

Количественные различия в иммуномодулирующих эффектах между препаратами Ребиф и Авонекс у пациентов с рассеянным склерозом, получавших лечение интерфероном- β 1a

George P. Christophi^{2,5}, Jennifer A. Christophi⁴, Ross C. Gruber³, Cornelia Mihai¹, Luis J. Mejico¹, Paul T. Massa^{1,2}, and Burk Jubelt^{1,2,*}

¹Department of Neurology, SUNY Upstate Medical University, Syracuse NY, USA

²Department of Microbiology & Immunology, SUNY Upstate Medical University, Syracuse NY, USA

³Department of Neuroscience, SUNY Upstate Medical University, Syracuse NY, USA

⁴Department of Pathology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore MD

⁵Department of Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO, USA

Абстракт

Интерферон- β (ИФН- β) лежит в основе современного эффективного метода лечения рассеянного склероза (РС) и этот препарат проявляет свои терапевтические эффекты посредством даунрегуляции системного иммунного ответа и сигнального каскада цитокинов. В клинической практике в наличии несколько лекарственных форм интерферона, включая низкую дозу ИФН- β 1a (препарат Авонекс, вводится в дозе 30 мкг внутримышечно 1 раз в неделю) и высокую дозу (препарат Ребиф, вводится в дозе 44 мкг подкожно три раза в неделю). Недавние клинические исследования позволяют предположить, что препарат Ребиф более эффективен по сравнению с препаратом Авонекс относительно предупреждения рецидивов и снижения активности процесса (МРТ контроль) у пациентов с рецидивирующе ремиттирующим рассеянным склерозом (ППРС). В этом исследовании изучается вопрос о том, имеются ли количественные изменения экспрессии генов у пациентов с ППРС, получающих лечение интерфероном, которые могли бы объяснить различия в эффективности и профиле побочных эффектов между препаратами Ребиф и Авонекс. В исследовании пациенты с ППРС получали лечение на протяжении трех месяцев ИФН- β 1a и у них изучались уровни цитокинов плазмы и экспрессия генов в мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК). Было проведено сравнение тридцати двух нормальных субъектов с тридцати двумя пациентами с ППРС, из которых десять получили лечение препаратом Ребиф и десять препаратом Авонекс. Оба препарата Ребиф и Авонекс существенно и одинаково снизили уровни ФНО- α и ИЛ-6 в плазме. Ребиф снизил уровень ИЛ-13 существенно больше, чем Авонекс. Ребиф также существенно снизил уровни хемокинов CCL17 и RANTES, протеазы ADAM8 и ЦОГ-2, при этом степень снижения была более выраженной по сравнению с препаратом Авонекс. STAT1-индуцируемые гены IP-10 и каспаза 1 были существенно повышены при использовании препарата Ребиф по сравнению с препаратом Авонекс. Подводя итог вышесказанному, препарат ИФН- β 1a Ребиф, который назначается в более высокой дозе и чаще, по сравнению с препаратом ИФН- β 1a Авонекс оказывал более мощные иммуномодулирующие эффекты. Эти количественные результаты могут ассоциироваться с эффективностью и профилем побочных эффектов двух лекарственных форм ИФН- β 1a и обеспечивать перспективные практические клинические инструменты для мониторинга заболевания и коррекции дозы.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

*Corresponding Author Mailing Address: Department of Neurology Research Laboratories, UH 5820 Upstate Medical University, State University of New York, 750 East Adams Street, Syracuse, NY 13210, Phone Number: (315) 464-6401, Fax: (315) 464-6402, jubeltb@upstate.edu. None of the authors has any potential financial conflict of interest related to this manuscript and the results of this report have been generated, analyzed, and interpreted independently of any sponsor participation or influence.

Publisher's Disclaimer: This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final citable form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Ключевые слова

Рассеянный склероз; демиелинизация ЦНС; интерферон; доза; эффективность; цитокины; экспрессия генов воспаления; сигнализирование; сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции STAT; ядерный фактор каппа-В (ЯФ-кВ); периферические иммунные клетки

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) является хроническим воспалительным демиелинизирующим заболеванием центральной нервной системы (ЦНС), которое остается одной из основных причин инвалидизации (1). Однако в настоящее время для лечения рассеянного склероза имеются в наличии препараты, модифицирующие течение заболевания, снижающие частоту его обострений и замедляющие прогрессирование к инвалидизации (2-6). Одним из таких препаратов является интерферон- β 1a (ИФН- β 1a), который снижает частоту клинических обострений, снижает активность заболевания, которая оценивается с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ), и замедляет прогрессирование заболевания (7-9).

ИФН- β является плеiotропным цитокином с разнообразными механизмами действия, включая противовирусное, иммуностимулирующее и иммуноугнетающее действия (10, 11). ИФН- β преимущественно сигнализирует посредством фосфорилирования тирозиновых остатков Янус киназы и сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции (такие белки как STAT1 и STAT3), что приводит к транслокации в ядро фактора транскрипции и промотированию экспрессии генов (12). Было сообщено о различных механизмах, посредством которых ИФН- β модулирует иммунный ответ, включая даунрегуляцию молекул главного комплекса гистосовместимости второго класса и ограничение миграции иммунных клеток через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) (13-16). Кроме того ИФН- β действует, снижая повышенные уровни в крови цитокинов, производимых Т-клетками, а именно ИФН- γ , ИЛ-4/ИЛ-13 и ФНО- α , которые выявляются при РС (7-20) и оказывают нежелательное действие, повышая провоспалительные факторы транскрипции STAT 1, STAT 6 и ЯФ-кВ у пациентов с РС (12, 14, 21-24).

Лечение ИФН- β 1a пациентов с РППС *in vivo*, а также обрабатывание этим препаратом культур лейкоцитов *in vitro* может снижать активацию факторов транскрипции ЯФ-кВ и STAT6, а также снижать экспрессию генов воспаления внизу по сигнальному пути, которая регулируется этими факторами транскрипции (25). Однако, лечение ИФН- β 1a (препарат Ребиф) сигнализирует непосредственно, активируя фактор транскрипции STAT1 и повышая экспрессию генов, содержащих отвечающие на STAT1 места в своем промоторе. В дополнение к этому, ИФН- β индуцирует активацию внутриклеточных регуляторных протеинов. Ингибиторные эффекты лечения ИФН- β 1a на сигнализирование в каскаде цитокинов по крайней мере частично опосредуются через индуцированную экспрессию тирозиновой фосфатазы SHP-1, которая действует как широкий негативный регулятор сигнализирования STAT-1, STAT6 и ЯФ-кВ, в результате чего снижается экспрессия генов воспаления (25).

ИФН- β 1a одобрен для лечения пациентов с РС с использованием двух различных доз и методов доставки препарата. Препарат интерферона- β 1a Авонокс вводится в дозе 30 мкг внутримышечно (в/м) один раз в неделю (7), тогда как препарат интерферона- β 1a Ребиф вводится в дозе 44 мкг подкожно (п/к) три раза в неделю (3). Клинически сравнимые исследования продемонстрировали, что препарат Ребиф, назначаемый в более высокой дозе и более часто, является существенно более эффективным, чем препарат Авонокс, назначаемый в более низкой дозе и менее часто (9, 26). Если говорить более конкретно, после 24 недель лечения 75% пациентов, получавших Ребиф, не имели рецидива заболевания по сравнению с 63% пациентов, получавших Авонокс, при этом соотношение шансов составило 1,9 (1, 3-2, 6); 48% пациентов, получавших лечение препаратом Ребиф, не имели новых очагов поражения ЦНС при МРТ исследовании по сравнению с 33% пациентов, получавших лечение препаратом Авонокс ($p=0,0001$). Более высокую эффективность препарата Ребиф по сравнению с препаратом Авонокс все еще удавалось продемонстрировать, когда медиана времени исследования была увеличена до 64 недель (27). В дополнение к этому, активность

заболевания в группе пациентов, получавших низкую дозу ИФН- β 1a в виде препарата Авонекс, удавалось частично подавить, переведя субъектов на более высокую дозу ИФН- β 1a в виде препарата Ребиф (28). С другой стороны, препарат Ребиф ассоциируется с увеличением частоты побочных эффектов по сравнению с препаратом Авонекс, таких как раздражение в месте инъекции и легкие гриппоподобные симптомы (26, 29). Важно отметить, что в некоторых исследованиях было продемонстрировано, что применение при лечении разных лекарственных форм и доз ИФН- β вызывает различные профили экспрессии генов и протеинов, что может ассоциироваться с эффективностью лечения (30-32).

В настоящем исследовании изучается вопрос о том, будет ли более выраженная клиническая эффективность высокой дозы ИФН- β 1a в препарате Ребиф по сравнению с низкой дозой ИФН- β 1a в препарате Авонекс отображена уровнями цитокинов плазмы и уровнями экспрессии генов воспаления в МКПК, о чем ранее высказывалось предположение в патогенезе РС и что подвергается регулированию при терапии интерфероном. Кроме того, мы оценивали, возможно ли выявить дифференциальные и количественные изменения экспрессии генов, которые могли бы обеспечить надежный маркер ответа на терапию ИФН- β 1a или необходимости коррекции дозы. В этом исследовании мы продемонстрировали, что трехмесячное лечение препаратом Ребиф оказало более мощную иммуномодулирующую активность по сравнению с препаратом Авонекс. Ребиф был более эффективным по сравнению с препаратом Авонекс относительно снижения экспрессии нескольких отвечающих на ЯФ-кВ генов воспаления, включая хемокины CCL17 и RANTES, протеазу ADAM8 и ЦОГ-2, роль которых подразумевается в патогенезе РС. Кроме того, препарат Ребиф был существенно более эффективным по сравнению с препаратом Авонекс относительно индуцирования STAT1-индуцируемого хемокина IP-10 и каспазы 1. Различия в модулировании этих генов могли, по крайней мере, частично способствовать более выраженной клинической эффективности высокой дозы ИФН- β 1a при РППС, а также обеспечить новые молекулярные инструменты для мониторинга терапевтических эффектов и коррекции дозы.

МЕТОДЫ

Выбор пациентов

Пациентам выставлялся окончательный клинический диагноз РС рецидивирующе ремиттирующего типа (34). Все отобранные пациенты не получали какого-либо лечения, модифицирующего заболевание, а именно ИФН- β , глатирамира ацетат, стероиды или другие иммуносупрессивные препараты, по крайней мере на протяжении трех месяцев до сдачи крови. Пациенты с РППС сдавали кровь до и после трехмесячного лечения рекомбинантным ИФН- β 1a (препарат Ребиф или Авонекс). В таблице I представлена дополнительная информация относительно пациентов и нормальных субъектов, которые приняли участие в этом исследовании. Средний возраст пациентов составил 40 лет, 70% пациентов были женщинами, средний возраст пациентов на момент начала заболевания — 35 лет и средний балл EDSS перед назначением лечения — 2,5. Между различными группами существенных различий выявлено не было, и характеристики пациентов были подобными к ранее опубликованным релевантным исследованиям (9). Все исследования были одобрены специальным комитетом в SUNY Upstate University, и все пациенты, а также нормальные субъекты подписали информированное согласие перед забором крови на исследование.

Изолирование мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК)

У пациентов и нормальных субъектов забирали 60 мл крови в гепаринизированные пробирки. Кровь разводили в соотношении 1:1 в растворе HBSS и наслаивали сверху на среду для разделения лимфоцитов (Cellgro, Herndon, VA). После центрифугирования плазму собирали и использовали для количественного определения уровней цитокинов, тогда как 10 мл промежуточного слоя, содержащего МКПК, собирали и дважды промывали раствором HBSS (12). Только что изолированные клетки помещали в среду STAT-60 (Tel-Test, Friendswood, TX) для экстракции РНК. Плазма использовалась для анализа цитокинов с использованием метода ELISA.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в реальном времени (ПЦР)

Общую РНК изолировали, используя тестовый набор RNA STAT-60. РНК количественно оценивали спектрофотометрически и 0,5 мкг общей РНК конвертировали в комплементарную ДНК (кДНК). Если коротко, общую РНК и случайные праймеры (Invitrogen, Carlsbad, CA) инкубировали при 72 градусах на протяжении 10 минут и для обратной транскрипции использовали фермент Superscript II RT (Invitrogen, Carlsbad, CA). кДНК использовали для количественной ПЦР в реальном времени, используя набор SYBR Green kit (Abgene, Epsom, UK). Использовались серийные разведения кДНК, содержащей известное число копий каждого гена, в каждой количественной ПЦР, чтобы генерировать стандартную кривую, в которой соотносится число копий с пороговым амплификационным циклом (36). При каждой ПЦР проводился черный/негативный контроль (реакция кДНК без РНК), и образцы всегда имели более низкий пороговый амплификационный цикл, чем негативный контроль. Уровни экспрессии генов рассчитывались на протяжении логарифмической амплификационной фазы посредством определения начального числа копий мРНК, используя стандартную кривую (37). Амплификация специфического фрагмента каждого гена подтверждалась посредством исследования сливных пиков, посредством электрофореза в агарозном геле и секвенирования ДНК. Праймеры, использовавшиеся в этом исследовании, ранее были задокументированы (12, 25).

Анализ цитокинов с использованием метода ELISA

Уровни цитокинов ИФН- γ , ИЛ-4, ИЛ-13, ФНО- α и ИЛ-6 измерялись, используя набор R&D Systems DuoSet ELISA kits (R&D Systems) в соответствии с протоколом изготовителя.

Статистический анализ

Данные представлены как средние со стандартной ошибкой измерения. Показатели p генерировались, используя значение непарного Т-критерия Стьюдента меньше 0,05, которое было избрано для указания статистической значимости между двумя средними образцами.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нормальные субъекты и пациенты с PPPC, получавшие лечение препаратом Ребиф либо препаратом Авонекс, сдавали кровь до и после трех месяцев лечения. Сначала мы количественно определяли уровни цитокинов в плазме с помощью метода ELISA у нормальных субъектов, пациентов с PPPC, не получавших лечение, пациентов с PPPC, получавших лечение препаратом Ребиф и пациентов с PPPC, получавших лечение препаратом Авонекс (таблица II). Уровни ИФН- γ , цитокина, индуцирующего активацию STAT1, были существенно выше в плазме нелеченных пациентов с РС по сравнению с нормальными субъектами, и лечение ИФН- β 1a не смогло существенно изменить уровни ИФН- γ . Уровни ИЛ-4 и ИЛ-13, цитокинов, которые сигнализируют через STAT6, были существенно выше в плазме нелеченных пациентов с РС по сравнению с нормальными субъектами и лечение ИФН- β 1a не оказало эффекта на уровни ИЛ-4. Однако лечение препаратом Ребиф вызвало существенное (в 2 раза) снижение уровней ИЛ-13, тогда как лечение препаратом Авонекс не оказало такого эффекта, и важно отметить, что были выявлены существенные различия между пациентами с РС, получавшими лечение препаратами Ребиф и Авонекс. Кроме того, уровни индуцируемых ЯФ-кВ цитокинов ФНО- α и ИЛ-6 были существенно выше в нелеченных пациентах с РС по сравнению с нормальным контролем. И лечение препаратом Ребиф, и препаратом Авонекс существенно снизило уровни ИЛ-6 и ФНО- α , но не было выявлено существенных различий между двумя видами лечения.

Далее, важно было количественно определить уровни нескольких индуцируемых цитокинами генов, для которых ранее было продемонстрировано, что они подвергаются модулированию у пациентов с РС под влиянием терапии интерфероном (25, 38, 39). Несколько генов были

количественно определены с помощью метода ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени в недавно изолированных МКПК нормальных субъектов, нелеченных пациентов с РРС и пациентов с РРС, получивших трехмесячное лечение препаратом Ребиф или препаратом Авонекс (таблица II). Сначала мы количественно определили уровни экспрессии STAT1-индуцируемых генов хемокина IP-10 (интерфероном гамма индуцируемый протеин)/CXCL10 и каспазы 1, которые были повышены в МКПК пациентов с РС по сравнению с нормальными субъектами, что соответствует данным ранее опубликованных исследований (40-42). Лечение каждым из препаратов ИФН- β 1a (Ребиф или Авонекс) существенно повысило экспрессию генов IP-10 и каспазы 1, что не удивительно, поскольку ИФН- β 1a сигнализирует прежде всего посредством активации STAT1. Важно отметить, что лечение препаратом Ребиф индуцировало существенно более высокие уровни мРНК IP-10 по сравнению с лечением препаратом Авонекс.

Далее, мы изучили экспрессию генов, отвечающих на ЯФ-кВ: хемокина RANTES (Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed)/CCL5, металлопротеазы MMP9, циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) и VCAM1 (vascular cell adhesion protein 1) (таблица II). Ранее было высказано предположение, что все эти гены играют роль в патогенезе РС и было продемонстрировано, что их экспрессия повышена в лейкоцитах и ЦНС пациентов с РС (12, 43-46). Как мы и ожидали, экспрессия генов RANTES, MMP9, ЦОГ-2 и VCAM1 была существенно повышена в лейкоцитах нелеченных пациентов с РС по сравнению с нормальными субъектами. Уровни генов RANTES и ЦОГ-2 были угнетены после лечения как препаратом Ребиф, так и препаратом Авонекс по сравнению с нелеченными пациентами. Важно отметить, что лечение препаратом Ребиф снизило уровни генов RANTES и ЦОГ-2 в большей степени по сравнению с лечением препаратом Авонекс. Уровни мРНК генов MMP9 и VCAM1 были существенно снижены при лечении препаратом Ребиф, но этого не произошло при лечении препаратом Авонекс по сравнению с нелеченными пациентами.

Мы также количественно определили экспрессию генов, отвечающих на STAT6/ЯФ-кВ, таких как хемокин TARC (Thymus and Activation Regulated Chemokine)/CCL17 и MBP-раскалывающая протеаза ADAM8, а также отвечающего на STAT6 гена аргиназа I (12, 47-50). Уровни экспрессии этих генов были существенно выше в нелеченных пациентах с РС по сравнению с нормальными субъектами (таблица II). Леченные препаратом Ребиф пациенты с РС имели существенно более низкие уровни генов CCL17, ADAM8 и Аргиназа I по сравнению с нелеченными пациентами с РС. Пациенты с РС, получавшие лечение препаратом Авонекс, имели существенно сниженные уровни генов ADAM8 и Аргиназа I по сравнению с нормальными субъектами. Важно отметить, что снижение уровней экспрессии генов CCL17 и ADAM8 было существенно более выраженным у пациентов с РС, получавших лечение препаратом Ребиф по сравнению с пациентами с РС, получавшими лечение препаратом Авонекс.

У нелеченных пациентов с РС отмечается дефицит фосфатазы SHP-1 (12), и лечение препаратами Ребиф и Авонекс вызывало существенную апрегуляцию гена SHP-1 (таблица II). Хотя мы и не наблюдали существенных различий между двумя видами лечения, была выявлена тенденция, демонстрирующая, что лечение препаратом Ребиф индуцирует более высокие уровни гена SHP-1 по сравнению с лечением препаратом Авонекс. В дополнение к этому, мы не наблюдали каких-либо различий в уровнях экспрессии рецепторов хемокинов CXCR3 и CCR4, которые не регулируются непосредственно STAT1, STAT6 или ЯФ-кВ. И наконец, уровни генов, контролирующих весь организм, таких как β -актин и GAPDH были подобными во всех группах, что служило в роли важного внутреннего контроля.

ОБСУЖДЕНИЕ

Препарат ИФН- β 1a Ребиф, который имеет более высокую дозу и чаще назначается, является более эффективным, чем препарат ИФН- β 1a Авонекс, который имеет более низкую дозу и который реже назначается, относительно снижения частоты рецидивов и активности заболевания (МРТ-контроль) у пациентов с РППС (9, 26). Это исследование было нацелено на установление иммунологического/молекулярного обоснования для этих различий в эффективности и позволило задокументировать коллективно возможные биомаркеры, которые могут потенциально объяснить различия в эффективности препаратов, а также помочь проводить мониторинг лечения и корректировать дозу.

Рассеянный склероз является иммуно-опосредованным заболеванием, поэтому в лейкоцитах периферической крови и патологических очагах в ЦНС выявляется повышенная активация факторов транскрипции, таких как STAT1, STAT6 и ЯФ-кВ, что может в результате приводить к повышению в плазме уровней соответствующих цитокинов ИФН- γ , ИЛ-4/ИЛ-13 и ФНО- α (12, 14, 20-24, 51-57). В свою очередь, эти повышенные факторы транскрипции усиливают экспрессию нескольких генов воспаления, которые могут способствовать усилению демиелинизирующей активности лейкоцитов, инфильтрирующих ЦНС. В этом исследовании мы продемонстрировали, что трехмесячное лечение пациентов с РППС препаратом Ребиф по сравнению с препаратом Авонекс привело к отличительным и количественным изменениям уровней цитокинов, а также экспрессии генов воспаления внизу по сигнальному каскаду.

Вначале мы изучили и количественно определили уровни цитокинов в плазме, для которых ранее была продемонстрирована апрегуляция при РС и корреляция с острой фазой РС (17-20). Лечение ИФН- β 1a существенно снизило уровни ФНО- α и ИЛ-6, но не было выявлено существенных различий между группами, получавшими лечение препаратом Ребиф или Авонекс. Уровни цитокинов ИФН- γ и ИЛ-4 не были существенно изменены после лечения любым из этих двух препаратов. Однако лечение препаратом Ребиф вызвало существенное снижение уровня ИЛ-13 в плазме по сравнению с лечением препаратом Авонекс. Важно отметить, что уровень ИЛ-13 существенно повышен в лимфоцитах пациентов с РС в период рецидива заболевания и возвращается практически к исходному уровню в период ремиссии (54). Интересно отметить, что тучные клетки являются главным источником ИЛ-13 и, как полагают, играют основную роль в формировании патологических очагов при РС (58, 59). В дополнение к уровням цитокинов, ИФН- β модулирует активацию факторов транскрипции, таких как STAT1, STAT6 и ЯФ-кВ, а также экспрессию соответствующих генов воспаления внизу по сигнальному каскаду (25). ИФН- β сигнализирует, активируя прежде всего STAT1, который, как многие считают, является воспалительным фактором транскрипции, индуцирующим несколько генов, через которые опосредуется демиелинизация ЦНС (25). Этот момент выглядит парадоксально, учитывая тот факт, что ИФН- β оказывает терапевтические эффекты при РС; однако активация STAT1 может быть связана с неполным действием ИФН- β и его профилем побочных эффектов. Важно отметить, что в отличие от ИФН- γ , ИФН- β также активирует фактор транскрипции STAT3 (10, 11). В свою очередь, через сигнализирование STAT3 могут опосредоваться многие противовоспалительные эффекты лечения ИФН- β при РС. Это происходит через активацию сигнального пути противовоспалительного ИЛ-10/STAT3, вследствие чего индуцируется экспрессия таких внутриклеточных молекул как SHP-1, которые могут ингибировать сигнализирование цитокинов и через которые опосредуется ингибирование ЯФ-кВ и STAT6 (60-63). Более того, усиленная активация ЯФ-кВ либо через повышение уровней ФНО- α , ИЛ-1b, ИЛ-17, либо через aberrantное сигнализирование считается центральным звеном в патогенезе РС и рассматривается как важная цель терапии ИФН- β (12, 64, 65). Поэтому тот факт, что препарат Ребиф оказывает более мощный ингибиторный эффект на гены, индуцируемые ЯФ-кВ, может способствовать увеличению клинической пользы через сниженную активацию и инфильтрацию иммунными клетками, нивелирование экспрессии нейротоксических молекул и ослабление повреждения олигодендроцитов.

Мы изучили экспрессию генов, отвечающих на STAT1, а именно хемокина IP-10, который является первичным хемоаттрактантом для перемещения Т-клеток в ЦНС, и каспазы 1, которая вовлечена в процесс апоптоза и протеолитической переработки ИЛ-1 β (40, 66). Уровни экспрессии гена IP-10 и каспазы 1 были повышены в лейкоцитах пациентов с PPPC по сравнению с нормальными субъектами. Кроме того, уровни IP-10 были существенно более высокими после трехмесячного лечения препаратом Ребиф по сравнению с лечением препаратом Авонекс. Эти данные позволяют предположить, что лечение препаратом Ребиф, доза ИФН- β 1a в котором выше и который назначается чаще, транслируется в более мощные долгосрочные иммуномодулирующие эффекты по сравнению с более низкой дозой ИФН- β 1a в препарате Авонекс. Интересно отметить, что повышенные уровни хемокина IP-10 после лечения ИФН- β тесно коррелируют с гриппоподобными симптомами, возникающими у леченных пациентов с РС (40), и в нескольких исследованиях сообщалось о том, что лечение препаратом Ребиф ассоциируется с незначительно более частыми гриппоподобными симптомами по сравнению с препаратом Авонекс (26, 29).

И лечение препаратом Ребиф, и препаратом Авонекс оказывало супрессивный эффект на уровни мРНК нескольких генов воспаления, которые регулируются факторами транскрипции ЯФ-кВ и STAT6, в лейкоцитах, полученных от пациентов с PPPC. Однако лечение препаратом Ребиф вызвало существенно более выраженное снижение экспрессии генов RANTES, ЦОГ-2 и ADAM8 по сравнению с лечением препаратом Авонекс. В дополнение к тому, что эти гены служат как биомаркеры активности заболевания, они играют важную роль в патогенезе РС. Например, хемокины играют важную роль, привлекая иммунные клетки в ЦНС, такие ферменты как ЦОГ-2 перерабатывают нейротоксические молекулы, а протеазы, такие как ADAM8 могут непосредственно вызывать деградацию миелина (46, 49, 67). Гены, которые продемонстрировали отличительную регуляцию при сравнении групп пациентов, получавших Ребиф и Авонекс, индуцируются через активацию ЯФ-кВ, из чего можно предположить, что лечение препаратом Ребиф более эффективно ингибирует активацию ЯФ-кВ. Все эти данные позволяют предположить, что лечение препаратом Ребиф ассоциируется с усиленным иммуносупрессивным ответом по сравнению с препаратом Авонекс, что вероятно транслируется в клинические преимущества и, по крайней мере, частично может объяснить более высокую эффективность, выявленную при лечении пациентов с РС препаратом Ребиф (9).

Это исследование продемонстрировало, что, в самом деле, имеются базисные изменения экспрессии генов, которые идут параллельно с различиями в клинической эффективности между двумя лекарственными формами интерферона- β 1a, а именно препаратами Ребиф и Авонекс. В то же время, исследование имеет определенные ограничения, включая маленький размер выборки пациентов, тот факт, что экспрессия генов изучалась лишь в одной временной точке после трехмесячного лечения, а также отсутствие прямой корреляции уровня экспрессии генов с клиническими исходами пациентов, которые приняли участие в этом исследовании. Эти ограничения могут частично объяснить, почему не все результаты были гомогенными и почему не были достигнуты существенные различия относительно всех изученных в исследовании генов. Тем не менее, это исследование четко демонстрирует, что лечение препаратами Ребиф и Авонекс приводит к различным изменениям экспрессии генов, которые коррелируют с ранее задокументированными клиническими ответами. Необходимо провести дополнительные исследования, чтобы надежно установить прямую корреляцию между клиническими исходами и профилями экспрессии генов после лечения интерфероном- β 1a. Поэтому важно отметить, что это исследование может обеспечить базисный уровень и способствовать разработке молекулярных инструментов, которые могут позволить объективно и быстро проводить мониторинг терапевтических эффектов лечения интерфероном- β 1a и, возможно, помочь корректировать дозы этого препарата в клинической практике.

Литература

1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2000; 343(13):938–52. [PubMed: 11006371]
2. Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, et al. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2008; 359(17):1786–801. [PubMed: 18946064]
3. PRISMS. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet.* 1998; 352(9139):1498–504. [PubMed: 9820297]
4. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology.* 1995; 45(7):1268–76. [PubMed: 7617181]
5. Kappos L, Radue EW, O'Connor P, Polman C, Hohlfeld R, Calabresi P, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010; 362(5):387–401. [PubMed: 20089952]
6. Antel JP, Miron VE. Central nervous system effects of current and emerging multiple sclerosis-directed immuno-therapies. *Clin Neurol Neurosurg.* 2008; 110(9):951–7. [PubMed: 18502570]
7. Jacobs LD, Cookfair DL, Rudick RA, Herndon RM, Richert JR, Salazar AM, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann Neurol.* 1996; 39(3):285–94. [PubMed: 8602746]
8. PRISMS-4. PRISMS-4: Long-term efficacy of interferon-beta-1a in relapsing MS. *Neurology.* 2001; 56(12):1628–36. [PubMed: 11425926]
9. Panitch H, Goodin DS, Francis G, Chang P, Coyle PK, O'Connor P, et al. Randomized, comparative study of interferon beta-1a treatment regimens in MS: The EVIDENCE Trial. *Neurology.* 2002; 59(10):1496–506. [PubMed: 12451188]
10. Plataniotis LC. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5(5):375–86. [PubMed: 15864272]
11. van Boxel-Dezaire AH, Rani MR, Stark GR. Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons. *Immunity.* 2006; 25(3):361–72. [PubMed: 16979568]
12. Christophi GP, Hudson CA, Gruber RC, Christophi CP, Mihai C, Mejico LJ, et al. SHP-1 deficiency and increased inflammatory gene expression in PBMCs of multiple sclerosis patients. *Lab Invest.* 2008; 88(3):243–55. [PubMed: 18209728]
13. Prat A, Biernacki K, Antel JP. Th1 and Th2 lymphocyte migration across the human BBB is specifically regulated by interferon beta and copolymer-1. *J Autoimmun.* 2005; 24(2):119–24. [PubMed: 15829404]
14. Gobin SJ, Montagne L, Van Zutphen M, Van Der Valk P, Van Den Elsen PJ, De Groot CJ. Upregulation of transcription factors controlling MHC expression in multiple sclerosis lesions. *Glia.* 2001; 36(1):68–77. [PubMed: 11571785]
15. Javed A, Reder AT. Therapeutic role of beta-interferons in multiple sclerosis. *Pharmacol Ther.* 2006; 110(1):35–56. [PubMed: 16229894]
16. Axtell RC, Steinman L. Type 1 interferons cool the inflamed brain. *Immunity.* 2008; 28(5):600–2. [PubMed: 18482563]
17. Link H. The cytokine storm in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 1998; 4(1):12–5. [PubMed: 9532586]
18. Ozenci V, Kouwenhoven M, Huang YM, Kivisakk P, Link H. Multiple sclerosis is associated with an imbalance between tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha)- and IL-10-secreting blood cells that is corrected by interferon-beta (IFN-beta) treatment. *Clin Exp Immunol.* 2000; 120(1):147–53. [PubMed: 10759776]
19. Franciotta D, Zardini E, Bergamaschi R, Andreoni L, Cosi V. Interferon gamma and interleukin 4 producing T cells in peripheral blood of multiple sclerosis patients undergoing immunomodulatory treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003; 74(1):123–6. [PubMed: 12486283]
20. Hohnoki K, Inoue A, Koh CS. Elevated serum levels of IFN-gamma, IL-4 and TNF-alpha/unelevated serum levels of IL-10 in patients with demyelinating diseases during the acute stage. *J Neuroimmunol.* 1998; 87(1–2):27–32. [PubMed: 9670842]
21. Frisullo G, Angelucci F, Caggiula M, Nociti V, Iorio R, Patanella AK, et al. pSTAT1, pSTAT3, and T-bet expression in peripheral blood mononuclear cells from relapsing-remitting multiple sclerosis patients correlates with disease activity. *J Neurosci Res.* 2006; 84(5):1027–36. [PubMed: 16865709]
22. Zeis T, Graumann U, Reynolds R, Schaeren-Wiemers N. Normal-appearing white matter in multiple sclerosis is in a subtle balance between inflammation and neuroprotection. *Brain.* 2008; 131(Pt 1):288–303. [PubMed: 18056737]
23. Cannella B, Raine CS. Multiple sclerosis: cytokine receptors on oligodendrocytes predict innate regulation. *Ann Neurol.* 2004; 55(1):46–57. [PubMed: 14705111]

24. Eggert M, Goertsches R, Seeck U, Dilk S, Neeck G, Zettl UK. Changes in the activation level of NF-kappa B in lymphocytes of MS patients during glucocorticoid pulse therapy. *J Neurol Sci.* 2008; 264(1-2):145-50. [PubMed: 17889033]
25. Christophi G, Panos M, Hudson C, Mihai C, Jubelt B, Massa P. Interferon- β Treatment in Multiple Sclerosis Attenuates Inflammatory Gene Expression Through Inducible Activity of the Phosphatase SHP-1. *Clinical Immunology.* 2009; 133(1):27-44. [PubMed: 19559654]
26. Oliver BJ, Kohli E, Kasper LH. Interferon therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis of the comparative trials. *J Neurol Sci.* 2011; 302(1-2):96-105. [PubMed: 21167504]
27. Panitch H, Goodin D, Francis G, Chang P, Coyle P, O'Connor P, et al. Benefits of high-dose, high-frequency interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis are sustained to 16 months: final comparative results of the EVIDENCE trial. *J Neurol Sci.* 2005; 239(1):67-74. [PubMed: 16169561]
28. Schwid SR, Thorpe J, Sharief M, Sandberg-Wollheim M, Rammohan K, Wendt J, et al. Enhanced benefit of increasing interferon beta-1a dose and frequency in relapsing multiple sclerosis: the EVIDENCE Study. *Arch Neurol.* 2005; 62(5):785-92. [PubMed: 15883267]
29. Schwid SR, Panitch HS. Full results of the Evidence of Interferon Dose-Response-European North American Comparative Efficacy (EVIDENCE) study: a multicenter, randomized, assessor-blinded comparison of low-dose weekly versus high-dose, high-frequency interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *Clin Ther.* 2007; 29(9):2031-48. [PubMed: 18035202]
30. Kappos L, Achtnichts L, Dahlke F, Kuhle J, Naegelin Y, Sandbrink R, et al. Genomics and proteomics: role in the management of multiple sclerosis. *J Neurol.* 2005; 252(Suppl 3):iii21-iii27. [PubMed: 16170496]
31. Bertolotto A, Sala A, Malucchi S, Marnetto F, Caldano M, Di Sapio A, et al. Biological activity of interferon betas in patients with multiple sclerosis is affected by treatment regimen and neutralising antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2004; 75(9):1294-9. [PubMed: 15314118]
32. Hong J, Zang YC, Hutton G, Rivera VM, Zhang JZ. Gene expression profiling of relevant biomarkers for treatment evaluation in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2004; 152(1-2):126-39. [PubMed: 15223245]
33. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2001; 50(1):121-7. [PubMed: 11456302]
34. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology.* 1996; 46(4):907-11. [PubMed: 8780061]
35. Christophi GP, Hudson CA, Panos M, Gruber RC, Massa PT. Modulation of macrophage infiltration and inflammatory activity by the phosphatase SHP-1 in virus-induced demyelinating disease. *J Virol.* 2009; 83(2):522-39. [PubMed: 18987138]
36. Christophi GP, Isackson PJ, Blaber S, Blaber M, Rodriguez M, Scarisbrick IA. Distinct promoters regulate tissue-specific and differential expression of kallikrein 6 in CNS demyelinating disease. *J Neurochem.* 2004; 91(6):1439-49. [PubMed: 15584920]
37. Christophi GP, Panos M, Hudson CA, Christophi RL, Mersich AT, Blystone SD, et al. Macrophages of multiple sclerosis patients display deficient SHP-1 expression and enhanced inflammatory phenotype. *Lab Invest.* 2009. In Press.
38. Goertsches R, Serrano-Fernandez P, Moller S, Koczan D, Zettl UK. Multiple sclerosis therapy monitoring based on gene expression. *Curr Pharm Des.* 2006; 12(29):3761-79. [PubMed: 17073675]
39. O'Doherty C, Villoslada P, Vandenbroeck K. Pharmacogenomics of Type I interferon therapy: a survey of response-modifying genes. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007; 18(3-4):211-22. [PubMed: 17540610]
40. Buttmann M, Merzyn C, Hofstetter HH, Rieckmann P. TRAIL, CXCL10 and CCL2 plasma levels during long-term Interferon-beta treatment of patients with multiple sclerosis correlate with flu-like adverse effects but do not predict therapeutic response. *J Neuroimmunol.* 2007; 190(1-2):170-6. [PubMed: 17884184]
41. Huang WX, Huang P, Hillert J. Increased expression of caspase-1 and interleukin-18 in peripheral blood mononuclear cells in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2004; 10(5):482-7. [PubMed: 15471361]
42. Salmaggi A, Gelati M, Dufour A, Corsini E, Pagano S, Baccalini R, et al. Expression and modulation of IFN-gamma-inducible chemokines (IP-10, Mig, and I-TAC) in human brain endothelium and astrocytes: possible relevance for the immune invasion of the central nervous system and the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Interferon Cytokine Res.* 2002; 22(6):631-40. [PubMed: 12162873]
43. Rice GP, Hartung HP, Calabresi PA. Anti- α 4 integrin therapy for multiple sclerosis: mechanisms and rationale. *Neurology.* 2005; 64(8):1336-42. [PubMed: 15851719]
44. Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci AS. Nuclear factor-kappa B potentially up-regulates the promoter activity of RANTES, a chemokine that blocks HIV infection. *J Immunol.* 1997; 158(7):3483-91. [PubMed: 9120310]

45. Teleshova N, Pashenkov M, Huang YM, Soderstrom M, Kivisakk P, Kostulas V, et al. Multiplesclerosis and optic neuritis: CCR5 and CXCR3 expressing T cells are augmented in blood and cerebrospinal fluid. *J Neurol*. 2002; 249(6):723–9. [PubMed: 12111306]
46. Carlson NG, Rojas MA, Redd JW, Tang P, Wood B, Hill KE, et al. Cyclooxygenase-2 expression in oligodendrocytes increases sensitivity to excitotoxic death. *J Neuroinflammation*. 2010; 7:25. [PubMed: 20388219]
47. Richens J, Fairclough L, Ghaemmaghami AM, Mahdavi J, Shakib F, Sewell HF. The detection of ADAM8 protein on cells of the human immune system and the demonstration of its expression on peripheral blood B cells, dendritic cells and monocyte subsets. *Immunobiology*. 2007; 212(1):29–38. [PubMed: 17270707]
48. Xu L, Hilliard B, Carmody RJ, Tsabary G, Shin H, Christianson DW, et al. Arginase and autoimmune inflammation in the central nervous system. *Immunology*. 2003; 110(1):141–8. [PubMed: 12941151]
49. Amour A, Knight CG, English WR, Webster A, Slocombe PM, Knauper V, et al. The enzymatic activity of ADAM8 and ADAM9 is not regulated by TIMPs. *FEBS Lett*. 2002; 524(1–3):154–8. [PubMed: 12135759]
50. Narikawa K, Misu T, Fujihara K, Nakashima I, Sato S, Itoyama Y. CSF chemokine levels in relapsing neuromyelitis optica and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2004; 149(1–2):182–6. [PubMed: 15020078]
51. Link J, Soderstrom M, Olsson T, Hojberg B, Ljungdahl A, Link H. Increased transforming growth factor-beta, interleukin-4, and interferon-gamma in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 1994; 36(3): 379–86. [PubMed: 8080246]
52. Hermans G, Stinissen P, Hauben L, Van den Berg-Loonen E, Raus J, Zhang J. Cytokine profile of myelin basic protein-reactive T cells in multiple sclerosis and healthy individuals. *Ann Neurol*. 1997; 42(1):18–27. [PubMed: 9225681]
53. Rohowsky-Kochan C, Molinaro D, Cook SD. Cytokine secretion profile of myelin basic protein-specific T cells in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2000; 6(2):69–77. [PubMed: 10773850]
54. Ochi H, Osoegawa M, Wu XM, Minohara M, Horiuchi I, Murai H, et al. Increased IL-13 but not IL-5 production by CD4-positive T cells and CD8-positive T cells in multiple sclerosis during relapse phase. *J Neurol Sci*. 2002; 201(1–2):45–51. [PubMed: 12163193]
55. Ishizu T, Osoegawa M, Mei FJ, Kikuchi H, Tanaka M, Takakura Y, et al. Intrathecal activation of the IL-17/IL-8 axis in opticospinal multiple sclerosis. *Brain*. 2005; 128(Pt 5):988–1002. [PubMed: 15743872]
56. Killestein J, Den Drijver BF, Van der Graaff WL, Uitdehaag BM, Polman CH, Van Lier RA. Intracellular cytokine profile in T-cell subsets of multiple sclerosis patients: different features in primary progressive disease. *Mult Scler*. 2001; 7(3):145–50. [PubMed: 11475436]
57. Feng X, Petraglia AL, Chen M, Byskosh PV, Boos MD, Reder AT. Low expression of interferon-stimulated genes in active multiple sclerosis is linked to subnormal phosphorylation of STAT1. *J Neuroimmunol*. 2002; 129(1–2):205–15. [PubMed: 12161037]
58. Theoharides TC, Kempuraj D, Kourelis T, Manola A. Human mast cells stimulate activated T cells: implications for multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2008; 1144:74–82. [PubMed: 19076366]
59. Sayed BA, Walker ME, Brown MA. Cutting edge: Mast cells regulate disease severity in a relapsing-remitting model of multiple sclerosis. *J Immunol*. 2010; 186(6):3294–8. [PubMed: 21325623]
60. Christophi GP, Hudson CA, Gruber R, Christophi CP, Massa PT. Promoter-specific induction of the phosphatase SHP-1 by viral infection and cytokines in CNS glia. *J Neurochem*. 2008
61. Guarda G, Braun M, Staehli F, Tardivel A, Mattmann C, Forster I, et al. Type I interferon inhibits interleukin-1 production and inflammasome activation. *Immunity*. 2011; 34(2):213–23. [PubMed: 21349431]
62. Murray PJ. Understanding and exploiting the endogenous interleukin-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response. *Curr Opin Pharmacol*. 2006; 6(4):379–86. [PubMed: 16713356]
63. Riley JK, Takeda K, Akira S, Schreiber RD. Interleukin-10 receptor signaling through the JAK-STAT pathway. Requirement for two distinct receptor-derived signals for anti-inflammatory action. *J Biol Chem*. 1999; 274(23):16513–21. [PubMed: 10347215]
64. Yan J, Greer JM. NF-kappa B, a potential therapeutic target for the treatment of multiple sclerosis. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2008; 7(6):536–57. [PubMed: 19128210]
65. Ramgolam VS, Sha Y, Jin J, Zhang X, Markovic-Plese S. IFN-beta inhibits human Th17 cell differentiation. *J Immunol*. 2009; 183(8):5418–27. [PubMed: 19783688]
66. Wandinger KP, Sturzebecher CS, Bielekova B, Detore G, Rosenwald A, Staudt LM, et al. Complex immunomodulatory effects of interferon-beta in multiple sclerosis include the upregulation of T helper 1-associated marker genes. *Ann Neurol*. 2001; 50(3):349–57. [PubMed: 11558791]
67. Huang D, Han Y, Rani MR, Glabinski A, Trebst C, Sorensen T, et al. Chemokines and chemokine receptors in inflammation of the nervous system: manifold roles and exquisite regulation. *Immunol Rev*. 2000; 177:52–67. [PubMed: 11138785]

Таблица 1

Биометрические данные пациентов с РС и нормальных субъектов, которые приняли участие в исследовании.

Категория пациентов	Число субъектов	Возраст (годы)	Пол	Возраст на момент начала заболевания	Продолжительность заболевания	Балл EDSS
Нормальные субъекты	32	41±12	22Ж, 10М	---	---	---
РРС	32	41±9	29Ж, 13М	36±9	5,9±5	2,5±1,4
Терапия Ребиф	10	38±9	7Ж, 3М	34±8	4,0±2	2,4±1,7
Терапия Авонекс	10	43±8	7Ж, 3М	35±9	6,8±4	2,5±0,9

РРС — нелеченные пациенты с рецидивирующе ремиттирующим рассеянным склерозом. Данные представлены как средний показатель ± СО. Ж — женщины, М — мужчины. Возраст на момент начала клинически диагностированного РС и продолжительность заболевания представлены в годах. Клинические симптомы измерены с использованием шкалы EDSS (Kurtzke's Expanded Disability Status Scale) в момент первичного забора крови. Пациенты с РРС сдавали кровь до и после трехмесячного лечения рекомбинантным интерфероном-β 1a (препарат Ребиф или Авонекс), и представленный в этой таблице балл EDSS рассчитывался непосредственно перед началом лечения интерфероном-β 1a.

Таблица II

Воспалительный профиль нормальных субъектов, нелеченных пациентов с RPPC, а также пациентов с RPPC, которые получили трехмесячное лечение *in vivo* интерфероном- β 1a (препарат Ребиф или Авонокс).

Ген	Нормальные субъекты	Нелеченные пациенты с РС	Пациенты с РС (Ребиф)	Пациенты с РС (Авонокс)
Уровни цитокинов в плазме (пг/мл)				
ИФН- γ	10 \pm 4	569 \pm 207 ^f	467 \pm 262	512 \pm 311
ИЛ-4	12 \pm 7	201 \pm 81 ^f	207 \pm 102	143 \pm 78
ИЛ-13	67 \pm 26	523 \pm 125 ^f	212 \pm 82 ^{g,s}	381 \pm 113
ФНО- α	33 \pm 8	390 \pm 156 ^f	243 \pm 92	267 \pm 125 [*]
ИЛ-6	18 \pm 5	152 \pm 28 ^f	97 \pm 25 [*]	83 \pm 42 [*]
IP-10	1 \pm 0,2	3,2 \pm 1,3 ^f	12,4 \pm 3,3 ^{g,s}	6,3 \pm 2,4 [*]
Каспаза 1	1 \pm 0,3	2,5 \pm 0,6	6,3 \pm 2,0 [*]	4,2 \pm 2,6
RANTES	1 \pm 0,1	12,3 \pm 2,7 ^f	4,4 \pm 1,9 ^{g,s}	8,7 \pm 2,3 [*]
MMP9	1 \pm 0,2	4,2 \pm 0,9 ^f	2,2 \pm 0,7 [*]	3,3 \pm 1,0
VCAM1	1 \pm 0,4	6,4 \pm 2,1 ^f	2,5 \pm 1,2 [*]	4,1 \pm 1,7
ЦОГ-2	1 \pm 0,1	7,2 \pm 1,8 ^f	3,8 \pm 1,3 ^{g,s}	5,1 \pm 0,6 [*]
CCL17	1 \pm 0,2	4,1 \pm 0,6 ^f	1,6 \pm 0,5 ^{g,s}	3,0 \pm 0,9
ADAM8	1 \pm 0,4	4,9 \pm 1,0 ^f	2,3 \pm 1,2 ^{g,s}	3,8 \pm 0,7 [*]
Аргиназа I	1 \pm 0,2	3,7 \pm 0,6 ^f	2,1 \pm 0,9 [*]	2,4 \pm 0,8 [*]
CXCR3	1 \pm 0,2	1,7 \pm 0,5	1,3 \pm 0,2	1,9 \pm 0,6
CCR4	1 \pm 0,3	1,5 \pm 0,4	1,2 \pm 0,7	1,3 \pm 0,4
SHP-1	1 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1 ^f	2,2 \pm 0,4 [*]	1,7 \pm 0,4 [*]
Актин	1 \pm 0,1	1,0 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3	1,2 \pm 0,3
GAPDH	1 \pm 0,1	1,1 \pm 0,2	0,9 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3
Уровни мРНК (относительно к нормальным субъектам)				

Несколько индикаторов воспаления определяли количественно в плазме либо в то время что изолированных МКПК нормальных субъектов (n=32), нелеченных пациентов с RPPC (n=32), пациентов с RPPC, получивших лечение препаратом Ребиф (n=10) или препаратом Авонокс (n=10). Уровни цитокинов ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-4 и ИЛ-13 количественно определяли в плазме с помощью метода ELISA и полученный результат документировали в пг цитокина на мл плазмы. Уровни мРНК хемокина IP-10/CXCL10, Каспазы 1, хемокина T-клеток RANTES, металлопротеазы MMP9, молекулы сосудистой адгезии VCAM 1, циклооксигеназы 2 (ЦОГ-2), хемокина CCL17/TARC, протеазы ADAM8, энзима аргиназы I, рецепторов хемокина CXCR3 и CCR4, протенин-тирозин-фосфатазы SHP-1 и генов, контролируемых весь организм, таких как β -актин и GAPDH количественно определяли с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени в то время что изолированных МКПК нормальных субъектов, пациентов с РС, и пациентов с РС, получивших лечение ИФН- β . Уровни мРНК были нормализованы относительно уровней у нормальных субъектов, которые представлены как 1. Показатели указаны как статистическое среднее \pm стандартная ошибка показателя.

^fуказывает на достигнутую статистическую значимость $P < 0,05$ между нормальными субъектами и нелеченными пациентами с РС,

^{*}указывает на достигнутую статистическую значимость $P < 0,05$ между нелеченными пациентами и пациентами с РС, получившими лечение ИФН- β ,

^gуказывает на статистическую значимость между пациентами, получившими лечение препаратом Ребиф и препаратом Авонокс.