

Место копаксона в терапии пациентов с ремиттирующей формой рассеянного склероза

Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Быченко С.М., Соколова А.А.

Copaxone in therapy of remittent disseminated sclerosis patients

Kitcherova O.A., Reikher L.I., Bychenko S.M., Sokolova A.A.

Тюменская государственная медицинская академия, г. Тюмень

© Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Быченко С.М.

В процессе двухлетнего наблюдения 23 больных ремиттирующим рассеянным склерозом изучено влияние копаксона на клинические проявления и течение данного заболевания во взаимосвязи с состоянием мембрано-дестабилизирующих процессов в эритроцитах больных.

Ключевые слова: рассеянный склероз, копаксон, перекисное окисление липидов.

Twenty three remittent disseminated sclerosis patients have been observed for two years to study the influence of copaxone on clinical manifestations and course of their disease in relation to the state of membrane-destabilizing processes in erythrocytes.

Key words: disseminated sclerosis, copaxone, lipid peroxidation.

УДК 616.832-004.2-085

Введение

Несмотря на почти 150-летнюю историю изучения рассеянного склероза (РС), лечение его остается сложной задачей, что связано прежде всего с недостатком знаний о патогенезе этого тяжелого заболевания и причинах, его вызывающих. В настоящее время ведутся активные работы по изучению патогенеза РС, уже известно, что не только и не столько иммунологические механизмы вызывают массу своеобразных патологических изменений у лиц, страдающих этим заболеванием. Широкое внедрение в медицинскую практику на рубеже XX и XXI вв. препаратов для превентивного лечения РС, которые в настоящее время доказали свою эффективность, позволило расширить возможности помощи данной категории больных.

Этиотропных средств для лечения рассеянного склероза нет. В настоящее время основными направлениями в терапии РС являются:

- 1) восстановление после экзacerbаций;
- 2) предупреждение и снижение частоты экз-

acerbаций; 3) торможение прогрессирования патологического процесса.

На современном этапе наиболее перспективным направлением лечения рассеянного склероза является применение препаратов, снижающих частоту обострений и замедляющих прогрессирование патологии. В качестве таких средств, способных изменить течение заболевания, первыми стали применяться интерфероны, которые наряду с доказанной эффективностью обладают всеми недостатками данной группы лекарственных веществ. В связи с этим безусловно перспективным является поиск новых препаратов неинтерфероновой природы, обладающих клинической эффективностью, замедляющих прогрессирование этого тяжелого заболевания, при этом не оказывающих глобального воздействия на иммунную систему больного. Практически единственным представителем этой группы является копаксон [3, 6, 14].

Материал и методы

В режиме мониторинга были обследованы 46 больных ремиттирующим рассеянным склерозом (РС): 35 женщин и 11 мужчин. Общая продолжительность исследования составила 2 года. Диагноз рассеянного склероза установлен на основании критериев McDonald и соавт. [18]. Степень инвалидизации по шкале EDSS не превышала 5,5 балла.

Все больные РС были разделены на две группы: 23 пациента получали копаксон в комплексе лечебных мероприятий (группа наблюдения) и 23 — обычный комплекс терапии (группа сравнения). Клинические группы рандомизированы по полу, возрасту, тяжести клинических проявлений заболевания таким образом, что в группу сравнения были включены больные ремиттирующим рассеянным склерозом, в наибольшей степени сопоставимые по полу, возрасту и тяжести клинических проявлений заболевания с пациентами основной группы (группы наблюдения). Средний балл инвалидизации по шкале EDSS в основной группе составлял 3,17, в группе сравнения — 2,21. Обязательным условием включения в исследование было наличие не менее 2 обострений в течение последних 2 лет. Среднее количество экзacerbаций в обеих группах на протяжении 2 лет, предшествовавших исследованию, составило в основной группе 3,26 на одного пациента и 3,22 — в группе сравнения. При этом в обеих группах преобладали пациенты с 3–4 обострениями за двухлетний период.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых доноров аналогичного возраста.

Для решения поставленных задач использован комплекс биохимических и биофизических методов исследования, а в качестве модели — эритроцит периферической крови (стабилизатор — гепарин в количестве 25 ЕД на 1 мл крови). Посуда для отбора и обработки крови была дважды силиконирована. Мембранный комплекс (тени эритроцитов) получали методом осмотического гемолиза [5]. Для приготовления липидных экстрактов использовали 0,1 мл теней эритроцитов. Конечные результаты пересчитывали на 1 мг липидов, для чего в одном из экстрактов у каждого больного РС определяли общее

содержание липидов с помощью стандартных наборов «Био-ла-тест».

Исследовали следующие биохимические параметры:

1. Уровень антиоксидантной защиты оценивали на основании определения содержания альфа-токоферола — жирорастворимого антиоксиданта [11], исследования активности супероксиддисмутазы (СОД) — фермента антирадикальной защиты [3, 13], активности каталазы — фермента антиперекисной защиты, а также активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ) [1].

2. Структуру липидной фазы эритроцитарных мембран оценивали на основании определения содержания фосфолипидов в мембранах эритроцитов методом тонкослойной хроматографии на силикагеле [7, 8, 15] и определения холестерина методом, основанным на реакции Златкиса [10].

3. Активность процессов перекисного окисления (ПОЛ) липидов оценивали на основании изучения содержания продуктов ПОЛ в мембранах эритроцитов: концентрации диеновых конъюгатов полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов [12] и концентрации шиффовых оснований [9].

4. Определяли активность ферментов трансмембранного транспорта: Na-K-, Mg-, Ca-АТФ-аз [7].

5. Определяли содержание общего интрацеллюлярного кальция в эритроцитах [17].

6. Определяли фосфолипазную активность [2].

Специальные исследования проведены у каждого больного группы сравнения дважды (в начале исследования и по прошествии 2 лет наблюдения). У каждого больного основной группы специальные исследования проведены в первые 6 мес — один раз в месяц, в дальнейшем — каждые 3 мес (всего 11 исследований у каждого больного в течение 2 лет), поскольку интересовала динамика установленных биохимических изменений в хронологическом порядке на фоне применения копаксона в комплексе лечебных мероприятий. Здоровые

лица (контрольная группа) исследованы однократно.

Статистическая обработка производилась с использованием *t*-критерия Стьюдента для парных и непарных величин. Уровень статистической значимости различий средних показателей оценивали при 95%-м доверительном интервале.

Результаты и обсуждение

В процессе двухлетнего наблюдения двух групп больных РРС (группа наблюдения и группа сравнения) проанализирована эффективность применения копаксона при ремиттирующей форме РС, которую оценивали прежде всего на основании анализа динамики клинических данных. Полученные результаты аналогичны имеющимся литературным сведениям о клинической эффективности препарата [4, 6, 14, 16, 19]. Средняя частота обострений на 1 больного за 2 года в группе, получавшей копаксон, составила 0,78, в то время как в группе сравнения — 2,91. Средний показатель инвалидизации после двухлетнего лечения копаксоном составил 3,15 балла, т.е. практически не изменился по сравнению с таковым до лечения (3,17). В группе сравнения этот показатель за двухлетний период наблюдения увеличился с 2,21 до 3,26. У подавляющего числа больных (73,9%), получавших копаксон в комплексе лечения, нарастания инвалидизации не произошло, в то время как в группе сравнения, напротив, у большинства больных (65%) степень инвалидизации увеличилась. При этом в основной группе не зафиксировано ни одного перехода ремиттирующей РС во вторично-прогрессирующую форму. В группе сравнения у 8,7% больных заболевание приобрело прогрессирующее течение.

Наряду с анализом клинической эффективности копаксона в процессе двухлетнего наблюдения изучили влияние препарата на состояние основных звеньев системы антиоксидан-

тной защиты, активность процессов ПОЛ, активность ферментов трансмембранного транспорта в мембранах эритроцитов, содержание интрацеллюлярного кальция во взаимосвязи со структурой липидной фазы мембран эритроцитов.

Анализ состояния отдельных звеньев системы антиоксидантной защиты у больных РРС позволил выявить ряд изменений на фоне применения копаксона в комплексе лечебных мероприятий: при исходно сниженном уровне активности ферментов антиоксидантной защиты и истощении пула альфа-токоферола в мембранах эритроцитов на фоне применения копаксона установили повышение активности ГФДГ, СОД, каталазы начиная с конца 1–2-го мес лечения и далее стабильно в процессе двухлетнего наблюдения (табл. 1). В этой же группе пациентов показано постепенное повышение содержания альфа-токоферола в мембранах эритроцитов. В то же время в группе сравнения установлен низкий уровень активности ферментов антиоксидантной защиты и истощение пула альфа-токоферола как в начале, так и в финале исследований (через 2 года).

В качестве критериев для определения активности мембрано-дестабилизирующих процессов исследовали уровень функциональной активности эндогенных фосфолипаз и динамику накопления продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов (ДК) и шиффовых оснований (ШО). Данные представлены в табл. 2.

В процессе двухлетнего динамического наблюдения установлена прогрессивная тенденция к снижению исходно повышенного уровня активности фосфолипазы А₂ и уменьшению содержания продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов и шиффовых оснований) в мембранах эритроцитов у пациентов на фоне лечения копаксоном, наиболее выраженная к концу второго года наблюдения.

Таблица 1

Активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание альфа-токоферола в мембранах эритроцитов у больных РРС на фоне лечения копаксоном в динамике наблюдения ($M \pm m$)

Кичерова О.А., Рейхерт Л.И., Быченко С.М. Место копаксона в терапии пациентов с ремиттирующей формой РС

Период наблюдения	Показатель			
	ГФДГ, мн мл	СОД, % торм.	Каталаза, моль/ (мин · мл)	Альфа-токоферол, нмоль/мл

До назначения копаксона	485,3 ± 15,6*	42,6 ± 1,3	3,16 ± 0,09*	4,4 ± 0,17*
Через 1 мес	607,13 ± 14,8* **	48,36 ± 1,2**	3,19 ± 0,09*	4,0 ± 0,18*
Через 2 мес	822,25 ± 15,6* **	59,1 ± 1,6* **	3,99 ± 0,1**	4,02 ± 0,19*
Через 3 мес	547,2 ± 19,6* **	56,4 ± 2,0* **	3,70 ± 0,08**	5,21 ± 0,2**
Через 4 мес	440,8 ± 18,2*	52,6 ± 2,1* **	3,61 ± 0,1* **	4,35 ± 0,19*
Через 5 мес	646,5 ± 12,4**	64,0 ± 1,7* **	4,14 ± 0,09**	4,16 ± 0,21*
Через 6 мес	706,25 ± 21,4**	40,6 ± 1,9	3,85 ± 0,1**	4,95 ± 0,2**
Через 9 мес	749,2 ± 21,6* **	54,9 ± 2,8* **	3,82 ± 0,08**	4,8 ± 0,2*
Через 12 мес	623,8 ± 18,5**	68,3 ± 2,0* **	3,7 ± 0,09**	4,4 ± 0,17*
Через 15 мес	783,2 ± 24,3* **	55,6 ± 2,3* **	3,8 ± 0,1**	4,77 ± 0,21*
Через 18 мес	843,1 ± 18,9* **	59,9 ± 1,8* **	3,25 ± 0,09*	5,5 ± 0,21**
Через 21 мес	940,1 ± 27,9* **	58,3 ± 1,9* **	4,61 ± 0,1* **	6,1 ± 0,12**
Через 24 мес	847,9 ± 19,6* **	62,3 ± 1,2* **	4,52 ± 0,08* **	6,0 ± 0,14**
Показатель у здоровых	662,9 ± 29,9	45,3 ± 2,9	3,9 ± 0,1	5,8 ± 0,28

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: M – среднее арифметическое значение; m – ошибка среднего; * – уровень статистической значимости различий между показателями у здоровых и больных РРС ($p < 0,05$); ** – уровень статистической значимости различий между показателями до назначения копаксона и на фоне копаксона в разные периоды наблюдения ($p < 0,05$).

Таблица 2

Активность фосфолипазы A2 (ФЛ-A2) и содержание липоперекисей в мембранах эритроцитов у больных РРС ($M \pm m$)

Клиническая группа и период наблюдения		Показатель		
		ФЛ-A2, % гемолиза	ДК, нмоль/мл	ШО, усл. ед флюор.
Показатели нормы		4,43 ± 0,21	48,4 ± 3,5	18,3 ± 1,02
Больные РРС, первичное обследование (46 человек)		19,1 ± 0,21*	125,37 ± 4,1*	28,5 ± 3,5*
Группа, получавшая копаксон (23 человека)	Через 1 мес	9,83 ± 0,6* **	107,2 ± 5,1* **	20,33 ± 1,8**
	Через 2 мес	5,65 ± 0,1* **	105,8 ± 6,3* **	19,21 ± 1,1**
	Через 3 мес	5,57 ± 0,3* **	106,2 ± 3,5* **	21,7 ± 1,3* **
	Через 4 мес	5,65 ± 0,2* **	106,7 ± 3,6* **	18,7 ± 1,2
	Через 5 мес	6,8 ± 0,1* **	95,48 ± 8,1* **	21,3 ± 1,0**
	Через 6 мес	6,14 ± 0,1* **	100,1 ± 4,3* **	19,0 ± 1,3**
	Через 9 мес	5,35 ± 0,2**	112,2 ± 3,3* **	19,1 ± 1,0**
	Через 12 мес	6,6 ± 0,1* **	76,4 ± 2,8* **	20,3 ± 1,1**
	Через 15 мес	7,4 ± 0,2* **	86,2 ± 3,1* **	19,6 ± 1,2**
	Через 18 мес	5,62 ± 0,16* **	100,1 ± 2,3* **	20,0 ± 1,4**
	Через 21 мес	5,35 ± 0,2**	98,3 ± 3,2* **	19,4 ± 1,04**
Через 24 мес	6,11 ± 0,17* **	96,6 ± 3,4* **	18,8 ± 1,01**	
Группа сравнения (23 человека)	Через 2 года наблюдения	18,9 ± 0,22*	128,4 ± 3,8*	29,9 ± 2,1*

У больных в группе сравнения, не получавших лечения копаксоном, сохранялись довольно высокие показатели активности фосфолипазы и продуктов ПОЛ, достоверно отличные от параметров нормы. Полученные данные свидетельствуют о сохраняющейся дестабилизации клеточных мембран на фоне проводимой стандартной терапии.

Таким образом, можно утверждать, что применение копаксона в комплексе лечения позволяет уменьшить проявления оксидантного стресса в организме больных РРС. Применение

копаксона препятствует истощению пула альфа-токоферола, что косвенно оказывает мембранопротекторное действие.

Подтверждением мембранопротекторного действия копаксона являются изменения в структуре липидной фазы эритроцитарных мембран.

Точкой отсчета в данном исследовании являлось состояние липидной фазы эритроцитарных мембран у больных РРС до начала лечения копаксоном. У этих пациентов было отмечено повышение содержания в мембранах

эритроцитов как свободного холестерина, так и его эфиров с относительным преобладанием эфиров холестерина. Так, если в группе здоровых соотношение между свободным холестерином и эфирами холестерина составляет 4,0, то у больных РРС этот индекс равен 3,5. Установлено, что начиная со 2-го мес применения копаксона прослеживается тенденция к уменьшению относительного содержания в мембранах эритроцитов эфиров холестерина, а начиная с 9-го мес лечения эта тенденция приобретает характер устойчивой закономерности. Выявленные изменения являются свидетельством мембраностабилизирующего действия копаксона, поскольку эфиры холестерина не способны удерживаться в мембранах, что значительно снижает микровязкость липидного бислоя.

Установлено также прогрессивное повышение активности Са-АТФ-азы на протяжении двухлетнего периода наблюдения у больных, получавших копаксон. Важно, что повышение активности Са-АТФ-азы сопровождалось также статистически достоверным снижением уровня

интрацеллюлярного кальция в эритроцитах больных. Выявленная тенденция позволяет утверждать, что именно повышение активности Са-АТФ-азы предопределяет полноценную эвакуацию ионов кальция из клетки, предотвращая патологические изменения (табл. 3).

В целом в настоящей работе удалось установить, что применение копаксона в комплексной терапии больных РС наряду с позитивным клиническим эффектом оказывает нивелирующее влияние на мембранодестабилизирующие процессы, снижая активность эндогенных фосфолипаз и процессов ПОЛ, повышая активность системы антиоксидантной защиты, нивелируя обмен кальция, что в конечном итоге ограничивает оксидантный стресс и оказывает мембранопротекторное действие при рассеянном склерозе. Полученные результаты являются не только доказательством клинической эффективности копаксона у больных рассеянным склерозом, но и расширяют представления о механизме действия препарата.

Таблица 3

Содержание общего кальция и активность Са-АТФ-азы в мембранах эритроцитов у больных РРС в динамике лечения копаксоном ($M \pm m$)

Клиническая группа и период наблюдения		Уровень кальция	Са-АТФ-аза, моль/(ч · мл)
Показатели нормы		0,082 ± 0,004	14,4 ± 0,8
Больные РРС, первичное обследование (46 человек)		0,94 ± 0,004*	10,87 ± 0,5*
Группа, получавшая копаксон (23 человека)	Через 1 мес	0,034 ± 0,004** **	22,13 ± 1,8** **
	Через 2 мес	0,054 ± 0,004** **	22,45 ± 1,3** **
	Через 3 мес	0,043 ± 0,002** **	21,76 ± 1,5** **
	Через 4 мес	0,052 ± 0,004** **	19,7 ± 1,1** **
	Через 5 мес	0,058 ± 0,003** **	18,6 ± 1,2** **
	Через 6 мес	0,052 ± 0,003** **	17,98 ± 1,2** **
	Через 9 мес	0,056 ± 0,004** **	14,6 ± 1,1** **
	Через 12 мес	0,043 ± 0,004** **	17,1 ± 1,2** **
	Через 15 мес	0,053 ± 0,003** **	21,87 ± 1,3** **
	Через 18 мес	0,051 ± 0,004** **	21,09 ± 1,4** **
	Через 21 мес	0,045 ± 0,003** **	19,58 ± 1,0** **
	Через 24 мес	0,054 ± 0,004** **	17,58 ± 1,4** **
Группа сравнения (23 человека)	Через 2 года наблюдения	0,089 ± 0,005	10,07 ± 1,1*

Литература

1. Асатиани. Ферментные методы анализа. М., 1969. 740 С.
2. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты. М.: Мир, 1978. 398 С.
3. Верболович В.П., Подгорная Л.М. Определение активности глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы на биохимическом анализаторе // Лаб. дело. 1987. № 2. С. 17–20.
4. Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: от изучения патогенеза к новым методам лечения. М., 2001. 128 с.
5. Жмуров В.А., Крылов В.И., Кашуба Э.А. и др. Аспекты мембранологии: Тр. мед. ин-та. Тюмень, 1993. 160 с.

6. *Завалишин И.А., Гусев Е.И., Яхно Н.Н. и др.* Результаты открытых пострегистрационных клинических испытаний препарата копаксон у больных рассеянным склерозом // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвып. «Рассеянный склероз». 2002. С. 59–65.
7. *Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Еремеева С.И.* Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. 1975. № 4. С. 205–206.
8. *Медди Э.* Биохимическое исследование мембран. М.: Мир, 1979. С. 227–249.
9. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 270 с.
10. *Меньшиков В.В.* Лабораторные методы исследования в клинике. М.: Медицина, 1987. 365 с.
- 11.
12. *Рудакова-Шилина Н.К., Матюкова Л.Д.* Оценка антиоксидантной системы организма // Лаб. дело. 1982. № 1. С. 19–22.
13. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
14. *Чумаков В.С., Осинская Л.Ф.* Активность цинк- и медь-содержащей супероксиддисмутазы в тканях крыс в норме и при гипоксии // Вопр. мед. химии. 1979. № 8. С. 261–265.
15. *Шмидт Т.Е., Яхно Н.Н.* Рассеянный склероз. М.: Медицина, 2003. 160 с.
16. *Шталь Э.* Хроматография в тонких слоях. М.: Мир, 1965. 508 с.
17. *Gran B., Tranguill L.R., Chen M. et al.* Mechanisms of immunomodulation by glatiramer acetate // Neurology. 2000. № 55. P. 1704–1714.
18. *Meyer J.S., Fukuuchi J., Kanda T.* Interactions between cerebral metabolism and blood flow // Brain and blood flow. London, 1970. P. 156–164.
19. *McDonald W.I., Comston A., Edan G. et al.* Recommended Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis // Ann. Neurol. 2000. № 50. P. 121–127.
20. *Neuhaus O., Farina C., Wekerle H., Hohlfeld R.* Mechanisms of glatiramer acetate in multiple sclerosis // Neurology. 2001. № 56. P. 702–708.

Поступила в редакцию 19.06.2006 г.

Сведения об авторах

О.А. Кичерова — кафедра неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

Л.И. Рейхерт — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

С.М. Быченко — кафедра неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

А.А. Соколова — кафедра неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС Тюменской государственной медицинской академии (г. Тюмень).

Для корреспонденции

Рейхерт Людмила Ивановна, тел. (3452) 44-69-91, 22-77-00, ludmila.reichert@tknet.ru