

*На правах рукописи*

**Пожидаева Юлия Александровна**

**ВЕРИФИКАЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСА  
ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ  
РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

**14.01.11 – Нервные болезни**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

Воронеж – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России).

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Луцкий Михаил Александрович**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор

**Котов Сергей Викторович**

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», заведующий неврологическим отделением по разделу «Наука», заведующий кафедрой неврологии факультета усовершенствования врачей

доктор медицинских наук, профессор

**Новиков Александр Евгеньевич**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра неврологии и нейрохирургии Института последипломного образования, заведующий кафедрой

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.072.09, созданного на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.Н. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте <http://rsmu.ru> в научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.Н. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Боголепова Анна Николаевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Рассеянный склероз (РС) – распространенное хроническое демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы мультифакториальной природы, часто имеющее неуклонно прогрессирующее течение, с периодами обострения и ремиссии. Темпы прогрессирования рассеянного склероза и частота его обострений широко варьируются (Шмидт Т.Е., 2014, Кондратьева О.С., Матвеева Т.А., 2002). Рассеянный склероз имеет большую социальную значимость, так как данное заболевание в основном поражает лиц молодого и среднего возраста, в результате чего теряется работоспособность, а при поздних стадиях развития заболевания и способность к самообслуживанию и передвижению (Гусев Е.И., Бойко А.Н., Сиверцева С.А., 2015).

Последнее время, как во всем мире, так и в России, показатели распространенности рассеянного склероза имеют тенденцию к увеличению (Боброва, В.Б. Измайлов, М.А. Луцкий 2015; Шмидт Т.Е. и соавт. 2016; Бойко А.Н., Гусев Е.И. и соавт. 2014). Это связано как с повышением точности диагностики, так и с ростом продолжительности жизни больных рассеянным склерозом, связанным с более качественным лечением, реабилитацией и социальной поддержки. Помимо этого регистрируется и реальный рост заболеваемости рассеянным склерозом (Rosati G. и соавт. 2014; Шмидт Т.Е. 2014). Также отмечается рост числа случаев заболеваемости рассеянным склерозом среди населения, относящегося к «нетипичным» возрастным группам – с началом заболевания в возрасте старше 45 и моложе 18 лет (Rosati G. и соавт. 2014; Бойко А.Н., Гусев Е.И. и соавт. 2014; Бойко А.Н. и соавт. 2012; Столяров И.Д. и соавт. 2008).

В патогенезе рассеянного склероза, несомненно, ведущую роль играют иммунопатологические реакции (Dendrou С.А. и соавт., 2015; Lagumersindez- Denis N. С соавт, 2017; Т.В. Байдина и соавт., 2018; М.А. Луцкий, А.М. Земсков и соавт, 2016). Основу патогенеза рассеянного склероза, в свете современных представлений, составляют аутоиммунное воспаление в

ЦНС с демиелинизацией аксонов, а также апоптоз олигодендроцитов, который ведет к гибели аксонов и необратимым нарушениям проведения нервных импульсов (Шмидт Т. Е., Яхно Н. Н., 2016). Как раз, аксональная дегенерация является основной причиной возникновения стойкой патологии центральной нервной системы (ЦНС), которая приводит к ранней инвалидизации больных. На сегодняшний день иммунопатологические механизмы развития обострений при рассеянном склерозе хорошо изучены (Завалишин А. И., Пирадов М.А., Бойко А.Н. с соавт., 2014). Наличие общих структурных и медиаторных звеньев иммунной и нервной систем в патогенезе РС обуславливает сочетанные и взаимозависимые нарушения функции иммунной систем и ЦНС (Гусев Е.И., Бойко А.Н., 2007).

В настоящее время многими авторами дискутируется вопрос о взаимосвязи особенностей клинического течения рассеянного склероза с характерными изменениями иммунологических показателей у больных с РС. Имеющиеся в литературе сведения недостаточно освещают сопоставление иммунологических показателей с другими данными, которые характеризуют клиническое течение РС. Анализ особенностей клинического течения и иммунологического статуса у больных с рассеянным склерозом поможет выявить маркеры, верифицирующие дисбаланс иммунной системы у таких больных, таким образом расширить возможности диагностики РС, что определяет актуальность настоящего исследования.

**Степень разработанности темы исследования.** В последние годы большое число научных трудов посвящено исследованию иммунопатологических механизмов развития рассеянного склероза и его обострений. Данным вопросом занимается ряд российских и зарубежных ученых (Бойко А.Н. [12, 21, 29, 71, 129]; Завалишин И.А. [24, 26, 29]; Земсков А.М. [32, 43, 50, 55, 56]; Луцкий М.А. [32, 48, 49, 50, 51, 54, 69]; Шмидт Т.Е. [86, 87]; Aranami T. [89]; Cusick M.F. [96, 118]; Dendrou C.A. [97]; Lagumersindez- Denis N. [111]; Hemmer B. [104, 136]; Rocca C. La [112]; Legroux L. [114]; Rose L.M. [130]; Sinha S. [132]; Weiner H.L. [137] и др.). Однако, имеющиеся в литературе данные недостаточ-

но отражают сопоставление иммунологических показателей с характеристиками клинического течения рассеянного склероза.

Настоящая работа посвящена изучению гематоиммунных показателей больных рассеянным склерозом в различных клинических формах и стадиях заболевания (первично-прогрессирующая форма, вторично-прогрессирующая форма; ремитирующая формой в стадии обострения и в стадии ремиссии). Выводы, полученные в результате данного исследования, дадут возможность верификации функционального дисбаланса иммунной системы в патогенезе рассеянного склероза. Это, в свою очередь, позволит углубить знания о патогенезе рассеянного склероза и повысить эффективность диагностических мероприятий.

**Цель исследования:** выделение маркёров иммунного статуса, верифицирующих функциональный дисбаланс иммунной системы в сложном иммунопатогенезе различных клинических форм и стадий течения рассеянного склероза, выявление корреляции маркёров дисбаланса иммунной системы с особенностями клинического течения РС с различными клиническими формами и стадиями течения: первично-прогрессирующей, вторично-прогрессирующей и ремитирующей формами течения в стадии обострения и ремиссии.

**Задачи исследования:**

1) оценить субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток, функциональную активность нейтрофилов, уровень иммуноглобулинов классов А, G, М, уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови у больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза;

2) изучить ключевое влияние клинических вариантов рассеянного склероза на патогенетические особенности гемато-иммунологических расстройств у больных с первично-прогрессирующим, вторично-прогрессирующим и ремитирующим течением в стадии обострения и ремиссии;

3) по результатам полученных данных исследования выделить маркёры дисбаланса иммунной системы при различных клинических формах и стадиях течения рассеянного склероза;

4) верифицировать выделенные маркёры как проявление дисбаланса иммунной системы у больных с разными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза;

5) проанализировать корреляцию маркёров дисбаланса иммунной системы с особенностями клинического течения различных клинических форм и стадий РС.

### **Научная новизна.**

1) впервые проведен интегральный анализ динамики иммунного статуса больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза с целью выделения маркёров, верифицирующих функциональный дисбаланс иммунной системы;

2) на основе исследования влияния клинических вариантов рассеянного склероза на патогенетические особенности гемато-иммунологических расстройств у больных, выделены маркёры дисбаланса иммунной системы при различных клинических формах и стадиях течения рассеянного склероза;

3) проведена верификация выделенных маркёров как проявление дисбаланса иммунной системы у больных с разными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза;

4) проанализирована динамика корреляционных связей выделенных маркёров, верифицирующих функциональный дисбаланс иммунной системы у больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза.

**Теоретическая и практическая значимость.** На основе полученных результатов проведенного исследования верифицированы маркёры дисбаланса иммунной системы у больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза, установлены корреляционные связи верифицированных маркёров с различными клиническими формами и стадиями тече-

ния рассеянного склероза, что даст возможность коррекции патогенетически обоснованной терапии и выработки алгоритма прогноза течения рассеянного склероза, что крайне важно для практического здравоохранения.

По результатам настоящего исследования получено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018612023 «Программа расчета персональной формулы расстройств иммунной системы при различных заболеваниях» от 09.02.2018.

**Методология и методы исследования.** Для решения сформулированных задач применялись: клинические методы (с использованием оценочных шкал: EDSS, Scripps, по Мак Дональду); инструментальные методы (МРТ, КТ); нейроофтальмологическое исследование; лабораторные методы (клиническое и иммунологическое исследование крови); методы математической статистики и системного анализа.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. У пациентов с рассеянным склерозом фиксируется функциональный дисбаланс иммунной системы путем оценки динамики показателей активности ее гемато-иммунологических маркеров.

2. Набор маркеров, верифицирующих функциональный дисбаланс иммунной системы, зависит от формы и стадии клинического течения рассеянного склероза.

3. Верификация функционального дисбаланса иммунной системы возможна на основе выделенного набора маркеров для первично-прогрессирующей, вторично-прогрессирующей и ремитирующей формы течения рассеянного склероза.

4. Установленные корреляционные связи верифицированных маркеров с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза, предоставляют возможность коррекции патогенетически обоснованной терапии и выработки алгоритма прогноза течения рассеянного склероза.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность выводов и рекомендаций проведенного исследования базируется на статистически обоснован-

ном количестве клинических наблюдений, использовании современных методов статистической обработки и системного анализа полученных результатов.

**Апробация работы.** Материалы выполненного диссертационного исследования доложены на Международном Конгрессе, посвященном Всемирному Дню инсульта (Москва, 2017); Областной научно-практической конференции неврологов «Актуальные проблемы неврологии» (Воронеж, 2018); Научно-практических конференциях кафедры неврологии ВГМУ им. Н.Н. Бурденко (Воронеж, 2018, 2019).

**Личный вклад автора.** Автор самостоятельно проанализировал современные отечественные и зарубежные работы, посвященные патогенезу, диагностике и особенностям клинического течения РС; разработал программу и дизайн исследования; выполнил клиническое и инструментальное обследование больных рассеянным склерозом с последующей интерпретацией полученных результатов, с использованием современных, адекватных методов статистической обработки данных; обобщил результаты проведенного исследования, сформулировал выводы и практические рекомендации; подготовил по теме диссертации необходимые публикации.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Научные положения диссертации соответствуют 4 пункту паспорта специальности 14.01.11 - нервные болезни.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты, полученные в ходе проведенного исследования, внедрены в практическую деятельность неврологического отделения БУЗ ВО «Воронежская областная клиническая больница №2», а также в учебный процесс ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Минздрава России на кафедре неврологии.

**Публикации по теме диссертации.** По теме настоящего исследования опубликовано 18 печатных работ, среди которых 12 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 1 публикация в издании, индексируемом в между-

народной библиографической базе Scopus, а также свидетельство о регистрации программы для ЭВМ в Роспатент.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 140 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 11 таблицами, 72 рисунками. Структурно работа состоит из введения, четыре главы, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 86 отечественных и 53 зарубежных источников, трех приложений.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования.**

Работа выполнялась на кафедре неврологии в Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко в 2017-2019 гг.

В проведенное исследование вошло 170 больных РС, которые, были разделены на 3 клинические группы:

1 клиническая группа («ППФ») – 30 пациентов с первично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания;

2 клиническая группа («ВПФ») – 40 пациентов с вторично-прогрессирующей формой клинического течения РС;

3 клиническая группа – 100 больных с клинической формой течения РС, которые были разделены на 2 подгруппы: подгруппа «РФсо» (50 больных) с ремитирующей клинической формой РС в стадии обострения, подгруппа «РФср» (50 пациентов) с ремитирующей клинической формой РС в стадии ремиссии.

4 группу составили здоровые доноры («Здоровые») в количестве 30 человек соответствующей возрастной категории.

Клиническое исследование неврологического статуса больных рассеянным склерозом выполнялось в соответствии с современными диагностическими критериями. Проводилась оценка функциональных систем организма и рассчитывался балл по расширенной шкале инвалидизации по Куртцке (шкала EDSS).

Оценка неврологического статуса проводилась по по шкале Scripps. Согласно современным требованиям к диагностике достоверного рассеянного склероза использовались широко распространенные в мировой практике новые диагностические критерии рассеянного склероза по Мак Дональду.

С целью постановки достоверного диагноза «рассеянный склероз», для всех больных проводилась магнитно-резонансная томография (МРТ) с целью верификации в структурах головного мозга диссеминации очагов, в соответствии с критериям Позера. Помимо МРТ проводилось нейроофтальмологическое исследование, которое включает в себя исследование остроты зрения, полей зрения, цветового зрения, а также оценку состояния глазного дна.

Всем категориям пациентов было проведено клиническое и иммунологическое исследование крови (таблица 1).

Иммунологическое обследование было стандартизованным для всех клинических вариантов рассеянного склероза. С помощью моноклональных антител CYTO-STATtetraCHROM на проточном цитофлуориметре NAVIOS Beckman Coulter идентифицировали клоны и субклоны лимфоцитов. Методом проточной цитометрии характеризовали поглотительную способность фагоцитов – фагоцитарного показателя и числа. Оценку кислородзависимого метаболизма нейтрофилов осуществляли тестом с нитросиним тетразолием – НСТ спонтанным и НСТ активированным, соответственно, свидетельствующих оперативную и резервную способность фагоцитов. Определение в сыворотке содержания циркулирующих иммунных комплексов – теста на наличие аутоагрессивных процессов в организме, реализовали спектрофотометрически по Haskova с полиэтиленгликолем. Определение иммунных глобулинов основных трех классов осуществляли турбодиметрическим методом на биохимическом анализаторе Chospitec, (Голландия).

Для оценки гематологических маркеров воспаления у больных, страдающих всеми вариантами заболеваний, использовали стандартные лабораторные методы определения содержания – лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, СОЭ.

**Таблица 1. Иммунологическое исследование крови**

Название	Условное обозначение	Единицы измерения	Референсные данные
Т-клетки - CD45+CD3+	Т	10 <sup>9</sup> / л	0,8-2,2
Т-хелперы - CD45+CD3+CD4+	Тх	10 <sup>9</sup> / л	0,6-1,6
Т-цитотоксические - CD45+CD3+CD8+	Тц	10 <sup>9</sup> / л	0,19-0,65
Активированные Т-лимфоциты CD3+HLA-DR	Так	10 <sup>9</sup> / л	0,03-0,2
Т-регуляторные лимфоциты CD3+CD4+CD25+	Тр	10 <sup>9</sup> / л	0,01-0,2
х)НК-клетки регуляторы CD3-CD16-CD56+	НКр	10 <sup>9</sup> / л	0,09-0,6
х)НК-клетки цитотоксические CD3-CD16+CD56+	НКц	10 <sup>9</sup> / л	0,12-0,37
НК клетки Т-зависимые CD3+CD16+CD56+	НКт	10 <sup>9</sup> / л	0,070-0,077
Клетки-носители HLA-DR антигена	HLA	ед.	0,134-0,139
Маркер апоптоза CD95	Ма	10 <sup>9</sup> / л	0,09-0,6
Лейкоциты с интегрином - CD11в	ЛИН	10 <sup>9</sup> / л	0,08-0,25
В-клетки - CD19+	В	10 <sup>9</sup> / л	0,1-0,5
Иммунные глобулины М	Ig М	г/л	0,5-2,7
Иммунные глобулина А	Ig А	г/л	0,8-3,2
Иммунные глобулины G	Ig G	г/л	6,6-15,0
Циркулирующие иммунные комплексы	ЦИК	УЕ	0-55
Молекулы средней массы	МСМ	УЕ	40-70
Интерлейкин 4	ИЛ-4	пкг/мл	19,6
Интерлейкин 6	ИЛ-6	пкг/мл	16,3
Интерлейкин 8	ИЛ-8	пкг/мл	14,1
Фактор некроза опухолей альфа	ФНО	пкг/мл	0,2
Моноциты	Мон.	10 <sup>9</sup> /л	3-11
Фагоцитарный показатель	ФП	%	55-90
Фагоцитарное число	ФЧ	МЧ	5-9
НСТ-спонтанный	НСТсп	%	5-12
НСТ-активированный	НСТак	%	10-35
Цитохимическое число спонтанного НСТ	ЦХЧсп	УЕ	1-1,12
Цитохимическое число активированного НСТ	ЦХЧак	УЕ	1-1,24

Обозначения: х) Трактовка по С.Ф. Гайдукову, А.Ю. Зурочке. Вопросы современной проточной цитометрии, 2008. (НКц – CD3 CD16>80-90% CD56<10-20%, НКр CD3 CD16<10-20% CD56>80-90%).

При сравнении групп в зависимости от характера распределения исходных данных использовались статистические критерии достоверности различий – параметрический, Стьюдента или непараметрический, Вилкоксона-Манна-Уитни.

Динамику параметров характеризовали так же частотным и результирующим частотным анализами, выявляющих основную тенденцию вариаций лабораторных параметров от заданного уровня.

Качественные вариации иммунного статуса определялись путем расчета степени иммунологических расстройств отдельных показателей по формуле:

$$\left( \frac{\text{показатель} \cdot \text{больного}}{\text{показатель} \cdot \text{здорового}} \cdot -1 \right) \times 100\% .$$

Знак «−» говорил о том, что имеется иммунологическая недостаточность (СИН), а знак «+» – подтверждал наличие гиперфункций иммунной системы (ГИС).

Для выявления сигнальных показателей использовался коэффициент диагностической ценности ( $K_j$ ), который рассчитывался по формуле, предложенной Горелик А.Л. и Скрипкиным В.А. в 1974 г.:

$$K_j = \frac{2 \cdot (\delta_1^2 + \delta_2^2)}{(M_2 - M_1)^2} ,$$

где  $M_1$  и  $M_2$  – математическое ожидание значений показателей;  $\delta_1$  и  $\delta_2$  – их среднеквадратичные отклонения (соответственно, у больных клинической группы и здоровых лиц).

В соответствии с предложенной методикой определения степени изменения параметров, была сформирована формула расстройств иммунной системы (ФРИС).

Алгоритм интерпретации результатов лабораторного обследования пациентов состоит из шести шагов:

1) определение вектора (общей тенденции) изменений средних значений параметров в сторону стимуляции или супрессии от нормативных значений;

2) уточняющая диагностика патологии с использованием частотного и результирующего частотного анализа, который позволяет выявить популяции больных риск индукции патологии конкретных показателей;

3) конкретизация вариации результатов гематологических тестов и слагаемых клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета;

4) точечная диагностика опорных составляющих формул гематологических расстройств (ФГР) и расстройств иммунной системы (ФРИС);

5) оценка напряжения в иммунной системе по образованию сильных корреляционных связей ( $>0,6$ ) ключевыми тестами отобранных типовых формул;

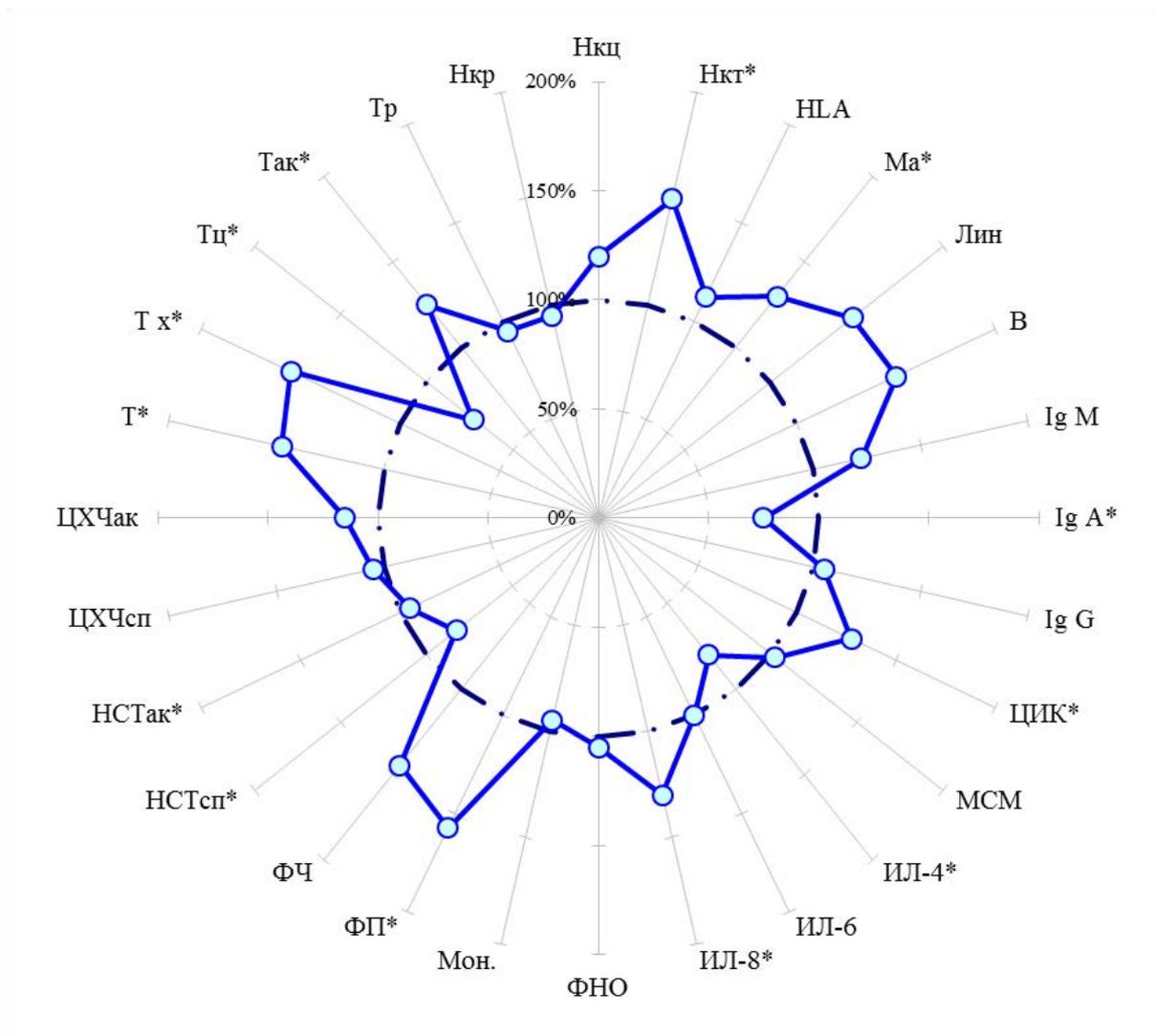
6) построение итогового рейтинга (на основе рангового метода) выраженности лабораторных отличий отдельных вариантов рассеянного склероза.

### **Результаты исследований и их обсуждение.**

Методически у пациентов четырех групп, страдающих первично- или вторично-прогрессирующей (ППФ, ВПФ) и ремитирующими формами рассеянного склероза в стадии обострения или ремиссии (РФсо, РФср) было изучено 8 рутинных гематологических, 28 иммунологических показателей.

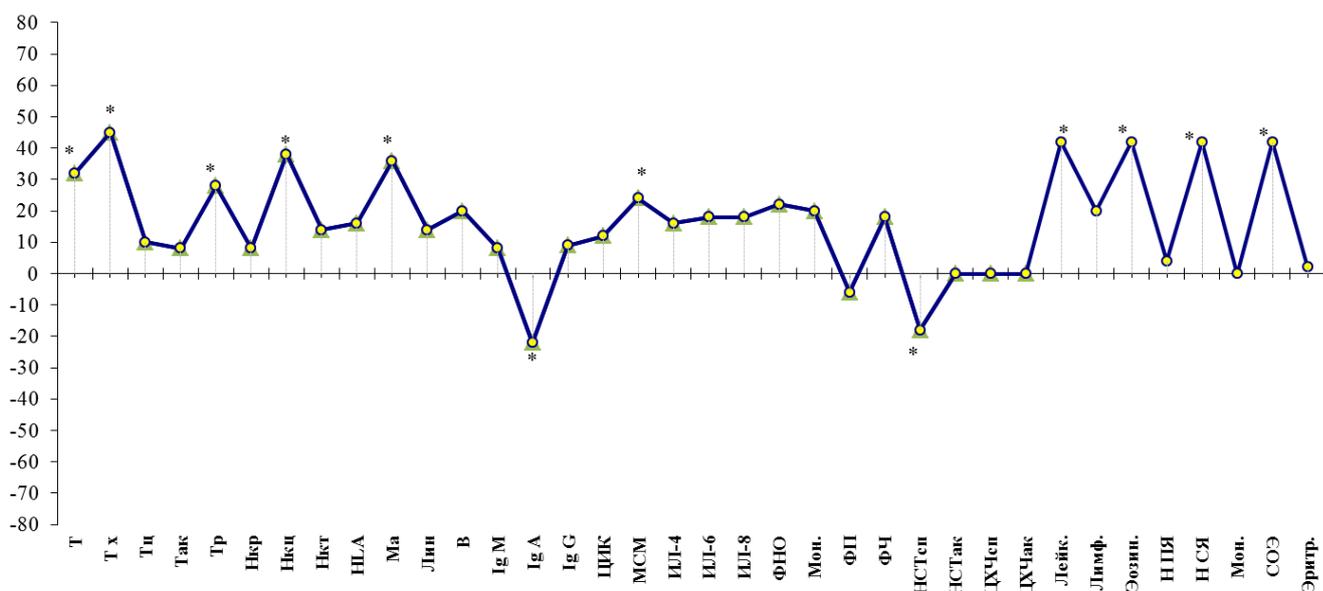
У пациентов с **первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза** наблюдается лейкоцитоз, эозинофилия, накопление зрелых гранулоцитов, ускоренное СОЭ. Все эти данные демонстрируют наличие гематологических признаков воспаления у больных с данной формой заболевания. В тоже время при общей оценке иммунного статуса у больных ППФ установлено достоверное изменение 12 показателей из 28 изученных (рис. 1).

Обобщающий результирующий частотный анализ (рис. 2) выявил определяющую тенденцию изменений иммунологических параметров: увеличение риска гиперфункции по Т-клеткам, Т-хелперам, Т-регуляторам лимфоцитам, клеток с маркером апоптоза, циркулирующим иммунным комплексам, на фоне снижения концентрации Ig A, величины спонтанного теста с нитросиним тетразолием. В сумме эти вариации в целом оказались количественно математически значимыми, а качественно – преобладающе стимулирующими - 28% против 6% супрессирующих,  $P < 0,05$ .



Обозначения: Т – Т-клетки; Тх – Т-хелперы; Тц – Т-цитотоксические; Так– Т-активные; НКр – натуральные киллеры регуляторы; НКц – натуральные киллеры цитотоксические; НКТ – натуральные киллеры тимусзависимые; Тр – Т-регуляторы; HLA – Клетки-носители HLA-DR антигена, Ma – маркер апоптоза; ЛИН – лейкоциты с интегриновыми рецепторами; В– В-клетки; IgA, IgM, IgG – иммунные глобулины; ЦИК циркулирующие иммунные комплексы; МСМ – молекулы средней массы; ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 – интерлейкины; ФНО – фактор некроза опухолей; Мон – Моноциты, ФП, ФЧ – фагоцитарный показатель и число, НСТсп, НСТак – спонтанный и активированный тесты с нитросиним тетразолием, ЦХЧсп, ЦХЧакт – Цитохимическое число спонтанного и активированного НСТ, \* - достоверность отличий от нормы при  $p < 0,05$ ; ломаная линия – значения показателей, окружность – нормализованные параметры здоровых лиц.

**Рисунок 1. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза**



**Рисунок 2. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза по результирующему частотному анализу**

Дополнительную информацию дает определение достоверной динамики обобщенных слагаемых гематологических, а так же показателей клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета, табл. 2.

Так, у больных с ППФ установлена существенная преимущественная стимуляция гематологических, 50% против 0 и клеточных - 55% - 27% показателей. Вариации гуморальных и фагоцитарных параметров оказались паритетными – 20 и 20%, 14 и 14%.

Проведение точечного анализа с использованием коэффициента диагностической ценности ( $Kj$ ) позволило определить ключевые лабораторные показатели нарушений – формулы расстройств иммунной системы.

При **вторично-прогрессирующей форме** рассеянного склероза отмечена достоверная динамика от нормативных значений 13 иммунологических показателей, из 28 изученных, из которых 42% оказались стимулированными, 17% - супрессированными (при  $p < 0,05$ ).

**Таблица 2. Рейтинг выраженности гемато-иммунологических расстройств клинических вариантов рассеянного склероза**

Нозоформы	Анализ гемато-иммунологических показателей			Анализ звеньев иммунитета				К.с.	Сумма рангов/отличий
	по сред.	по ч.а.	по р.ч.а.	Гм	К	Г	Ф		
	Вектор /ранг	Вектор /ранг	Вектор /ранг	Вектор /ранг	Вектор /ранг	Вектор /ранг	Вектор /ранг		
ППФ	+33/-11* 44/2	+44/-14* 26/3	+28/-6* 33/2	+50/-0* 50/2	+36/9* 55/2	+20/-20 40/2	+14/-14 29/3	9/2	18/II
ВПФ	+22/-8 42/2	+39/-11* 25/3	+31/-0* 31/3	+25/-0* 25/3	+45/-9* 55/2	+40/-10* 50/2	+29/-0* 29/3	10/1	19/I
РФсо	+42/-14* 56/2	+39/-17* 28/3	+33/-17 50/2	+50/-0* 50/2	+55/-27* 82/1	+40/-0* 40/2	+29/-29 57/2	8/2	16/II
РФср	+22/-8 31/3	+28/-14 21/3	+24/-8 33/2	+13/-13 25/3	+35/-0* 36/2	+50/-0* 50/2	+14/-14 29/3	12/1	21/I

Обозначения: ППФ –первично-прогрессирующая форма рассеянного склероза; РФсо – ремитирующая форма, стадия обострения, РФср – тоже стадия ремиссии; ВПФ – вторично-прогрессирующая форма рассеянного склероза; сред. – средние значения, ч.а.. ч.а.р. – частотный, результирующий частотный анализы, вектор – направление динамики в %, +,- стимуляция, супрессия показателя, \* - достоверность отличий при  $P < 0,05$ , Гм - гематологическое, К, Г, Ф – клеточное, гуморальное, фагоцитарное звенья иммунитета, К.С.- количество корреляционных связей, 1-3 в знаменателе означают – значительный, средний, несущественный ранги изменений; I-IV – минимальная и прогрессивно возрастающая выраженность отличий.

Применительно к гематологическим тестам (ФГР) –  $СЯ^+_2Эф^+_2Л^+_2$  ими оказались – увеличение содержания зрелых сегменто-ядерных клеток, эозинофильных лейкоцитов, общих лейкоцитов второй степени во всех случаях; тоже иммунологическим (ФРИС) –  $Тх^+_3Т^+_3Ма^+_2$  - рост уровня Т-хелперов, Т-клеток носителей маркера  $CD 95^+$ - максимальной – средней выраженности (таблица 3).

На основе инверсионного обратного анализа слагаемых ФРИС согласно установленной степени изменений сигнальных тестов были определены количественные критически значимые лабораторные критерии, позволяющие уточ-

нить диагноз заболевания по данным иммуно-лабораторного обследования пациентов. Для ППФ РС значимым было содержание для  $T_x > 1,8 * 10^9 / л$ ; общих Т-клеток  $> 2,5 * 10^9 / л$ , носителей маркера апоптоза –  $0,11-0,14 * 10^9 / л$ . Иными словами, если у больных с диагнозом рассеянный склероз обнаруживают выше указанные характеристики трех установленных ключевых иммунологических параметров, то это является дополнительным свидетельством первично-прогрессирующей формы заболевания у конкретного пациента.

**Таблица 3. Ключевые показатели иммуно-гематологических показателей у больных рассеянным склерозом**

Клинические варианты рассеянного склероза	Формулы гематологических расстройств (ФГР)	Формулы расстройств иммунной системы (ФРИС)
ППФ	$СЯ^+_2 Эф^+_3 Л^+_3$	$T_x^+_3 T^+_3 Ma^+_2$
ВПФ	$СЯ^+_2 Лф^+_2 Л^+_1$	$IgM^+_3 ФП^+_2 T_x^+_3$
РФ со	$СЯ^+_2 M^+_2 Лф^+_2$	$НКр^+_3 НКт^+_3 ЦИК^+_3$
РФ ср	$СЯ^+_2 M^+_2 Л^+_1$	$ЦИК^+_3 IgA^+_2 T^+_2$

По результирующему частотному анализу установлена стимуляция пяти клеточных показателей (Т-клеток, Т-хелперов, НК-регуляторам, тимусзависимым натуральным киллерам, носителям HLADR маркера), четырех В-зависимых (В-лимфоцитов, иммунных глобулинов класса А, ЦИК, интерлейкина 8), одного фагоцитарного теста (ФП).

При определении сигнальных параметров гематологических расстройств при ВПФ отобрали (табл. 3):  $СЯ^+_2 Лф^+_2 Л^+_1$  – средней выраженности увеличение сегменто-ядерных лейкоцитов, недифференцированных лимфоцитов и минимальное накопление лейкоцитов. Обращается внимание на весьма условно отличие ФГР при ВПФ от ее аналога при ППФ -  $СЯ^+_2 Эф^+_2 Л^+_2$ .

Сигнальными иммунологическими тестами при вторично-прогрессирующей форме рассеянного склероза оказались (табл. 3) –  $IgM^+_3 ФП^+_2 T_x^+_3$  - гипериммуноглобулинемия третьей степени по М классу белков, активация поглотительной функции нейтрофилов средней выраженности и максимальное избыточное производство Т-хелперов.

Использование алгоритма пересчета слагаемых ФРИС позволило количественно идентифицировать диагностические критерии трех ведущих параметров при вторично-прогрессивной форме рассеянного склероза: – IgM > 4,6г/л, ФП – 96,6-120,7%, Тх >1,82\* 10<sup>9</sup>/л.

При сопоставлении количественных данных лабораторного обследования больных с двумя различными формами заболевания с уровнем нормы по средним значениям параметров существенной разницы практически не было, поскольку у больных достоверно изменилось соответственно по 12 и 13 показателей. При использовании уточняющей диагностики с помощью частотного и результирующего частотного анализов было показано, что выраженность изменений иммунологических, а также гематологических тестов при ППФ оказалась достоверно большей, чем при ПВП.

В результате изучения количественно-качественных особенностей иммунопатологических расстройств у больных, страдающих **ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения** доказано накопление гематологических маркеров воспаления – недифференцированных лимфоцитов, свидетелей аллергизации – эозинофилов, зрелых гранулоцитов – сегментоядерных лейкоцитов в сочетании со снижением уровня моноцитов.

В тоже время у пациентов с этим вариантом рассеянного склероза были выявлены достоверные количественные отличия от нормативных данных здоровых людей 17 иммунологических показателей из 28 изученных, что в целом было достоверно значимым и соответствовало 2 среднему рангу отличий. При определении итогового вектора положительной и отрицательной динамики параметров было установлено соотношение 42% и 14%, с  $P < 0,05$ .

Частотный результирующий анализ, показал активацию 10 тестов – 6 клеточных (Т, Тх, Тр, НКр, НКц, носителей Ма маркера); двух гуморальных (иммунных глобулинов класса М, циркулирующих иммунных комплексов), двух фагоцитарных (фагоцитарный показатель и число).

При определении сигнальных гематологических и иммунологических показателей были сформированы типовые ФГР –  $СЯ^+_2 М^-_2 Лф^+_2$ - увеличение числа сегментоядерных клеток, снижение – моноцитов с ростом количества общих лимфоцитов второй степени во всех случаях и ФРИС –  $Нкр^+_3 НКт^+_3 ЦИК^+_3$  - стимуляция уровня двух субпопуляций натуральных киллеров – регуляторных и тимусзависимых и концентрации индукторов аутоиммунных поражений циркулирующих иммунных комплексов, предельной выраженности третьей степени. Как и в предыдущем случае в целом информационная мощность формулы гематологических расстройств оказалась невысокой, а формулы иммунологических расстройств пациентов значительной.

Интерпретация рассчитанных степеней вариаций трех ключевых параметров в цифровые критерии позволило определить лабораторные диагностические параметры: для  $НКт > 0,9 \cdot 10^9 /л$ ,  $Нкр > 0,59 \cdot 10^9 /л$ ,  $ЦИК > 45,9$  УЕ.

**У больных рассеянным склерозом в стадии ремиссии** обнаружены другие результаты – от нормативного уровня отмечается достоверное увеличение уровня сегментоядерных лейкоцитов и снижение – моноцитов, т.е. двух показателей из 8 изученных, вариации иммунологических тестов от нормативного уровня, так же оказались более чем скромными.

Состав формулы гематологических расстройств у больных Рфсо -  $СЯ^+_2 М^-_2 Л^+_1$  как и в выше приведенных случаях не является значимым. В тоже время ФРИС ( $ЦИК^+_3 IgA^+_2 Т^+_2$ ) демонстрирует у пациентов достоверное, третьей степени, накопление циркулирующих иммунных комплексов – индукторов аутоагрессивных реакций, гипериммуноглобулинемию по классу А с накоплением количества Т-клеток средней выраженности. Эти данные свидетельствуют не нормализацию, а наличие некоей ключевой иммуно-патологии в стадии ремиссии рассеянного склероза.

Пересчет в цифровые значения степени изменений трех ключевых параметров формулы расстройств иммунной системы позволяет установить дополнительные лабораторные диагностически значимые тесты:  $ЦИК^+_3 > 45,9$  УЕ;  $IgA^+_2 - 2,1-2,6$  г/л;  $Т^+_2 > 2,5 \cdot 10^9 /л$ .

Установлено, что характерной особенностью изученных вариантов рассеянного склероза является итоговая активация иммунного статуса с различными вовлечением в стимуляцию отдельных звеньев иммунитета: при ППФ – клеточного; при ВПФ – клеточного, гуморального, фагоцитарного; при РФсо – клеточного, в меньшей степени гуморального; при РФср – гуморального, в меньшей степени клеточного.

Рейтинг снижающейся выраженности отличий иммуно-лабораторных параметров конкретных форм и стадий рассеянного склероза оказался следующим: ремитирующая форма, стадия обострения; первично-прогрессирующая форма; ремитирующая форма, стадия ремиссии и вторично-прогрессирующая форма заболевания.

Таким образом, предложенный этапный алгоритм аналитической трактовки результатов оценки неспецифического рутинного гематоиммунологического статуса больных, страдающих различными формами и стадиями рассеянного склероза «от общего к частному» позволяет: объективно количественно измерить и сопоставить выраженность интегральных изменений лабораторных тестов; определить патогенетические мишени нарушений; конкретизировать особенности их изменений; определить предполагаемые звенья иммунитета для направленной фармакологической коррекции; установить дополнительные диагностически значимые сигнальные параметры клинических вариантов заболевания.

## **ВЫВОДЫ**

1. На основе предложенной методики проведено исследование, позволившее оценить субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток, функциональную активность нейтрофилов, уровень иммуноглобулинов классов А, G, М, уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови у больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза.

2. При оценке выраженности вовлечения отдельных звеньев гематоиммунологического статуса в патологический процесс установлены: несущественная реакция гематологических тестов при ППФ, ВПФ, РФср и средняя – при РФоб; достоверная, стимуляция величин всех иммунологических показате-

лей при всех нозоформах заболевания, за исключением инертности фагоцитоза в стадии ремиссии рассеянного склероза.

3. На основе полученных данных исследования выделены маркеры дисбаланса иммунной системы при различных клинических формах и стадиях течения рассеянного склероза, в частности, установлено, что:

- характерной особенностью первично-прогрессирующей формы рассеянного склероза является выраженная активация иммунного статуса в основном за счет стимуляции Т-зависимых параметров с следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами:  $Tx^+_3$   $T^+_3$   $Ma^+_2$ ;

- характерной особенностью вторично-прогрессирующей формы рассеянного склероза является активация иммунного статуса за счет стимуляции клеточного, гуморального, фагоцитарного звеньев иммунитета со следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами:  $IgM^+_3$   $ФП^+_2$   $Tx^+_3$ ;

- характерной особенностью ремитирующей формы рассеянного склероза в стадии обострения является активация иммунного статуса за счет стимуляции клеточного, в меньшей степени гуморального звеньев иммунитета с следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами:  $НКр^+_3$   $НКТ^+_3$   $ЦИК^+_3$ ;

- характерной особенностью ремитирующей формы рассеянного склероза в стадии ремиссии является активация иммунного статуса за счет стимуляции гуморального, в меньшей степени клеточного звеньев иммунитета с следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами:  $ЦИК^+_3$   $IgA^+_2$   $T^+_2$ .

4. Выделенные маркеры верифицированы как проявление дисбаланса иммунной системы у больных с разными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза с вовлечением в стимуляцию отдельных звеньев иммунитета: при ППФ – клеточного; при ВПФ – клеточного, гуморального, фагоцитарного; при РФсо – клеточного, в меньшей степени гуморального; при РФср – гуморального, в меньшей степени клеточного.

5. Установлены корреляционные связи верифицированных маркеров с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза,

что даст возможность коррекции патогенетически обоснованной терапии и выработки алгоритма прогноза течения рассеянного склероза.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для повышения эффективности диагностики различных форм и стадий рассеянного склероза рекомендуется учитывать выделенные маркеры дисбаланса иммунной системы.

2. Рекомендуется использовать следующие критические количественные значения диагностических лабораторных маркеров, полученные на основании анализа ключевых слагаемых исходных формул расстройств иммунной системы (ФРИС): для ППФ –  $T > 2,5 * 10^9 / л$ ,  $T_x > 1,8 * 10^9 / л$ ,  $Ma - 0,11-0,14/л$ ; для ВПФ –  $IgM > 4,6г/л$ ,  $ФП - 96,6-120,7\%$ ,  $T_x > 1,82 * 10^9 / л$ ; для РФсо –  $ЦИК^+_3 > 45,9 УЕ$ ;  $IgA^+_2 - 2,1-2,6 г/л$ ;  $T^+_2 > 2,5 * 10^9 / л$ ; для РФср -  $НКТ > 0,9 * 10^9 / л$ ,  $НКр > 0,59 * 10^9 / л$ ,  $ЦИК > 45,9 УЕ$ .

3. Установленные корреляционные связи верифицированных маркеров с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза, целесообразно использовать при коррекции патогенетически обоснованной терапии и выработки алгоритма прогноза течения рассеянного склероза.

### **Список опубликованных научных трудов**

1. Пожидаева, Ю.А. Температурные факторы, влияющие на клиническую картину рассеянного склероза / Ю.А. Пожидаева, И.С. Протасов, А.О. Мацнев // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2013. – № 54. – С. 40-43.

2. Пожидаева, Ю.А. Иммунный статус пациентов с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, В.А. Быкова // Современные проблемы неврологии: материалы областной научно-практической конференции неврологов. – Воронеж, ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, 2016. – С.155-158.

3. Пожидаева, Ю.А. Современные аспекты проблемы патогенеза рассеянного склероза / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков, М.А. Смелянец, У.В. Дерябина // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2016. – Т. 15. – № 4. – С. 624-627.

4. Пожидаева, Ю.А. Особенность течения патологического процесса при рассеянном склерозе, подтвержденная динамикой биохимических маркеров окислительного стресса / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.П. Савиных, М.А. Смелянец // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова**. – 2016. – Т. 116. – № 10-2. – С. 21-26.

5. Пожидаева, Ю.А. Верификация непрерывности течения патологического процесса при рассеянном склерозе / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий // **Международный Конгресс, посвященный Всемирному Дню инсульта: материалы конгресса**. – М.: ООО «Буки-Веди», 2017. – С. 582.

6. Пожидаева, Ю.А. Клинические особенности рассеянного склероза в детском и юношеском возрасте и опыт лечения препаратами, изменяющими течение заболевания / Ю.А. Пожидаева, В.А. Быкова, И.Д. Кушнарера // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2017. – Т. 16. – № 1. – С. 49-53.

7. Пожидаева, Ю.А. Некоторые особенности клинической картины рассеянного склероза на современном этапе / Ю.А. Пожидаева // **Молодежный инновационный вестник**. – 2017. – Т. 6. – № 1. – С. 93-94.

8. Пожидаева, Ю.А. Анализ значимости иммунопатологических и аутоиммунных механизмов в патогенезе рассеянного склероза / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, В.А. Быкова // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2017. – Т. 16. – № 2. – С. 278-281.

9. Пожидаева, Ю.А. Классификация и типизация течения патологического процесса при рассеянном склерозе / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, В.В. Разуваева // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2017. – Т. 16. – № 2. – С. 335-339.

10. Пожидаева, Ю.А. Анализ значимости свободнорадикального окисления липидов в патогенезе рассеянного склероза / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков, // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 792-795.

11. Пожидаева, Ю.А. Анализ составляющих лабораторного статуса по параметрам интенсивности свободнорадикального окисления липидов и активации системы антиоксидантной защиты у больных с рассеянным склерозом / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.А. Быкова // **Системный ана-**

лиз и управление в биомедицинских системах. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 837-841.

12. Pozhidaeva, Y.A. Features of the Course of the Pathological Process in Multiple Sclerosis as Confirmed By Changes in Biochemical Markers for Oxidative Stress / Y.A. Pozhidaeva, M.A. Lutskii, A.M. Zemskov, V.P. Savinykh, M.A. Smelyanets // **Neuroscience and Behavioral Physiology**. – 2018. – Т. 48. – № 3. – С. 346-350.

13. Пожидаева, Ю.А. Анализ непрерывности течения патологического процесса при рассеянном склерозе / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.П. Савиных, Н.М. Буравлева // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 77-80.

14. Пожидаева, Ю.А. Течение патологического процесса при рассеянном склерозе / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, А.М. Земсков // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 312-315.

15. Пожидаева, Ю.А. Особенности патогенеза при рассеянном склерозе / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, В.В. Разуваева, В.П. Савиных, Н.М. Буравлева // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2018. – Т. 17. – № 2. – С. 366-370.

16. Пожидаева, Ю.А. Программа расчета персональной формулы расстройств иммунной системы при различных заболеваниях / Ю.А. Пожидаева, И.Я. Львович, А.М. Земсков, М.А. Луцкий, О.Н. Чопоров и др. // **Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018612023**, опублик. 09.02.2018. – М.: Роспатент.

17. Пожидаева, Ю.А. Анализ некоторых показателей окислительного стресса у больных рассеянным склерозом / Ю.А. Пожидаева, В.А. Куташов, М.А. Луцкий, В.А. Быкова, Л.Н. Антакова // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 45-48.

18. Пожидаева, Ю.А. Оценка некоторых показателей иммунного статуса у больных рассеянным склерозом / Ю.А. Пожидаева, М.А. Луцкий, В.А. Куташов // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах**. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 94-97.