

IMUNOMODULAČNÁ TERAPIA EPILEPSIE TRANSFEROVÝM FAKTOROM

ŠIMKO M., ¹MOKRÁŇ V., ²NYULASSY Š.

IMMUNOMODULATORY THERAPY OF THE EPILEPSY WITH TRANSFER FACTOR

Effect of immunotherapy with Transfer factor administered for a period of three months was studied in a group of ten epileptic patients, treated with carbamazepine or primidon previously and throughout the study. Out of eight patients, who finished the study we could notice significant reduction of epileptic discharges in eight patients.

The results of this study prove that addition of immunomodulatory treatment to patients with intractable epilepsy could substantially improve the course of the disease in some patients. (Tab. 1, Fig. 5, Ref. 13.)

Key words: immunomodulatory therapy, epilepsy, transfer factor.

Bratisl Lek Listy 1997, 98: 234–237

Pri sledovaní imunodeficientných pacientov so súčasťou epilepsiou sme zistili, že leukocytový dialyzát (transferový faktor — TF) aplikovaný ako imunomodulátor z imunologickej indikácie znižuje počet epileptických záchvatov u pacientov s refraktérnou formou epilepsie. V dostupnej literatúre sme nenašli žiadnu zmienku o podávaní tohto liečiva v indikácii epilepsia, hoci sa intravenózne podávajú imunoglobulíny (Ig) v tejto indikácii vo všeobecnosti akceptuje. Pretože aj podávanie imunoglobulínov je imunomodulačná liečba, predpokladali sme, že naše empirické pozorovanie nie je len náhodná koincidencia, ale že priebeh epilepsie bude možné ovplyvniť uvedenou imunomodulačnou terapiou.

Skupina desiatich epileptických pacientov podstúpila monitorovanie zamerané na účinok imunoterapie s transferovým faktorom aplikovaným počas troch mesiacov. Pacientom bol podaný karbamazepín alebo primidon pred štúdiou a počas nej. Významnú redukciu epileptických výbojov sme zaznamenali u ôsmich z desiatich pacientov, ktorí podstúpili úplné monitorovanie.

Výsledky tejto štúdie dokazujú, že doplnenie liečby imunomodulačnou terapiou u pacientov s intraktabilnou epilepsiou by mohlo podstatne vylepšiť priebeh tohto ochorenia u niektorých pacientov. (Tab. 1, obr. 5, lit. 13.)

Kľúčové slová: imunomodulačná terapia, epilepsia, transferový faktor.

Bratisl. lek. Listy, 98, 1997, č. 4, s. 234–237

V súbore chorých s uvedenou charakteristikou sa aplikoval TF — Immodin Sevac. Je to nízkomolekulárny extrakt pripravený z dialyzátu ľudských leukocytov, ktorý má schopnosť upravovať porušené mechanizmy oneskorenej precitlivosti u jedincov s deficienciou bunkovej imunity. Používa sa hlavne pri liečbe chronických a recidivujúcich infekcií s veľmi dobrým účinkom. V literatúre sa uvádza jeho použitie aj v terapii ochorení CNS nejasnej etiológie, a to pri Alzheimerovej chorobe, myalgickej encefalopatii a pri schizofrénii (Yonghua a spol., 1988).

Cieľom štúdie bolo zistiť účinnosť TF v tejto indikácii a porovnať množstvo epileptických záchvatov podľa vlastných záznamov pacientov a množstvo výbojov v 24-hodinovom eeg zázname po aplikácii placebo a po podaní TF dvojito slepou štúdiou a súčasne sme sledovali vybrané parametre celulórného a humórálneho imunitného profilu.

Súbor a metódy

Súbor

Vyšetrili sme súbor 10 chorých, z celkového počtu 90 pacientov dlhodobo sledovaných v protizáchvatovej ambulancii Dérerovej NsP v Bratislave. V súbore bolo 5 mužov a 5 žien vo veku od 18 do 47 rokov (priemer 23,6, resp. 34,6 r.). Pacienti mali refraktérnu formu epilepsie a imunodeficienciu (IDS).

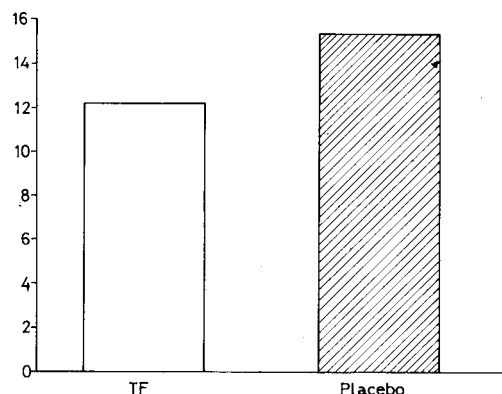
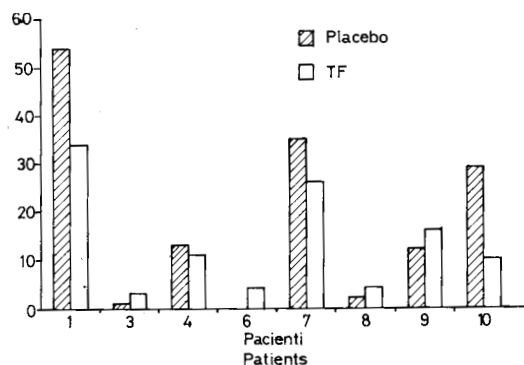
U všetkých pacientov epilepsia trvala dlhšie ako 5 rokov a všetci boli kompletne neurologicky vyšetrení včítane 24-hodinového eeg monitorovania CT-vyšetrovania mozgu. Súčasne sa sledovali sérové hla-

Združené lekársko-imunologické pracovisko Ústavu preventívnej a klinickej medicíny a Dérerovej Nemocnice s poliklinikou v Bratislave, ¹Špecializované pracovisko pre záchvatové choroby II. neurologickej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Dérerovej Nemocnice s poliklinikou v Bratislave a ²Ústav preventívnej a klinickej medicíny v Bratislave

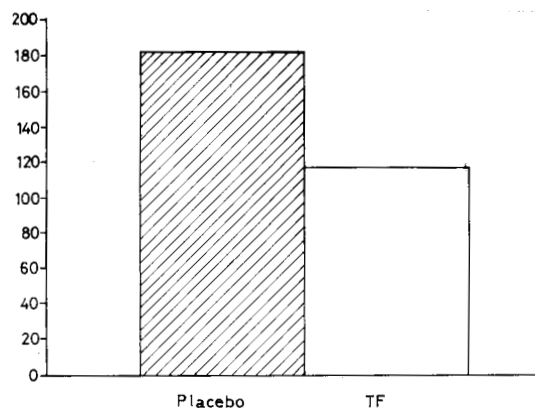
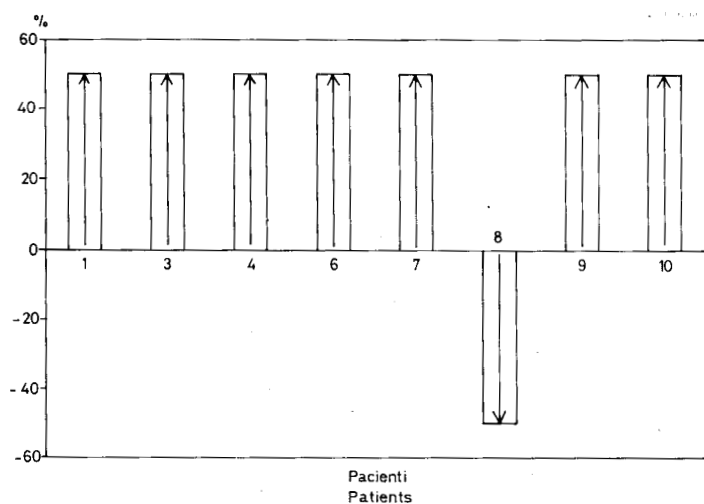
Združené lekársko-imunologické pracovisko Ústavu preventívnej a klinickej medicíny a Dérerovej NsP v Bratislave, ¹The 2nd Neurological Clinic, School of Medicine, Comenius University, Bratislava, ²The Institute of Preventive and Clinical Medicine, Bratislava

Address for correspondence: M. Šimko, MD, Združené lekársko-imunologické pracovisko Ústavu preventívnej a klinickej medicíny a Dérerovej NsP, Limbová 14, 833 01 Bratislava, Slovakia.

Phone: +421.7.373 560



Obr. 1. a — Počet záchvatov počas liečby TF a placebom (záznamy pacientov). b — Priemerný počet záchvatov.
Fig. 1. a — Number of seizures during TF and placebo treatment (selfmonitoring). b — Average number of seizures.



Obr. 2. a. Zníženie počtu výbojov v eeg zázname počas liečby TF v porovnaní s obdobím podávania placeba (odhad).
Fig. 2. a. Decrease in number of electrical discharges activity during treatment with TF in comparison to treatment with placebo (assessment).

Obr. 2. b. Počet elektrických výbojov počas liečby TF a placebom u pacienta 5.
Fig. 2. b. Number of electrical discharges during the treatment with TF and placebo (patient No 5). (assessment).

diny užívaných antiepileptík. Na začiatku štúdie mali všetci pacienti stabilizovanú antiepileptickú liečbu s ustálenou frekvenciou epileptických záchvatov v porovnaní s celou anamnézou ochorenia. 9 pacientov užívalo retardovanú formu karbamazepínu a jeden primidon.

Formy epileptických paroxyzmov

GENKONV (primárne generalizovaná): 1 pacient,
PARCELEM (parciálna s elementárnymi symptómami): 1 pacient,
PARCKOMP (parciálna s komplexnými symptómami): 8 pacientov,

IDS bol definovaný ako znížený index IMUNOSKIN testu (IST) a/alebo patologický imunoregulačný index (IRI) a/alebo znížený počet T-aktívnych lymfocytov a/alebo znížený počet niektorej zo sledovaných subpopulácií lymfocytov.

Metódy

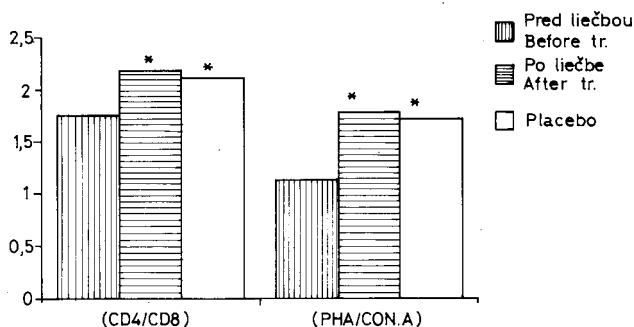
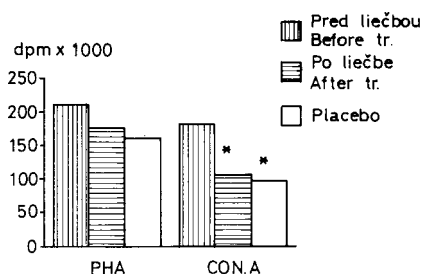
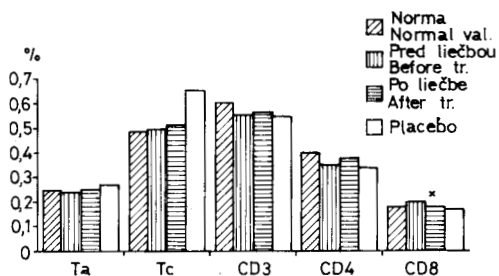
V dvojito slepej, placebom kontrolovanej skríženej štúdií sa porovnával účinok liečby transferovým faktorom s placebom. Štúdia trvala 6 mesiacov. Pacienti dostávali 3 mesiace TF v celkovom

množstve 7 podkožných injekcií po 1,6 ml podľa schémy odporúčanej výrobcom a 3 mesiace placebo.

Počas celej štúdie si pacienti denne zaznamenávali počet záchvatov. Na konci obdobia liečby, resp. podávania placeba sa vyšetřilo 24-hodinové eeg. Monitorovanie sa robilo v pacientovom byte na vlastnej posteli, 12-kanálovým záznamom, tento záznam poskytuje spoľahlivejší dôkaz epileptickej aktivity ako bežný rutinný ambulantný záznam. Parametre imunitného profilu sa vyšetřili pred začatím štúdie a po trojmesačnom období liečby, resp. podávania placeba a po skončení štúdie.

Pred vstupom do štúdie sa vyšetřili in vivo kožné testy včasnej a oneskorenej precitlivenosti. Testovali sa alergény vonkajšieho prostredia, peľ tráv, stromov, Artemisia, plesne Alternaria, Fusarium, Penicillium notatum, domáci prach, roztoče, mačacia srst, histamín a negatívna kontrola a antigény IST (tuberkulín, difterický, tetanický Ag, kandidín a toxoplazmín).

Pred začiatkom štúdie, po liečbe a po podávaní placeba sa vyšetřili parametre celulárnej imunity: Le, dif. rozpočet Le, Ta, Tc, LTT, CD3, CD4, CD8, FA, FI a parametre humorálnej imuni-



Obr. 3, 4, 5. Parametre bunkovej imunity pred liečbou a po liečbe TF a placebom.

Fig. 3, 4, 5. Cellular immunity parameters values before and after treatment with TF and placebo.

Tab. 1. Najčastejšie patologické parametre imunologického profilu.
Tab. 1. Most common pathological parameters of immunological profile.

| Patient | IST | Ta | CD4 | CD8 | Eo | Prick |
|----------------------|-----|------|------|------|--------|-------|
| 1 | 0,4 | 0,34 | 0,33 | 0,20 | 0,01 | neg. |
| 2 | 0,2 | 0,19 | 0,38 | 0,18 | 0,16 | + |
| 3 | 0,2 | 0,18 | 0,31 | 0,17 | 0,04 | +++ |
| 4 | 0,4 | 0,25 | 0,35 | 0,21 | 0,04 | neg. |
| 5 | 0,4 | 0,21 | 0,36 | 0,19 | 0,05 | ++ |
| 6 | 0,2 | 0,34 | 0,40 | 0,27 | 0,01 | ++++ |
| 7 | 0,8 | 0,20 | 0,30 | 0,18 | 0,01 | + |
| 8 | 0,6 | 0,26 | 0,35 | 0,21 | 0,00 | + |
| 9 | 0,4 | 0,22 | 0,40 | 0,24 | 0,07 | neg. |
| 10 | 0,6 | 0,22 | 0,35 | 0,18 | 0,01 | neg. |
| Fyziologické hodnoty | 1 | 0,25 | 0,4 | 0,18 | 0-0,04 | |
| Physiological values | | | | | | |

ty: imunoglobulíny: IgG, IgA, IgM, IgE, ďalej C3, C4 zložky komplementu, CH50, AP50, A1AT, A2MG.

Štatistické vyhodnotenie denných záznamov pacientov sa robilo párovým t-testom, vyhodnotenie 24-hodinového eeg monitorovania sa robilo párovým t-testom, znamienkovým testom a párovým Wilcoxonovým testom a vyhodnotenie imunologických parametrov párovým t-testom.

Výsledky

Patologické parametre imunitného profilu v súbore pacientov pred vstupom do štúdie sú uvedené v tabuľke 1.

V našom súbore mali 4 pacienti pozitívitu kožných testov včasnej precitlivosti na dva a viac bežných aeroalergénov, traja pacienti anamnézu sennej nádchy, jeden pacient kontaktný ekzém, dvaja acne juvenilis. U troch pacientov sa zaznamenala eozinofília 5 a viac percent a u jedného zvýšená hladina IgE. Celkovo len dvaja pacienti mali sledované markery atopie negatívne.

Výsledky neurologického sledovania: pozri obrázky 1a, 1b, 2a a 2b.

a) Záznamy počtu záchvatov vedené pacientmi

Pri štatistickom porovnaní počtu záchvatov podľa záznamu pacienta nachádzame menší počet epileptických záchvatov v období podávania transferového faktora, rozdiel oproti placebo však nebol štatisticky významný.

b) Vyhodnotenie 24-hodinového eeg monitorovania po liečbe placebom a TF

Vyhodnotenie sme robili porovnaním odhadu počtu výbojov počas obdobia liečby placebom s porovnaním obdobia liečby transferovým faktorom. Presné číselné vyhodnotenie počtu výbojov bolo možné stanoviť len u pacientky 5. U ostatných pacientov sme určovali počty výbojov, pre ich obrovské množstvo odhadom.

Vo všetkých štatistických testoch sa zistil významný pokles počtu epileptických výbojov po terapii TF na rozdiel od placeba na hladine významnosti $\alpha = 0,05$.

Poznámka: U pacienta 2 sme nehodnotili výsledok liečby na počet záchvatov a výbojov, pre CT nález suspektný z krvácania do mozgu. Pacientka 5 si denný záznam záchvatov nerobila.

Parametre celulárnej imunity: pozri obrázky 3, 4, 5. Po preliečení transferovým faktorom došlo k zvýšeniu Ta, Tc roziet, k vzostupu CD3 a CD4 lymfocytov, no tento vzostup nebol na hranici štatistickej významnosti. Štatisticky významný rozdiel ($\alpha = 0,05$) nachádzame pri subpopulácii CD8, kde došlo k poklesu po liečbe TF a k tomu zodpovedajúcemu zvýšeniu IRI, čo je pomer CD4/CD8 lymfocytov. Podobné zníženie nachádzame v teste blastické transformácie lymfocytov, kde došlo k štatisticky významnému poklesu proliferácie lymfocytov navodenej konkanavalínom A (ConA) a zvýšeniu IRI (tu: pomer medzi stimuláciou PHA a ConA).

Rovnaký štatisticky významný pokles CD8 subpopulácií T-lymfocytov, proliferácie ConA a pokles IRI nachádzame však aj po liečbe placebom. To znamená, že pri porovnaní parametrov bunkovej imunity po liečbe a po podávaní placebo sme nezistili žiadny štatisticky významný rozdiel.

Diskusia

Po terapii TF v porovnaní s placebom došlo u väčšiny pacientov k poklesu počtu epileptických paroxyzmov, a to podľa záznamov pacientov (štatisticky nevýznamne), ako aj k poklesu v poč-

te epileptických výbojov monitorovaného 24-hodinovým eeg (štatisticky významne).

Z imunologického hľadiska sme u všetkých sledovaných probandov zistili poruchu na úrovni špecifickej celularnej imunity (porucha imunity v tomto zmysle bola kritériom zaradenia do súboru). Je však zaujímavé, že efekt na sledované parametre imunitných funkcií bol síce štatisticky preukazný, no neboli v týchto ukazovateľoch významné rozdiely medzi efektom podávania TF a placebo.

Z klinického hľadiska štúdia potvrdila náš predpoklad, že aplikácia transferového faktora môže významným spôsobom ovplyvniť priebeh epilepsie. Interpretácia náleзов je však veľmi ťažká. Analogické pozorovania boli napríklad pri i.v. terapii imunoglobulínmi (Ariizumi a spol., 1983, Cross-Tsur a spol., 1993, Etnzioni a spol., 1991, Sandstedt a spol., 1984). V tejto indikácii ich aplikácia nie je substituálnou terapiou, ale ide o výrazný zásah do celého imunitného systému na viacerých úrovniach, a teda o imunomoduláciu (Schiff, 1994). Podľa súčasných poznatkov aj TF má podobne ako Ig takýto modulačný účinok (Barnet, 1993).

Otázkou je, čo je vlastne imunologickým podkladom uvedeného klinického terapeutického efektu. Nami sledované imunologické ukazovatele nám vlastne neodhalili nič pozoruhodné (okrem toho, že pri vstupe do štúdie boli pacienti imunodeficientní). Je však pravda, že štúdiu chýba sledovanie jemnejších zmien a parametrov na subcelulárnej úrovni a molekulovej úrovni — napríklad v cytokínovej sieti alebo na úrovni jednotlivých subpopulácií lymfocytov a ich funkcií. V literatúre nachádzame údaj o poklese CD8+ lymfocytov po podávaní transferového faktora (Fučíková a spol., 1993) (jeho aplikácia nebola však placebo kontrolovaná) a prvé správy o sledovaní interleukínov, u epileptických pacientov. Autori uvádzajú výrazné zvýšenie hodnôt IL-1 jednak v bioptických vzorkách mozgu (Sheng, 1994), jednak trojnásobne zvýšenú tvorbu IL-1 a IL-6 v periférnych krvných monocytoch epileptikov v porovnaní so zdravými jedincami (Pacifci, 1995). Je všeobecne známe, že imunitný a neuroendokrinný systém navzájom komunikujú prostredníctvom celého radu rôznych mediátorov, neurotransmiterov atď. (Blalock, 1994, Fabry, 1994). Imunitným systémom produkované účinné molekuly ovplyvňujú NS a naopak molekuly tvorené NS a ES ovplyvňujú vzájomnú komunikáciu buniek IS. Vychádzajúc z týchto poznatkov sa dá o nami predkladaných predbežných slubných výsledkoch uvažovať nasledovne:

1. Vysvetlenie by sa mohlo nájsť pri dokonalejšom a náročnejšom postupe pri laboratórnych vyšetreniach, a to ako z hľadiska faktorov ovplyvňujúcich:

- a) imunitný systém a touto cestou imunopatogenetické mechanizmy v NS,
- b) nervový systém a/alebo
- c) endokrinný systém priamo zatiaľ neznámymi faktormi obsiahnutými v TF. TF — leukocytový dialyzát totiž obsahuje približne 200 rôznych komponentov a nie je vylúčené, že niektoré z nich mediujú vplyvy nielen na imunitný systém.

2. Vplyv TF na frekvenciu epileptických záchvatov je nepriamy — pôsobením na celkový stav imunity a zvýšenie odolnosti pacienta. Je všeobecne známe, že horúčkovitá i banálne infekcie zhoršujú stav pacienta z tohto hľadiska.

Hádám je vhodné v tejto súvislosti upozorniť na dvoch pacientov, u ktorých nastalo výrazné zlepšenie. V programe máme podrobne analyzovať, čo majú spoločné, resp. čo majú odlišné od ostatných, kde efekt nebol jednoznačný. Ich vyšetrenie by mohlo byť kľúčom k racionálnej indikácii efektívnej terapie TF.

Záver

Výsledky našej štúdie dokumentujú predpoklad, že aplikácia imunomodulačnej liečby transferovým faktorom štatisticky významne znižuje epileptické výboje a môže zlepšiť priebeh epilepsie podobne, ako je to pri použití intravenózných imunoglobulínov. Pretože jeden z možných mechanizmov účinku imunoglobulínov je pôsobenie na úrovni T-lymfocytov, ako je to pri transferovom faktore, predpokladáme, že epileptické paroxyzmy môžu byť ovplyvňované aj imunologickými podnetmi, prípadne, že na vzniku, resp. aktivite ochorenia sa zúčastňujú aj imunitné mechanizmy.

Literatúra

Ariizumi M., Shiihara H., Hibio S., Ryo S.K., Baba K.K., Ogawa K., Suzuki Y., Momoki T.: High dose gammaglobulin for intractable childhood epilepsy. *Lancet* 16, 1983, s. 162—163.

Barnet K.: Co je a co není DLE-TF. *Praktický Léč.*, 73, 1993, č. 4, s. 151—153.

Blalock J.E.: The syntax of immune-neuroendocrine communication. *Immunol. Today*, 15, 1994, s. 504—511.

Gross-Tsur V., Shalev R.S., Kazir E., Engelhard D., Amir N.: Intravenous high-dose gammaglobulin for intractable childhood epilepsy. *Acta Neurol. Scand.*, 88, 1993, s. 204—209.

Etnzioni A., Jaffe M., Pollack S., Zelnik N., Benderly A., Tal Y.: High dose intravenous gamma-globulin in intractable epilepsy of childhood. *Europ. J. Pediat.*, 150, 1991, s. 681—683.

Fabry Z., Raine C.S., Hart M.: Nervous tissue as an immune compartment: the dialect of the immune response in the CNS. *Immunol. Today*, 15, 1994, s. 218—224.

Fučíková T., Marečková H., Hausner P., Pekárek J.: Vliv jednorázové aplikace Transfer faktoru na buněčnou imunitu. *Prakt. Léč.*, 73, 1993, s. 154—158.

Fučíková T., Marečková H., Hausner P., Pekárek J.: Lymphocyte subsets in patients treated with Transfer factor Research and Application of Transfer Factor and DLE. *Proceeding of the Sixth International Workshop on Transfer Factor Beijing Science Hall October 15—18, 1988*, s. 359—365.

Pacifci R., Paris L., Di-Carlo S., Bacosi A., Pichini S., Zuccar P.: Cytokine production in blood mononuclear cells from epileptic patients. *Epilepsia*, 36, 1995, s. 384—387.

Sandstend P., Kostulas V., Larsson L.E.: Intravenous gammaglobulin for post-encephalitic epilepsy. *Lancet*, ii, 1984, s. 1154—1155.

Schiff R.I.: Intravenous gammaglobulin: pharmacology, clinical uses and mechanisms of action. *Pediat. Allergy Immunol.*, 5, 1994 s. 63—87.

Sheng J.G., Boop F.A., Mrak R.E., Griffin W.S.: Increased neuronal beta-amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: association with interleukin-1 alpha immunoreactivity. *J. Neurochem.*, 63, 1994, s. 1872—1879.

Yonghua Han Liu Jiancheng, Sun Xiaofen, Luo Hechun: A control study of transfer factor (TF) and chlorpromazine in the treatment of schizophrenics. *Research and Application of Transfer Factor and DLE. Proceeding of the Sixth International Workshop on Transfer Factor Beijing Science Hall October 15—18, 1988*, s. 349—355.