСӘ ЙОМШАРЫП АГЫШЫНДА  
КУЛАНУ ТӘҖРИБӘСЕ**

Кеше лейкоцитар интерферонын (ЧЛИ) 3 ел буена кабул итүче, билгеләре югалган формада баручы чөчөлгән 58

склерозлы 58 авыруны тикшерү нәтиҗәләре бирелә. Чөчөлгән склерозны дөвалганда чир барышы көчәю ешлыгы һәм неврологик житешмәүчәнлек кимү, цитокиннар кимчеләре нормалашу ЧЛИны чөчөлгән склерозны дөвалганда куллангыра тәкдим итергә мөмкинлек бирә.

**I.A.Zavalishin, B.T.Khaidarov, M.N.Zakharova et al.**

## EXPERIENCE OF USE OF HUMAN LEUKOCYTE INTERFERON IN REMITTENT COURSE OF MULTIPLE SCLEROSIS

Results of follow up of 58 patients with remittent type of course of multiple sclerosis, who were treated with human leukocyte interferon for 3 years are presented. Improvement in the course of disease of incidence of aggravation and neurological deficit, normalization of cytokines allows to recommend human leukocyte interferon for treatment of multiple sclerosis.