



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 26939 (13) C1
(51)6 A 61 K 35/50; A 61 K 38/04ОПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД

(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ АУТОІМУННИХ ЗАХВОРЮВАНЬ І СПОСІБ ЇХ ЛІКУВАННЯ

1

2

(21) 96093436

(22) 16.03.95

(24) 29.12.99

(31) 94008169

(32) 18.03.94

(33) RU

(86) PCT/RU95/00047 (16.03.95)

(46) 29.12.99. Бюл. № 8

(56) 1. Сотникова Л.Г. и др. "Роль бета-1-гликопротеина трофобласта в диагностике и прогнозе течения беременности". Методические рекомендации. - М., 1984, с. 3-20.

2. Авторское свидетельство СССР № 1657190, кл. А 61 К 35/50, 1989.

(72) Головістіков Іван Ніколаєвіч (RU), Тарарінов Юрій Семьоновіч (RU), Качарава Леонід Язоновіч (GE), Аліханов Халлар Абдумуслімовіч (RU)

(73) Головістіков Іван Ніколаєвіч (RU), Качарава Леонід Язоновіч (GE)

(57) 1. Применение трофобластического бета-1-гликопротеина в качестве средства для лечения аутоиммунных заболеваний с иммунодефицитом супрессоров.

2. Способ лечения аутоиммунных заболеваний, включающий введение иммунокорректирующего препарата, отличающийся тем, что предварительно исследуют иммунный статус и при выявлении дефицита супрессоров вводят трофобластический бета-1-гликопротеин в дозах от 3 до 120 мкг.

3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что трофобластический бета-1-гликопротеин вводят парентерально.

4. Способ по п. 2, отличающийся тем, что трофобластический бета-1-гликопротеин инкубируют в концентрации 60 мкг/мл с аутомононуклеарными клетками, выделенными из периферической крови, и вводят внутривенно.

Изобретение относится к области медицины, а более точно касается применения иммунокорректирующих средств при лечении аутоиммунных заболеваний.

Изобретение может применяться как средство для диагностики супрессорного звена иммунного статуса человека и определения возможности лечения аутоиммунных заболеваний, в частности рассеянного склероза, ревматоидного артрита и др.

Известен препарат бета-1-гликопротеин плацентарного происхождения, являющийся аналогом трофобластического

бета-1-гликопротеина (ТБГ), который применяют в качестве стимулятора роста и пролиферации гематопоэтических кроветворных клеток (Патент США № 5169825, кл. А 61 К 35/50, 1989).

Однако известный препарат не используют как средство для лечения аутоиммунных заболеваний.

Известно применение ТБГ в диагностике и прогнозе течения беременности [1].

Однако в этой работе не раскрыты возможности использования ТБГ для диагностики супрессорного звена и лечения аутоиммунных заболеваний.

(19) UA (11) 26939 (13) C1

Известен способ лечения пустулезного псориаза путем введения лекарственного препарата плацентарного происхождения (Авторское свидетельство ССР № 1061818, кл. А 61 К 35/50 от 19.07.82).

Однако использование лечебного препарата в этом способе из-за наличия примесей не исключает возможности возникновения побочных реакций.

Известен способ лечения аутоиммунных заболеваний, заключающийся во введении дозы иммунокорректирующего препарата плацентарного происхождения [2].

Однако реализация этого способа связана с использованием препарата, наличие примесей в котором может привести к развитию аллергических реакций, а применение этого препарата эффективно лишь в послеоперационный период и ограничено лишь аутоиммунным орхитом.

В основу изобретения положена задача эффективного лечения аутоиммунных заболеваний путем использования препарата, обладающего иммунокорректирующими свойствами и не вызывающего аллергических реакций, а также расширение области лечения аутоиммунных заболеваний.

Эта задача решается тем, что в качестве средства для лечения аутоиммунных заболеваний впервые применяют трофобластический бета-1-гликопротеин (ТБГ), а в способе лечения аутоиммунных заболеваний, включающем введение иммунокорректирующего препарата, согласно изобретению, предварительно исследуют иммунный статус и при выявлении дефицита супрессоров в качестве иммунокорректирующего препарата используют трофобластический бета-1-гликопротеин (ТБГ).

Исследование иммунного статуса может включать сбор периферической крови, получение мононуклеарных клеток (МНК), деление их на две равные части, культивирование первой из них без ТБГ, а второй – с ТБГ, отмывание МНК от среды культивирования, блокировку пролиферации, добавление в каждую из частей МНК свежeweделенных МНК здорового донора, стимулированных фитогемагглютинином в равных соотношениях для получения тест-культур, культивирование их, последующую оценку пролиферации тест-культур и определение величины супрессии по соотношению уровней пролиферации в тест-культурах.

Экспериментальным и клиническим путем установлены новые свойства ТБГ как иммунокорректирующего препарата, пригодного для лечения различных аутоиммунных заболеваний.

Оценка показателей иммунного статуса 154 больных при аутоиммунных заболеваниях (рассеянного склероза, ревматоидного артрита и др.) выявила наличие дефицита Т-супрессоров, который является пусковым механизмом аутоиммунизации, то есть утраты ауто толерантности.

Лечебный эффект ТБГ заключается в том, что он обладает способностью индуцировать супрессорную активность лимфоцитов больных рассеянным склерозом, ревматоидным артритом и др.

Клинико-иммунологические обследования больных вышеуказанных аутоиммунных заболеваний и группы сравнения (105 доноров) включали определение функциональной активности Т-супрессоров. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли центрифугированием из периферической крови в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урограф (Boyum 1968 г.).

Установлено, что для больных рассеянным склерозом относительное количество Т-клеток в стадии обострения ($41,3 \pm 2\%$) было в 1,5 раза ниже нормы ($63,2 \pm 2\%$).

На основании предварительных тестовых данных можно судить о возможности использования ТБГ в стадии обострения у всех больных, в стадии ремиссии у 40% больных, а у 60% остальных больных применение ТБГ временно противопоказано.

Препарат для введения может быть приготовлен в сочетании с любыми фармацевтически приемлемыми растворителями в виде инъекций.

Дозы и режим введения зависят от характера и тяжести заболевания. Интервал доз содержания ТБГ может быть от 3 до 120 мкг на мл крови больного.

Препарат ТБГ высокоэффективен и результат достигается даже при однократном введении в минимальной дозе.

Введение ТБГ предпочтительно выполнять парентерально или после предварительной инкубации ТБГ в концентрации 60 мкг/мл с ауто-МНК из периферической крови внутривенно.

На чертеже изображены стимуляторная (контрасупрессорная) и супрессорная активность в % ТБГ – индуцированных лимфоцитов периферической крови больных рассеянным склерозом в период обострения – 1, начала ремиссии – 2 и ремиссии – 3.

Предпочтительный вариант осуществления изобретения.

Предварительное исследование иммунного статуса осуществляют путем тестирования на чувствительность к ТБГ моно-

нуклеарных клеток (МНК) в следующей последовательности.

Периферическую кровь берут у диагностируемого больного путем венопункции, помещают в пробирки с раствором гепарина, получают суспензию мононуклеарных клеток (МНК) методом седиментации клеток в одноступенчатом градиенте фикола-уротраст, делят их на две равные части. Культивируют в течение 48 ч первую из частей без активатора супрессоров – ТБГ, а вторую с ТБГ. Далее отмывают МНК от среды культивирования и осуществляют блокировку пролиферации путем обработки МНК митомицином С.

На следующем этапе в каждую из частей контрольных и стимулированных ТБГ лимфоцитов добавляют свежeweделенные лимфоциты здорового донора, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА), которые служат отвечающими тест-клетками в равных соотношениях для получения тест-культур. Культивирование их проводят в течение 72 ч. После этого с помощью H^3 -тимидина оценивают пролиферацию тест-культур и о величине супрессии судят по степени снижения пролиферации в них.

Индекс супрессии определяют по формуле:

$$IS = \left(1 - \frac{\text{число имп/мин в тест-культуре с ТБГ}}{\text{число имп/мин в тест-культуре без ТБГ}} \right) \cdot 100\%$$

Индекс супрессии характеризует супрессорное звено иммунного статуса человека. В зависимости от полученных данных тестирования иммунного статуса человека определяют конкретные действия для лечения аутоиммунного заболевания.

П р и м е р 1. Больной С., 29 лет. Диагноз – рассеянный склероз, цереброспинальная форма, с длительным ремиттирующим течением, неоднократно лечившегося кортикостероидными препаратами, на фоне ремиссии при иммунологическом исследовании выявляется стимуляторная (контрасупрессорная) активность Т-лимфоцитов в периферической крови – 28%. В данный период применение ТБГ этому больному противопоказано.

П р и м е р 2. Больной В., 28 лет, с диагнозом – рассеянный склероз, цереброспинальная форма, ремиттирующее течение, стадия обострения процесса. Длительность заболевания – 3 года. В неврологическом статусе: горизонтальный нистагм при взгляде вправо, сухожильные рефлексы живые, на ногах D > S. Брюшные рефлексы – верхние низкие, средние и нижние отсутствуют. Симптом Бабинского с 2-х сторон. Клонусы стоп грубее справа. Парезов конечностей нет, мышечный тонус не изменен. Походка атактическая. В позе Ромберга – неустойчив. Атаксия при выполнении пяточно-коленной пробы, задержка мочеиспускания.

Спинно-мозговая жидкость: белок – 0,76%. Реакция Ланге – 66644322.

Осмотр окулиста: побледнение височных половин дисков зрительных нервов.

Активность Т-супрессоров периферической крови при индукции ТБГ – 17%.

В стерильных условиях у больного была взята из локтевой вены однократно кровь в объеме 110 мл. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли стандартным методом в градиенте плотности фикола-уротраст. Выделенные МНК инкубировали с ТБГ в концентрации 60 мкг/мл. Отмытые центрифугированием клетки ввели внутривенно. На 5-й день наступили признаки ремиссии. Нормализовалась походка, мочеиспускание. В позе Ромберга – устойчив. Пяточно-коленную пробу выполняет четко. Повторная оценка иммунного статуса выявила повышение функциональной активности Т-супрессоров периферической крови при индукции ТБГ – 38%, у больного в реакции Оухтерлони на 7, 14 и 28 дни антитела против ТБГ не обнаружены.

П р и м е р 3. Больной Х., 42 года, поступил в клинику с диагнозом ревматоидный артрит – полиартрит, серопозитивный, А – П (стадия 2) недостаточность функции суставов (НФС). Активность Т-супрессоров периферической крови при индукции ТБГ составила 22%.

Больному ввели ТБГ парентерально в паталогически измененные суставы по 0,5 мл в концентрации 60 мкг/мл. На четвертые сутки наступили признаки ремиссии. Болевой синдром уменьшился. Регрессировала НФС. При повторном анализе выявили повышение функциональной активности Т-супрессоров периферической крови при индукции ТБГ – 47%. У больного в реакции Оухтерлони на 7, 14 и 28 дни антитела против ТБГ не выявлены.

При исследовании 105 доноров и 154 больных с различными аутоиммунными заболеваниями выявлено, что при использо-

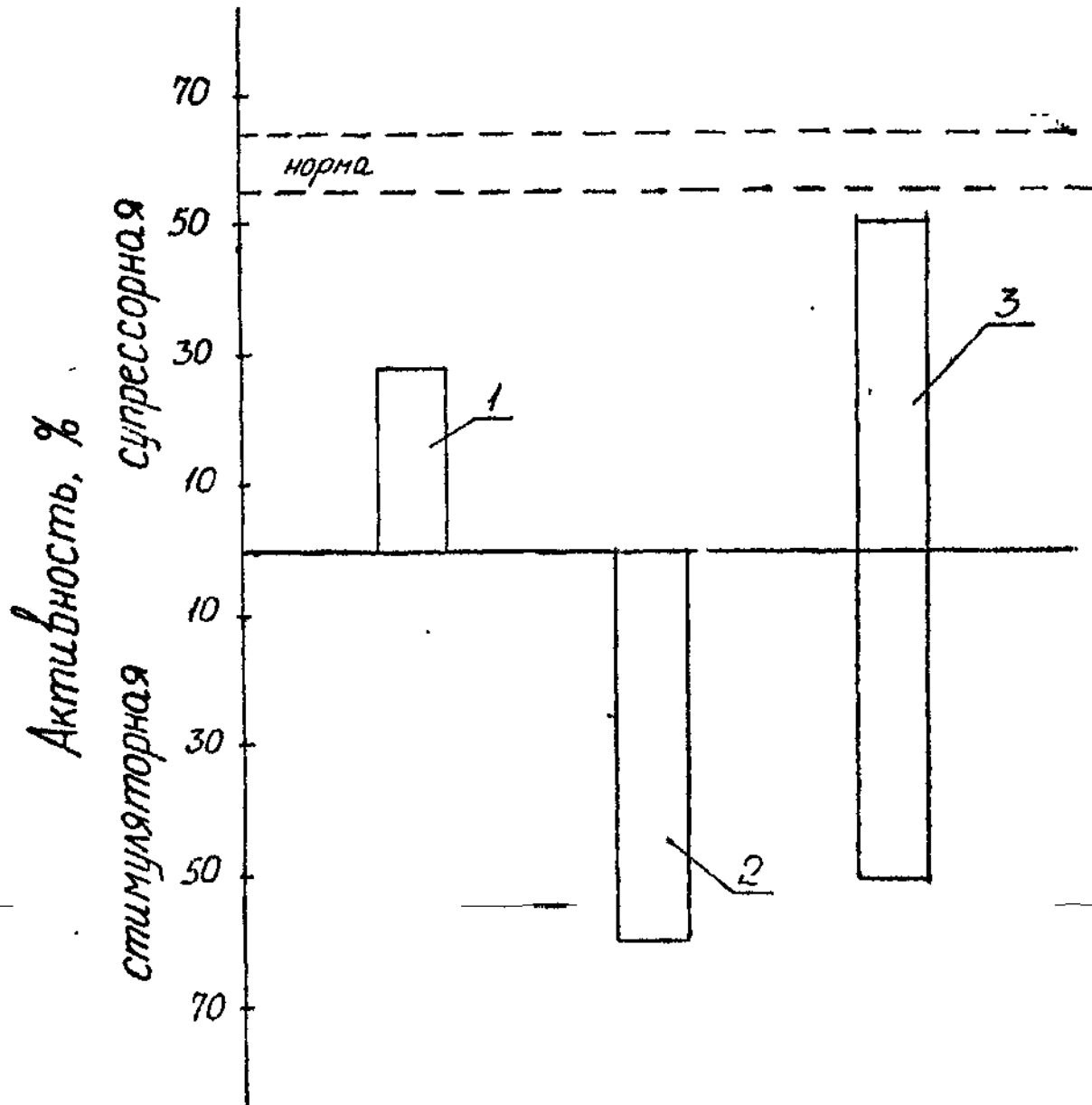
вании дозы ТБГ менее 3 мкг/мл крови эффект слабо выражен, а использование дозы более 120 мкг/мл крови нецелесообразно.

Норма супрессорной активности $63,4\% \pm 4,7$, при обострении - $20,5\% \pm 9,8$, при ремиссии - $47,7\% \pm 2,8$, в начале ремиссии стимуляторная активность - $66,6\% \pm 16,1$.

Таким образом, доказана высокая эффективность препарата ТБГ в качестве

средства для лечения аутоиммунных заболеваний. Предложенный способ лечения аутоиммунных заболеваний позволяет без побочных реакций обеспечить эффективное лечение различных аутоиммунных заболеваний.

Изобретение может найти широкое применение как средство для лечения широкого спектра аутоиммунных заболеваний и диагностики супрессорного звена иммунного статуса человека.



Упорядник

Техред М. Келемеш

Корректор М.Куль

Замовлення 540

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101