

# **ЦИТОКИНОДИАГНОСТИКА И ЦИТОКИНОТЕРАПИЯ**

**А.С.Симбирцев**

**ГосНИИ особо чистых биопрепаратов  
ФМБА России, Санкт-Петербург**

# **ПОЧЕМУ ЦИТОКИНЫ МОГУТ БЫТЬ МАРКЕРАМИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ**

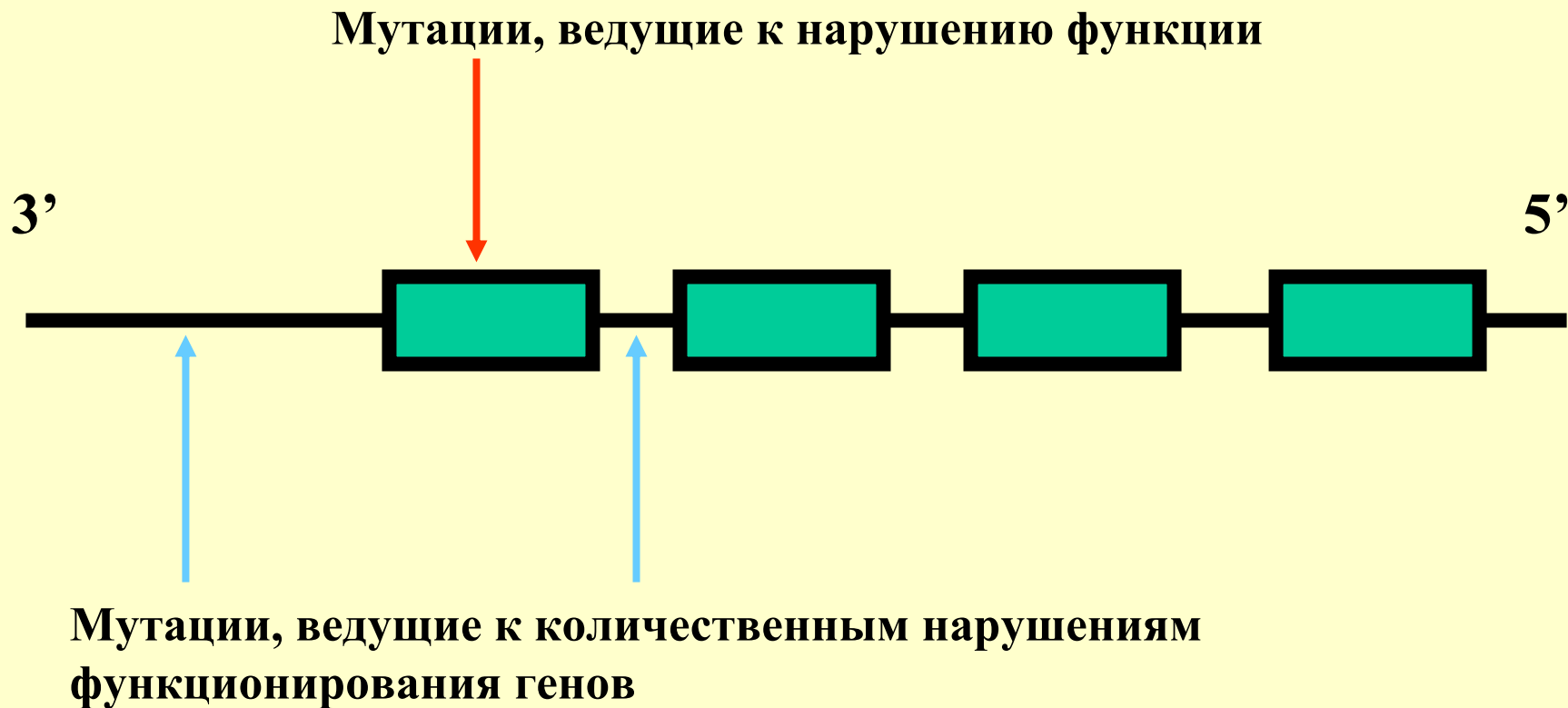
- **Синтез цитокинов сопровождает главные процессы развития защитных реакций**
- **Многие цитокины и их рецепторы индуцибельны, по их появлению в клетках можно оценить активацию иммунитета**
- **Большинство цитокинов являются растворимыми циркулирующими медиаторами, и их концентрацию легко оценить в плазме крови и других биологических жидкостях**
- **Цитокины являются антиген-неспецифическими факторами. Поэтому специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний с помощью определения уровня тех или иных цитокинов невозможна**

# **МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ**

- 1) Методы оценки биологической активности цитокинов**
- 2) Иммунохимические методы**
- 3) Молекулярно-биологические методы**

- Генетический анализ отсутствия мутаций в генах цитокинов, их рецепторов и внутриклеточных молекул**
- Анализ полиморфизма генов цитокинов**
- Изучение экспрессии генов цитокинов**
- Изучение продукции цитокинов клетками в культуре**
- Определение концентраций цитокинов в биологических жидкостях (ИФА, РИА, микрочипы)**
- Изучение синтеза цитокинов на уровне отдельных клеток (иммуноцитохимия, ELISPOT, цитофлюориметрия для изучения мембранных и внутриклеточных цитокинов)**
- Изучение синтеза цитокинов в тканях**

# ВАРИАНТЫ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРЫ ГЕНОВ



# Полиморфизм гена ФНО человека (-308 G→A)

Полиморфный аллель (-308A) связан с увеличением эффективности транскрипции и увеличением продукции ФНО в 2-5 раз.

Аллель (-308A) в 4 раза чаще встречается у больных с церебральной формой малярии и более яркими проявлениями системного воспалительного ответа ( $n > 1000$ ), в 7-8 раз чаще у больных с развившимися церебральными нарушениями.

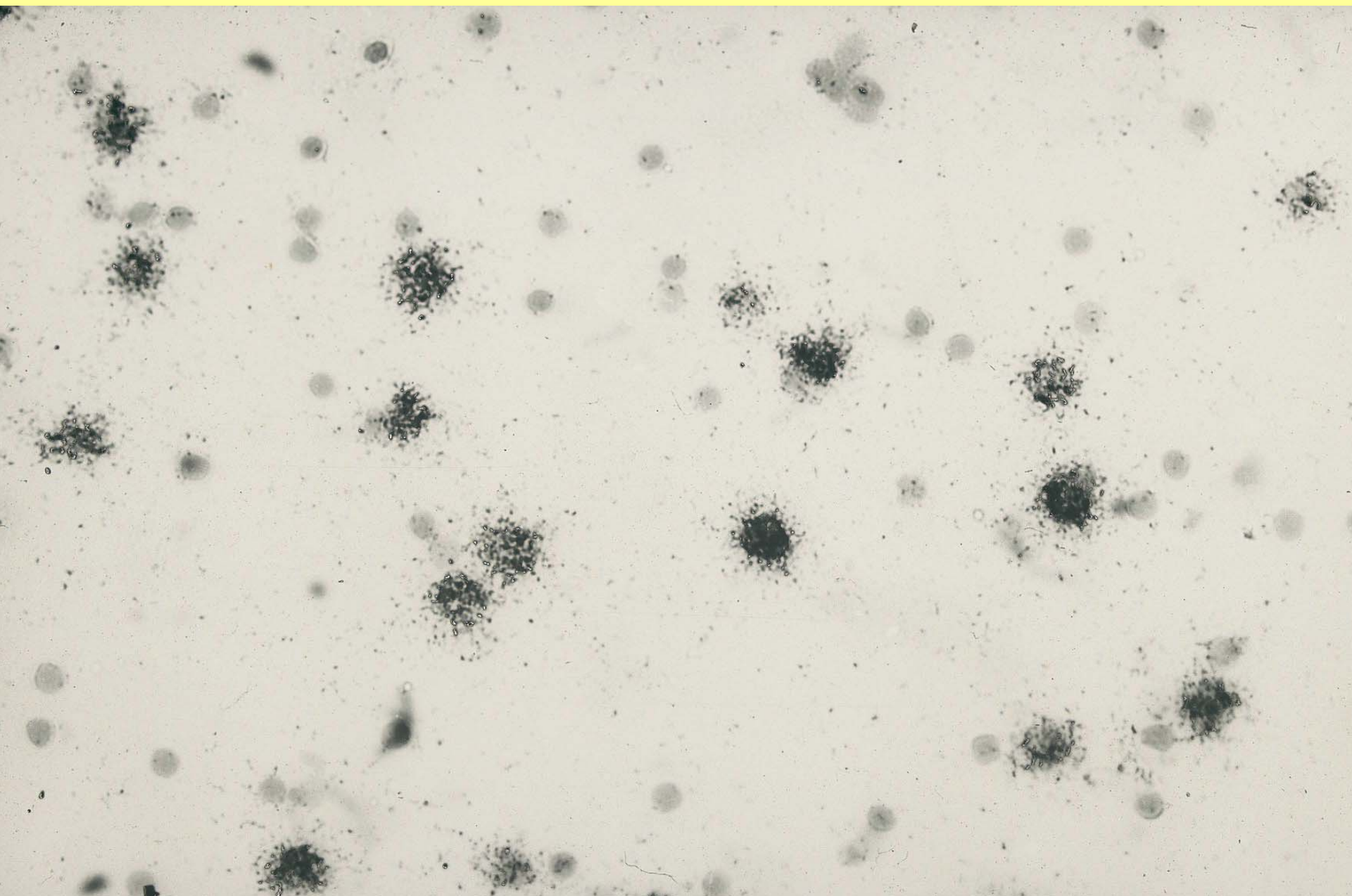
Частота носительства аллеля (-308A):

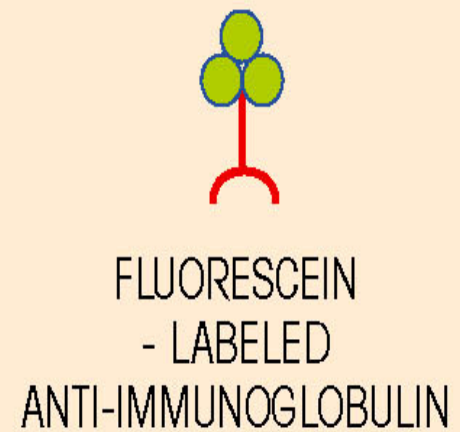
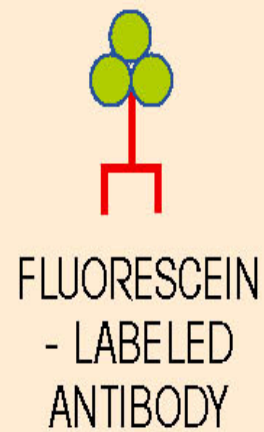
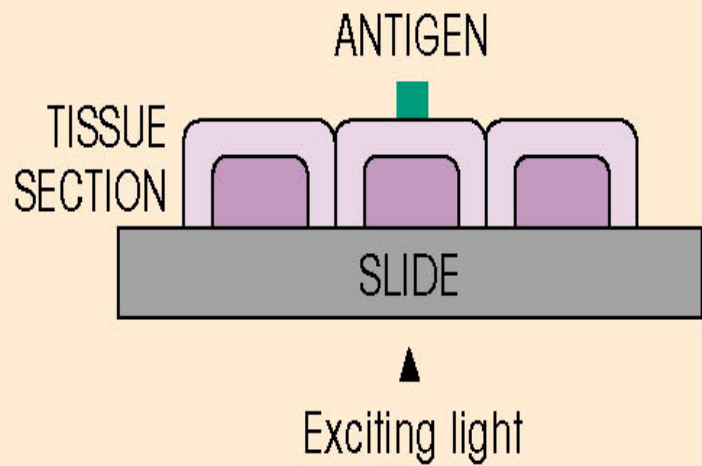
В эндемичных по малярии районах Африки - 5%

В целом среди населения Африки - 30%

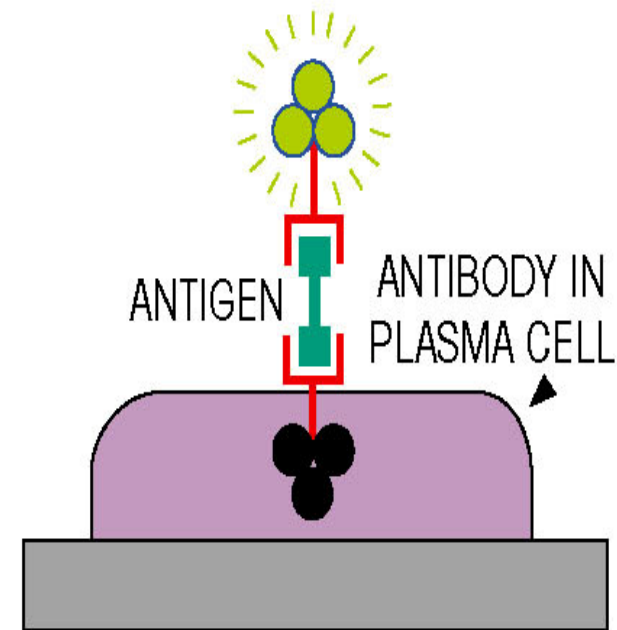
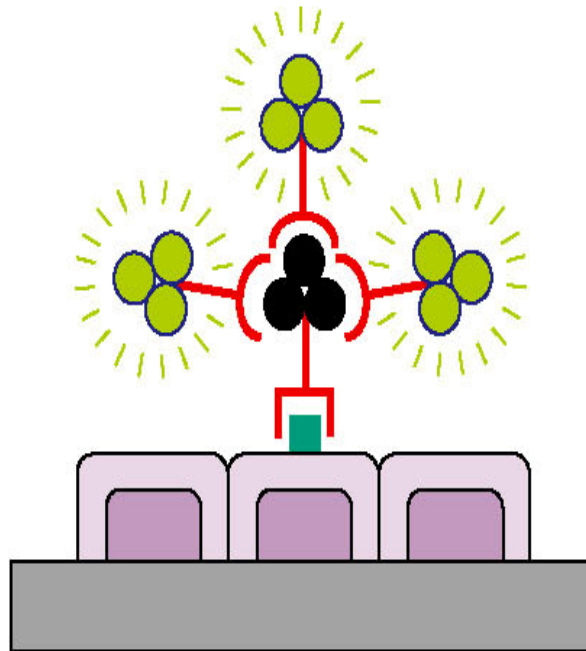
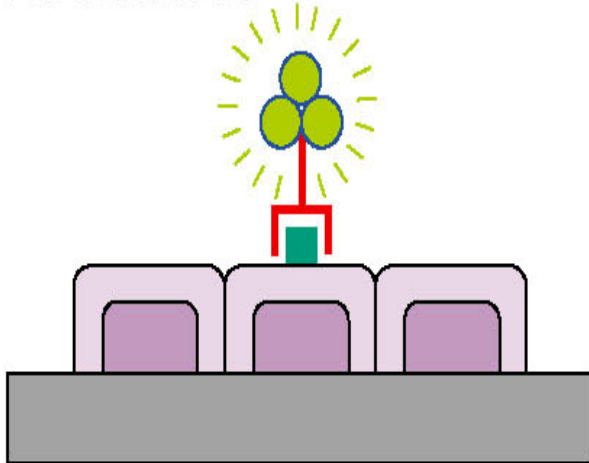
(McGuire et al., 1994; Hoffmann S. et al., 2002)

**Гибридизация *in situ* для выявления клеток, содержащих мРНК  
ИЛ-1 бета, среди мононуклеаров крови человека**





FLUORESCEIN



a Direct test

b Indirect test

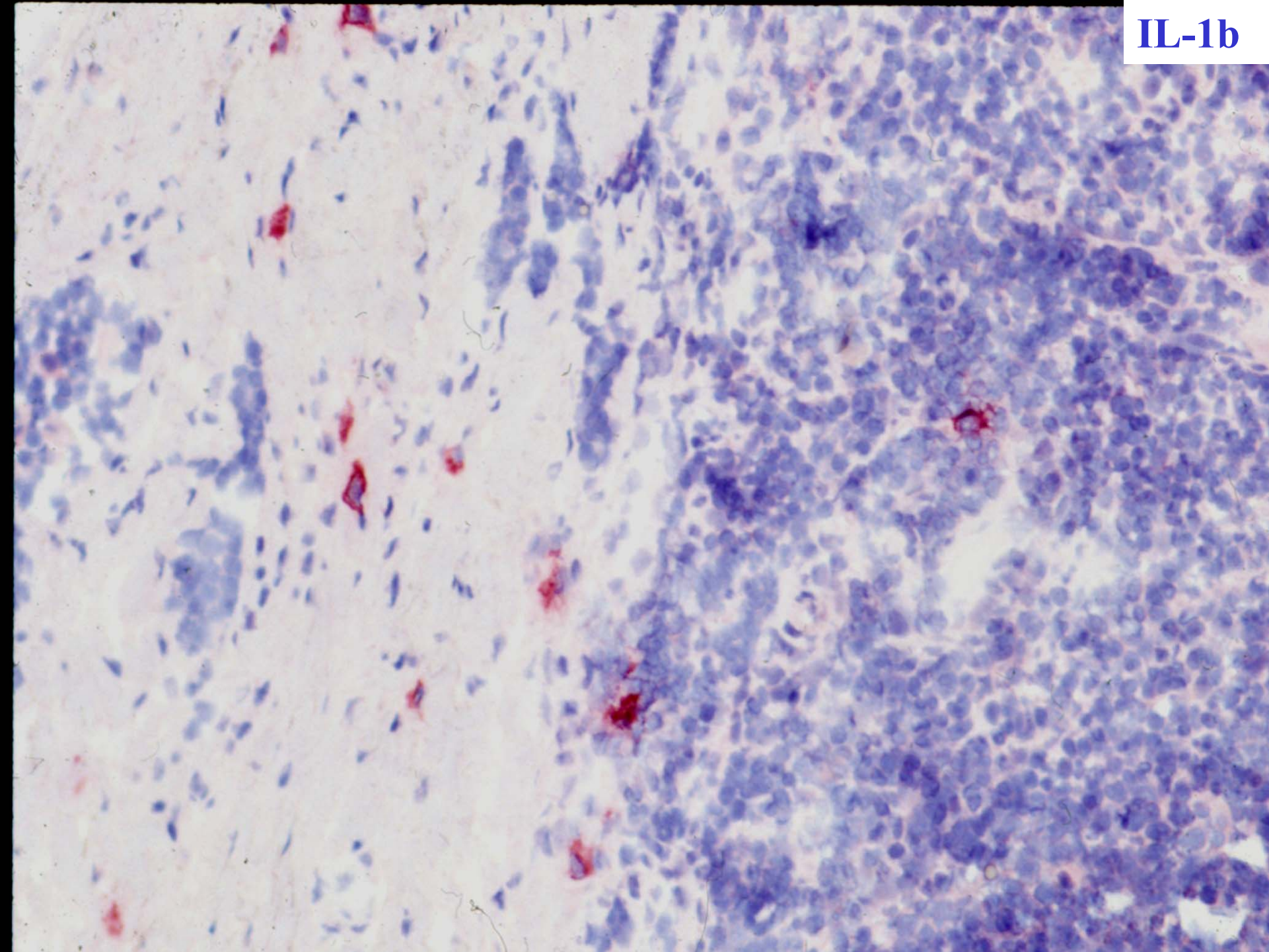
c Sandwich test

**Иммуноцитохимический метод выявления клеток,  
синтезирующих ИЛ-1 бета, среди изолированных  
мононуклеаров крови человека после стимуляции ЛПС**

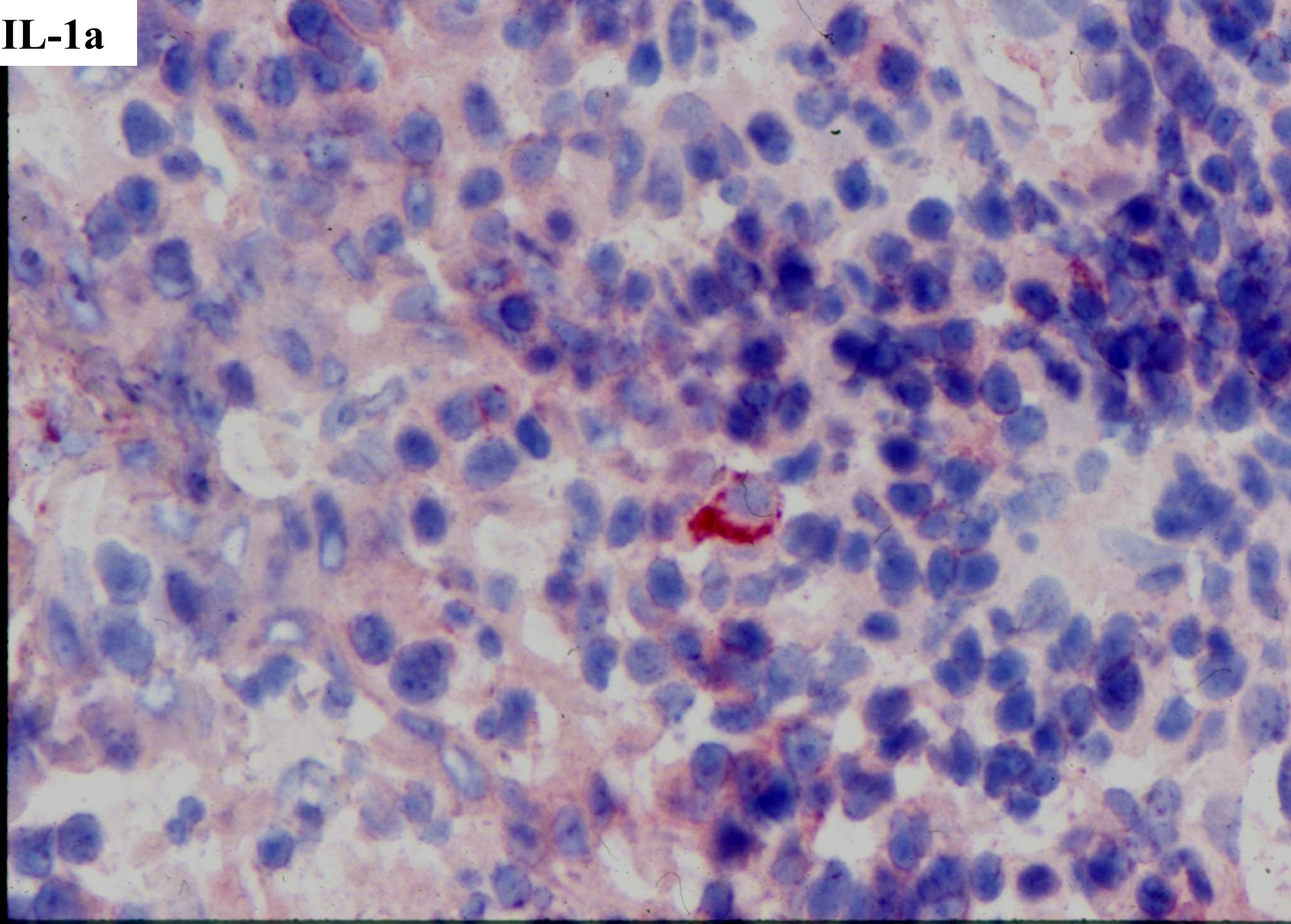




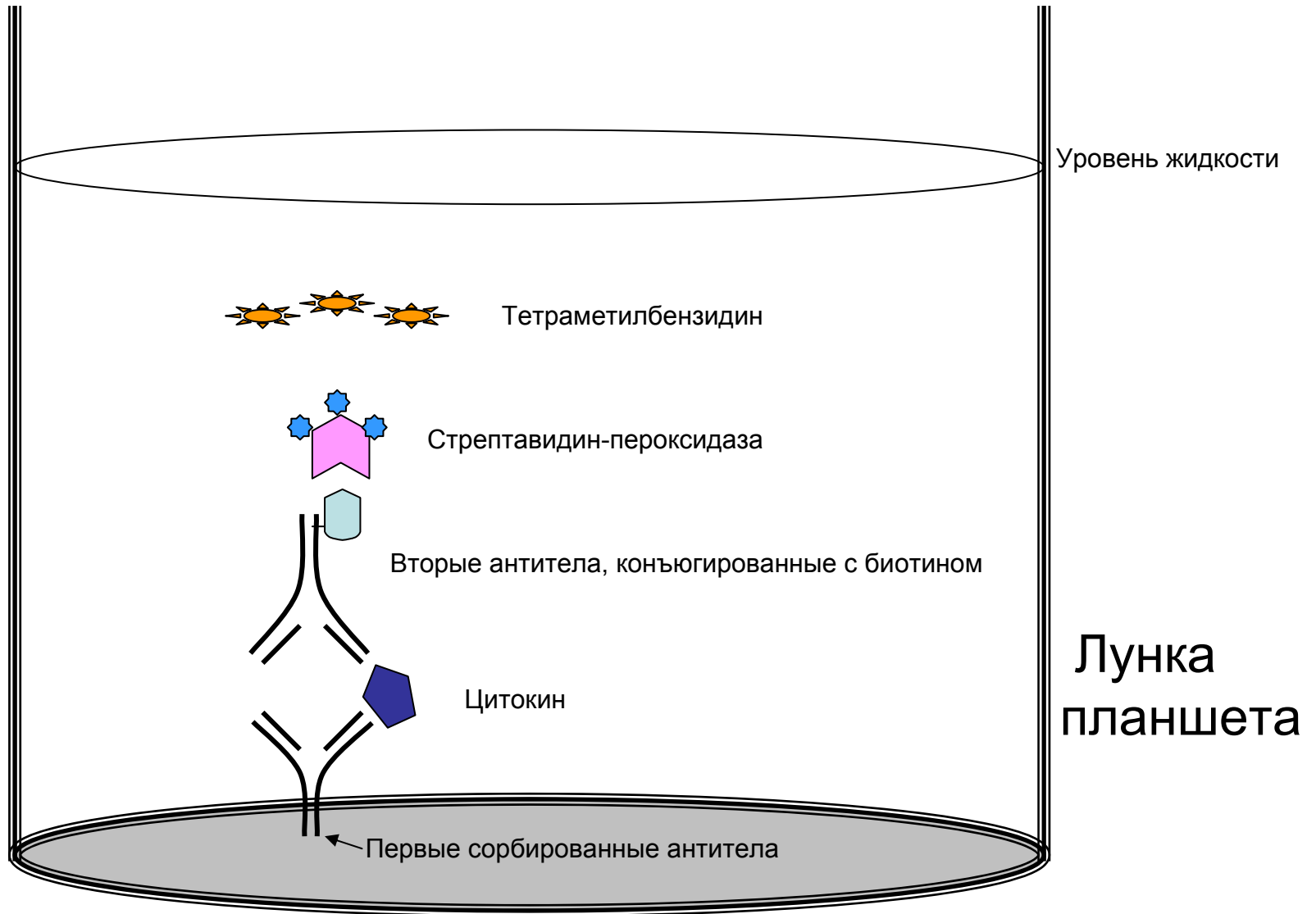
**IL-1b**



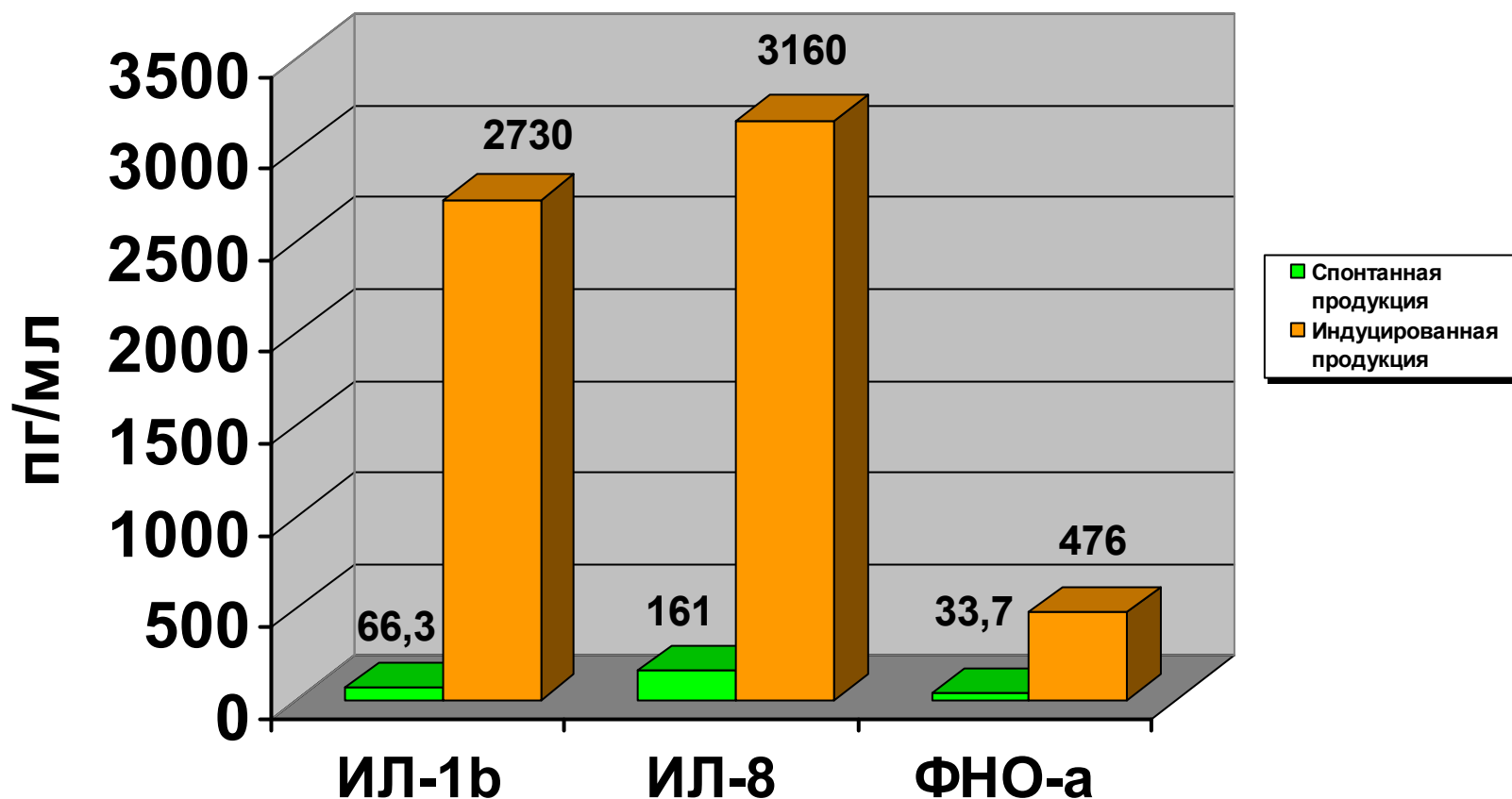
**IL-1a**



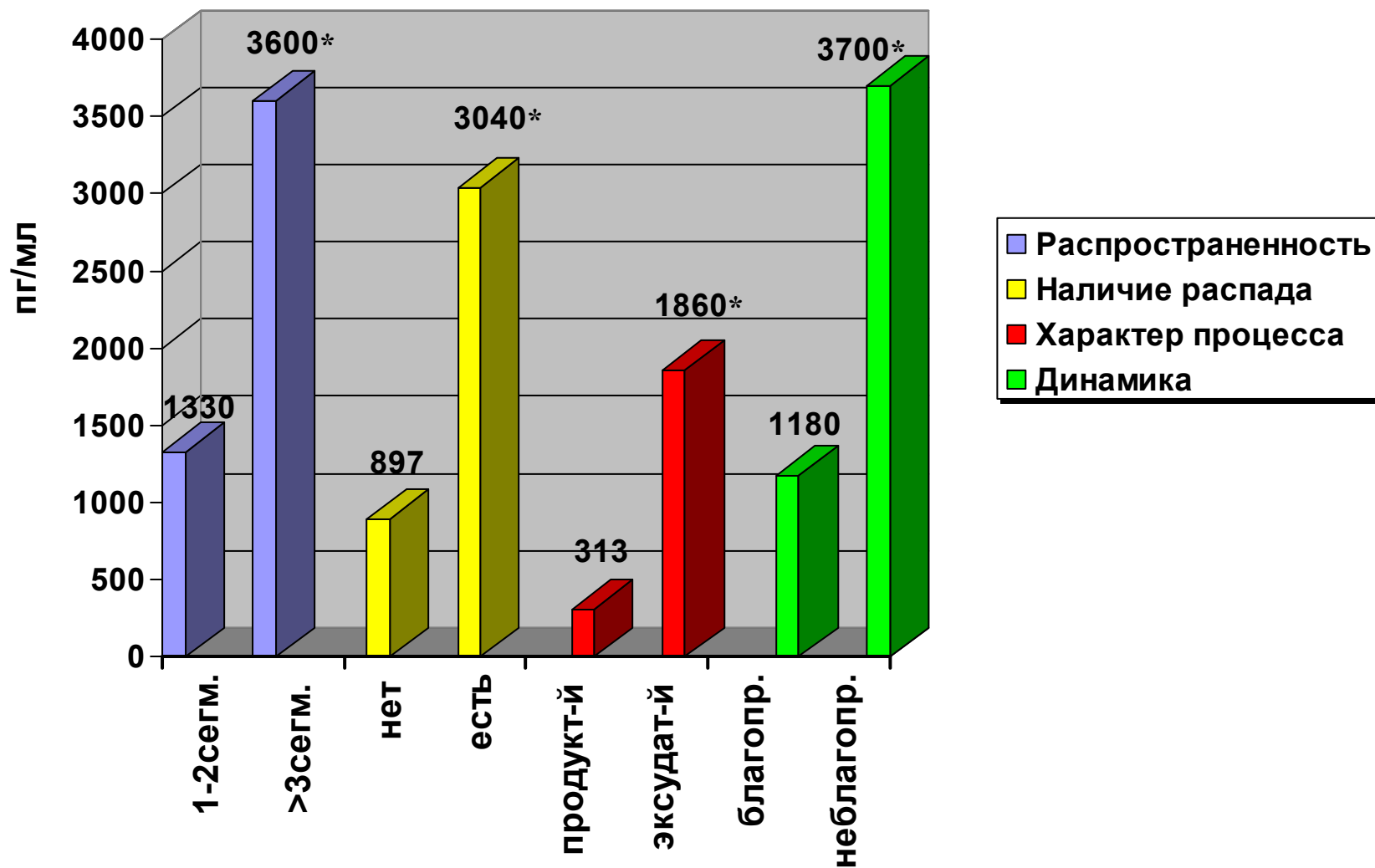
# Схема определения уровня цитокинов методом ИФА



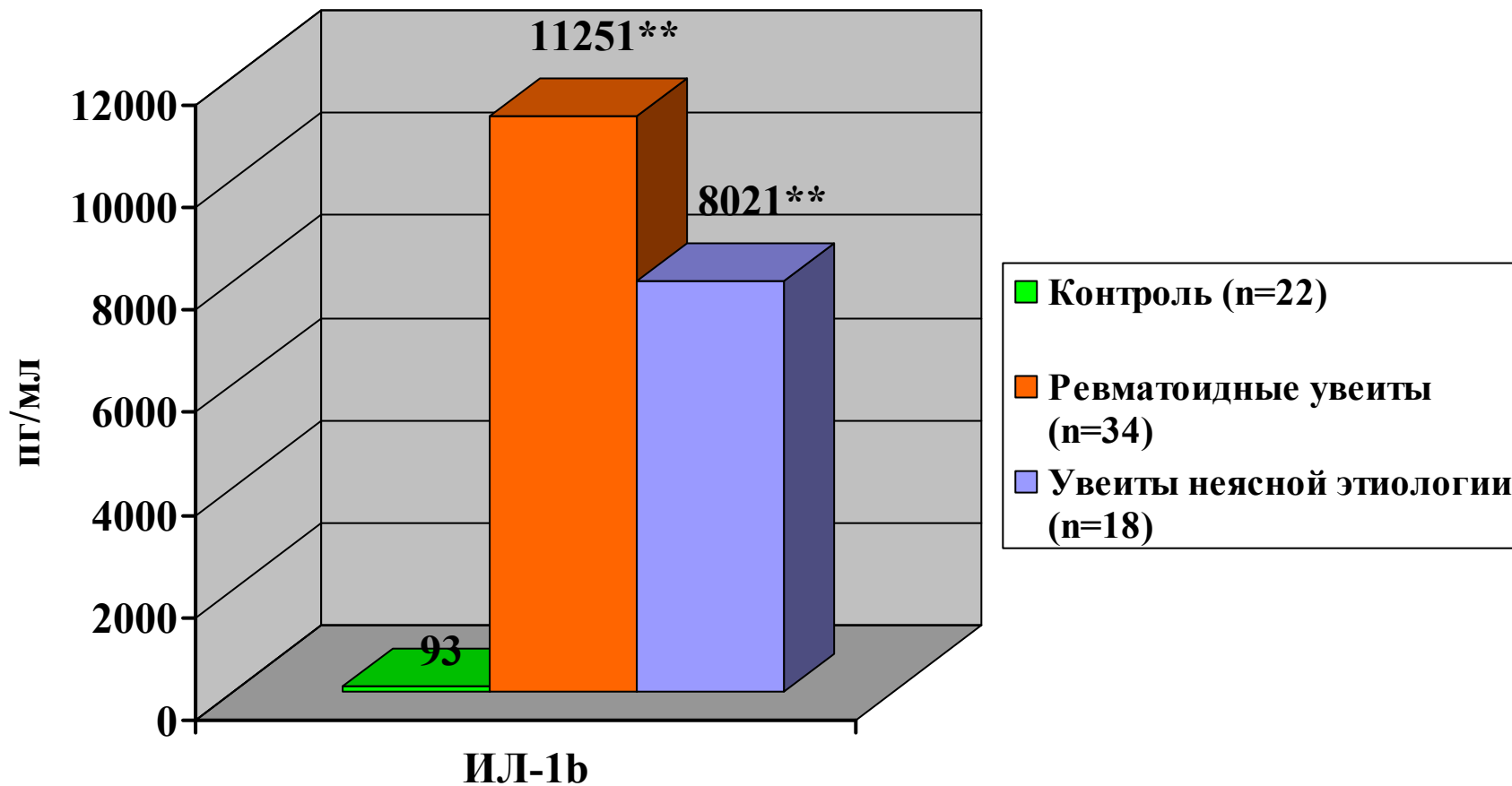
## Уровень продукции провоспалительных цитокинов клетками крови доноров.



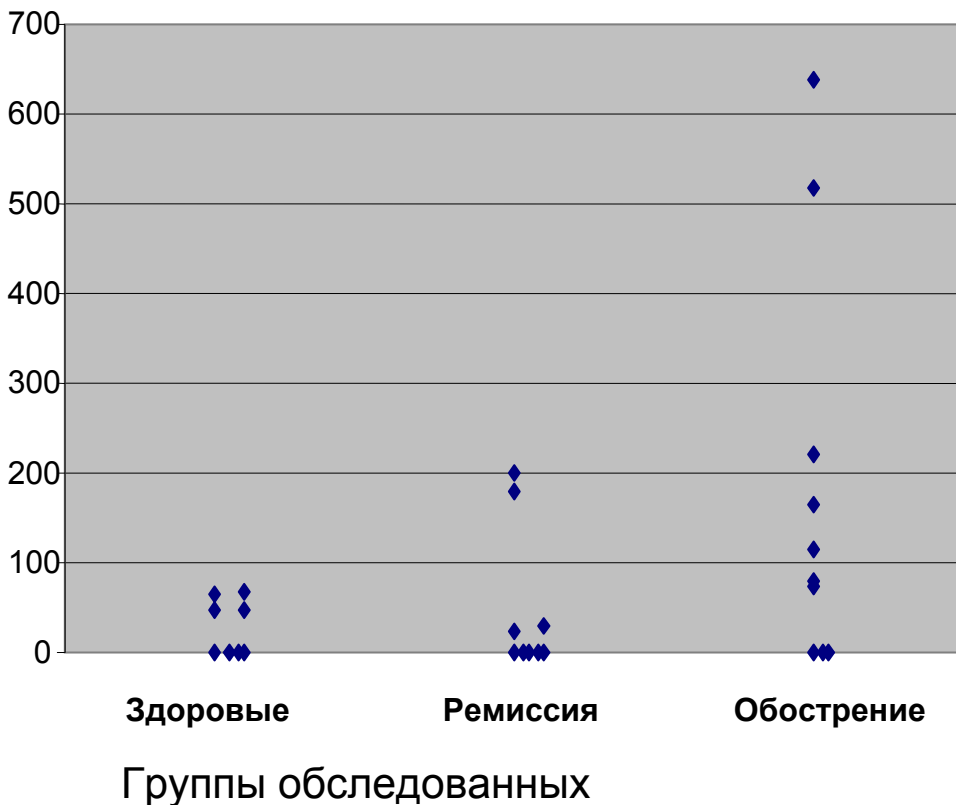
## Уровень продукции ИЛ-1b клетками крови больных туберкулезом легких



**Уровень ИЛ-1b в слезной жидкости у больных с увеитами.**

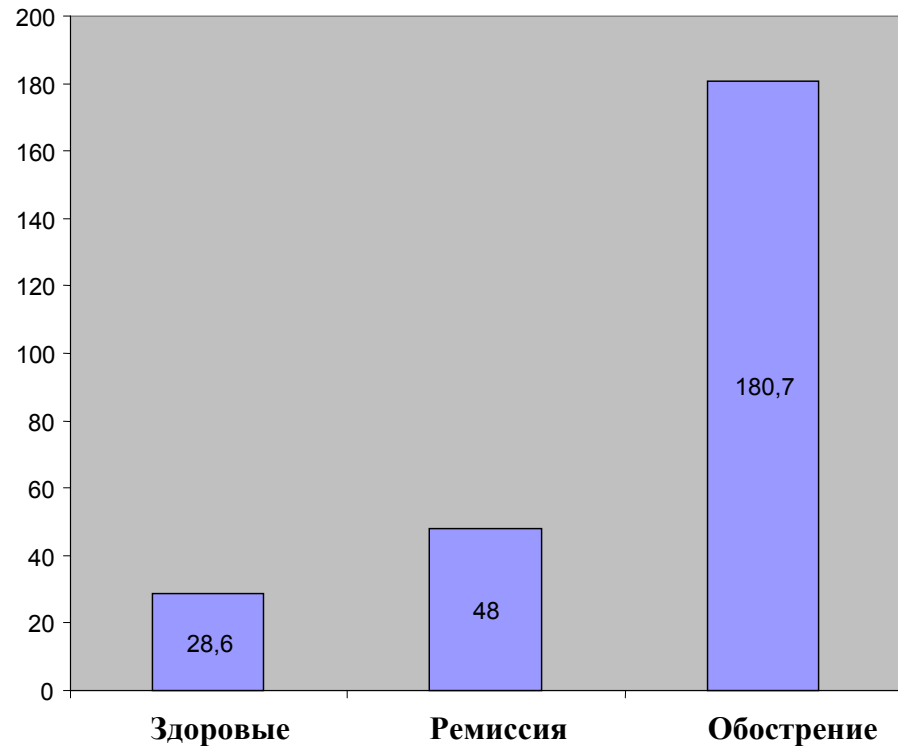


# ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ И СРЕДНИЕ ПОКАЗАТЕЛИ УРОВНЯ IL-8 В СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ С ТУБЕРКУЛЕЗНЫМИ УВЕИТАМИ (М.Соловьева и др., 2010)



◆ - IL-8, пг/мл

■ IL-8, пг/мл



# МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

## Преимущества метода:

**Одновременный анализ до 100 цитокинов в одном образце**

**Многokратное уменьшение объема исследуемого образца**

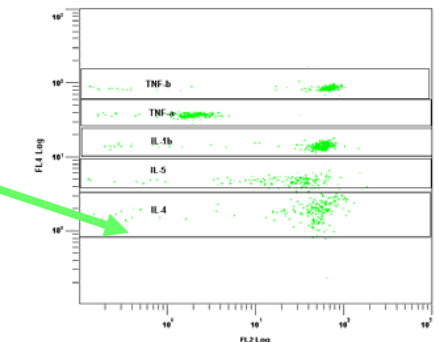
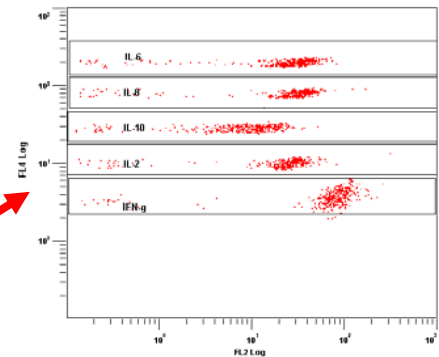
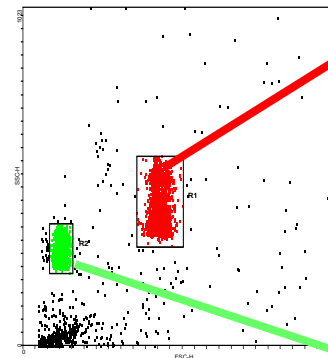
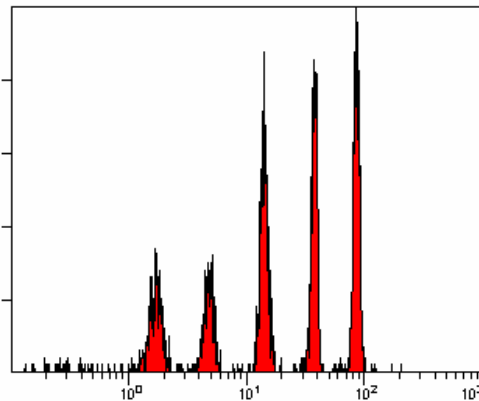
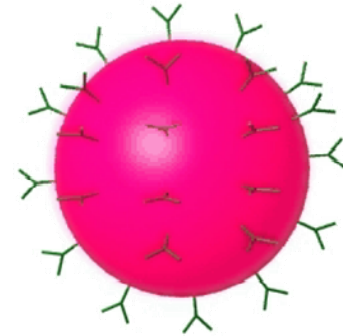
**Увеличение воспроизводимости результатов**

**Снижение стоимости исследования и трудозатрат**

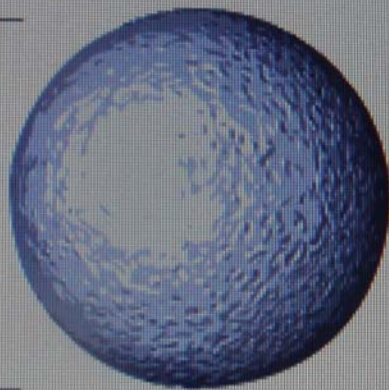


# МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ

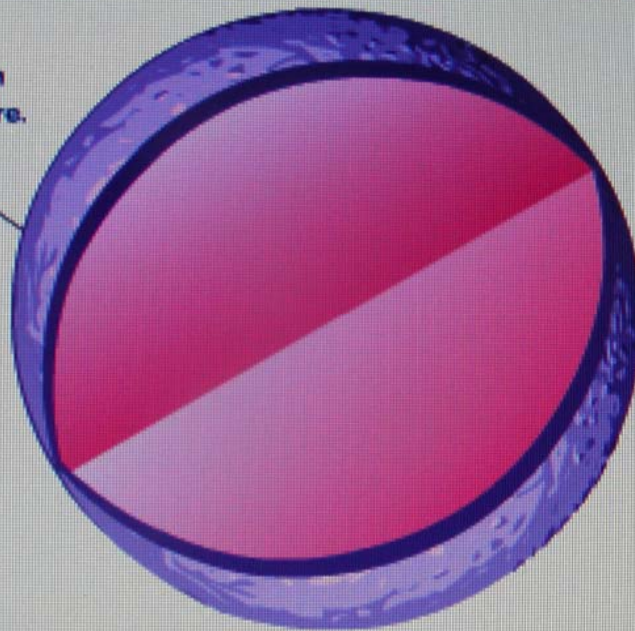
- иммуноанализ типа „сэндвич“, в котором антитело связано с поверхностью **микрочастицы**
- сходный принцип с ИФА (ELISA) анализом
- микрочастицы различного размера (частицы с диаметром 4,4 и 5,5 мкм)
- отдельные виды микрочастиц можно идентифицировать по отличающейся интенсивности флюоресценции и размеру



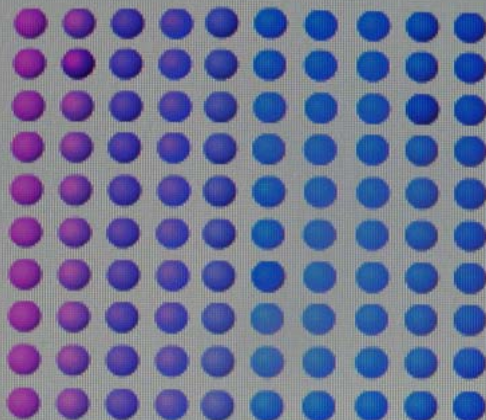
5.8  
microns



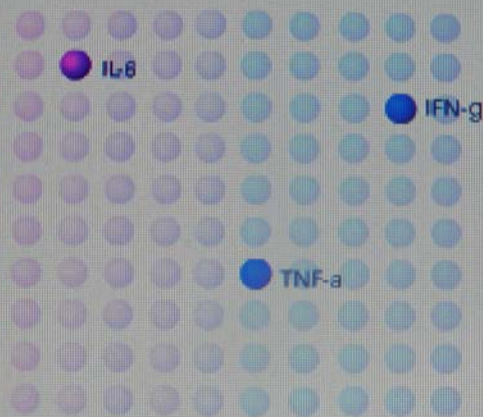
bead is filled with  
special dye mixture.



100 xMAP  
microsphere sets



100 xMAP  
microsphere sets



Cytokines

THE  
POWER  
INSIDE  
Luminex

xMAP  
TECHNOLOGY  
Because you want to know more

## ПРИНЦИП МЕТОДА МУЛЬТИПЛЕКСНОГО АНАЛИЗА

Первые антитела сорбированы на микрошариках, далее принцип реакции похож на стандартный иммуноферментный анализ в планшетах

Вторые антитела  
помечены флюоресцеином

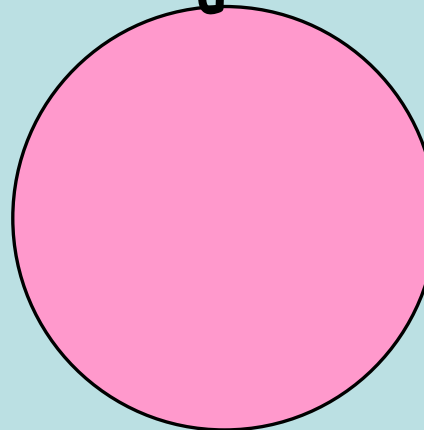


- Исследуемый цитокин

Первые антитела -



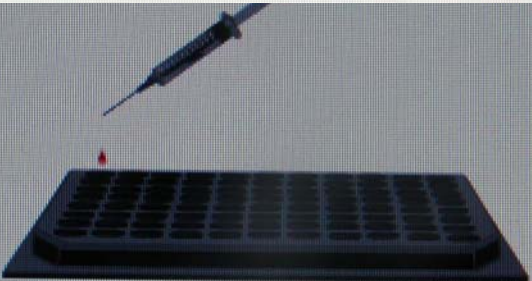
Микрошарик -



1 sample  
100 tests

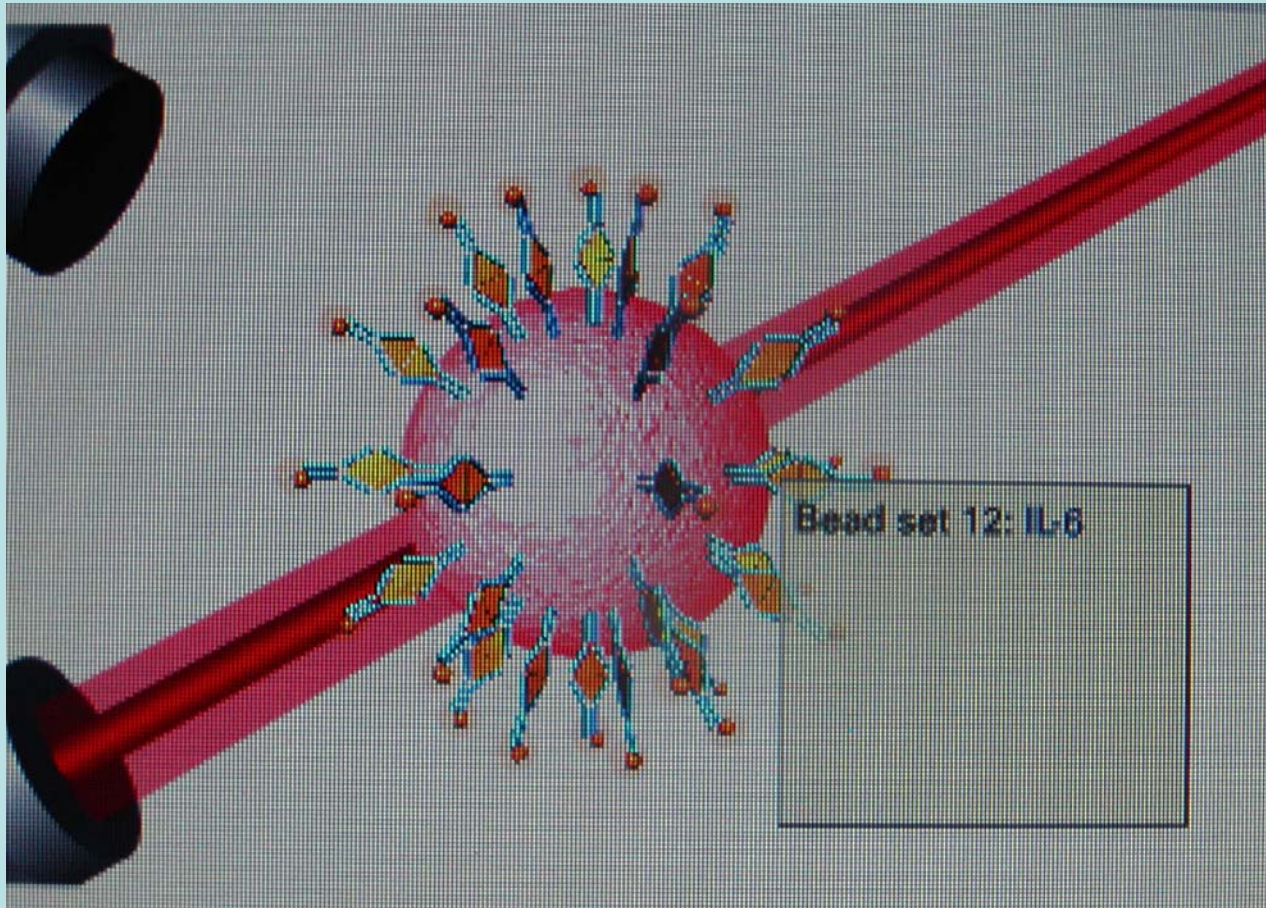


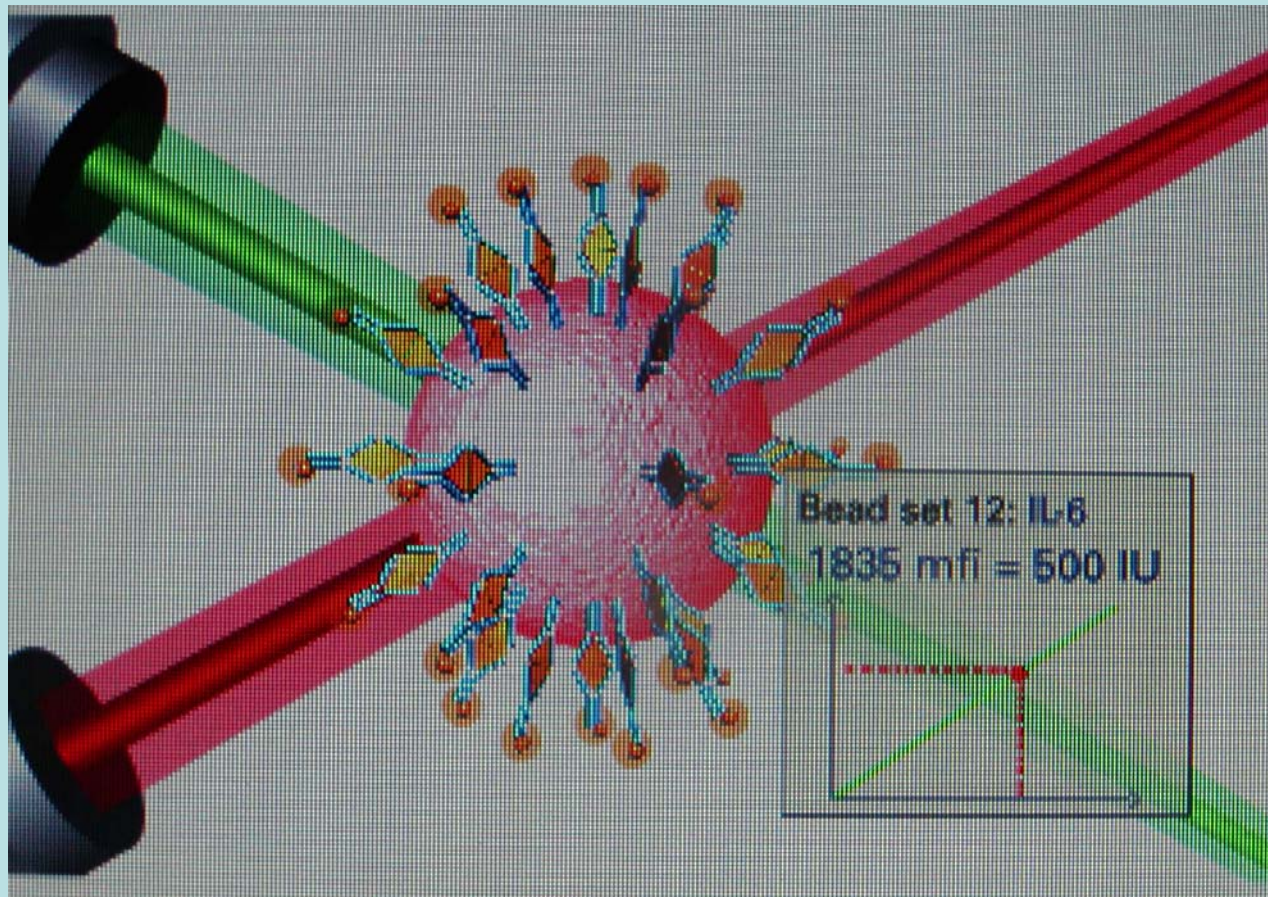
1 sample  
100 tests



**XMAP** allows 100 tests in a single sample







**FlowCytomix Human Th1/Th2 10plex (BenderMedSystem GmbH)**

**Th1/Th2 Cytokines Multiplex Kit I (BMS710FF)**

**(IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ )**

**Th1/Th2 Cytokines Multiplex Kit II (BMS716FF)**

**(IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$ )**

**Human Cardiovascular 7plex (BMS711FF)**

**(sCD40L, IL-6, IL-8, MCP-1, sP-selectin, t-PA, sVCAM-1)**

**(Human Adhesion 5plex) (BMS812FF) (April 06)**

**(sE-selectin, sICAM-1, sICAM-3, sP-selectin, sVCAM-1)**

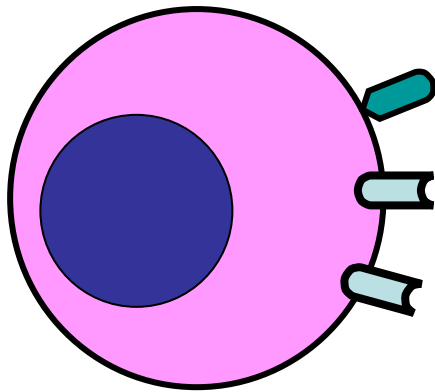
**Mouse Th1/Th2 10plex (BMS720FF)**

**(GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ )**

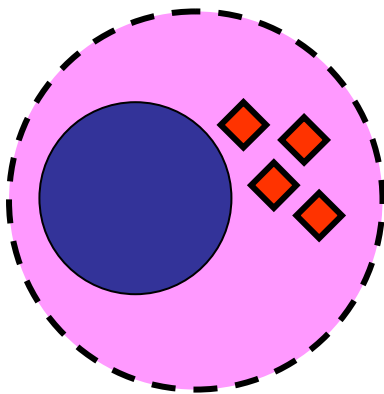
**Rat Th1/Th2 6plex (BMS725FF)**

**(GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$ , IL-4, MCP-1, TNF- $\alpha$ )**

# ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ



**Определение рецепторов  
и мембранных форм цитокинов**



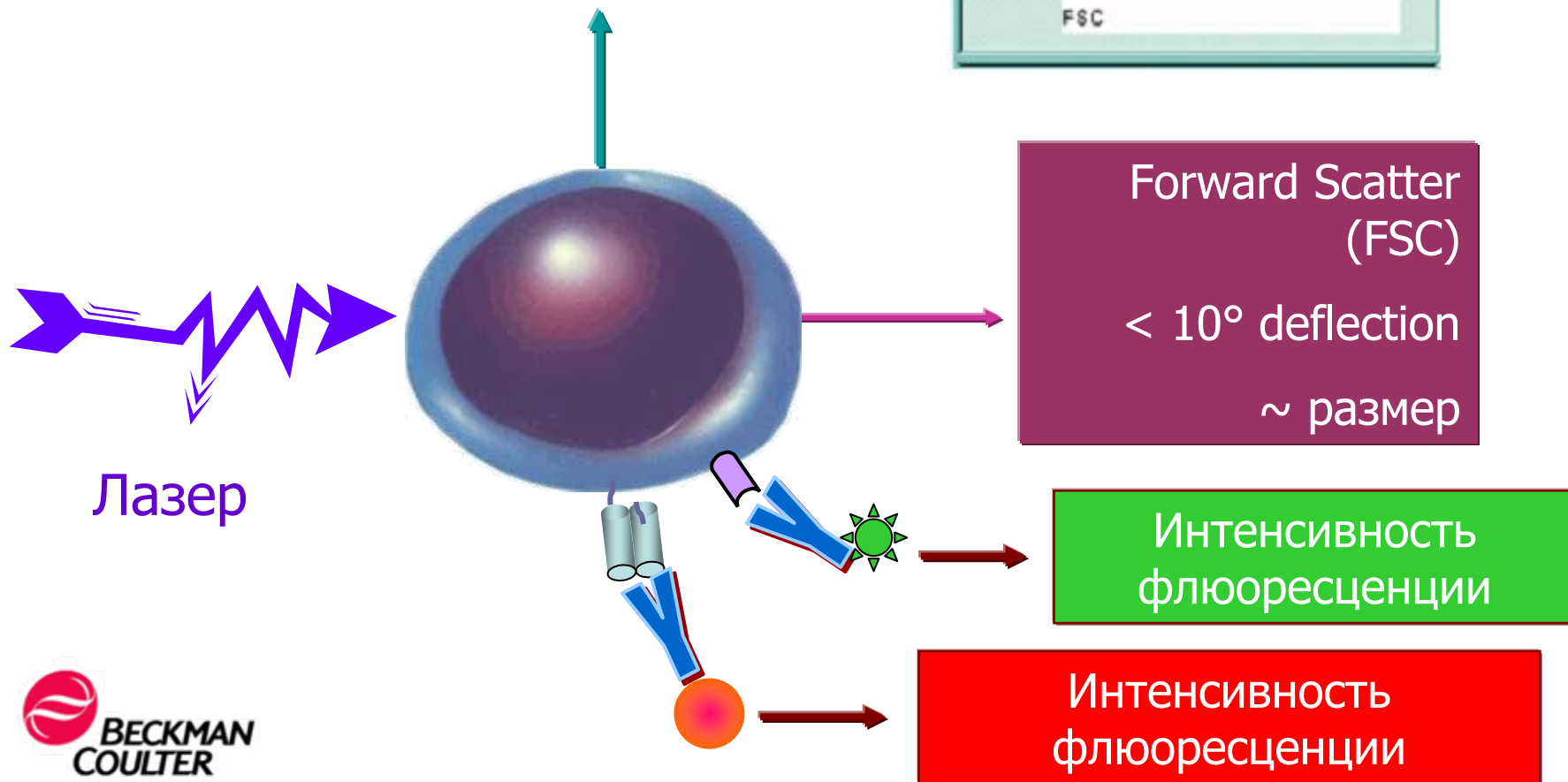
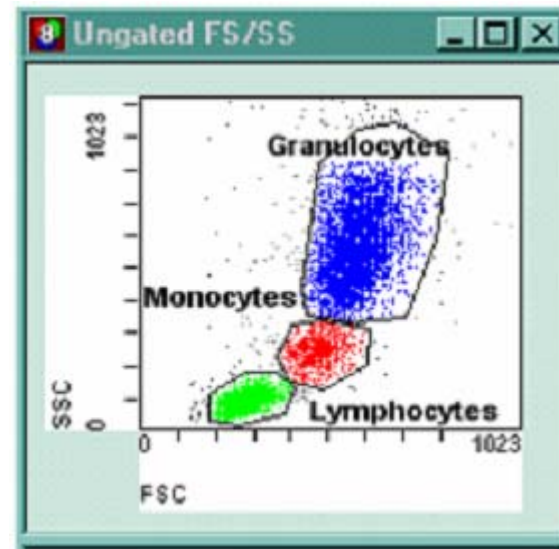
**Определение внутриклеточных  
цитокинов**

- Блокирование клеточного метаболизма
- Фиксация клеток
- Пермибиализация клеточной мембраны



# Методы определения

Side Scatter (SSC)  
90° deflection  
~ структура



# РЕЦЕПТОРЫ И МЕМБРАННЫЕ ФОРМЫ ЦИТОКИНОВ, ВКЛЮЧЕННЫЕ В CD КЛАССИФИКАЦИЮ ПОВЕРХНОСТНЫХ МОЛЕКУЛ ЛЕЙКОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Цитокины и рецепторы	CD антигены	Экспрессирующие клетки
<i>Рецепторы цитокинов, регулирующих созревание и функции Т-лимфоцитов</i>		
ИЛ-2 R $\alpha$	CD25	Активированные лимфоциты
ИЛ-2 R $\beta$	CD122	Т-лимфоциты, НК клетки
ИЛ-2 R $\gamma$	CD132	Т-, В-лимфоциты, НК клетки
ИЛ-4/ИЛ-13 R $\alpha$	CD124	Т-, В-лимфоциты, другие типы клеток
ИЛ-13 R $\alpha$ 1	CD213a1	В-лимфоциты, моноциты, фибробласты, эндотелий
ИЛ-13 R $\alpha$ 2	CD213a2	В-лимфоциты, моноциты
ИЛ-5 R $\alpha$	CD125	Эозинофилы, базофилы
ИЛ-7 R $\alpha$	CD127	Предшественники Т- и В-лимфоцитов
ИЛ-6 R $\alpha$	CD126	В-лимфоциты, плазматические клетки
LIF R	CD118	Эпителиальные клетки
gp130	CD130	Многие типы клеток
ИЛ-10 R	CDw210	Т-, В-лимфоциты, НК клетки, моноциты
ИЛ-12 R $\beta$ 1	CD212	Активированные Т-лимфоциты и НК клетки
ИЛ-17 R	CD217	Многие типы клеток
<i>Рецепторы цитокинов, стимулирующих кроветворение</i>		
Г-КСФ R	CD114	Гранулоциты, моноциты и их предшественники
М-КСФ R	CD115	Моноциты, тканевые макрофаги
ГМ-КСФ R $\alpha$	CD116	Моноциты, нейтрофилы, эозинофилы
ФСК R (c-kit)	CD117	Предшественники гемопоэза
Flt3	CD135	Предшественники гемопоэза
ИЛ-3 R $\alpha$	CD123	Предш. гемопоэза, гранулоциты, моноциты
ИЛ-3,5, ГМ-КСФ R $\beta$	CD131	Миелоидные клетки

## *Цитокины и рецепторы семейства ФНО*

<b>ФНО RI</b>	<b>CD120a</b>	<b>Моноциты, гранулоциты</b>
<b>ФНО RII</b>	<b>CD120b</b>	<b>Моноциты, гранулоциты, лимфоциты</b>
<b>Fas</b>	<b>CD95</b>	<b>Апоптотические клетки</b>
<b>Fas лиганд</b>	<b>CD178</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты</b>
<b>OX40</b>	<b>CD134</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты</b>
<b>OX40 лиганд</b>	<b>CD252</b>	<b>Активированные В-лимфоциты, ДК, эндотелиальные клетки</b>
<b>4-1BB</b>	<b>CD137</b>	<b>Т-лимфоциты</b>
<b>CD30 лиганд</b>	<b>CD153</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты</b>
<b>CD40 лиганд</b>	<b>CD154</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты, базофилы, тучные клетки</b>
<b>TRAIL</b>	<b>CD253</b>	<b>Активированные Т-, В-лимфоциты, моноциты</b>
<b>TRAIL R1</b>	<b>CD261</b>	<b>Лейкоциты, опухолевые клетки</b>
<b>TRAIL R2</b>	<b>CD262</b>	<b>Многие типы клеток</b>
<b>TRAIL R3</b>	<b>CD263</b>	<b>Многие типы клеток</b>
<b>TRAIL R4</b>	<b>CD264</b>	<b>Многие типы клеток</b>
<b>TRANCE, RANKL</b>	<b>CD254</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты, остеобласты, стромальные клетки</b>
<b>RANK, TRANCE-R</b>	<b>CD265</b>	<b>Многие типы клеток</b>
<b>APRIL</b>	<b>CD256</b>	<b>Миелоидные клетки</b>
<b>BlyS, BAFF</b>	<b>CD257</b>	<b>Миелоидные клетки</b>
<b>LIGHT</b>	<b>CD258</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты, незрелые ДК</b>
<b>TWEAK-R</b>	<b>CD266</b>	<b>HUVEC</b>
<b>BAFF-R</b>	<b>CD268</b>	<b>Т-, В-лимфоциты</b>

## *Рецепторы хемокинов*

<b>CCR1</b>	<b>CD191</b>	<b>Т-лимфоциты, моноциты, стволовые клетки</b>
<b>CCR2</b>	<b>CD192</b>	<b>Моноциты, Т-, В-лимфоциты, базофилы, эндотелиальные клетки</b>
<b>CCR3</b>	<b>CD193</b>	<b>Эозинофилы, базофилы, Т-лимфоциты, ДК</b>
<b>CCR4</b>	<b>CD194</b>	<b>Т-лимфоциты, базофилы, моноциты, тромбоциты</b>
<b>CCR5</b>	<b>CD195</b>	<b>Моноциты, Т-лимфоциты,</b>
<b>CCR6</b>	<b>CD196</b>	<b>Т-, В-лимфоциты, ДК</b>
<b>CCR7</b>	<b>CD197</b>	<b>Т-лимфоциты</b>
<b>CCR8</b>	<b>CDw198</b>	<b>Т-лимфоциты, моноциты</b>
<b>CCR9</b>	<b>CDw199</b>	<b>Т-лимфоциты</b>
<b>CXCR1</b>	<b>CD181</b>	<b>Нейтрофилы, Т-лимфоциты</b>
<b>CXCR2</b>	<b>CD182</b>	<b>Моноциты, гранулоциты, Т-лимфоциты</b>
<b>CXCR3</b>	<b>CD183</b>	<b>Активированные Т-лимфоциты и НК клетки</b>
<b>CXCR4</b>	<b>CD184</b>	<b>Моноциты, Т-, В-лимфоциты, эндотелиальные клетки, ДК</b>
<b>CXCR5</b>	<b>CD185</b>	<b>Т-, В-лимфоциты</b>
<b>CXCR6</b>	<b>CD186</b>	<b>Т-лимфоциты</b>

# ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

- 1. Фенотипическая характеристика клеток.**
- 2. Определение функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток.**
- 3. Оценка тяжести воспалительного процесса, его перехода на системный уровень и прогноза (уровень некоторых цитокинов коррелирует с летальностью при сепсисе).**
- 4. Соотношение процессов активации Т-хелперов 1, 2, 17 и др. (дифференциальная диагностика ряда аллергических, инфекционных и иммунопатологических процессов).**
- 5. Оценка развития ряда воспалительных и аутоиммунных заболеваний (повышение уровня цитокинов в плазме крови опережает клинические проявления при ревматоидном артрите и системной красной волчанке).**

# ЦИТОКИНЫ В КЛИНИКЕ

## 1. Лечение препаратами цитокинов

Усиление действия эндогенных цитокинов (ИЛ, КСФ, ИФНа), заместительная терапия (ЭПО), иммуномодулирующее действие (ИФН бета)

## 2. Цитокиновая генотерапия рака, Генетическая коррекция иммунодефицитов

## 3. Антицитокиновая терапия

Удаление или блокирование действия  
эндогенных цитокинов

# ПРЕПАРАТЫ ЦИТОКИНОВ

## ПРИРОДНЫЕ

- Естественный состав
- Невысокая степень очистки
- Невозможность стандартизации и полной характеристики из-за большого числа биологически активных веществ
- Использование в производстве компонентов крови

## РЕКОМБИНАНТНЫЕ

Индивидуальные полностью охарактеризованные по биохимическим и биологическим свойствам вещества

# ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

## СТИМУЛЯЦИЯ КРОВЕТВОРЕНИЯ

- **Эритропоэз – эритропоэтин**
- **Лейкопоэз – Г-КСФ, ГМ-КСФ, ИЛ-1 бета**
- **Тромбопоэз – тромбопоэтин, ИЛ-11**
- **Лимфопоэз – ИЛ-7**



# ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА

- **НЕФРОЛОГИЯ**

- дефицит ЭПО у больных ХПН

- **ОНКОЛОГИЯ**

- анемия у больных, получающих радио- и химиотерапию

- **ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ**

- анемия вызванная применением Зидовудина у ВИЧ-пациентов

- **РЕВМАТОЛОГИЯ**

- анемия у больных ревматоидным артритом

- **ХИРУРГИЯ**

- применение ЭПО для уменьшения объема переливаемой крови

- **АКУШЕРСТВО**

- лечение анемии беременных

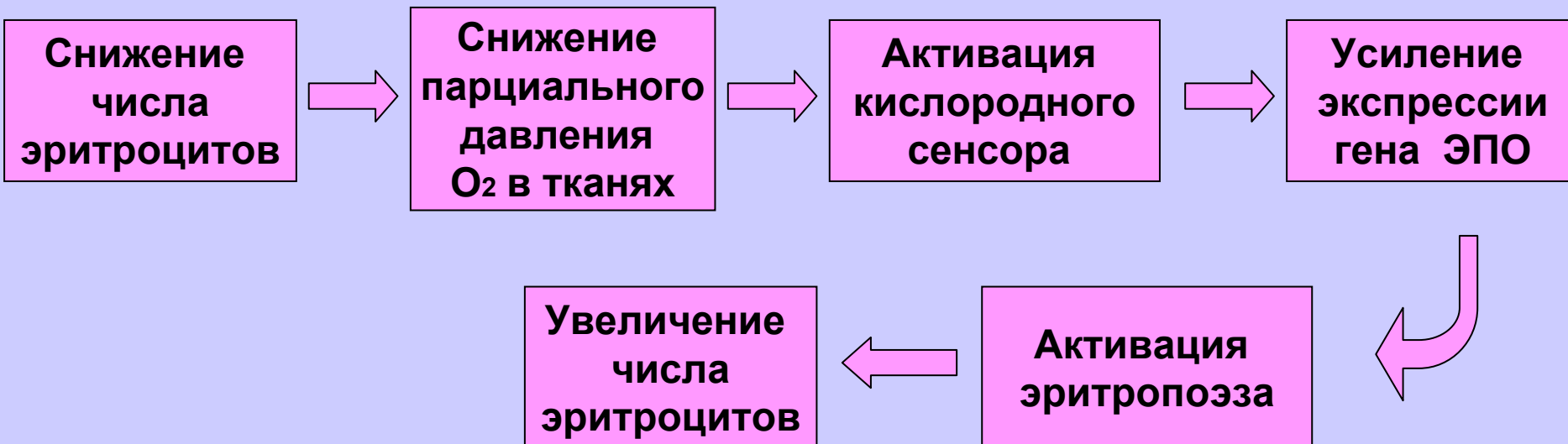
- **ПЕДИАТРИЯ**

- лечение анемии недоношенных детей

# Основные органы и ткани организма продуцирующие эритропоэтин

- почки (перитубулярные клетки) ~ 90 %
- печень (Купферовские клетки) ~ 10 %
- костный мозг
- селезенка
- матка, маточные трубы, плацента, яичники
- перитубулярные клетки, клетки Сертоли
- нейроны, астроциты, сосудистый эндотелий

## МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА ЭРИТРОПОЭТИНА ЭПИТЕЛИЕМ ПОЧЕК



# МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА ПРИ ТРАВМАХ

- **АКТИВАЦИЯ ЭРИТРОПОЭЗА – КОМПЕНСАЦИЯ КРОВОПОТЕРИ**
- **Активация системы фактора роста сосудистого эндотелия и его рецепторов (VEGF/VEGF receptor system), НЕОАНГИОГЕНЕЗ**
- **Непосредственное тормозящее действие на апоптоз клеток, активация Vcl-2, инактивация каспаз**

# **ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ**

## **ТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

- **ИФН альфа – вирусные инфекции (гепатиты, папилломавирусные и др.)**
- **ИФН гамма - гранулематозная болезнь, туберкулез, хламидиоз, вирусные инфекции**
- **ИЛ-1 бета, ИЛ-2 – вирусные инфекции (гепатиты, герпес), бактериальные инфекции (туберкулез, гнойные синуситы, абсцессы, флегмоны, панкреатит, остеомиелит и др.)**
- **Г-КСФ, ИЛ-2 – иммуностимуляция и лечение оппортунистических инфекций при СПИДе.**

# Интерферон $\alpha$

- Продуцируется лейкоцитами и многими другими типами клеток при индукции вирусами и двуспиральной (дс)РНК.
- Обладает противовирусным, антипролиферативным и иммуномодулирующим действием
- Кодировается семейством генов: подсемейство  $\alpha 1$  (23 гена) и подсемейство  $\alpha 2$  (1 ген), гомология 80%.

# ИФН- $\alpha$ в лечении вирусных заболеваний

## Острые вирусные инфекции:

Грипп и ОРВИ, корь, эпидемический паротит, инфекционный мононуклеоз, бешенство и другие.

## Хронические вирусные инфекции:

Вирусные гепатиты В и С;

Папилломавирусные заболевания (остроконечные кондиломы, папилломатоз гортани);

Различные герпетические поражения;

ВИЧ-инфекция

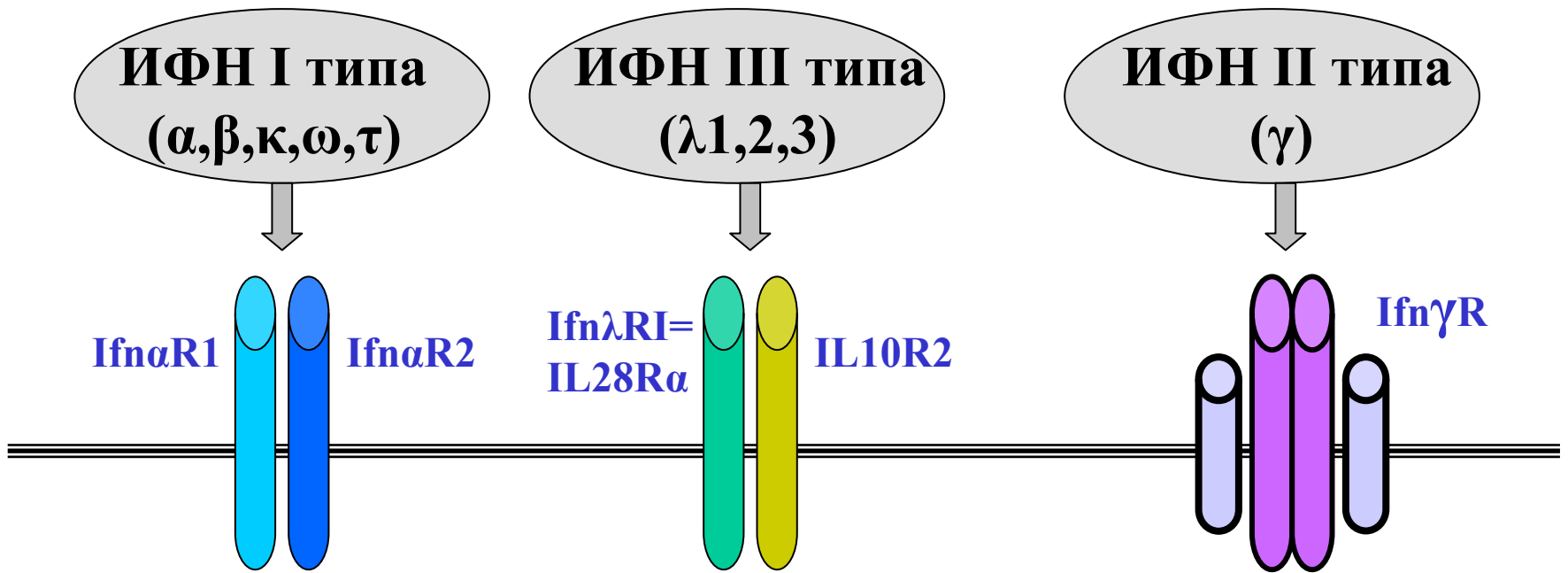
# Результаты применения аэрозольной формы препарата Интераль для лечения больных с ОРВИ в эпидемический период

Симптомы ОРВИ	Сроки купирования симптомов ОРВИ (дни)	
	Лечение аэрозольным ИФН (n = 30)	Контрольная группа (n = 30)
Субъективные симптомы (слабость, головные и мышечные боли)	2-3	5
Лихорадка	2-3	4-6
Катаральный ринит	84% - 2-3 16% - 4	5-8
Фарингит	78% - 2 22% - 3	4-5

Доза – 10 000 МЕ/мл; применение – самостоятельно сразу после начала заболевания в каждую половину носа по 0,1-0,2 мл каждые 2 часа, исключая время сна, 3-5 дней до исчезновения симптомов.

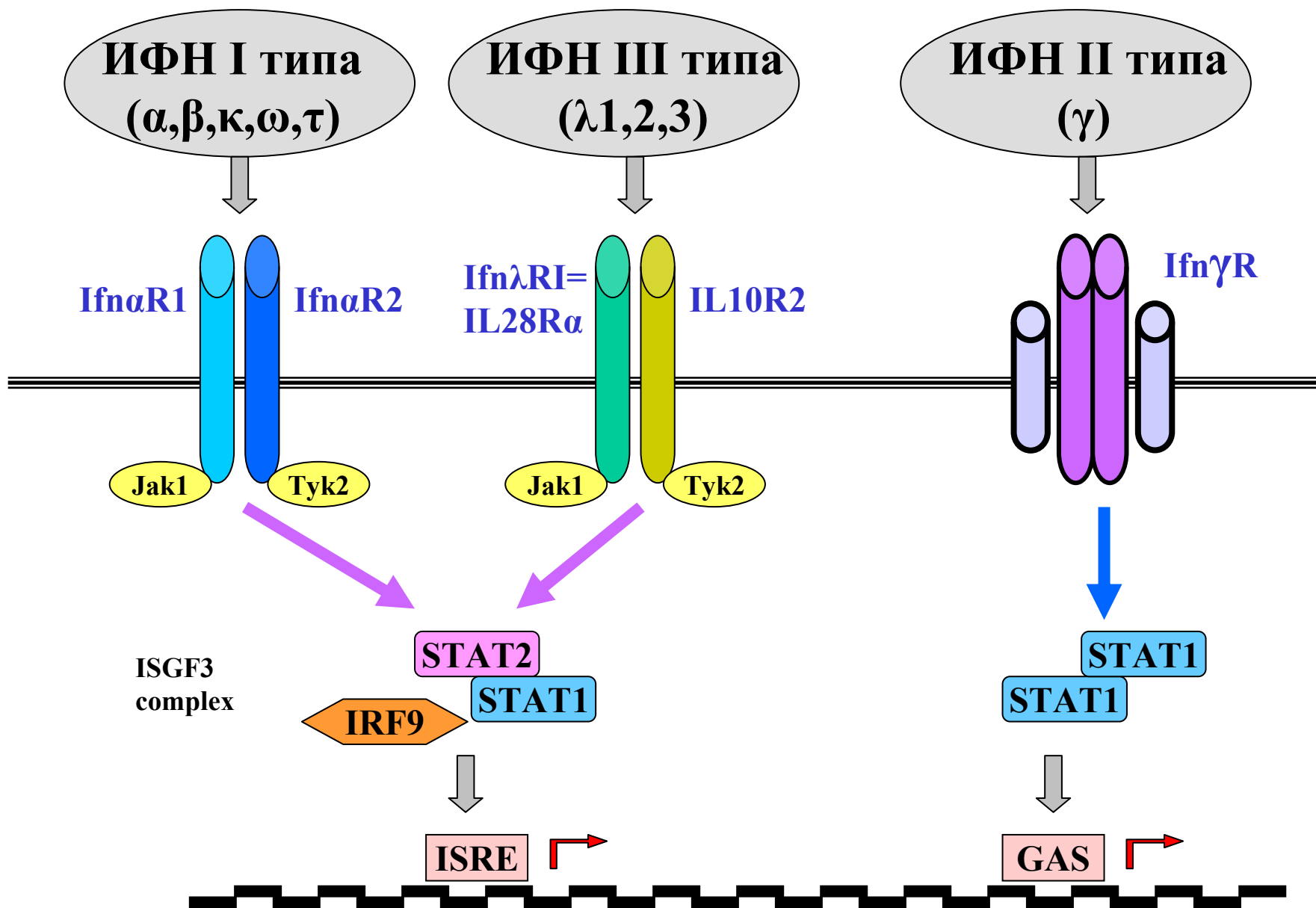
**ОБЩИЙ ВЫВОД – СОКРАЩЕНИЕ СРОКОВ ЛЕЧЕНИЯ НА 2-3 ДНЯ**

# ИНТЕРФЕРОНЫ

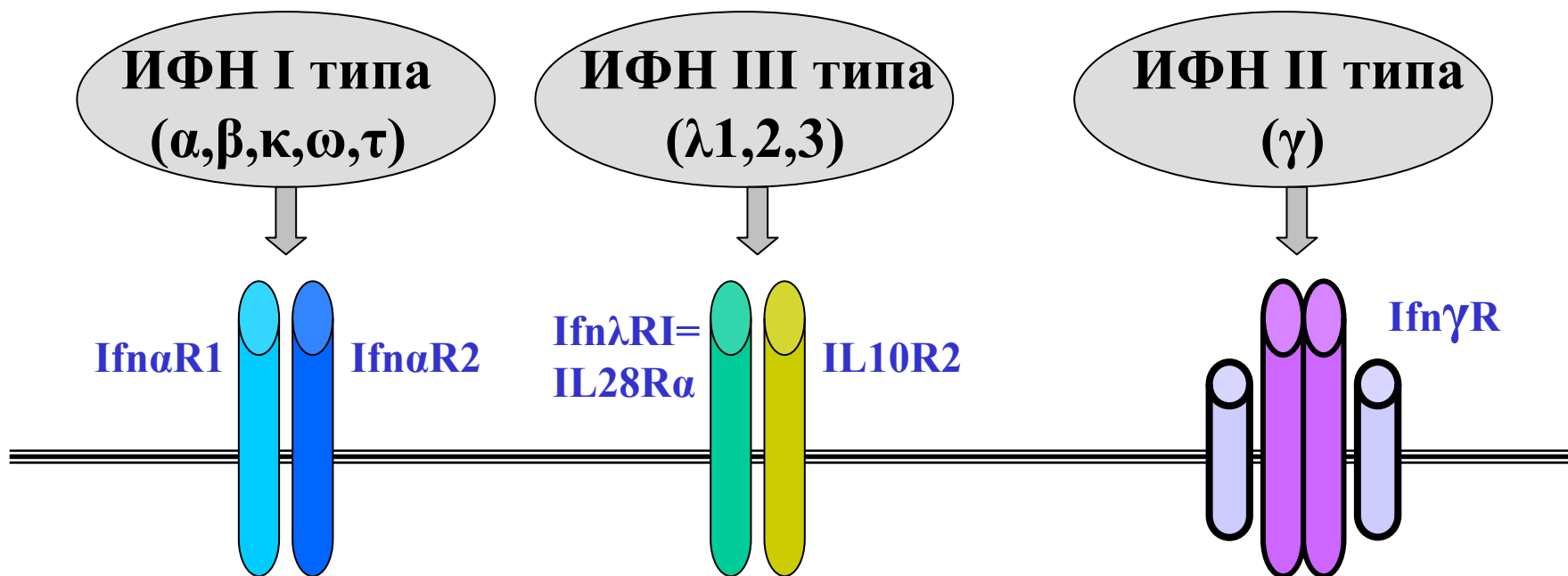




# ИНТЕРФЕРОНЫ



# ИНТЕРФЕРОНЫ



Эпителий

**Лейкоциты**

Гепатоциты

Многие другие клетки

Эпителий

Гепатоциты

Некоторые

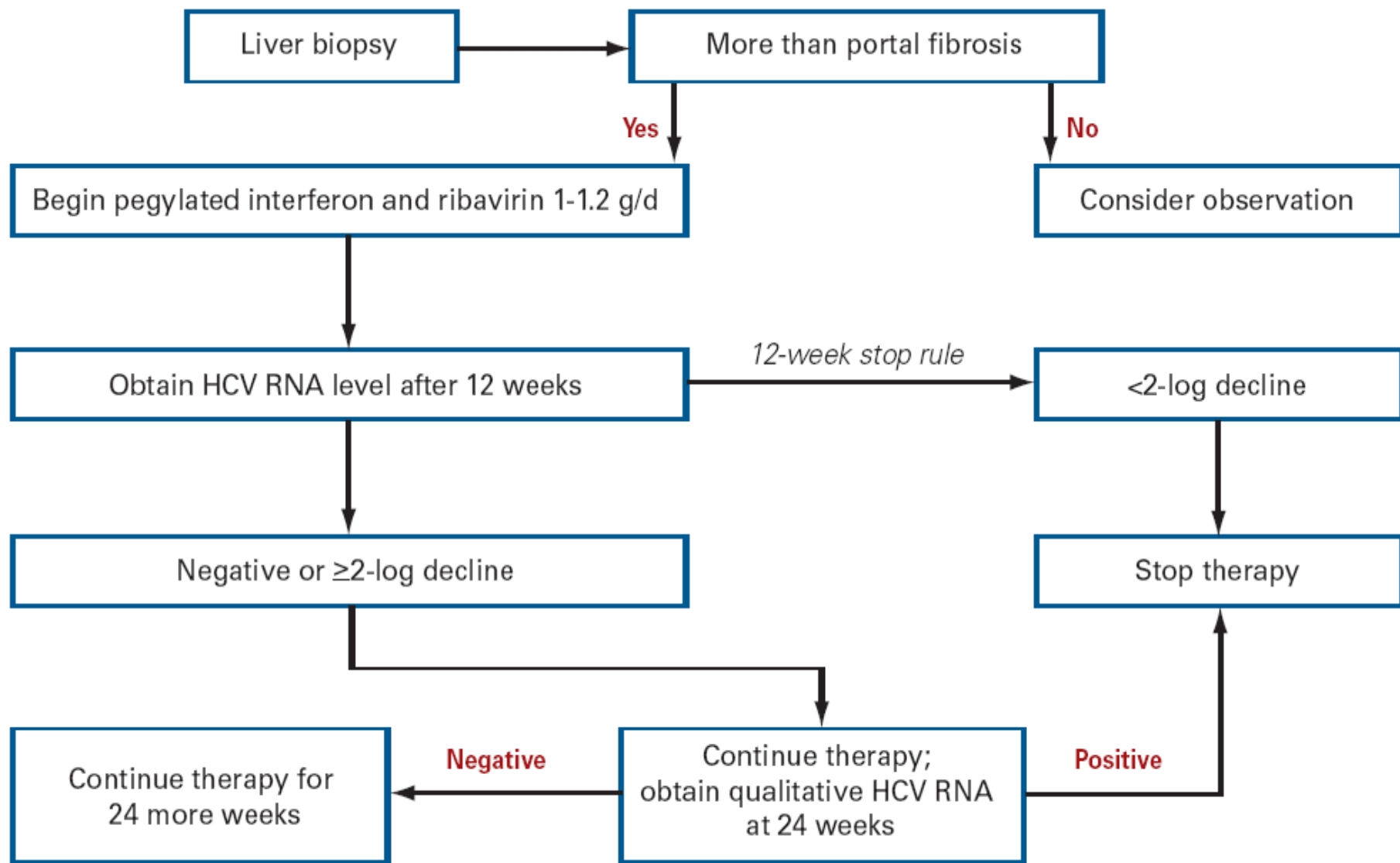
другие клетки

Клетки, экспрессирующие рецепторы

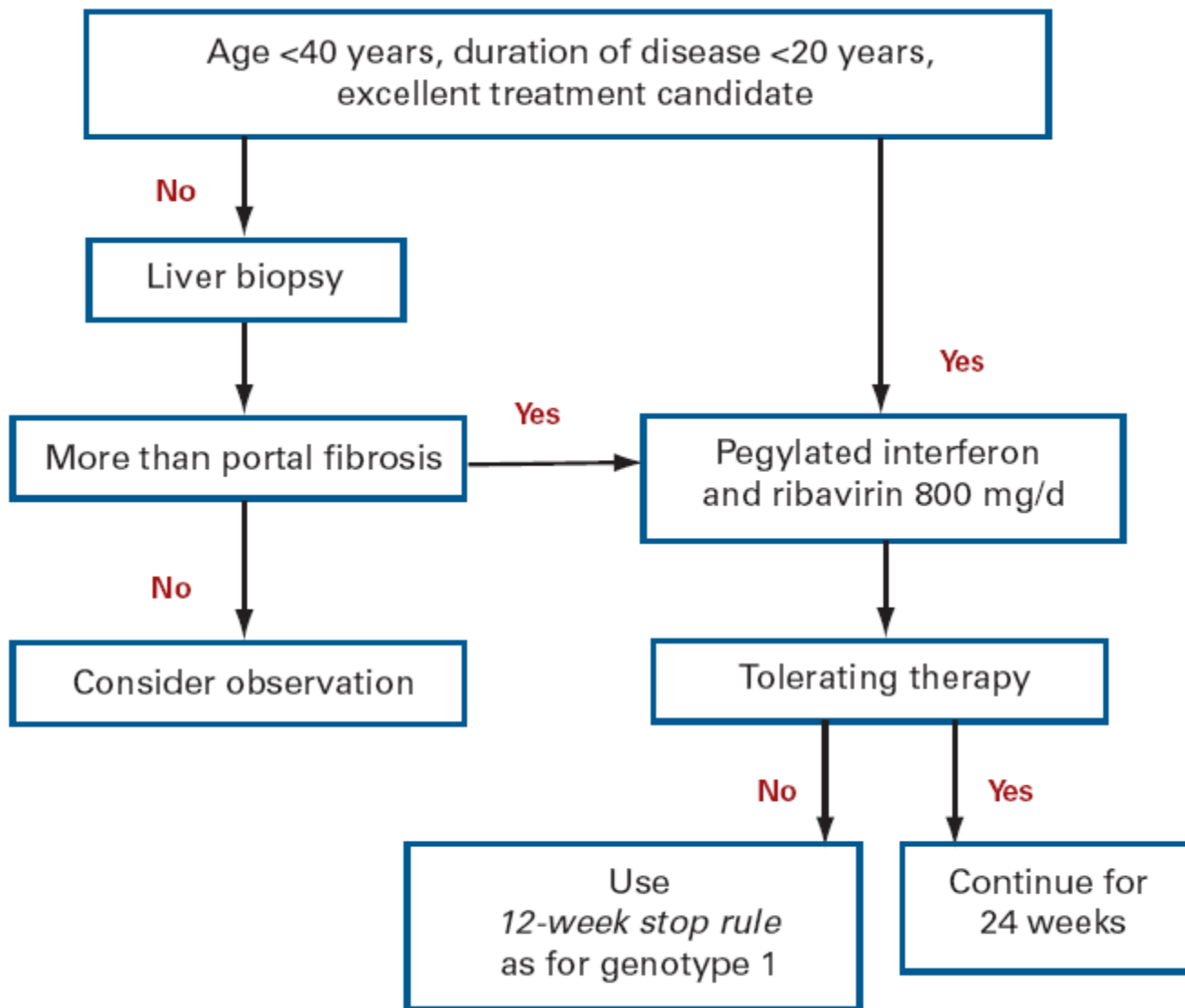
# **Терапевтические схемы противовирусной терапии больных гепатитом С**

- 1. Монотерапия альфа-интерфероном только  
больным ОГС**
- 2. Комбинированная терапия альфа-  
интерфероном в сочетании с рибавирином-  
48 недель**
- 3. ПЭГ-интерфероны-48 недель**
- 4. Комбинированная терапия ПЭГ-  
интерфероном в сочетании с рибавирином-  
24-48 недель**

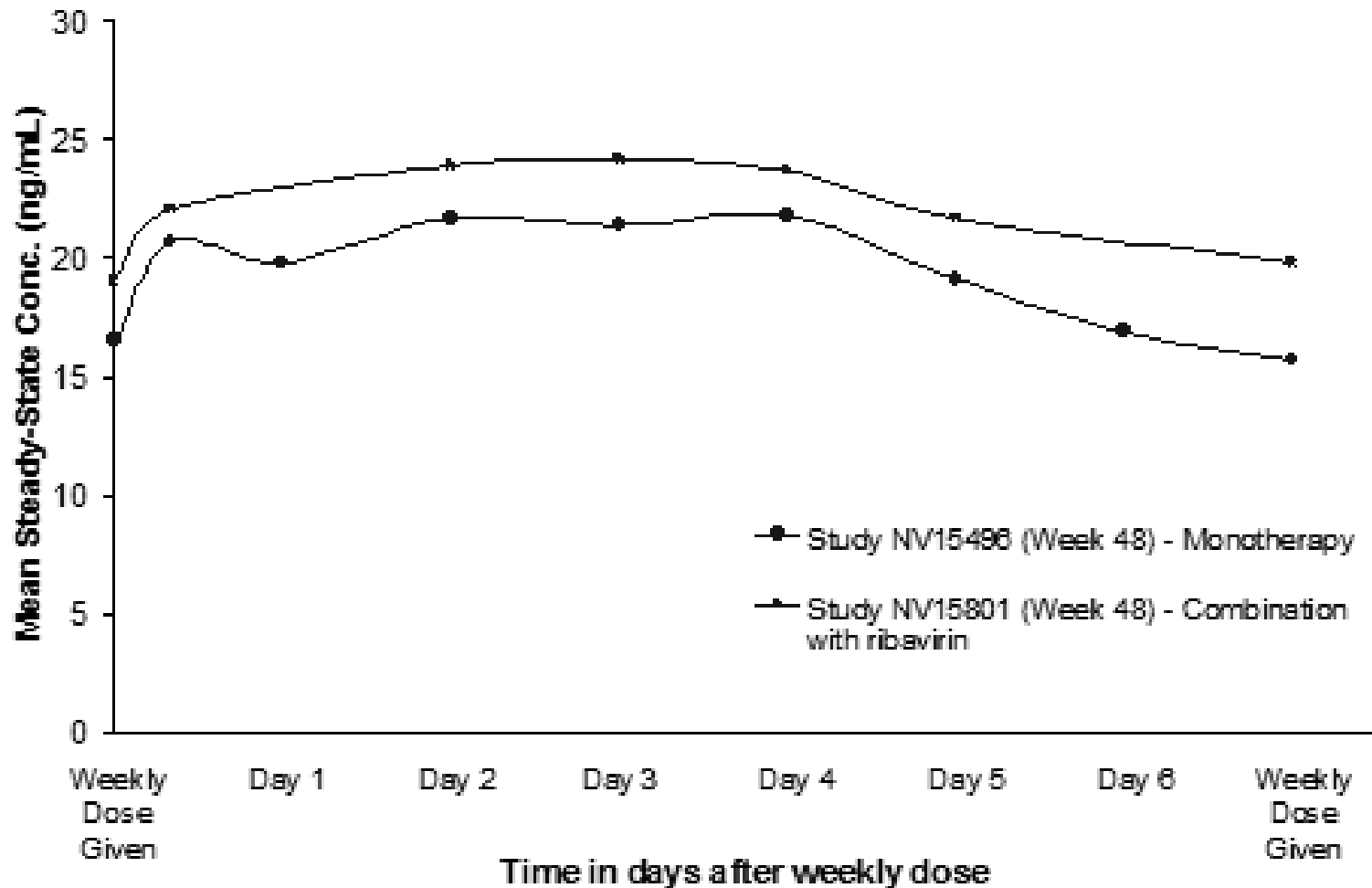
# Схема ведения больных хроническим вирусным гепатитом С (генотип 1)



# Схема ведения больных хроническим вирусным гепатитом С (генотип 2, 3)



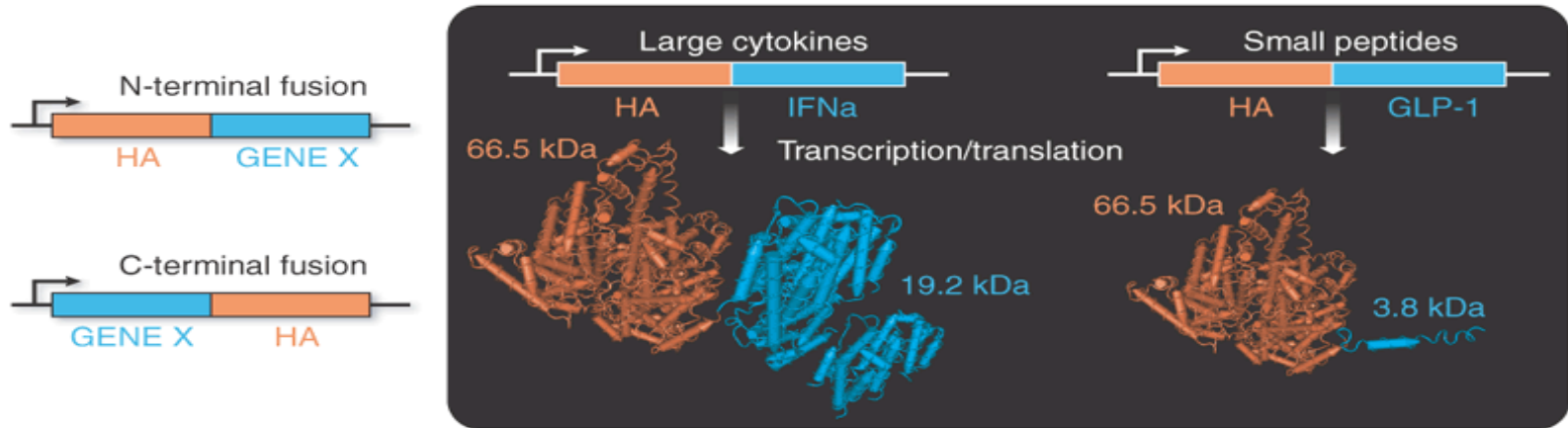
# ИНТЕРФЕРОН – ПРОЛОНГИРОВАННЫЕ ФОРМЫ



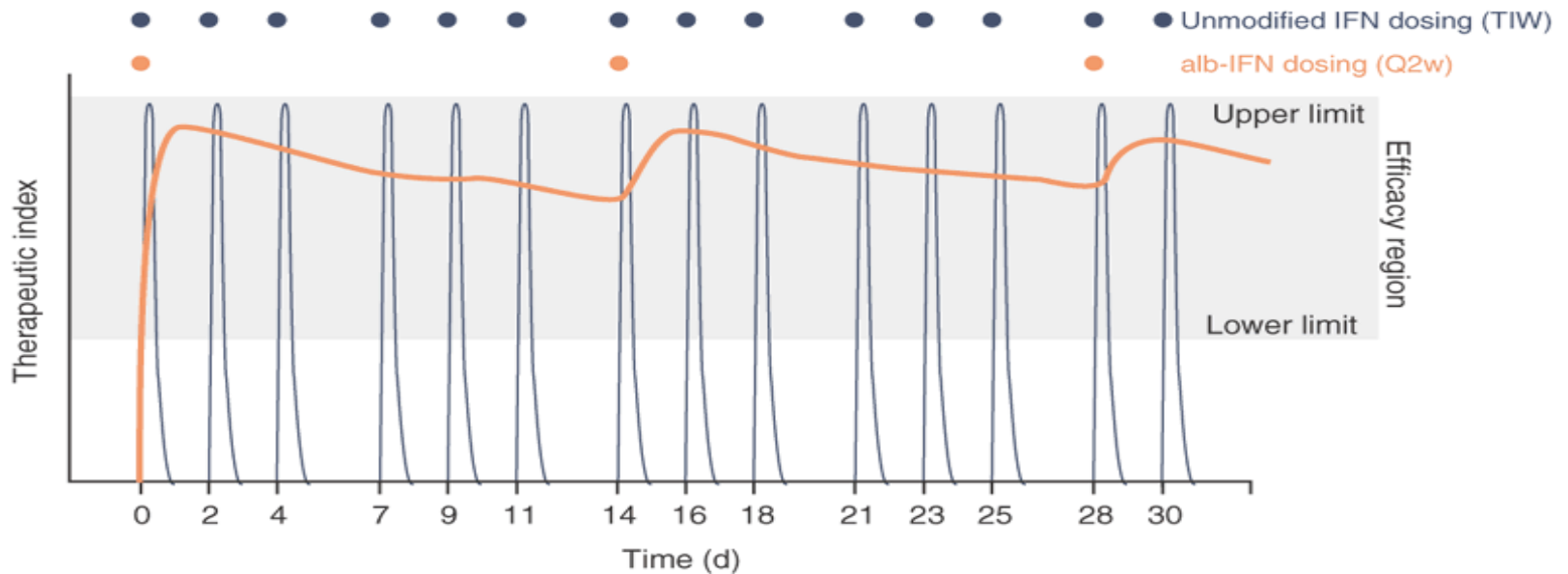
Средние равновесные концентрации пэгинтерферона альфа-2а у больных хроническим вирусным гепатитом С, получавших монотерапию Пегасисом® 180 мкг/неделю или комбинацию Пегасис/рибавирин (данные компании Ф.Хоффманн-Ля Рош Лтд., Швейцария)

**a**

## Design flexibility

**b**

## Reduced dosing frequency and sustained exposure



# ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

## ТЕРАПИЯ РАКА

**Цитокины могут оказывать 4 основных вида биологических эффектов, связанных с противоопухолевой активностью:**

- **Антипролиферативное действие**
- **Иммуномодулирующее действие**
- **Индукция апоптоза**
- **Антиангиогенное действие**



# ЦИТОКИНЫ В ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕЙ:

Лечение В-клеточных лимфом, рака почки – ИФН альфа, ИЛ-1, ИЛ-2

Генотерапия рака – ГМ-КСФ, ИЛ-24, ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2, ИФН гамма, ИЛ-4, ИЛ-12 и др.

Адоптивная иммунотерапия – ЛАК + ИЛ-2

Генерация дендритных клеток – ГМ-КСФ + ИЛ-4

Другие подходы - Mullerian Inhibitory Substance (MIS)

# ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

## ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ СПИД

- 1) Использование аналогов хемокинов для блокирования взаимодействия ВИЧ с рецепторами хемокинов и предотвращения инфицирования клеток при попадании вируса в организм
- 2) Коррекция Т-клеточного иммунодефицита – основной составляющей иммунопатогенеза СПИД
- 3) Цитокиновая терапия гематологических, инфекционных и других осложнений СПИД

# ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

## ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

- Аутоиммунные заболевания – ИФН бета при РС, антицитокиновая терапия
- Аллергия – ИЛ-10, изменение баланса Т-лимфоцитов хелперов

# ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЙ ЦИТОКИНОВОЙ ТЕРАПИИ В АЛЛЕРГОЛОГИИ

- **ИНТЕРФЕРОНЫ:**

$\alpha$  – возможно применение аэрозольных форм при рините и бронхиальной астме

$\beta$  – клинические испытания аэрозольных форм при инфекционно-аллергической астме

$\gamma$  – данные противоречивы, возможно ухудшение течения БА

- **ИЛ-10** – подавление иммунного ответа, начаты клинические испытания

- **ИЛ-12** – несмотря на снижение эозинофилии клинические испытания прекращены из-за выраженного провоспалительного действия

# ПЕРСПЕКТИВЫ АНТИЦИТОКИНОВОЙ ТЕРАПИИ В АЛЛЕРГОЛОГИИ

Мишени терапии	Механизм действия	Препараты и внедрение
ИЛ-4	Подавление Th2, синтез IgE	<u>Altrakincept</u> – внеклеточная часть ИЛ-4R $\alpha$ человека, ингаляции. III фаза. <u>Rascalizumab</u> – гуманизированные МАТ против ИЛ-4. II фаза. <u>Вакцина против ИЛ-4</u> – испытания на мышах.
ИЛ-13	Подавление Th2, IgE, воспаления слизистой	<u>Pitrakinra</u> – мутантный ИЛ-4, блокирующий связывание ИЛ-4 и ИЛ-13 с рецепторами <u>SAT-354</u> – МАТ против ИЛ-13. II фаза.
ИЛ-5	Подавление Th2, активации эозинофилов	<u>Merpolizumab</u> - гуманизированные МАТ против ИЛ-5. Снижение числа эозинофилов, но без клинического эффекта у больных с БА.
ИЛ-9	Подавление воспаления	<u>MEDI-528</u> – МАТ против ИЛ-9. II фаза.

# **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ЦИТОКИНОВОЙ ТЕРАПИИ**

- 1. Не существует единых противопоказаний для всех цитокинов**
- 2. Всегда следует учитывать индивидуальные особенности пациента**

- Острый период после травмы (операции)**
- Синдром системного воспалительного ответа**
- Аллергия**  
**(исключение - иммуномодулирующая терапия цитокинами)**
- Аутоиммунные заболевания**  
**(исключение – терапия РС ИФН бета)**

# **ПРОБЛЕМЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ**

- **Побочные эффекты, связанные со степенью чистоты рекомбинантных препаратов либо с плеiotропным механизмом биологического действия**
- **Фармакокинетика – короткий период циркуляции**
- **Инъекционные формы**

# **ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОКИНОВ**

- **Новые лекарственные формы**
- **Индивидуализированная цитокиновая терапия**
- **Использование биологических свойств, проявляющихся на определенных стадиях эмбрионального развития**
- **Генотерапия**



# **НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ЦИТОКИНОВ**

- **Пролонгированные формы**
- **Пероральные таблетированные формы**
- **Аэрозоли для местного применения либо для системного введения препаратов цитокинов**
- **Местное применение с использованием фонофореза**
- **Мазевые формы**
- **Биодеградируемые губки**

# ЛЕЧЕБНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЦИТОКИНОВ

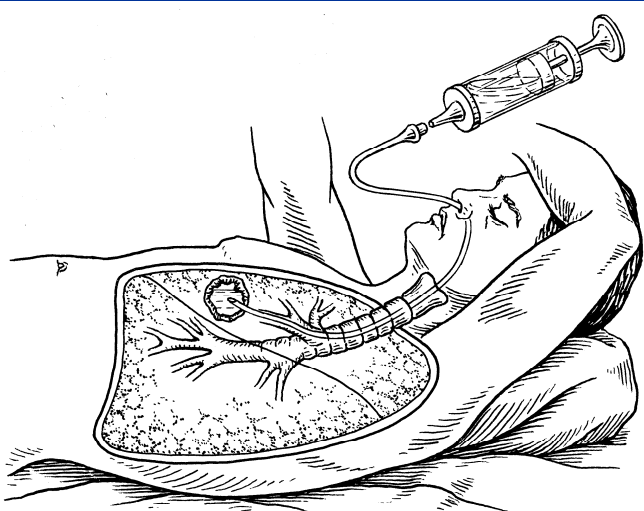
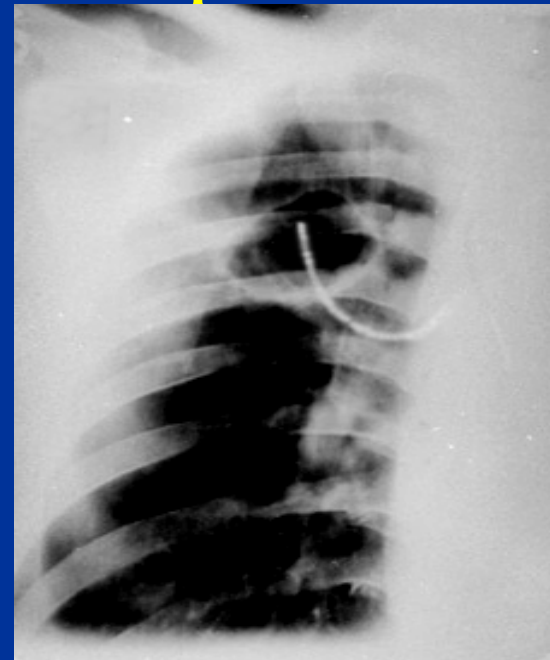
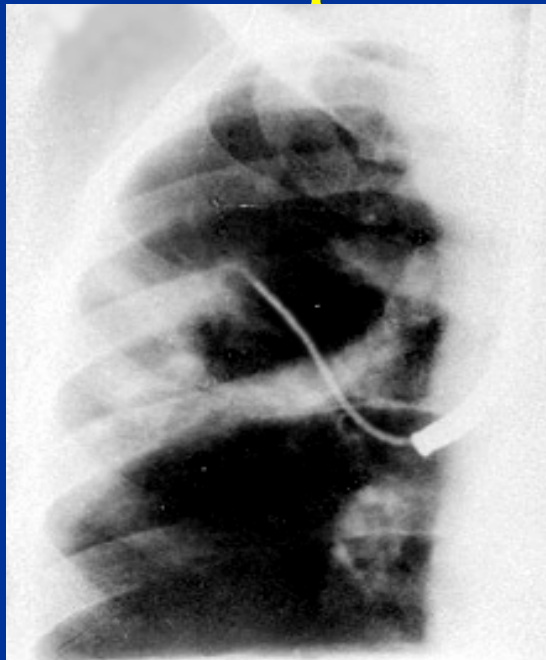
## МЕСТНОЕ

- Высокая локальная концентрация цитокинов
- Отсутствие системных побочных эффектов

## СИСТЕМНОЕ

- Действие на уровне организма
- Активация разных механизмов развития защитных реакций

# Использование длительной трансбронхиальной катетеризации полости абсцесса для введения интерлейкина-1 бета в очаг поражения



## Беталейкин

в концентрации 10 нг/мл  
в 0,9% растворе NaCl,  
в полость абсцесса ежедневно  
в течение 7 дней

# КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА БЕТАЛЕЙКИН У БОЛЬНЫХ С АБСЦЕССАМИ ЛЕГКИХ

Результат лечения	Больные (n = 30)	Изменения клинических показателей
Полное выздоровление	30,0%	Полное исчезновение полости абсцесса через 1-3 месяца
Клиническое улучшение	56,7%	Уменьшение размеров полости абсцесса в 2 раза через 1-3 месяца
Без эффекта	13,3%	Нет изменений в клинической картине

# Эффективность применения Беталейкина при ХГРС (%)

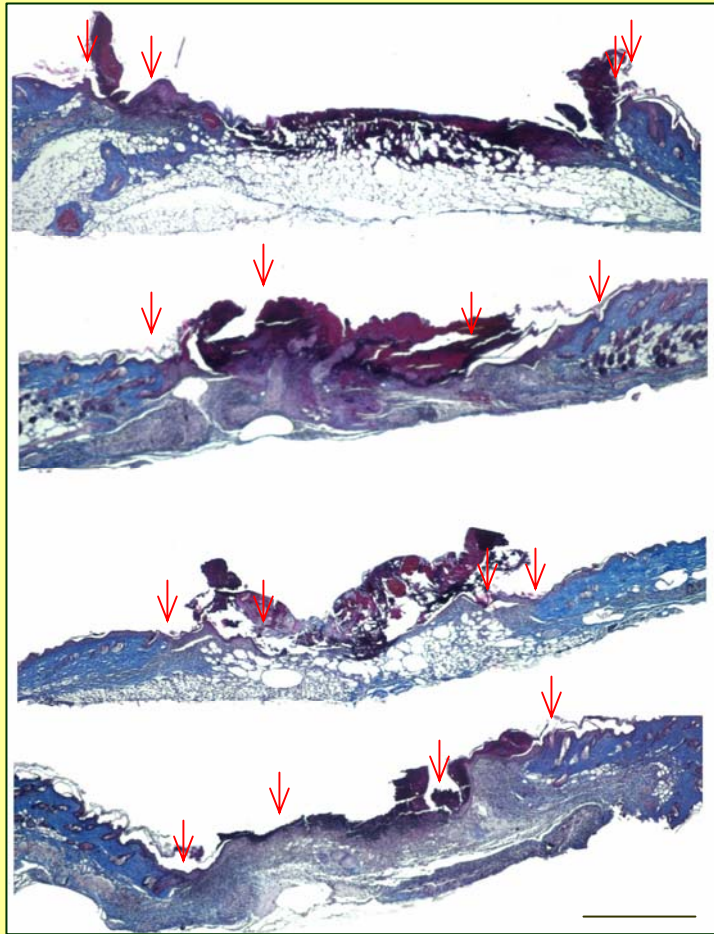
(Л.Ф.Азнабаева, 2004)

Результаты лечения	Тради- ционные методы	БЛ местно	БЛ внутривенно		
Отличный	0	30,0	58,3		
Хороший	33,3	45,0	25,0		
Удовлетв.	46,7	25,0	14,6		
Неудовлет.	20,0	0	2,1		
Всего:	100,0	100,0	100,0		

# ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

<b>Сроки наблюдения</b>	<b>РЕЦИДИВЫ ХГРС при различных вариантах терапии</b>		
	<b>Традиционная терапия</b>	<b>Беталейкин местно</b>	<b>Беталейкин внутривенно</b>
<b>До 1 года</b>	<b>7,7 %</b>	<b>10 %</b>	<b>0 %</b>
<b>1-5 лет</b>	<b>46 %</b>	<b>15 %</b>	<b>21%</b>

# Ранозаживляющее действие рИЛ-1 бета



Контроль

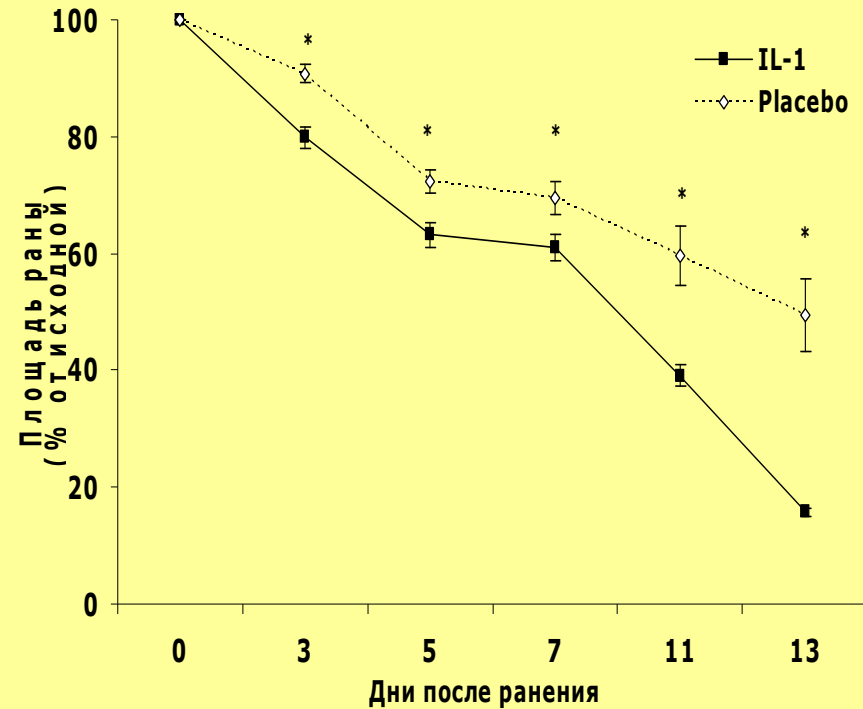
5 день

ИЛ-1

Контроль

9 день

ИЛ-1



Объектив x2,5; шкала = 400 мкм.

# **КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МАЗИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ИЛ-1 $\beta$ , ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

<b>Клинические критерии эффективности</b>	<b>Плацебо n=21</b>	<b>Мазь с ИЛ-1 100 нг/мл n=43</b>
<b>Скорость заживления (%/сутки)</b>	<b>2,53<math>\pm</math>0,63</b>	<b>3,8<math>\pm</math>0,9</b>
<b>Сроки появления эпителизации (сут)</b>	<b>4,59<math>\pm</math>0,45</b>	<b>3,3<math>\pm</math>0,22</b>
<b>Сроки появления грануляций (сут)</b>	<b>3,9<math>\pm</math>0,35</b>	<b>2,2<math>\pm</math>0,58</b>



# КОРРЕКЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ

Генотерапия тяжелого комбинированного иммунодефицита с использованием гена гамма цепи рецептора ИЛ-2

Генотерапия проведена 11 детям с ТКИД

Результаты:

У 9 детей – полное восстановление иммунологической реактивности

У 2 детей наблюдалось развитие лимфопролиферативных синдромов

# ЦИТОКИНЫ В КЛИНИКЕ

## Антицитокиновая терапия

### Удаление или блокирование действия эндогенных цитокинов

1. Естественные ингибиторы – рецепторный антагонист ИЛ-1 (АРИЛ, Анакинра)
2. Моноклональные антитела
  - гуманизированные (Infliximab)
  - человеческие (Adalimumab)
3. Растворимые рецепторы
  - Fc фрагмент IgG человека с рецептором ФНО (Etanercept)
  - рецепторы-ловушки для ИЛ-6

# КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ЦИТОКИНОВ

- **Высокая эффективность лечения по сравнению с традиционными методами**
- **Отсутствие или значительное снижение числа рецидивов**
- **Местное или системное применение рекомбинантного препарата идентичного эндогенным медиаторам иммунитета**
- **Возможность сочетания с химиотерапией и терапией антибиотиками**
- **Сокращение сроков лечения**
- **Снижение потребности в химиотерапии**
- **Снижение общей стоимости лечения**

# **БЛАГОДАРНОСТИ:**

**Медицинская академия последипломного образования (С-Петербург):**

**А.Н.Бубнов, В.В.Москаленко**

**В.И.Мазуров, К.В.Раймуев**

**ВМА (С-Петербург):**

**А.В.Саламатов, Л.Н.Бисенков**

**Областная больница (Уфа):**

**Л.Ф.Азнабаева, Н.А.Арефьева**

**Областная больница (Екатеринбург):**

**О.Б.Бродовская, Е.Б.Савлевич,**

**Х.Т.Абдулкеримов**