

**КУКУШКИНА АННА ДМИТРИЕВНА**

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОЛИФЕНОЛОВ НА КЛИНИЧЕСКИЕ И  
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ**

**3.1.24. Неврология (медицинские науки)**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет)

#### **Научный руководитель**

доктор медицинских наук, профессор

**Бойко Алексей Николаевич**

#### **Официальные оппоненты**

доктор медицинских наук

**Якушина Татьяна Игоревна**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», старший научный сотрудник неврологического отделения, профессор кафедры неврологии ФУВ, врач Центра рассеянного склероза и других нейроиммунологических заболеваний.

доктор медицинских наук

**Смагина Инна Вадимовна**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии с курсом дополнительного профессионального образования

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 202 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.13 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет) по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте <http://rsmu.ru> и в научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет) по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1. Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 202 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

Доктор медицинских наук, профессор

**Боголепова Анна Николаевна**

### **Актуальность исследования**

Рассеянный склероз (РС) остается одной из основных причин инвалидизации среди взрослого населения. Современная патогенетическая терапия позволяет управлять клинико-рентгенологической картиной, однако у некоторых пациентов не удается достичь полного контроля над заболеванием. В связи с этим актуально использование полифенольных соединений, в частности куркумина в формах с повышенной биодоступностью в качестве add-on терапии, учитывая его противовоспалительный и нейропротекторный эффекты при одновременном благоприятном профиле безопасности. Тем самым уменьшится необходимость в переводе пациентов на высокоэффективную терапию ПИТРС, которая обладает широким спектром серьезных нежелательных явлений, более строгим планом управления рисками, а также большей стоимостью.

### **Степень разработанности темы исследования**

Принимая во внимание иммуномодулирующий и нейропротекторный эффекты куркумина и уролитина А, представляется актуальным их дальнейшее изучение при РС. В недавнем исследовании куркумин показал положительные результаты на некоторые клинические показатели у пациентов с РС, однако по литературным данным используемая форма куркумина (в комбинации с эфирными маслами) не способствует достижению наибольшей концентрации данного вещества в крови. Также ранее не оценивалось влияние куркумина на хроническую утомляемость и качество жизни у пациентов с РС. Впервые изучено влияние комбинации куркумина с полисорбатом-80 на клинические и иммунологические показатели у пациентов с РС. Также впервые оценено влияние уролитина А *in vitro* цитокиновую продукцию.

### **Цели исследования**

Комплексное изучение влияния полифенолов на клинические показатели у пациентов с РС, а также иммунологические данные.

### **Задачи исследования**

1. Оценить влияние куркумина на клинические показатели во время комплексного лечения пациентов с ремиттирующим РС (РРС).
2. Изучить уровни провоспалительных цитокинов в плазме крови пациентов с РРС на фоне комплексного лечения.
3. Оценить влияние куркумина и уролитина А на индуцированную цитокиновую продукцию в короткоживущей культуре мононуклеарных клеток периферической крови (МНПК) у пациентов с РРС.

4. Оценить влияние куркумина и уролитина А на функциональные показатели макрофагов периферической крови у пациентов с РС.
5. Обосновать применение изучаемых соединений в клинических исследованиях комплексной терапии РС при неоптимальном и субоптимальным ответом на интерфероны-бета.

### **Научная новизна исследования**

Впервые у лиц с РС оценивалось влияние мицеллярной формы куркумина в комбинации с полисорбатом-80 на клиничко-иммунологические показатели, в том числе на хроническую утомляемость и качество жизни. Также впервые оценивалось влияние уролитина А *in vitro* на цитокиновую продукцию, в частности ИЛ-6, ИЛ-10, ИФН- $\gamma$ .

### **Теоретическая и научно-практическая значимость исследования**

Полученные в ходе исследования результаты о влиянии куркумина на клиничко-иммунологические показатели при РС позволят предложить потенциально новые направления в лечении РС, а также внесут вклад в фундаментальную и практическую неврологию.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

- 1) Снижение признаков активности заболевания у пациентов с РС при приеме куркумина в форме с повышенной биодоступностью в качестве дополнительной терапии ПИТРС позволяет рассматривать данное соединение как потенциальный метод усиления противовоспалительного эффекта терапии ПИТРС 1й линии (ИНФ- $\beta$ ). Также данное соединение способствует улучшению показателей хронической утомляемости и качества жизни у пациентов РС.
- 2) Прием дополнительной терапии куркумином в форме с повышенной биодоступностью пациентами с РС способствует уменьшению уровня провоспалительного цитокина ИФН- $\gamma$  в крови.
- 3) Куркумин обладает благоприятным профилем безопасности и переносимости.
- 4) Результаты *in vitro* демонстрируют, что куркумин и уролитин А обладают иммуномодулирующими свойствами, способствуя увеличению продукции ИЛ-10 при одновременном уменьшении уровня ИФН- $\gamma$  МНПК у пациентов с РС и здоровых доноров. Также данные соединения способствуют снижению макрофагальной продукции ИЛ-6.

### **Степень достоверности результатов**

Достоверность полученных результатов обусловлена тщательно разработанным дизайном исследования, достаточным объемом собранных как клинических, так и лабораторных данных, а также применением корректных статистических методов. Таким образом, это способствовало выполнению поставленных целей и задач, а также обеспечило надежность итоговых результатов. Основные результаты и выводы опубликованы в научных изданиях, а также были представлены на конференциях, в том числе с международным участием.

### **Внедрение в практику**

Результаты исследования внедрены в практическую и научную работу второго неврологического отделения Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» федерального медико-биологического агентства (ФГБУ ФЦМН ФМБА России), 1-го неврологического отделения при ГБУЗ «Городской клинической больницы имени М.Е. Жадкевича» ДЗМ, а также в научную работу и учебный процесс кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики института нейронаук и нейротехнологий ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет).

### **Апробация результатов работы**

Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях: Пятый Всероссийский Конгресс с международным участием «Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. Вопросы патогенеза, диагностики и терапии», 28 – 30 сентября 2023 года, Уфа (стендовый доклад); XXXII межрегиональная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы неврологии и нейрохирургии: аутоиммунные и орфанные заболевания нервной системы: алгоритмы диагностики и лечения», 26 – 27 мая 2023 года, Томск (устный доклад); I Российский неврологический конгресс (НЕЙРОКОНГРЕСС) с международным участием, 26 – 27 октября 2023 года, Москва (устный доклад); Всероссийская научно-практическая конференция «Перспективные направления диагностики и терапии демиелинизирующих заболеваний», 15 – 16 декабря 2023 года, Ярославль (устный доклад); II Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Нейронауки для практической медицины», 4 – 6 апреля 2024 года, Якутск (устный доклад); Всероссийская конференция «Рассеянный склероз и другие аутоиммунные заболевания нервной системы», 27 сентября 2024 года, Москва (устный доклад; 3 место в конкурсе молодых ученых); II Российский

неврологический конгресс (НЕЙРОКОНГРЕСС) с международным участием, 11 – 12 октября 2024 года, Москва (устный доклад); Первая Всероссийская конференция «Нейрокампус 2025: междисциплинарные подходы к изучению и лечению заболеваний нервной системы», 4 – 5 апреля 2025 года, Москва (постерный доклад); Шестой Конгресс Российского Комитета исследователей рассеянного склероза с международным участием «Рассеянный склероз и другие аутоиммунные заболевания нервной системы», 2-4 октября 2025 года, Тюмень (постерный доклад); III Всероссийский Нейроконгресс с международным участием, 10-11 октября 2025 года, Москва (устный доклад).

Апробация диссертации состоялась 26 июня 2025 года на заседании кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики института нейронаук и нейротехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет)), рекомендована к защите.

### **Личный вклад автора**

Автор самостоятельно осуществлял набор пациентов в соответствии с критериями включения и исключения, проводил неврологический осмотр, оценивал клинические данные пациентов, результаты МРТ, осуществлял забор крови у пациентов, с последующим проведением иммуноферментного анализа (ИФА). Также автором самостоятельно проведен статистический анализ данных и их последующая интерпретация, написаны научные публикации, текст диссертации и автореферата.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ в научных изданиях, рецензируемых ВАК и Scopus.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 113 страницах печатного текста, состоит из 11 таблиц и 23 рисунка. Включает в себя такие разделы как введение, литературный обзор, материалы и методы исследования, результаты, заключение, перспективы дальнейшей разработки темы, выводы, практические рекомендации, приложения, список сокращений и список литературы, который содержит 148 источников, из которых 5 являются отечественными, а 143-иностранными.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. Характеристика респондентов, условия и методы исследования

Набор пациентов осуществлялся на базах межокружного отделения рассеянного склероза (МОРС) при ГБУЗ «ГКБ имени М.Е. Жадкевича» ДЗМ, МОРС при ГБУЗ «ГКБ № 15» ДЗМ, а также на базе ФГБУ ФЦМН ФМБА России в соответствии с критериями включения и невключения (Таблица 1). В результате было набрано 60 пациентов с диагнозом ремиттирующий РС, у которых был выявлен неоптимальный (наличие клинического обострения) или субоптимальный (выявление активного очага в T1-режиме или нового и/или увеличивающегося очага в T2-режиме по данным МРТ) ответы за прошедший годичный курс терапии препаратами ИНФ-β. Оценка динамики очаговых изменений и выявление активности по данным МРТ выполнялось врачом-неврологом, осуществлявшим набор в исследование.

**Таблица 1. Критерии включения и невключения в исследование**

<b>Критерии включения:</b>	<b>Критерии исключения:</b>
Наличие подписанной формы информированного добровольного согласия (ИДС)	Наличие первично прогрессирующего (ППРС) и вторично прогрессирующего РС (ВПРС)
Возраст: 18 до 50 лет	Прием ПИТРС 2й линии
Готовность пациента к сотрудничеству и способность выполнять требования, предъявляемые к участникам данного исследования.	Беременность, кормление грудью, намерение забеременеть во время исследования.
Подтвержденный диагноз РС	Тяжелые соматические или психические заболевания
балл EDSS от 1 до 5 балла включительно	Злоупотребление алкоголем или иными психоактивными веществами.
Терапия препаратами ИНФ-β не менее 12 месяцев.	Системная кортикостероидная терапия в течение 3 месяцев до момента включения в исследование.
Наличие <i>неоптимального</i> ответа на предшествующий годичный курс ИНФ-β (наличие клинического обострения) или наличие <i>субоптимального</i> ответа (появление нового/увеличивающегося в объеме гиперинтенсивного очага на T2-взвешенных изображениях МРТ или наличием активного	Наличие каких-либо острых воспалительных или инфекционно-воспалительных заболеваний в течение 1 месяца до момента включения в исследование.

очага, накапливающего КВ на T1-взвешенных изображениях МРТ).	
	Наличие когнитивных нарушений по данным шкалы MoCA ( $\leq 26$ баллов).
	Наличие депрессии умеренной и тяжелой степени тяжести по шкале Бэка ( $>19$ баллов).
	Регулярные занятия интенсивными физическими упражнениями.
	Отказ пациента от продолжения участия в исследовании.

В результате рандомизации с применением метода случайных чисел пациенты были разделены на 2 группы по 30 человек, одна из которых (ИНФ-КУР) получала дополнительную терапию куркумином в мицеллярной форме в комбинации с полисорбатом-80 по 1 капсуле 2 раза в день (80 мг) (биологически активная добавка к пище (БАД) «Куркумин», капсулы, с массой содержимого 0,75 г. (изготовитель (производитель): ЗАО «Эвалар», свидетельство о государственной регистрации № KZ.16.01.98.003.E.000908.09.16 от 15.09.2016 г.)) на протяжении 6 месяцев. Группа сравнения (ИНФ) не получала дополнительную терапию куркумином.

На первом визите (0 месяц) у пациентов было подписано ИДС, собран анамнез, исследовался неврологический статус с оценкой функциональных систем по шкале J.F. Kurtzke, а также определялась тяжесть состояния пациентов с РРС по расширенной шкале инвалидизации EDSS. Радиологическая активность выявлялась в рамках рутинного клинического наблюдения больных с РС с помощью МРТ ГМ и шейно-грудного отделов с КУ на аппарате мощностью не менее 1,5 Тл с использованием режимов T1, T2 и FLAIR в трех стандартных проекциях (сагитальная, аксиальная и фронтальная) с толщиной срезов от 3-5 мм. Оценивались качество жизни по опроснику SF-36 (Short Form Health Survey) и хроническая утомляемость по шкале MFIS (Modified Fatigue Impact Scale). С целью выявления факторов, которые потенциально могли бы повлиять на приверженность пациента в отношении приема дополнительной терапии проводилось нейропсихологическое тестирование с оценкой уровня депрессии по шкале Бэка и оценкой когнитивных функций на основе MoCA-теста (The Montreal Cognitive Assessment). Также во время данного визита проводился забор крови с последующим выделением плазмы с целью дальнейшей оценки иммунологических показателей (ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ ).



Второй визит (на 6-м месяце) в рамках клинического исследования включал в себя оценку всех показателей, исследуемых на первом визите, а также оценку общего и биохимических показателей крови (АСТ, АЛТ, общий билирубин), которые выполнялись пациентом рутинно в рамках соблюдения плана управления рисками (ПУР) на терапии ПИТРС. Во время данного визита повторно проводился забор крови с целью оценки уровня цитокинов ИЛ-6 и ИНФ- $\gamma$  в плазме крови.

Дальнейшее клиническое наблюдение за пациентами продолжалось до 12 месяца с оценкой клинической картины заболевания (обострения, уровень EDSS). В период наблюдения также фиксировались обострения, при необходимости проводилась глюкокортикостероидная (ГКС), назначалась симптоматическая терапия.

К 6-му месяцу наблюдения в группе ИНФ-КУР осталось 29 участников (1 пациентка выбыла из-за развития у нее на 2-месяце высокоактивного типа течения РС, в связи с чем была переведена на ПИТРС 2-й линии), а в группе ИНФ - 30 участников. Далее продолжилось наблюдение за пациентами с последующей клинической оценкой на 12 месяце. К 12-му месяцу в группе ИНФ-КУР число участников составила-29 пациентов, а в группе сравнения- 24 участника (6 пациентов выбыли в связи со стойким субоптимальным ответом (2 человека) или ВАРС (4 человека)).

Отдельной частью работы являлась оценка *in vitro* влияния полифенольных веществ (куркумина и уrolитина А) на цитокиновую продукцию (ИЛ-6, ИЛ-10 и ИНФ- $\gamma$ ) МНПК и макрофагов. Для этого проводился забор венозной крови у здоровых доноров ( $n=15$ , из них 6 мужчин и 10 женщин) и пациентов с РС ( $n=16$ , из них 6 мужчин и 9 женщин) с неоптимальным/субоптимальным ответом, которые получали терапию ИНФ- $\beta$  и не получали дополнительную терапию куркумином. Средний возраст в группе здоровых доноров составил  $27,7 \pm 4$ , в то время как в группе пациентов с РС –  $31 \pm 5,2$  лет ( $p=0,06$ ). Все образцы забирались у участников в момент отсутствия признаков острого респираторного заболевания, а также в момент ремиссии по хроническим заболеваниям.

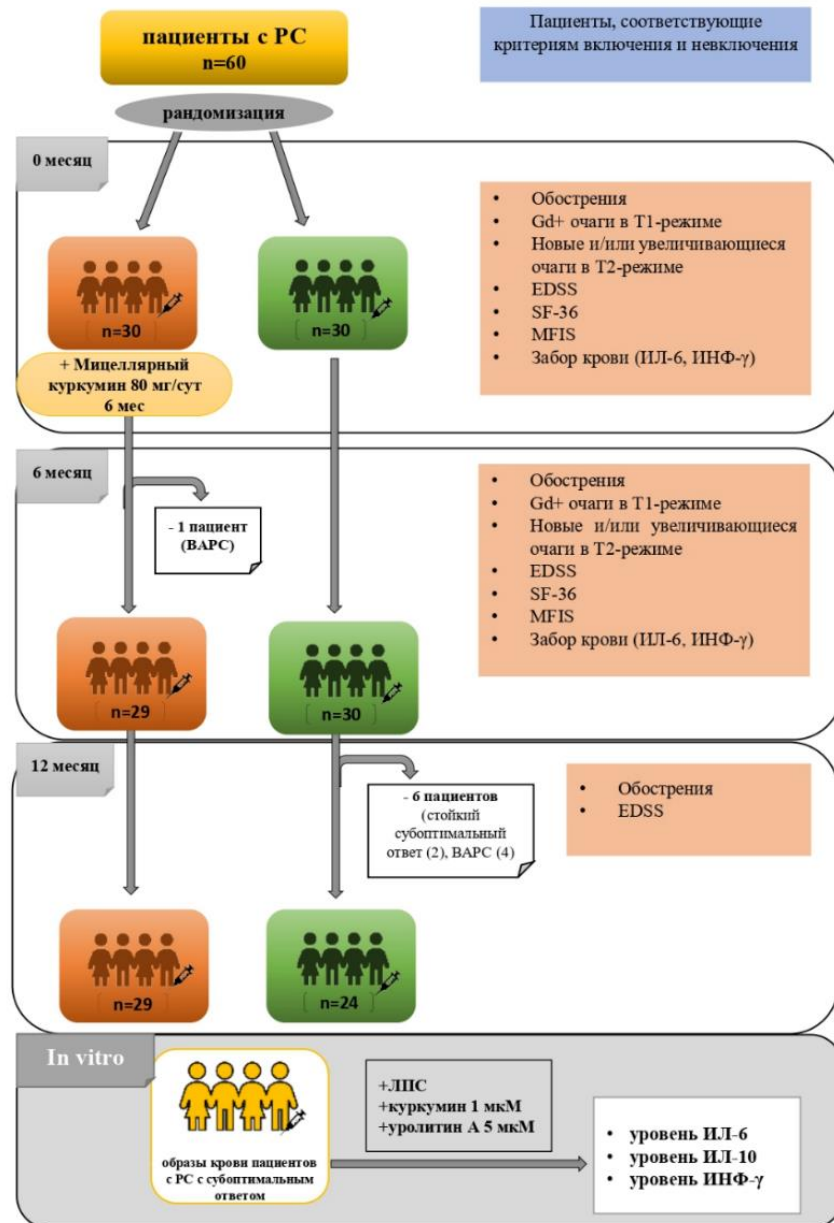
Схема исследования представлена на Рисунке 1.

В группе ИНФ-КУР ( $n=30$ ) преобладали женщины, возраст находился в диапазоне от 18 до 46 лет, его средние значения составили  $33,1 \pm 7,2$  лет, а средняя длительность заболевания (от дебюта) составила  $6,8 \pm 4,9$  лет. Средний уровень инвалидизации по шкале EDSS на момент начала исследования составил  $2,0 \pm 0,8$ . Из патогенетической терапии участники получали ИНФ- $\beta$ -16 250 мкг (33%), Пэг-ИНФ- $\beta$ -1а 125 мкг (33%), ИНФ- $\beta$ -1а 30 мкг (17%) и ИНФ- $\beta$ -1а 44 мкг (17%).

В группе сравнения ( $n=30$ ) было набрано равное количество женщин и мужчин, возрастные показатели находились в интервале от 19 до 50 лет, а средний возраст —

36,0±9,5 лет, длительность заболевания – 7,9±4,7. В качестве ПИТРС 47% пациентов получали терапию ИНФ-β-16 250 мкг, в 40% — Пэг-ИНФ-β-1а 125 мкг, в 13% — ИНФ-β-1а 30 мкг.

**Рисунок 1. Схема исследования.** ЛПС-липополисахарид, ВАРС-высокоактивный рассеянный склероз, РС-рассеянный склероз



По клинико-демографическим показателям, а также по изучаемым параметрам участники из обеих групп были сопоставимы. Также в данное клиническое исследование с целью приверженности к терапии не были включены пациенты с когнитивными нарушениями и средним или тяжелым уровнем депрессии. Таким образом, ни у одного из респондентов не было выявлено когнитивных нарушений по данным МоСА-теста, а

средние показатели уровня депрессии в группах ИНФ-КУР и группе сравнения составили  $7,3 \pm 4,6$  и  $7,6 \pm 5,3$  соответственно. Более подробная клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в Таблице 2.

**Таблица 2. Клинико-демографические характеристики пациентов.**

Показатель		Группа ИНФ-КУР (n=30)		Группа ИНФ (n=30)		p-значение
		Абс. значения	Проценты	Абс. значения	Проценты	
Пол	мужчины	8	27%	16	53%	
	женщины	22	73%	14	47%	
Возраст, годы (M $\pm$ s)		33,1 $\pm$ 7,2		36,0 $\pm$ 9,5		p=0,2
Длительность РС, годы (M $\pm$ s)		6,8 $\pm$ 4,9		7,9 $\pm$ 4,7		p=0,3
EDSS, балл (M $\pm$ s)		2,0 $\pm$ 0,8		1,8 $\pm$ 0,7		p=0,5
шкала Бэка, балл (M $\pm$ s)		7,3 $\pm$ 4,6		7,6 $\pm$ 5,3		p=0,9
Среднегодовая частота обострений (СЧО), (M $\pm$ s)		0,41 $\pm$ 0,5		0,43 $\pm$ 0,5		p>0,99
Доля пациентов с обострениями		13	43%	13	43%	p>0,99
Кол-во Gd+ очагов в режиме T1, (M $\pm$ s)		0,4 $\pm$ 0,9		0,2 $\pm$ 0,4		p>0,99
Доля пациентов с Gd+ очагами в T1- режиме		7	23%	7	23%	p>0,99
Доля пациентов с новыми и/или увеличивающимися очагами в T2- режиме		20	67%	19	63%	p>0,99
Уровень хронической устомляемости по данным шкалы MFIS, (M $\pm$ s)		17,7 $\pm$ 10,1		16,0 $\pm$ 11,6		p=0,35

Качество жизни по шкале SF-36, (M $\pm$ s)	ФК	49,1 $\pm$ 7,6	49,2 $\pm$ 7,6	p=0,9
	ПК	44,9 $\pm$ 14,7	45,4 $\pm$ 10,2	p=0,8
ИЛ-6, пг/мл*		3,3 (1,4; 5,9)	3,0 (2,1; 6,3)	p=0,5
ИФН- $\gamma$ , пг/мл*		2,8 (2,3; 4,4)	3,6 (2,4; 8,7)	p=0,06

ИНФ-КУР и ИНФ-группы пациентов с РС, получавших и не получавших терапию куркумином в форме с повышенной биодоступностью соответственно.

ФК и ПК-физический и психологический компоненты качества жизни по шкале SF-36

M $\pm$ s-среднее и среднеквадратичное отклонение;

\* Данные представлены в виде медианы (25-й; 75-й перцентили).

### **Методика оценки уровней ИЛ-6 и ИФН- $\gamma$ у пациентов с РС и здоровых доноров**

У пациентов с РС из групп ИНФ-КУР и ИНФ проводился забор крови с последующим выделением плазмы крови на момент включения в настоящее клиническое исследование, а также через 6 месяцев наблюдения. Также образцы крови (плазма) была взята у здоровых доноров. Далее плазма замораживалась при -80 С до проведения иммуноферментного анализа (ИФА), проводимого с помощью наборов Thermo Fisher Scientific/Elabscience (наборы для высокочувствительного определения ИЛ-6 с порогом обнаружения в 0,7 пг/мл) согласно инструкции производителя.

Отдельной частью работы являлась оценка *in vitro* влияния полифенольных веществ (куркумина и уrolитина А) на цитокиновую продукцию (ИЛ-6, ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$ ) МНПК и макрофагов.

### **Методика оценки влияния куркумина и уrolитина А на индуцированную цитокиновую продукцию МНПК (ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ и ИЛ-10) *in vitro***

1. Забор венозной крови у здоровых доноров и пациентов с РРС с неоптимальным/субоптимальным ответом, которые получали терапию ИНФ- $\beta$  и не получали дополнительную терапию куркумином.
2. Выделение МНПК, внесение их в 96-луночный планшет с дальнейшим культивированием с использованием среды RPMI1640 с содержанием эмбриональной телячьей сыворотки 10%, а также добавлением пенициллина/стрептомицина.
3. Растворение уrolитина А (Tocris Biosciences, Великобритания) и куркумина (Enzo Biochem, США) в диметилсульфоксиде (ДМСО) (Панэко, Россия).

4. Добавление к МНПК куркумина (1 мкМ) и уролитина А (5 мкМ) — конечный объем в лунке - 200 мкл; концентрация ДМСО в лунках не превышала 0,05 %— с последующей инкубацией в течение 1 часа.
5. Добавление в лунки липополисахарида (ЛПС) или фитогемагглютина (ФГА) с целью индуцирования цитокиновой продукции (продукции ИЛ-6, ИЛ-10 и ИНФ- $\gamma$  соответственно).
6. Культивирование 24ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub>
7. Отбор супернатантов, с последующей заморозкой при -80 С до проведения ИФА.
8. Проведение ИФА с помощью наборов ИФА-Бест (Россия) согласно инструкции производителя.

#### **Методика оценки влияния куркумина и уролитина А на функциональные характеристики макрофагов *in vitro***

1. Забор венозной крови у здоровых доноров и пациентов с РРС с неоптимальным/субоптимальным ответом, которые получали терапию ИНФ- $\beta$  и не получали дополнительную терапию куркумином.
2. Выделение МНПК и внесение их в чашки Петри на 1-2 часа с использованием среды для залипания (adherence).
3. Удаление отлипших клеток
4. Культивирование моноцитов в присутствии ГМ-КСФ в течение 6 суток с образованием макрофагов.
5. Внесение макрофагов в 96-луночный планшет с дальнейшим культивированием с использованием среды RPMI1640 с содержанием эмбриональной телячьей сыворотки 10%, а также добавлением пенициллина/стрептомицина.
6. Растворение уролитина А (Tocris Biosciences, Великобритания) и куркумина (Enzo Biochem, США) в диметилсульфоксиде (ДМСО) (Панэко, Россия).
7. Добавление к МНПК куркумина (1 мкМ) и уролитина А (5 мкМ) — конечный объем в лунке - 200 мкл; концентрация ДМСО в лунках не превышала 0,05 %— с последующей инкубацией в течение 1 часа.
8. Добавление в лунки липополисахарида (ЛПС) с целью индуцирования цитокиновой продукции (продукции ИЛ-6, ИЛ-10 и ИФН- $\gamma$  соответственно).
9. Культивирование 24ч в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub>.
10. Отбор супернатантов, с последующей заморозкой при -80 С до проведения ИФА.
11. Проведение ИФА с помощью наборов ИФА-Бест (Россия) согласно инструкции производителя.

### Статистическая обработка

Все данные (анамнестические сведения, результаты клинического обследования и лабораторные данные) были суммированы в электронную таблицу Excel для последующей статистической обработки с помощью программного обеспечения GraphPrism версия 8.0 и Jamovi версия 2.0.1. С помощью критерия Шапиро-Уилка определялась нормальность распределения признака. При нормальном распределении признака количественные показатели были описаны как средние арифметические величины ( $M$ ) и среднеквадратичные отклонения ( $s$ ), при отличном от нормального — как медиана ( $Me$ ) и верхний и нижний квартили ( $Q1-Q3$ ). Качественные величины представлялись в абсолютных и относительных (%) величинах. В случае нормального распределения признака у количественных параметров с целью выявления статистических различий использовался Т-критерий Стьюдента ( $t$ -test) для связанных, а также для несвязанных групп. При распределении признака, отличного от нормального, рассчитанного для связанных групп (до и после обогащения диеты куркумином) использовался тест Вилкоксона, для несвязанных групп (между опытной группой и группой сравнения) — непараметрический критерий U-тест (критерий Манна-Уитни). Для сравнения категориальных (качественных) показателей составлялись четырёхпольные таблицы сопряженности с последующим вычислением критерия  $\chi^2$ . Для оценки отношения шансов (ОШ) наступления события (наступление клинического обострения) выполнялось построение кривой Каплана-Майера. С целью оценки корреляционных взаимосвязей между качественными признаками или количественными (в случае распределения отличного от нормального) проводился анализ с оценкой коэффициента Спирмана. Для всех тестов был выбран двусторонний  $p$ -уровень значимости, различия групп считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В таблице 3 представлены основные клинические и иммунологические результаты пациентов с РС, получавших и не получавших добавочную терапию куркумином с повышенной биодоступностью — на 6 и 12 месяцах.

**Таблица 3. Клинические и иммунологические характеристики пациентов с РС до и после участия в исследовании.**

Показатель		Группа ИНФ-КУР		Группа ИНФ		p-значение между группами
			p-значение внутри группы		p-значение внутри группы	
	0 мес	43%		43%		

Доля пациентов с обострениями, %		6 мес	10%	<b>p=0,007*</b>	33%	p=0,6	<b>p=0,02*</b>
		12 мес	10%	p =0,9	13%	p=0,1	p >0,99
Среднегодовая частота обострений (СЧО), M±σ		0 мес	0,41±0,5		0,43±0,5		
		12 мес	0,17±0,4	p=0,05	0,46±0,7	p=0,8	p=0,06
EDSS,  M±σ		0 мес	2,0±0,8		1,8±0,7		
		6 мес	1,9±0,8	p=0,2	2,0±0,9	<b>p=0,03*</b>	p=0,6
		12 мес	1,9±1,0	p=0,9	2,1±0,9	p=0,3	p=0,4
Доля пациентов с ППИ, %		0 мес	0%		0%		
		12 мес	2 (7%)	p=0,2	1 (4%)	p=0,4	p=0,9
Кол-во Gd+ очагов в режиме T1, M±σ		0 мес	0,4±0,9		0,2±0,4		
		6 мес	0,2±0,7	p=0,7	0,2±0,5	p >0,99	p=0,7
Доля пациентов с Gd+ очагами в T1-режиме, %		0 мес	23%		23%		
		6 мес	14%	p=0,3	23%	p >0,99	p=0,5
Доля пациентов с новыми и/или увеличивающимися очагами в T2-режиме, %		0 мес	67%		63%		
		6 мес	24%	<b>p=0,003*</b>	40%	p=0,1	p=0,05
Уровень хронической утомляемости по данным шкалы MFIS, M±σ		0 мес	17,7±10,1		16,0±11,6		
		6 мес	13,1±10,1	<b>p=0,002*</b>	16,3±10,8	p=0,7	p=0,2
Качество жизни по шкале SF-36, M±σ	Физический компонент	0 мес	49,1±7,6		49,2±7,6		
		6 мес	51,7±7,7	<b>p=0,008*</b>	48,0±8,9	p=0,2	p=0,1
	Психологический компонент	0 мес	44,9±14,7		45,4±10,2		
		6 мес	47,5±14,4	<b>p=0,03*</b>	45,3±11,6	p=0,8	p=0,6
ИЛ-6, пг/мл**		0 мес	3,3 (1,4; 5,9)		3,0(2,1;6,3)		
		6 мес	3,2 (1,5;5,4)	p=0,7	3,3(2,3;5,6)	p=0,5	p=0,6
ИФН-γ, пг/мл**		0 мес	2,8(2,3; 4,4)		3,6(2,4;8,7)		
		6 мес	2,4(2,0; 3,2)	<b>p=0,02*</b>	2,9(2,1;10,7)	p=0,1	p=0,07

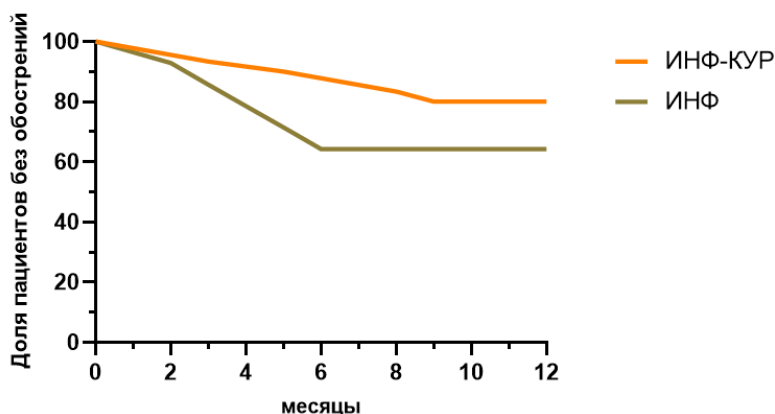
ИНФ-КУР и ИНФ-группы пациентов с РС, получавших и не получавших терапию куркумином в форме с повышенной биодоступностью соответственно.

M±σ-среднее и среднеквадратичное отклонение; \*-уровень значимости p<0,05

\*\* Данные представлены в виде медианы (25-й; 75-й перцентили).

В группе пациентов с РС, получавших добавочную терапию мицеллярным куркумином отмечено снижение клинической активности заболевания, что отражено в уменьшении среднегодовой частоты обострений и снижении доли пациентов с обострениями через 6 месяцев наблюдения. Кроме того, в группе ИНФ-КУР выявлен более низкий риск наступления клинических ухудшений на 6 месяце по сравнению с группой ИНФ (Рисунок 2). Также отмечено положительное влияние дополнительной терапии куркумином в форме с повышенной биодоступности на показатели нейровоспаления по данным МРТ у пациентов с РС в группе ИНФ-КУР — достоверное снижение доли пациентов с новыми и/или увеличивающимися очагами в T2-режиме через 6 месяцев, а также тенденция к снижению среднего количества контраст-позитивных очагов в T1-режиме, а также доли пациентов с данными активными очагами.

Что касается уровня инвалидизации — отмечена стабилизация балла по расширенной шкале инвалидизации на фоне приема 6-месячного курса куркумина в мицеллярной форме. При этом в группе сравнения (ИНФ), наоборот, к 6-му месяцу было выявлено достоверное повышение данного показателя. Также немаловажным оцениваемым показателем было подтвержденное прогрессирование инвалидизации (ППИ). Так, существенных изменений в доле пациентов с выявленным ППИ за время наблюдения ни в изучаемых группах, ни между группами не было выявлено. Кроме того, на фоне приема дополнительной терапии отмечается положительный результат в отношении уменьшении признаков хронической утомляемости и улучшение качества жизни, чего не отмечено в группе сравнения.



**Рисунок 2. Риск наступления обострения через 12 месяцев наблюдения.**

ИНФ-КУР - группа пациентов, принимающих ИНФ-β с добавочной терапией куркумином (n=30). ИНФ - группа пациентов, принимающих ИНФ-β, без добавочной терапии куркумином (n=28).

#### **Уровень ИЛ-6 и ИФН-γ у пациентов с РС и здоровых доноров**

С помощью ИФА получены данные об исходном уровне провоспалительных цитокинов в плазме крови у пациентов с РС, которые сравнивались с цитокиновыми



данными у здоровых доноров (таблица 4) — у пациентов с РС выявлено повышение противовоспалительных цитокинов в крови в сравнении со здоровыми донорами.

**Таблица 4. Исходный уровень ИФН- $\gamma$  и ИЛ-6 у пациентов с РС и здоровых доноров.**

	Пациенты с РС	Здоровые доноры (n=19)	p-значение
ИФН- $\gamma$ , пг/мл (n=57)	3,2 (2,3; 5,6)	1 (1; 2)	<b>p=0,0001*</b>
ИЛ-6, пг/мл (n=58)	3,1 (1,5; 6,3)	0,85 (0,75; 1,0)	<b>p=0,0001*</b>

\*-уровень значимости  $p < 0,05$

При оценке иммунологических показателей, выявлено, что 6-месячный курс дополнительной терапии куркумином *in vivo* способствовал снижению уровня ИФН- $\gamma$  у пациентов с РС, чего не было при этом выявлено в отношении уровня ИЛ-6. Однако стоит учитывать, что в группе сравнения показатель данного цитокина имел тенденцию к повышению (Таблица 3).

Кроме того, была важна оценка взаимосвязи между иммунологическими показателями и некоторыми клинико-демографическими данными. Так, проводился поиск корреляционных связей между уровнем цитокиновой продукции на старте исследования и клиническими данными как на старте исследования, так и на 6 месяце. Кроме этого, оценивалась взаимосвязь между уровнем ИЛ-6/ИФН- $\gamma$  и клиническими параметрами у пациентов с РС на 6 месяце в обеих группах (в группе ИНФ-КУР и в группе сравнения-ИНФ). Полученные результаты продемонстрированы в таблице 5.

**Таблица 5. Анализ корреляционных связей между клиническими и иммунологическими показателями у пациентов с РС.**

Показатель		ИЛ-6			ИФН- $\gamma$		
		0 мес	6 мес		0 мес	6 мес	
			ИНФ-КУР	ИНФ		ИНФ-КУР	ИНФ
Пол		нд	—	—	нд	—	—
Возраст		нд	—	—	нд	—	—
Длительность РС		0,23 p=0,07	—	—	нд	—	—
Обострения	0 мес	нд	—	—	0,26 (p=0,05)	—	—
	6 мес	нд	нд	нд	нд	0,27 p=0,07	нд

СЧО (0 мес)		нд	—	—	0,2 <b>p=0,04*</b>	—	—
Активность на МРТ (наличие Gd+ очагов или новых и/или увеличивающихся на МРТ)	0 мес	нд	—	—	нд	—	—
	6 мес	0,25 p=0,06	нд	нд	нд	нд	0,3 p=0,05
EDSS	0 мес	нд	—	—	нд	—	—
	6 мес	нд	нд	нд	нд	нд	нд

\*-уровень значимости  $p < 0,05$ ; ИНФ-КУР и ИНФ-группы пациентов с РС, получавших и не получавших терапию куркумином в форме с повышенной биодоступностью соответственно; нд-без достижения достоверного уровня значимости

В рамках настоящего исследования также важным аспектом был вопрос безопасности и переносимости дополнительной терапии. Стоит отметить, что в течение 6 месяцев приема куркумина с повышенной биодоступностью у 2 пациентов (6%) возникли гастроинтестинальные явления в первые дни, но это не привело к отмене препарата. В рамках плана управления рисками пациенты регулярно контролировали общий и биохимический анализы крови, включая показатели печеночных ферментов и билирубина, которые оставались в норме.

#### **Влияние куркумина и уrolитина А in vitro на индуцированную цитокиновую продукцию МНПК и МФ (ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10) у пациентов с РС и здоровых доноров.**

В настоящей работе мы исследовали влияние уrolитина А и куркумина на индуцированную цитокиновую продукцию ИЛ-6 и ИЛ-10 МНПК пациентов с РС и здоровых доноров — таблица 6.

**Таблица 6. Влияние куркумина и уrolитина на индуцированную цитокиновую продукцию МНПК и МФ у пациентов с РС и здоровых доноров.**

		ns	ЛПС/ФГС	Куркумин	Уrolитин А (5мкМ)	Уrolитин А (1мкМ)	Уrolитин А (10мкМ)
Пациенты с РС	ИЛ-6 (n=12) МНПК	24,5 $\pm 32,3$	100	100,2 $\pm$ 30,25 p=0,9	96,5 $\pm$ 32,52 p=0,7	—	—
	ИЛ-6 (n=14) МФ	15,1 $\pm 17,7$	100	82,4 $\pm$ 23 <b>p=0,01*</b>	93,5 $\pm$ 12,9 p=0,08	—	—
	ИЛ-10 (n=16) МНПК	69,53 $\pm 88,84$	100	106 $\pm$ 27,99 p=0,4	127,5 $\pm$ 55,27 p=0,07	—	—

Здоровые доноры	ИЛ-6 (n=15) МНПК	39,3 ±47,05	100	104,8±29,61 p=0,5	100,3±27,13 p=0,9	—	—
	ИЛ-6 (n=14) МФ	39,9 ±39,5	100	86,9±14,8 <b>p=0,006*</b>	90,3±15,1 <b>p=0,03*</b>	—	—
	ИЛ-10 (n=9) МНПК	206,7 ±252,7	100	136,8±149,6 p=0,4	145,3±139,3 p=0,1	—	—
	ИФН-γ (n=9) МНПК	8,3±8,3	443,6±214,5	335±76,6 p=0,3	370,3±175,7 <b>p=0,01*</b>	401,5±33,3 p=0,5	262,3±61,03 <b>p=0,01*</b>

ЛПС-липополисахарид, ФГС-фетогемагглютинин, ps-нестимулированная продукция, РС-рассеянный склероз, МФ-макрофаги, МНПК-мононуклеарные клетки периферической крови, нд-нет данных

\*p-значения достоверны при уровне значимости  $p < 0,05$  по сравнению со стимулированной цитокиновой продукцией

При анализе образцов обнаружена ингибирующая активность в отношении ИЛ-6 МНПК и МФ здоровых доноров, так и МФ пациентов с РС. Также продемонстрировано, что уrolитин А и куркумин стимулировали продукцию МНПК (индуцированных ЛПС) ИЛ-10 как у пациентов с РС, так и у здоровых доноров. Также, при оценке уровня ИФН-γ у здоровых доноров отмечено его снижение после добавления как куркумина, так и уrolитина А, причем последний ингибировал продукцию данного цитокина дозозависимо.

Кроме того, проводился поиск корреляционных связей между клинико-демографическими и иммунологическими показателями (таблица 7), а также оценивалось влияние цитокиновой продукции ИЛ-6 и ИФН-γ на клинические показатели у пациентов с РС (таблица 8 и 9).

**Таблица 7. Результаты корреляционного анализа клинических и иммунологических показателей пациентов с РС на момент вступления в исследование.**

Показатель	Пол	Возраст	Длительность РС	Обострения	Активность на МРТ	EDSS	СЧО	ИЛ-6	ИФН-γ
Пол									
Возраст	нд								
Длительность РС	нд	0,37							
Обострения	нд	нд	нд						
Активность на МРТ	нд	нд	нд	0,63					

EDSS	нд	0,41	0,4	0,28	0,28				
СЧО	нд	нд	нд	0,9	0,65	0,28			
ИЛ-6	нд	нд	0,23 (p=0,07)	нд	нд	нд	нд		
ИФН-γ	нд	нд	нд	0,26	нд	нд	0,2	нд	

Приведены только статистически достоверные показатели по коэффициенту Спирмана ( $p \leq 0,05$ ). \* активность по МРТ – выявление Gd+ очагов в T1-режиме и/или новых и/или увеличивающихся очагов в T2-режиме по данным МРТ. \* обострения – наличие обострения у пациента за последние 6 месяцев до момента включения в исследование. \* нд – без достижения достоверного уровня значимости.

**Таблица 8. Корреляция между уровнем цитокиновой продукцией до момента начала исследования и клиническими показателями у пациентов с РС в группах ИНФ-КУР**

Показатель	ИЛ-6	ИФН-γ
Обострения через 6 месяцев	нд	нд
Gd+очаги в T1-режиме через 6 месяцев	нд	нд
Новые и/или увеличивающиеся очаги в T2-режиме по данным МРТ через 6 месяцев	0,25 p=0,06	нд
Балл EDSS через 6 месяцев	нд	нд

Данные представлены в виде коэффициента корреляции Спирмена.

**Таблица 9. Корреляция между клиническими показателями и цитокиновой продукцией в группах ИНФ-КУР и ИНФ на 6 месяце.**

Показатель	группа ИНФ-КУР		группа ИНФ	
	ИЛ-6 через 6 месяцев	ИФН-γ через 6 месяцев	ИЛ-6 через 6 месяцев	ИФН-γ через 6 месяцев
Обострения через 6 месяцев	нд	0,27	нд	нд
Gd+очаги в T1-режиме через 6 месяцев	нд	нд	нд	нд
Новые и/или увеличивающиеся очаги в T2-режиме по данным МРТ через 6 месяцев	нд	нд	нд	0,3*
Балл EDSS через 6 месяцев	нд	нд	нд	нд

Группы «ИНФ-КУР» и «ИНФ»-пациенты с РС, получавшие дополнительную терапию куркумином или не получавшие соответственно. Данные представлены в виде коэффициента корреляции Спирмена. \* достоверный уровень значимости ( $p \leq 0,05$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе изучалось влияние дополнительной терапии (add-on терапии) куркумином в форме с повышенной биодоступностью в течение 6 месяцев у пациентов с РС (n=60), у которых был выявлен субоптимальный/неоптимальный ответ на терапию ИНФ-β, с последующим динамическим наблюдением за пациентами до 12 месяцев.

Перед началом исследования был проведен поиск корреляционных связей между клиническими показателями. Так установлено, что на уровень EDSS оказывают прямое влияние такие факторы, как длительность заболевания, возраст пациента, наличие обострений и активность по данным МРТ, что в целом подчеркивает хронический характер данного заболевания.

Переносимость куркумина в мицеллярной форме оказалась удовлетворительной, без каких-либо серьезных нежелательных явлений, требующих отмены терапии, что ранее было также подтверждено другими клиническими исследованиями по изучению данного полифенольного соединения как у пациентов с РС, так и у пациентов с другими заболеваниями.

По результатам исследования также продемонстрировано улучшение ряда клинических показателей. Так, обнаружена способность куркумина уменьшать клиническую активность заболевания — в группе принимавших дополнительную терапию куркумином (ИНФ-КУР) отмечается достоверное снижение доли пациентов с обострениями через 6 месяцев, а также существенное снижение риска развития клинического ухудшения к 6-му месяцу в данной группе. При сравнении с группой, не получавших дополнительную терапию (группа сравнения; ИНФ) также отмечена достоверная разница, при том, что в данной группе также имела тенденция к снижению данных показателей. К 12 месяцу наблюдения данные показатели имели тенденцию к уменьшению в обеих группах, но без достижения статистической значимости. Также на 12 месяце была отмечена тенденция к снижению СЧО в группе ИНФ-КУР ( $p=0,05$ ), чего не было отмечено в группе сравнения. В недавней похожем клиническом исследовании, проведенном Ретрасса и соавторами добавочная терапия куркумином не привела к достоверному улучшению показателей клинической эффективности, однако, была отмечена тенденция к несколько лучшему результату по сравнению с группой плацебо.

Прием мицеллярной формы куркумина способствовал стабилизации балла по расширенной шкале инвалидизации EDSS к 12-му месяцу, при значимом его увеличении в группе сравнения. В исследованиях Dolati S. и соавт. также продемонстрировано улучшение показателей EDSS на фоне приема куркумина. При этом разницы между долями пациентов с ППИ к 12-му месяцу наблюдения не отмечено, несмотря на более частое

фиксирование данного показателя в группе ИНФ-КУР, однако это можно объяснить большим количеством обострений в группе сравнения.

По данным МРТ через 6 месяцев куркумин в форме с повышенной биодоступностью привел к значимому снижению доли пациентов с выявленными новыми и/или увеличивающимися очагами в T2-режиме по данным МРТ, а также способствовал некоторому снижению среднего количества контраст-позитивных очагов в T1-режиме, что согласуется с ранее полученными результатами в отношении уменьшения признаков нейровоспаления по данным МРТ в работе M. Petrassa и соавторов.

Также куркумин через 6 месяцев у пациентов с РС продемонстрировал достоверную положительную способность в отношении влияния на хроническую утомляемость по шкале MFIS и качество жизни по шкале SF-36 (психический и физический компоненты).

Кроме того, проводилась оценка влияния куркумина на цитокиновую продукцию (ИЛ-6, и ИФН-  $\gamma$ ). Стоит отметить, что изначальный уровень продукции данных цитокинов был повышен у пациентов с РС по сравнению со здоровыми донорами, что согласуется с данными литературы. Также, при проведении корреляционного анализа между уровнем ИЛ-6 и длительностью РС выявлена прямая корреляционная связь. При этом, в литературе существуют данные о повышении уровня данного цитокина с возрастом. Также ИЛ-6 коррелировал с появлением новых/увеличивающихся очагов по данным МРТ через 6 месяцев, а уровень ИФН- $\gamma$  прямо коррелировал с развитием обострений. Стоит также отметить, что, повышение уровня ИФН- $\gamma$  может отражать протекание хронически активной Эпштейна-Барр вирусной инфекции.

Прием мицеллярной формы куркумина в течение 6 месяцев способствовал значимому уменьшению продукции ИФН- $\gamma$  у пациентов с РС, что также было отмечено в работе Dolati и соавторов. Также повышение данного цитокина прямо коррелировало с появлением новых и/или увеличивающихся очагов в T2-режиме по данным МРТ у пациентов из группы сравнения и с развитием обострений в группе ИНФ-КУР, но без достижения достоверности в последнем случае. Уровень ИЛ-6 спустя 6 месяцев в группе сравнения имел некоторую тенденцию к повышению, в то время как в группе ИНФ-КУР существенно не изменился. При этом в ранее проведенных работах Dolati и соавторов отмечено снижение данного цитокина. Отсутствие изменений в продукции цитокина по всей видимости может быть связано с недостаточной выборкой пациентов.

Важно подчеркнуть, что данное исследование имело несколько ограничений. Во-первых, оно не было плацебо-контролируемым. Следует учитывать, что в реальной практике отсутствует вариант плацебо, которое по вкусовым качествам полностью совпадало бы с куркумином, что увеличивает вероятность расслепления исследования. Во-

вторых, 6-месячный период наблюдения и размер выборки могут быть недостаточными для оценки эффективности дополнительной терапии по ряду показателей (уровень EDSS, ППИ, клиническая активность, хроническая утомляемость и качество жизни). Кроме того, не известен статус пациентов по уровню нейтрализующих антител (НАТ) к ИНФ- $\beta$ , что могло бы объяснить сохраняющуюся активность заболевания у некоторых участников в обеих группах.

Также в настоящем исследовании *in vitro* проводилась оценка влияния уrolитина А и куркумина на индуцированную цитокиновую продукцию МНПК и МФ пациентов с РС и здоровых доноров. Так, обнаружена способность уrolитина А и куркумина повышать индуцированную продукцию ИЛ-10 МНПК как у пациентов с РС, так и у здоровых доноров.

При анализе продукции ИЛ-6 МНПК пациентов с РС была отмечена тенденция к уменьшению уровня изучаемого цитокина при добавлении уrolитина А, чего не было отмечено при добавлении куркумина. При этом анализ изучаемых соединений в отношении влияния на функциональную активность МФ продемонстрировал значимое ингибирующее влияние в отношении продукции ИЛ-6 во обеих группах, причем подавляющая способность была более выражена у куркумина.

Также в настоящей работе нами проводилась стимуляция макрофагов липополисахаридом. Согласно литературе, такая стимуляция приводит скорее к экспансии М1-типа макрофагов. Таким образом, возможность куркумина снижать стимулированную продукцию ИЛ-6 макрофагами может свидетельствовать о его потенциале подавлять функцию макрофагов провоспалительного М1-фенотипа. Однако, стоит отметить, что для оценки наличия различий между указанными группами актуально проведение экспериментов на выборках большего объема. В связи с этим актуальным вопросом будущих исследований является оценка способности исследуемых соединений влиять на продукцию ИЛ-10 макрофагами М2-фенотипа. Также актуально исследования их способности влиять на продукцию ИЛ-10 Т-регуляторными клетками.

Интересные результаты получены при оценке влияния уrolитина А и куркумина на индуцированную продукцию ИФН- $\gamma$  МНПК у здоровых доноров. Уrolитин А и куркумин показали способность подавлять индуцированную продукцию данного цитокина МНПК у здоровых доноров — уrolитин А в концентрации 5 мкМ и 10 мкМ вызвали достоверное уменьшение средней продукции ИФН- $\gamma$ , при этом уrolитин в концентрации 1 мкМ такого эффекта не оказал. Куркумин также вызвал уменьшение средней продукции ИФН- $\gamma$ , но без достижения достоверных значений, что в целом, также согласуется с имеющимися литературными данными. Способность уrolитина А дозозависимо снижать продукцию

ИФН- $\gamma$  может свидетельствовать о его потенциале нивелировать патологическое увеличение продукции ИФН- $\gamma$ , что требует дальнейших исследований.

Так или иначе, полученные результаты в ходе пилотного исследования эффективности куркумина у пациентов с неудовлетворительным ответом на ПИТРС 1й линии, указывают на то, что данное вещество может отсрочить время до перехода на ПИТРС 2й линии. Для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования с участием большего числа пациентов, чтобы определить эффективность длительного применения куркумина в качестве дополнительной терапии РС.

## ВЫВОДЫ

- 1) По данным этого пилотного исследования у лиц с РРС при выявлении субоптимального или неоптимального ответов на терапию ИНФ- $\beta$ , прием куркумина в форме с повышенной биодоступностью в качестве добавочной терапии способствует улучшению клинических показателей, достоверно снижая риск наступления клинических обострений, выявления новых и/или увеличивающихся очагов по данным МРТ в T2-режиме. Кроме этого, данное полифенольное соединение способствует стабилизации балла по расширенной шкале инвалидизации EDSS, уменьшению хронической утомляемости по шкале MFIS, а также улучшению показателей качества жизни по шкале SF-36, как среди женщин, так и среди мужчин.
- 2) В исследовании *in vivo* куркумин в форме с повышенной биодоступностью в качестве добавочной терапии у пациентов с РРС с субоптимальным/неоптимальным ответом способствует уменьшению выработки провоспалительных цитокинов, в частности, ИФН- $\gamma$ .
- 3) Куркумин (в концентрации 1 мкМ) и уrolитин А (в концентрации 5 мкМ) в короткоживущей культуре мононуклеарных клеток периферической крови (МНПК) у пациентов с РРС способствуют увеличению продукции ИЛ-10 у пациентов с РРС и здоровых доноров, а также снижению цитокиновой продукции ИФН- $\gamma$ . Также уrolитин А способствует снижению цитокиновой продукции ИЛ-6 МНПК у пациентов с РРС.
- 4) *In vitro* куркумин в концентрации 1 мкМ и уrolитин А в концентрации 5 мкМ снижают индуцированную продукцию ИЛ-6 макрофагами (МФ) пациентов с РРС и здоровых доноров.
- 5) Куркумин в форме с повышенной биодоступностью в дозировке 80 мг в сутки обладает благоприятным профилем безопасности у пациентов с РС.



- б) Результаты этого пилотного исследования подтверждают целесообразность проведения рандомизированного плацебо-контролируемого клинико-иммунологического исследования куркумина (в форме с повышенной биодоступностью) большей длительности и на большем числе пациентов РРС с субоптимальным ответом на курс ИНФ-β.

### ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные предварительные результаты настоящего пилотного исследования позволяют рассматривать формы куркумина с повышенной биодоступностью как биологически активное соединение, обладающее благоприятным профилем безопасности и удовлетворительной переносимостью и одновременно с этим являющееся потенциальным методом усиления эффективности терапии ПИТРС 1-й линии (ИНФ-β), особенно у групп пациентов с недостаточным ответом на патогенетическую терапию. В результате этого существенно снизится процент пациентов, которым необходим перевод на высокоэффективную, но менее безопасную и более дорогую терапию ПИТРС. При этом стоит учитывать, что терапия ПИТРС 2-й линии обладает большим спектром серьезных побочных явлений, а соответственно имеет более строгий к выполнению ПУР, а также стоимость данной терапии существенно выше.
2. Полученные позитивные данные пилотного исследования могут являться обоснованием для проведения более масштабных клинических исследований (в том числе плацебо-контролируемых рандомизированных сравнительных исследований) формы куркумина с повышенной биодоступностью в качестве дополнительной терапии у пациентов РС.

### Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано пять публикаций в научных изданиях, рецензируемых ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Список публикаций:

- 1) Роговский В.С., **Кукушкина А.Д.**, Бойко А.Н. Перспективы применения куркумина в комплексной терапии рассеянного склероза. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2023;15(Прил. 1):65–70. DOI: 10.14412/2074-2711-2023-1S-65-70;
- 2) Лопатина А.В., **Кукушкина А.Д.**, Мельников М.В., Роговский В.С. Перспективы применения полифенолов при рассеянном склерозе. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022;122(7 вып. 2):36–43. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212207236>
- 3) **Кукушкина А.Д.**, Роговский В.С., Поневежская Е.В., Лысогорская Е.В., Бойко А.Н. Куркумин в качестве добавочной терапии рассеянного склероза у пациентов,

получающих терапию интерферонами бета. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2024;16(Прил. 2):4–10. DOI: 10.14412/2074-2711-2024-2S-4-10.

4) **Кукушкина А.Д.**, Роговский В.С., Поневежская ЕВ, Лысогорская ЕВ, Бойко АН. Дополнительная терапия куркумином у пациентов с рассеянным склерозом при выявлении субоптимального ответа на терапию ПИТРС первой линии: клинические результаты и данные исследования *in vitro*. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2025;17(3):11–18. DOI: 10.14412/2074-2711-2025-3-11-18.

5) **Кукушкина А.Д.**, Роговский В.С., Бойко А.Н. Влияние уrolитина А на продукцию интерлейкинов 6 и 10 иммунными клетками пациентов с рассеянным склерозом и здоровых доноров. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. 2025;125(7-2):84-88.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИЛ-6 / ИЛ-10 — интерлейкин-6/ интерлейкин-10

ИФА — иммуноферментный анализ

ИФН- $\gamma$  / ИФН- $\beta$  — интерферон-гамма/ интерферон-бета

ЛПС — липополисахарид

МНПК — моноклеарные клетки периферической крови

МФ — макрофаги

ПИТРС — препараты изменяющие течение рассеянного склероза

ППИ — подтвержденное усиление инвалидизации

СЧО-среднегодовая частота обострений

ФГА — фитогемагглютинин

EDSS — расширенная шкала оценки степени инвалидизации (expanded disability status scale)

SF-36 — 36-item Short Form Health Status Survey, неспецифический опросник качества жизни

MFIS — Modified Fatigue Impact Scale, неспецифический опросник оценки хронической усталости у пациентов с РС