

РАЗНОЕ

УДК 616.832-004.2:615.37:616.155.32/616-08

Л.В. Титова, М.С. Любарский, А.А. Смагин, Д.В. Хабаров, И.А. Гольдина

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИМФОЦИТАФЕРЕЗА
В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ**

ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск

Предпосылкой к развитию заболевания является несостоятельность иммунного ответа, причем ключевым фактором является реакция иммунной системы на персистенцию неизвестного инфекта в организме, возможно, вирусной природы. Определены нарушения цитокинового звена, дисбаланс клеточного иммунитета. Нами предложена схема лечения рассеянного склероза (РС) с использованием сеансов лимфоцитафереза. Процедуру проводили на сепараторе клеток крови AS-TEC 204 фирмы "Fresenius" (Германия). Предложенная схема терапии проведена у 78 пациентов с различными формами РС (ремитирующее и ремитирующе-прогрессирующее течения). Основой для анализа эффективности проводимого лечения была динамика показателей общего иммунного статуса, неврологического статуса; изменение баланса цитокинов. Для определения динамики неврологического статуса использовалась шкала оценки тяжести состояния больных по J. Kurtzke (1981 г., 1983 г.): Disability Status Scale (DSS), Expanded Disability Status Scale (EDSS) в связи со шкалой функциональных систем (Functional System, FS). Учтены дополнения и модификации, внесенные H.I. Weiner и G.W. Ellison (1983 г.) и авторами руководства M.R.D. (Minimal Record of Disability for Multiple Sclerosis, 1985 г.). Регистрация неврологического статуса осуществлялась до и после курса лечения. Максимальное положительное влияние на клеточный и гуморальный иммунитет больных рассеянным склерозом достигается при использовании комбинированной эфферентной терапии (лимфоцитаферез с иммуномодуляторами), что проявляется в наибольшем приросте числа лимфоцитов (на 28%), Т-супрессоров (на 71%); уменьшении иммунорегуляторного индекса (на 21%); снижении концентрации циркулирующих иммунных комплексов в периферической крови (на 12%). Положительные иммунологические сдвиги коррелируют с положительной неврологической динамикой. Наиболее выраженные положительные изменения в неврологическом статусе больных рассеянным склерозом достигаются при проведении комбинированной эфферентной терапии, что проявляется в уменьшении патологической неврологической симптоматики (на 27,3%), стабилизации состояния (в 31% наблюдений), улучшении состояния (в 69% наблюдений).

Ключевые слова: рассеянный склероз, иммунотерапия, лимфоцит, лечение больных

Достижения современной медицины расширили понимание многих патологических состояний, синдромов и заболеваний. Это справедливо относится и к такой тяжелой патологии, как рассеянный склероз (РС). Но, несмотря на определение центральных звеньев патогенеза РС и разработку схем воздействия на патологический процесс, данная проблема требует дальнейшего изучения и выработки более эффективных программ терапии.

Исследования многих ученых, проводимые во всем мире под эгидой ВОЗ, определяют рассеянный склероз как аутоиммунное заболевание, основным патофизиологическим процессом которого является демиелинизация [5]. Предпосылка к развитию заболевания – это несостоятельность иммунного ответа, причем ключевым фактором является реакция иммунной системы на персистенцию неизвестного инфекта в организме, возможно, вирусной природы [8]. Определены нарушения цитокинового звена, дисбаланс клеточного иммунитета [6]. То есть основным патогенетическим звеном формирования, развития и

течения патологического процесса при рассеянном склерозе является патологически измененная иммунологическая реактивность организма. На основании посылок об аутоиммунном характере поражения миелина при рассеянном склерозе, дисбалансе цитокиновой продукции основным направлением проводимого лечения является иммуномодулирующая терапия. В последние годы все чаще стали появляться сообщения о применении в программе лечебных мероприятий методов эфферентной терапии. Описаны методики плазмаферезов, ликворофльтрации, ликворосорбции, УФО цереброспинальной жидкости и крови, лазерного облучения субокципитального и люмбального субарахноидального пространства при рассеянном склерозе [2]. Однако, на наш взгляд, существенным недостатком предлагаемых методик является отсутствие целенаправленного воздействия на клетки иммунной системы, на их возможность к продукции медиаторов воспаления, в том числе цитокинов.

Отличительной чертой оригинальных методов лечения рассеянного склероза, разработанных в клинике Института клинической и экспериментальной лимфологии, является экстракорпоральная детоксикация в рамках кровеносного русла (гемосорбция, плазмаферез) в сочетании с иммунокорректирующей терапией с использованием комплекса природных цитокинов и синтетических индукторов и ингибиторов медиаторов иммунного ответа, вводимых как в кровеносное, так и лимфатическое русло [4].

Перспективным направлением представляется разработка и совершенствование комбинированных, сочетанных методов эфферентной терапии в комплексной программе лечения рассеянного склероза. На сегодняшний момент существует методика, позволяющая сочетать одновременно детоксикационный эффект плазмафереза и иммунокорректирующий эффект с высокой точностью воздействия на субстрат иммунной системы, – это аппаратный лимфоцитаферез.

Методика. Нами предложена схема лечения РС с использованием сеансов лимфоцитафереза. Процедуру проводили на сепараторе клеток крови AS-TEC 204 фирмы “Fresenius” (Германия).

Скорость перфузии составляла от 30 до 50 мл/мин; общий объем перфузируемой крови зависел от концентрации получаемых лимфоцитов и составлял от 30 до 50% объема циркулирующей крови (ОЦК). Концентрация аутолимфоцитов составляла от 200 до 500 клеток/мл. Скорость центрифуги, количество используемого антикоагулянта определялись автоматически, согласно выбранной программе сепарации. Во время проведения сеанса лимфоцитафереза больному внутривенно капельно проводилась инфузия физиологического раствора в количестве от 600 до 800 мл, что зависело от общего объема перфузируемой крови и количества эксфузируемой плазмы.

Выделенные аутолимфоциты подвергались инкубации *in vitro* с раствором иммуномодулятора глутоксима в течение 20 мин при температуре 33–35°C. После окончания времени инкубации производилась реинфузия обработанных аутолимфоцитов внутривенно капельно.

Мы подчеркиваем следующие преимущества данного способа: выделение точного количества аутолимфоцитов, клеток, занимающих одно из центральных мест в патогенезе заболевания; прицельное воздействие иммуномодулятором на аутолимфоциты в экстракорпоральных условиях; осуществимость элиминации из организма определенного количества аутолимфоцитов; возможность проводить одновременно экстракорпоральную детоксикацию – элиминацию плазмы, а с ней и части продуктов аутоиммунных реакций (в т.ч. циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК)).

Результаты. Предложенная схема терапии проведена у 78 пациентов с различными формами РС (ремитирующее и ремитирующе-прогрессирующее течения). Возраст пациентов с рассеянным склерозом составил от 17 до 64 лет, из них мужчин было 20 чело-

век, а женщин – 58. Под наблюдением находились пациенты со средней степенью тяжести заболевания (4–6 баллов по шкале EDSS) – 42 человека, с тяжелой степенью (6,5–7,5 баллов по шкале EDSS) – 26 человек. Группу сравнения составили 26 пациентов с диагнозом РС, получавших традиционную консервативную терапию (вазоактивные препараты и средства, улучшающие метаболические процессы в ЦНС, – ноотропил, кавинтон, циннаризин, пирацетам, церебролизин), витамины группы В (В₁, В₆, В₁₂), нестероидные противовоспалительные средства (аспирин, индометацин, реопирин, а также использовали стекловидное тело, гумизоль), физиолечение (электрофорез, йодобромные ванны), лечебно-физкультурный комплекс.

Основой для анализа эффективности проводимого лечения были динамика показателей общего иммунного статуса, неврологического статуса, изменение баланса цитокинов.

Для определения динамики неврологического статуса использовалась шкала оценки тяжести состояния больных по J. Kurtzke (1981 г., 1983 г.): Disability Status Scale (DSS), Expanded Disability Status Scale (EDSS) в связи со шкалой функциональных систем (Functional System, FS) [4]. Учтены дополнения и модификации, внесенные H.I. Weiner и G.W. Ellison (1983 г.) и авторами руководства M.R.D. (Minimal Record of Disability for Multiple Sclerosis, 1985 г.) [1]. Регистрация неврологического статуса осуществлялась до и после курса лечения.

Иммунологическое обследование больных проводилось при поступлении в клинику и перед выпиской. Общий иммунный статус отражал состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета и включал в себя определение общего и относительного числа лимфоцитов и их субпопуляций: Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров, Т-киллеров, В-лимфоцитов; уровня иммуноглобулинов G, M, A; циркулирующих иммунных комплексов и сводного показателя – иммунорегуляторного индекса (ИРИ).

Субпопуляции лимфоцитов определяли с помощью моноклональных антител иммунофлуоресцентным методом [3].

На основании многочисленных данных литературы о том, что процесс демиелинизации при рассеянном склерозе коррелирует с увеличением уровня экспрессии матричной РНК провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α), а экспрессия и продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) ассоциированы с процессами репарации поврежденной миелы [7], оценка уровня экспрессии указанных цитокинов может служить объективным критерием активности патологического процесса при рассеянном склерозе.

В нашей работе мы определяли экспрессию эндогенных ретровирусных последовательностей в мононуклеарных клетках периферической крови больных с рассеянным склерозом методом полимеразной цепной реакции. Кроме того, были определены показате-

ли провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α).

В ходе нашего исследования проведен анализ 74 случаев заболевания, в том числе 48 больных – с непрерывно-ремитирующей формой рассеянного склероза перед началом лечения, 26 больных – после окончания курса лечения. Всего проведено 377 анализов генетического материала.

Перед началом лечения экспрессия матричной-РНК (м-РНК) ИЛ-1 была выявлена у 25 больных (33,8%), ИЛ-6 у 27 (36,5%), ФНО- α – у 22 (29,7%). После проведенного курса лечения с использованием лимфоцитафереза и иммуномодулятора глутокси-ма на фоне положительной динамики клинической симптоматики (изменения по шкале J. Kurtzke составили 2–3 балла) экспрессия матричной РНК ИЛ-1 сохранялась у 8 больных (30,7%), ИЛ-6 у 14 (53,8%), ФНО- α – у 4 (15,3%).

Таким образом, уровень экспрессии провоспалительных цитокинов, определяемый после окончания курса лечения, позволяет судить об эффективности проведенной иммуномодулирующей терапии.

При использовании предлагаемого способа лечения отмечается положительная динамика по неврологической симптоматике у 70% пациентов, получавших сеансы лимфоцитафереза и внутривенное введение аутолимфоцитов, обработанных в экстракорпоральных условиях препаратом глутоксимом. Изменение неврологической симптоматики по шкале J. Kurtzke отмечалось в 1–2 балла по 2–3 показателям (учитывались симптомы поражения пирамидного пути, нарушения координации, нарушения функций тазовых органов, зрительные нарушения). В группе сравнения положительная динамика по неврологической симптоматике отмечена у 20% пациентов, при этом изменения по шкале J. Kurtzke составили 0–1 балл по 1–2 показателям.

До начала лечения результаты исследования показателей общего иммунного статуса были следующими: регистрировалась Т-лимфопения, в основном за счет Т-супрессоров, нарушение ИРИ, повышение ЦИК. Отмечалась низкая выработка γ GA, повышение уровня γ GM, γ GG. Иммунологическое обследование после проведения лимфоцитафереза показало, что происходит увеличение общих Т-лимфоцитов (ЛТ-3) до нормальных показателей либо до значений, близких к нижней границе нормы, причем за счет угнетенного звена – Т-супрессоров (ЛТ-8); нормализуется иммунорегуляторный индекс; отмечается снижение ЦИК. В группе сравнения после курса лечения в иммунологических показателях динамики практически не отмечалось.

Заключение. Максимальное положительное влияние на клеточный и гуморальный иммунитет больных рассеянным склерозом достигается при использовании комбинированной эфферентной терапии (лимфоцитаферез с иммуномодуляторами), что проявляется в наибольшем приросте числа лимфоцитов (на 28%), Т-супрессоров (на 71%); уменьшении им-

мунорегуляторного индекса (на 21%); снижении концентрации циркулирующих иммунных комплексов в периферической крови (на 12%). Положительные иммунологические сдвиги коррелируют с положительной неврологической динамикой. Наиболее выраженные положительные изменения в неврологическом статусе больных рассеянным склерозом достигаются при проведении комбинированной эфферентной терапии, что проявляется в уменьшении патологической неврологической симптоматики (на 27,3%), стабилизации состояния (в 31% наблюдений), улучшении состояния (в 69% наблюдений).

Нам представляется очень важным дальнейшее изучение возможностей лимфоцитафереза, воздействие на аутолимфоциты пациентов с РС иммуномодуляторами в экстракорпоральных условиях. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности данного направления.

THE LYMPHOCYTAPHERESIS USE IN THE MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS TREATMENT

L.V. Titova, M.S. Lubarsky, A.A. Smagin, D.V. Khabarov, I.A. Goldina

The disease development precondition is the immune answer inconsistency and the key factor is the reaction of immune system on persistence of unknown infectious organism in constitution, it is the virus nature possibly. The infringements of cytokine balance and cell-mediated immunity disbalance are determined.

We offer the circuit of the treatment of MS with lymphocytapheresis sessions use. The procedure was carried out with Blood Cell Separator AS-TEC 204 of firms "Fresenius" (Germany).

The offered scheme of therapy has been applied to 78 patients with various forms of a multiple sclerosis. The general immune status parameters dynamics, the neurological status and the cytokine balance change were the basis for the carried out treatment efficiency analysis.

The efficiency of the therapy put into practice was estimated by the neurological status changes by J. Kurtzke (1981,1983): Disability Status Scale (DSS), Expanded Disability Status Scale (EDSS) and (Functional System, FS).

The maximal positive influence on cell-mediated immunity and on humoral immunity of the multiple sclerosis patients is achieved due to the combined (lymphocytapheresis with immunomodulators) efferent therapy use that is shown in the greatest gain number of lymphocytes (on 28%), T-supressors (on 71%), reduction of immune-regulatory index (on 21%), decrease in concentration of circulating immune complexes in peripheral blood (on 12%).

Positive immunological shifts have been correlated with positive neurological dynamics. The most expressed positive changes in multiple sclerosis patients' neurological status are achieved due to combined efferent therapy realization. It is shown in reduction of pathological neurological symptomatic (on 27,3%), stabilization of a condition (in 31% of supervision), improvement of condition (in 69% of supervision).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев И.С. Рассеянный склероз / И.С. Гусев, Т.Я. Демина, А.Н. Бойк. М., 1997. 464 с.
2. Ликворосорбция как способ детоксикации ЦНС / С.П. Ясенов, В.Р. Карабанов, В.Ф. Литвинов, В.П. Серге-

- ев // Эндогенные интоксикации: Тез. докладов Междунар. симп. СПб., 1994. С. 254.
3. Фримкель Г. Иммунологические методы / Г. Фримкель. М., 1987. 140 с.
 4. Хабаров Д.В. Влияние эфферентной и эндолимфатической терапии на течение патологического процесса у больных рассеянным склерозом: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Д.В. Хабаров. Новосибирск, 1999.
 5. Giovannoni G., Miller D.H. Multiple sclerosis and its treatment // J. R. Coll. Physicians Lond. 1999. Vol. 33. P. 315–322.
 6. Gold R., Hartung H.P., Lassman H. T-cell apoptosis in autoimmune diseases: termination of inflammation in the nervous system and other sites with specialized immune-derived mechanisms // Trends Neurosci. 1997. Vol. 20. P. 339–404.
 7. Hafler D.A., Weiner H.L. Immunological mechanisms and therapy in multiple sclerosis // Immunol. Rev. 1995. Vol.144. P. 75–77.
 8. Rasmussen H.B., Lucotte G., Clausen J. Endogenous retroviruses and multiple sclerosis // J. Neurovirology. 2000. № 6(Suppl. 2). P. S80–S84.