

(19) **KG** (11) **211** (13) **C2**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(51)⁶ **A61K 35/50, 38/04**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

(21) 960545.1

(22) 03.09.1996

(31) 94008169

(32) 18.03.1994

(33) RU

(86) PCT/RU 95/00047

(46) 01.10.1997, Бюл. №1, 1998

(71)(73) Головистиков И.Н. (RU), Качарава Л.Я. (GE)

(72) Головистиков И.Н., Татаринов Ю.С. (RU), Качарава Л.Я. (GE), Алиханов Х.А. (RU)

(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. А.с. СССР №1657190, кл. A61K 35/50, 1989

(54) Средство для лечения аутоиммунных заболеваний с иммунодефицитом супрессоров и способ лечения аутоиммунных заболеваний

(57) Изобретение относится к области медицины. В качестве средства для лечения аутоиммунных заболеваний с иммунодефицитом супрессоров применяют трофобластический бета-1-гликопротеин (ТБГ). Способ лечения аутоиммунных заболеваний включает введение иммунокорригирующего препарата, в качестве которого применяют ТБГ, показания к использованию которого определяют тестированием на чувствительность к ТБГ мононуклеарных клеток (МНК). 2 н.п., 2 з.п. ф-лы, 3 пр., 1 ил.

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

Изобретение может применяться как средство 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 гемотопоэтических кроветворных клеток (патент США №5169835, кл. A61K 35/50 от 1989 г.).

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

Известно применение ТБГ в диагностике и прогнозе течения беременности (Сотникова Л.Г., Головистиков И.Н. и др. Роль бета-1-гликопротеина трофобласта в диагностике и прогнозе течения беременности. - Методические рекомендации. - М., 1984 г.).

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

Известен способ лечения пустулезного псориаза путем введения лекарственного препарата плацентарного происхождения (а.с. СССР №1061818, кл. A61K 35/50 от 1982).

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

Известен способ лечения аутоиммунных заболеваний, заключающийся в введении дозы иммунокорригирующего препарата плацентарного происхождения (А.с. СССР №1657190, кл. A61K 35/50 от 1989 г.).

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

Техническим результатом является эффективное лечение аутоиммунных заболеваний путем использования препарата, обладающего иммунокорригирующими свойствами и не вызывающие аллергических реакций, а также расширение области лечения аутоиммунных заболеваний.

Эта задача решается тем, что в качестве средств для лечения аутоиммунных заболеваний впервые применяют ТБГ, а в способе лечения аутоиммунных заболеваний, включающем введение иммунокорригирующего препарата, согласно изобретению, предварительно исследуют иммунный статус и при выявлении дефицита супрессоров в качестве иммунокорригирующего препарата используют 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 свежевыделенных 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 иммунокорригирующего 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 аутотолерантности.

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. МНК выделяли центрифугированием из периферической крови в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-уротраст (Воут 1968 г.).

Установлено, что для больных рассеянным склерозом относительное количество Т-клеток в стадии обострения ($41.3 + 2\%$) было в 1.5 раза ниже нормы ($63.2 + 2\%$).

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 фармацевтическими 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 одноразовом 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 фиг. 1 изображена 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 осуществляется путем тестирования на чувствительность к ТБГ МНК в следующей последовательности.

Периферическую кровь берут у диагностируемого больного путем венепункции, помещают в пробирки с раствором гепарина, получают суспензию МНК методом седиментации клеток в одноступенчатом градиенте фиколлуротраст, 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 свежевыделенные лимфоциты здорового донора, стимулированных фитогемагглютинином, которые служат отвечающими тест-клетками в равных соотношениях для получения тест-культур. Культивирование их проводят в течение 72 ч. После этого с помощью Н-тимицина оценивают пролиферацию тест-культур и о величине супрессии судят по степени снижения пролиферации в них. Индекс супрессии определяют по формуле:

$$\text{ИН} = \left(1 - \frac{\text{Число живых клеток в тест-культуре}}{\text{Число живых клеток в контроле}} \right) \times 100 \%$$

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

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1.

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

Пример 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. Порезов 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. МНК выделяли стандартным методом в градиенте плотности фиколлуротраст. Выделение 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.

Пример 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 патологически 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.

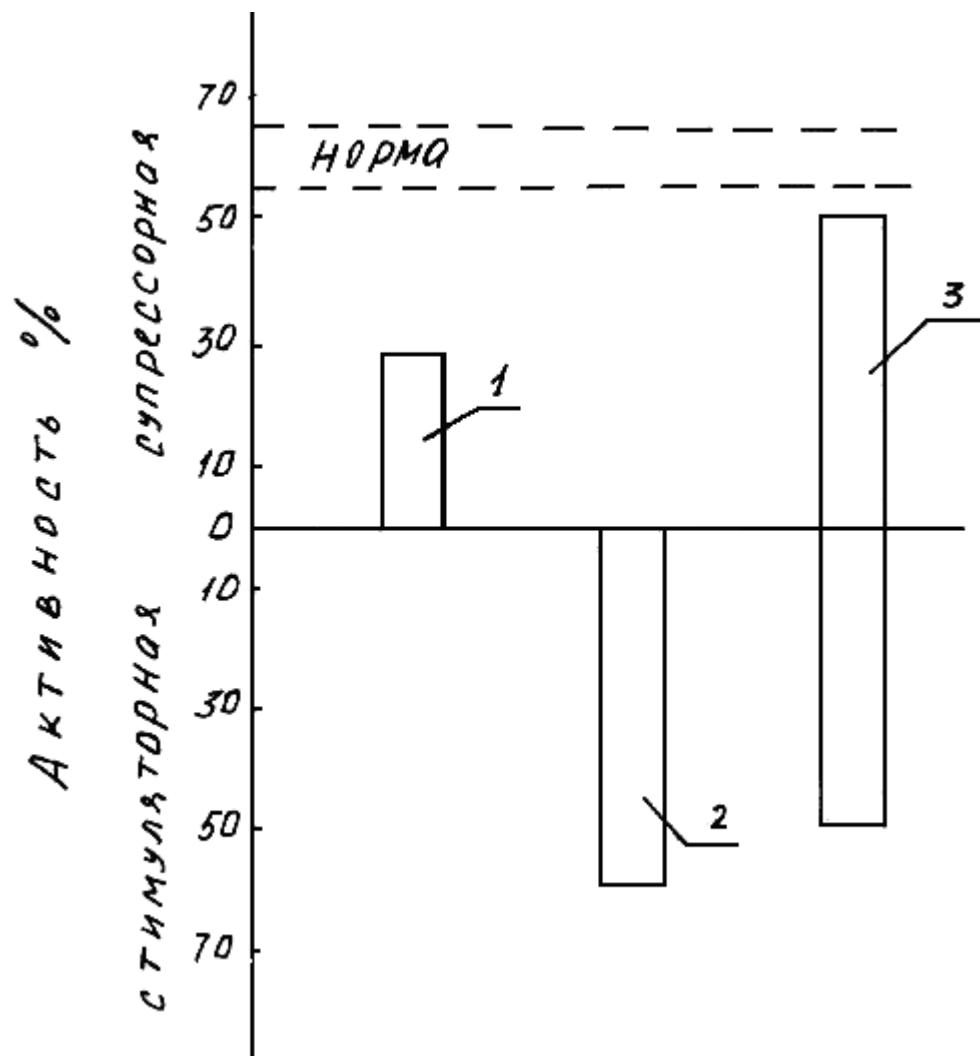
При исследовании 105 доноров и 154 больных с различными аутоиммунными заболеваниями выявлено, что при использовании дозы ТБГ менее 3 мкг/мл крови эффект слабо выражен, а использование дозы более 120 мкг/мл крови нецелесообразно.

Норма супрессорной активности 63.4 + 4.7 %, при обострении - 20.5 + 9.8 %, при ремиссии - 47.7 + 2.8 %, в начале ремиссии - стимуляторная активность - 66.6 + 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.

Формула изобретения

1. Применение трофобластического бета-1-гликопротеина в качестве средства для лечения аутоиммунных заболеваний с иммунодефицитом супрессоров.
2. Способ лечения аутоиммунных заболеваний, включающий введение иммунокорригирующего препарата, отличающийся тем, что предварительно исследуют иммунный статус и при выявлении дефицита супрессоров вводят трофобластический бета-1-10 гликопротеин в дозе от 3 до 120 мкг/мл крови.
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.



Фиг. 1

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Суртаева Э.Р.
Ногай С.А.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03