

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.Н. БУРДЕНКО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

УДК 616.832-004.2-097

ПОЖИДАЕВА

Юлия Александровна

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

14.01.11 – Нервные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Луцкий М.А.

Воронеж – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ	
ЭТИОПАТОГЕНЕЗА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА С АКЦЕНТОМ	
НА ИММУНО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ	
1.1. Особенности этиологии и патогенеза рассеянного склероза	11
1.2. Роль иммунной системы в иммунопатологическом и аутоиммунных процессах развития рассеянного склероза	14
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКИЕ, ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ	
ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ	
ФОРМАМИ ТЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА.	
2.1. Клиническая характеристика больных с различными клиническими формами рассеянного склероза	31
2.2. Инструментальные методы исследования больных с различными клиническими формами рассеянного склероза	32
2.3. Лабораторное исследование иммунного статуса у больных с различными клиническими формами рассеянного склероза..	40
2.4. Методы статистического анализа полученных данных.	53
ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с различными клиническими формами рассеянного склероза в сравнении с донорами	58
3.1.1. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза	59
3.1.2. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза	63

3.1.3. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с ремитирующей формой рассеянного склероза	67
3.2. Динамика иммунного статуса при различных клинических формах течения рассеянного склероза	75
Выводы третьей главы	81
ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ С ИЛЛЮСТРАЦИЕЙ И ОБСУЖДЕНИЕМ	82
4.1. Влияние клинических форм рассеянного склероза на особенности гемато-иммунологических расстройств у больных	83
4.2. Влияние стадии рассеянного склероза на особенности гемато-иммунологических расстройств у больных	96
Выводы четвертой главы	111
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	112
ВЫВОДЫ	115
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	117
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	118
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	120
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	135
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	139
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	140

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность 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 [40, 87]. 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 [12].

Последнее время, как во всем мире, так и в России, показатели распространенности рассеянного склероза имеют тенденцию к увеличению [10, 11, 85]. 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 [87, 124]. 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 [11, 71].

В патогенезе рассеянного склероза, несомненно, ведущую роль играют иммунопатологические реакции [5, 50, 97, 111]. 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 [29, 85, 111]. 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 [29]. Наличие общих структурных и медиаторных звеньев иммунной и нервной систем в патогенезе РС обуславливает сочетанные и взаимозависимые нарушения функции иммунной систем и ЦНС [21].

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

Настоящая работа посвящена изучению гемато-иммунных 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.

Целью настоящего исследования является 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.

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 течения 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.

Основные 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 и апробация результатов.

Достоверность выводов и рекомендаций проведенного исследования базируется на статистически обоснованном количестве клинических наблюдений, использовании современных методов статистической обработки и системного анализа полученных результатов.

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.

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.

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 международной 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.

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА С АКЦЕНТОМ НА ИММУНО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ

1.1. Особенности этиологии и патогенеза рассеянного склероза

Согласно современным представлениям, рассеянный склероз является хроническим аутоиммунным заболеванием центральной нервной системы, у лиц молодого возраста, имеющих генетическую предрасположенность, развивающимся на фоне неблагоприятных факторов внешней среды. Рассеянный склероз может проявляться клинически как в виде непрерывно прогрессирующего процесса, так и в форме обострений с последующей ремиссией. Характерным является непрерывное течение заболевания во времени. Для рассеянного склероза достаточно высок процент быстрой инвалидизации больных [29, 68].

Для рассеянного склероза характерно то, что он является многофакториальным тяжелым заболеванием с крайне негативным его течением для пациентов [3, 70].

Следует отметить, что, несмотря на интенсивно проводимые в последние десятилетия исследования, вопрос, связанный с этиологией РС, нельзя считать окончательно решенным [14, 18, 19, 29, 68, 96, 97, 110]. Условно среди исследований, которые проводятся в данной области, можно выделить два основных направления:

- первое направление связано с изучением наследственных (генетических) факторов развития заболевания [104, 105, 108, 137];

- второе направление связано с изучением факторов риска со стороны внешней среды [90].

1. Наследственные (генетические) факторы.

На сегодняшний день доказан тот факт, что способность к иммунному ответу организма на воздействие отдельных антигенов частично генетически детерминирована. Известно, что для генов, которые отвечают за иммунный ответ,

генетическая область это тот же генный комплекс в составе главного комплекса гистосовместимости (ГКГ). Подобные гены также называют HLA-системой (Human Leukocyte Antigens) или человеческим лейкоцитарным антигеном, а соответствующие им молекулы – HLA-молекулами. Среди HLA-молекул выделяют молекулы первого и второго класса, каждый из которых принимает участие в иммунном ответе [35]. HLA-молекулы второго класса, выполняя роль индукторов и хелперов для субпопуляции CD4⁺ Т-клеток являются своего рода «ключом». Именно этим клеткам принадлежит основная роль в индукции иммунного ответа, а процесс активации Т-клеток связан с увеличением экспрессии молекул второго класса HLA и воздействием цитокинов [8, 24, 25, 82, 135].

С учетом функции, выполняемой генами HLA как генами иммунного ответа и ассоциации аллелей HLA с чувствительностью к рассеянному склерозу, становится понятным фактор генетической предрасположенности к рассеянному склерозу. Статистически доказан факт повышенного риска заболевания РС среди жителей Северной Америки, Центральной и Северной Европы среди лиц с гаплотипом HLA-DR2 DG6 DW2 [124]. При этом механизмы, которые заложены в основу ассоциации HLA с РС, еще не выяснены полностью, хотя известно, что о содержании в области HLA генов, кодирующих многие белки. Эти гены в процессах иммунопатологических реакций играют существенную роль, в частности, к ним относятся гены, отвечающие за синтез L-цепи молекул первого класса и L и β-цепей молекул второго класса комплекса HLA. Также плотно связаны с HLA-областью гены, принимающие участие в процессинге антигенов, кодирующие транспортные белки низкомолекулярного веса. В ходе проведенных в последнее время исследований, выявляющих роль при рассеянном склерозе цитокинов, выдвинуто предположение о том, в данную область входят также гены, ответственные за продукцию ряда цитокинов. Это относится, в частности, к продукции фактора некроза опухоли-α (ФНО-α) и лимфотоксина (ЛТ), что еще раз доказывает роль HLA-генотипа как фактора, который способствует развитию РС [8, 35].

Факторы внешней среды.

Особое место занимают среди факторов внешней среды инфекционные агенты. По результатам ряда исследований, сделано предположение о том, что инфицирование ЦНС такими вирусами, как: EBV, herpes simplex VI, JC-вирус, ретровирусы, вирусы кори и краснухи и, вероятно, и другими инфекционными агентами может быть одной из основных причин развития РС [90]. Инфекционный возбудитель при этом может как самостоятельно поражать ткань мозга, так и индуцировать развитие на антигены миелина аутоиммунных реакций.

Имеются результаты исследований радиации, определяющие, что она оказывает неблагоприятное воздействие на демиелинизирующий процесс, радиацию так же можно отнести к экзогенным факторам риска развития рассеянного склероза [64].

Профессиональный контакт с растворителями и красителями может являться еще одной причиной развития заболевания, однако, данная характеристика, не относится к основным причинам демиелинизации при рассеянном склерозе [99, 111].

В ходе ряда эпидемиологических исследований была определена более высокая РС на территориях, для которых характерно низкое содержание в почве алюминия, кобальта, меди, магния, молибдена, и имеется повышенное содержание свинца и хрома [11, 18]. Также есть информация, что зоны, в которых расположены нефтеперерабатывающие, металлургические и химические производства, характеризуются более высокой распространенностью рассеянного склероза. Неблагополучная экологическая ситуация в мире, может явиться дополнительным фактором, который способствует росту заболеваемости рассеянным склерозом.

Таким образом, вопрос об этиологии рассеянного склероза на современном уровне знаний требует дальнейших исследований.

На сегодняшний день подтверждена роль в патогенезе рассеянного склероза иммунопатологических и аутоиммунных механизмов [4, 27, 75, 79, 101]. Доказательством этому является:

1) повышение в очагах демиелинизации уровня экспрессии молекул антиген-представления и адгезии; наличие активированных иммунокомпетентных клеток в мозге, крови и ликворе больных РС;

2) выделение клонов клеток сенсibilизированных к антигенам миелина из тканей мозга, крови и ликвора больных РС;

3) повышенная продукция иммуноглобулина (Ig), образующего в ликворе олигоклональные группы, а также антитела к вирусам и антигенам миелина.

Согласно современным представлениям, основной гипотезой иммунопатогенеза РС является положение об активном проникновении в ткань мозга через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) Т-клеток, сенсibilизированных к антигенам миелина, которые начинают локально пролиферировать и привлекать другие клетки крови, запуская эффекторные реакции повреждающие миелин, аксоны и олигодендроглиocyты. Вследствие данного процесса вырабатываются цитокины, которые, с одной стороны, оказывают местное повреждающее действие, что способствует выбросу антигенов, а с другой стороны, за счет усиления активности антиген-представления и адгезии лавинообразно привлекают в ткань мозга всё большее количество клеток крови [2, 25, 118].

Проведенные иммуноцитохимические исследования показали, что в паренхиме мозга среди клеток периваскулярных воспалительных муфт и воспалительных инфильтратов представлены преимущественно Т-лимфоциты и макрофаги [13].

1.2. Роль иммунной системы в иммунопатологическом и аутоиммунных процессах развития рассеянного склероза

Анатомо-функциональный принцип устройства иммунной системы - органноциркулярный, т.е. включает ряд специализированных органов с организованной внутренней структурой. Иммунная система включает центральные (первичные) и периферические (вторичные) органы. Выделяются

инкапсулированные органы, к которым относятся лимфатические узлы, селезенка и тимус, и неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек, кожи и др. [55].

Центральными органами (первичными) являются вилочковая железа (тимус) и костный мозг, в которых начинается созревание зрелых лимфоцитов из стволовой кроветворной клетки (лимфопоэз) [31]. Периферическими (вторичными) органами являются лимфатические узлы, селезенка и неинкапсулированная лимфоидная ткань, расположенная в разных тканях организма и органах. К наиболее известным структурам относятся пейеровы бляшки и миндалины [54, 55, 63].

Тимус – специализированный лимфоэпителиальный орган, расположен в переднем верхнем средостении, за грудиной, над сердцем. Состоит из двух больших и множества долек, разделенных фиброзными перегородками. В каждой дольке различают периферийную корковую и центральную медуллярную гистологические зоны. Строма тимуса представлена эпителиальными клетками, его размер меняется с возрастом человека. Этот центральный орган иммуногенеза достигает максимального развития к 10-12 годам, а в последующем, вплоть до старости, подвергается регрессивным изменениям.

Кроветворный костный мозг является местом рождения всех клеток иммунной системы и созревания В-лимфоцитов, поэтому он рассматривается у человека как центральный орган гуморального иммунитета. К 18-20 годам красный костный мозг локализуется только в плоских костях и эпифизах длинных трубчатых костей [38].

Бурса Фабрициуса – это обнаруженный у птиц фолликуло-эпителиальный орган, регулирующий гуморальные иммунные реакции. У человека функцию бурсы выполняют костный мозг, лимфатические образования кишечника (в первую очередь червеобразный отросток) и другие лимфоидные образования [38].

Лимфатические узлы – множественные, симметрично расположенные, инкапсулированные периферические лимфоидные органы бобовидной формы,

размером от 0,5 до 1,5 см располагаются по ходу лимфатических сосудов дренируют тканевую жидкость из всех барьерных тканей. Разделяются на: околоушные, задне-шейные, подмышечные, подколенные, паховые, брыжеечные, средостенные и др. Лимфатические узлы содержат герминативные (тимуснезависимые) и паракортикальные (тимусзависимые) центры. Трабекулами корковая зона разделена на радиальные секторы. Содержание лимфоидных фолликулов формируют В-лимфоцитарную зону. В корковом слое при воздействии антигенов В-клетки образуются вторичные фолликулы. Строма фолликулов содержит фолликулярные дендритные клетки, которые создают окружение для процесса образования антител, где протекают процессы взаимодействия лимфоцитов с антиген-презентирующими клетками, иммуногенез и пролиферация лимфоцитов [65].

Самым крупным лимфоидным непарным органом является селезёнка, которая имеет в среднем массу до 150 грамм. Селезенка состоит из белой пульпы, содержащей красную пульпу и лимфоциты. Именно в селезенке продолжается лимфопоэз В-лимфоцитов после выхода из костного мозга. В селезенке дифференцируются две функционально отличные субпопуляции В-лимфоцитов и проходят две транзиторные стадии (Т1 и Т2). Помимо функций иммуногенеза, селезенка способна депонировать кровь, включая тромбоциты, и очищает кровь от поврежденных клеток организма и чужеродных антигенов.

Кровь тоже является периферическим лимфоидным органом. В ней циркулируют различные популяции и субпопуляции лимфоцитов, нейтрофилы, моноциты и другие клетки. Общее количество циркулирующих лимфоцитов при этом составляет 10^{10} [28].

Неинкапсулированная лимфоидная ткань слизистых оболочек включает глоточное кольцо Пирогова, пейеровы бляшки тонкой кишки, лимфоидные фолликулы аппендикса, лимфоидную ткань слизистых оболочек бронхов и бронхиол, слизистых оболочек мочеполовой системы, всех остальных слизистых оболочек. Имеется так же иммунная подсистема кожи.

Парным лимфоидным органом являются небные миндалины, которые расположены в преддверии глотки, впереди глоточно-носового и позади глоточно-щечного сужения, таким образом, данный орган вынесен на периферию и располагается на границе пищеварительного и дыхательного трактов. Такое расположение миндалин определяет особую их роль в качестве информационного центра об антигенах, поступающих во внутреннюю среду организма человека с водой, пищей и воздухом. Так как миндалины находятся с вилочковой железой в функциональной связи, их удаление будет способствовать более ранней инволюции тимуса. В миндалинах синтезируются интерферон и иммуноглобулины А, М, G, обуславливающие антиинфекционную неспецифическую резистентность.

Аппендикулярный отросток состоит гистоморфологически из купола с короной, расположенных под куполом фолликулов, тимусзависимой зоной и связанной с ней слизистой оболочкой, имеющей форму грибовидных выступов. Эпителий купола отличается наличием М-клеток, имеющих многочисленные микроскладки, специализирующихся на транспортировке антигенов. К ним примыкают Т-клетки фолликулов, которые также определяются в межфолликулярной зоне [131, 135].

Печень не является в прямом смысле органом иммунной системы. Однако ее функции тесно связаны с защитными специфическими реакциями. В эмбриональном периоде развития печень выполняет важную функцию органа кроветворения и лимфопоэза. Аллогенные трансплантаты печени почти не отторгаются. Толерантность на вводимые антигены реализуется только при нормальном физиологическом состоянии органа. Печень синтезирует белки системы комплемента, содержит собственные субпопуляции лимфоцитов, обуславливающие функции Т-клеток и ТНК, а также гепатоциты, купферовские клетки, эндотелиальные, звездчатые клетки (Д.Мейл и соавт., 2007).

Кожа все время контактируя с агрессивными внешними факторами, являясь первичной мишенью для иммунных и аллергических реакций,

наделена определенной иммунологической функцией. Кожа является функционально обособленным иммунным органом, способна индуцировать системные реакции на антигены, изолировать, пресенгировать чужеродные объекты с помощью резидентных гистиоцитов, тучных клеток, клеток Лангерганса, лимфоцитов, гранулоцитов. В кожных покровах находится достаточное количество дермальных Т-В-лимфоцитов, тканевых макрофагов. Первые являются особыми, не встречающимися в других периферических органах иммунной системы. Установлена способность кератиноцитов, фибробластов, эндотелиальных клеток синтезировать основные медиаторы иммунного ответа. Которые обеспечивают процессы кооперации клеток [32, 70].

Иммунные реакции осуществляются 2 видами основных (лимфоцитарные) и 7-10 вспомогательных клеток. При этом лимфоциты постоянно циркулируют и рециркулируют между лимфоидными и нелимфоидными органами и тканями через соответствующие сосуды. Например, через один лимфатический сосуд в 1 ч проходит около 10^{10} лимфоцитов, а в крови в каждый момент находится всего лишь около 0,2-2% этих клеток [78].

Исключительное отличие лимфоцитов от всех остальных клеток организма – их специализированные продукты – рецепторы для антигенов. Родоначальниками лимфоцитов являются стволовые клетки, которые образуются в костном мозге. Также в костном мозге и эмбриональной печени развиваются предшественники Т-лимфоцитов, проходящие в тимусе обязательную стадию созревания, попадающие затем в виде зрелых Т-лимфоцитов в кровотоки. Из вилочковой железы выходит в циркуляцию лишь 0,9-8% клеток, а остальные гибнут в тимусе или сразу после выхода из него. До 70% всех лимфоидных клеток составляют Т-клетки, которые являясь долгоживущими, постоянно циркулируют, проходя десятки раз через периферические органы иммунной системы, подвергаясь дальнейшей дифференцировке в кровотоке и лимфатической системе. Этот пул периферических лимфоцитов может дифференцироваться в

клетки-памяти и наивные Т-лимфоциты. Т-лимфоциты памяти – это долгоживущие потомки Т-клеток, являющиеся носителями рецепторов к антигенам, которые получены от Т-лимфоцитов, ранее сенсibilизированных ими. Наивные лимфоциты расселяются в барьерных тканях и тимусзависимых зонах лимфоидных органов и циркулируют до контакта с антигеном. Т-лимфоциты отвечают за противоопухолевую цитотоксичность и клеточный иммунитет, являются помощниками в продукции В-клетками иммуноглобулинов [127].

По экспрессии маркерных антигенов CD Т-клетки классифицируются на несколько субпопуляций, каждая из которых выполняет строго специфические функции. Данные клетки несут общий маркер Т-клеточный рецептор – CD3. По структуре Т-клеточного рецептора наивные (не контактировавшие с АГ) Т-лимфоциты делятся на $\gamma\delta$ Т-клетки и $\alpha\beta$ Т-клетки, которые в свою очередь разделяются на 4 субпопуляции. Одна из них-CD8 Т-лимфоциты с функцией цитотоксических клеток (Т-киллеры) и распознаванием АГ в составе МНС I, другая - CD4 Т-лимфоциты, относящиеся к Т-хелперам и распознаванием АГ в составе МНС II, причём наиболее важные корецепторы именно CD4 и CD8 [26, 100, 107, 119, 120,127].

Другую субпопуляцию Т-лимфоцитов составляют естественные киллерные Т-лимфоциты или естественные Т-киллеры. Эти клетки составляют 20–30% всех Т-лимфоцитов костного мозга и печени, 1% в селезёнке, после активации секретируют ИЛ-2, ИЛ-4, γ -интерферон [114].

В-лимфоциты (15-20%) отвечают за развитие гуморального иммунитета, являясь более гомогенной популяцией [38]. Предшественники В-лимфоцитов дифференцируются в красном костном мозге, далее после позитивной и негативной селекции, покидают костный мозг и рециркулируют, заселяя В-зависимые зоны в периферических лимфоидных органах. Продолжительность жизни и их численность существенно ниже, чем у Т-клеток (исключая В-лимфоцитов памяти) [115, 116, 136].

Т-цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) имеющие антигенраспознающий рецептор и корецептор, после распознавания антиген-пептида способны дифференцироваться в клоны цитотоксических Т-лимфоцитов, способных к уничтожению клеток-мишеней [120].

НК-клетки. Внеклеточный киллинг микробов обеспечивается НК-клетками. Имеется 2 субпопуляции НК-Кл- с высокой и низкой экспрессией CD56. Зрелые НК-Кл покидают костный мозг, в циркуляции их 5-15% общего числа лимфоцитов, это короткоживущие клетки, период полужизни которых 7-10 сут. Осуществляют киллинг инфицированных вирусами клеток.

Клетки стромы - фибробласты, эндотелий сосудов, предназначены для обеспечения межклеточных контактов, направленной миграции, обмена сигналами между клетками через молекулы адгезии, формирование микроокружения.

Вспомогательные (антигенпрезентирующие) клетки – элементы мононуклеарной фагоцитарной системы (МФС), дендритные клетки [1]. Моноциты (CD16+) - являются предшественниками тканевых макрофагов [128]. Макрофаги – гетерогенная группа клеток дифференцированная из полипотентной стволовой клетки (монобласт - промоноцит - моноцит). Средняя продолжительность пребывания моноцита в циркуляции 2-4 дня, после чего он мигрирует в ткани, где превращается в макрофаги - купферовские клетки (печень), перитонеальные и плевральные, альвеолярные макрофаги, остеокласты (костная ткань), микроглиоциты (мозг), мезенхиальные клетки и др.

Базофилы - гранулоциты периферической крови, составляют 1% от всех лейкоцитов. При активации секретируют интерлейкин-4, лейкотриены C4, выполняют эффекторную функцию в аллергических реакциях в том числе ответственны за системную анафилаксию, опосредованную антителами класса G. Базофилы 6 часов находятся в кровяном русле и еще 1-2 дня вне его [45].

Нейтрофилы составляют большую часть клеток белой крови - 50-70%. Подвергаются экстравазации в очаги воспаления, где осуществляют нейтрофильный, в основном, внеклеточный киллинг с помощью активных

метаболизм H_2O_2 и других факторов, после чего уходят в ткани, где живут не более 3-5 дней.

Эозинофилы – гранулоцитарные лейкоциты, составляющие около 0,5-5% от всех лейкоцитов, присутствуют при «барьерных» тканях – дыхательного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов. Реализуют аллергические реакции, находятся в циркуляции около 10 часов, затем мигрируют из неё с продолжительностью жизни около 48 часов.

Тучные клетки локализованы в рыхлой соединительной ткани, подстилающей покровные (кожа, слизистые оболочки) и окружающие кровеносные сосуды. Содержат гранулы с биологически активными веществами, которые обуславливают аллергические реакции.

Эритроциты транспортируют антигены, супрессивные факторы, продуцируют цитокины – регуляторы иммунного ответа [8, 82].

К молекулам иммунной системы относят:

- Антигены (Аг) – это химические вещества, способные индуцировать иммунный ответ (ИО), которые являются свободными либо встроенными в мембрану клетки. Мембранные Аг разделяются на дифференцировочные (CD-Аг), HLA (human leukocyte antigen), которые относятся к главному комплексу гистосовместимости (ГКГС или МНС – main histocompatibility complex), их три класса) и детерминантные.

- Клеточные рецепторы – являются анализаторами внешней среды. Они необходимы для контактов “клетка-молекула”, бывают антиген – специфическими и неспецифическими - для цитокинов, для гормонов.

- Белки системы комплемента - C1-C9.

- Иммуноглобулины (5 классов).

- Медиторы – комплекс белков крови, секретов иммунокомпетентных клеток.

- Гормоны – производные тимуса (тимозин, тимопоэтин, тимический гуморальный фактор, тимулин), костного мозга (миелопептиды), выработка которых происходит без антигенного стимула и др.

- Цитокины и монокины – низкомолекулярные гормоноподобные полипептидные биомолекулы, которые продуцируются активированными иммунокомпетентными и другими клетками, являющимися регуляторами межклеточных взаимодействий, разделяются на несколько групп: интерлейкины, колониестимулирующие (лимфопоэтины), факторы роста (эпидермальный, фактор роста нервов), фактор некроза опухолей, хемотаксические факторы, неспособны самостоятельно индуцировать иммунный ответ [8, 82].

Антигенами называются вещества, свободные или входящие в состав клеток, воспринимаемые иммунной системой как чужеродные, с характерными химическими группировками, индуцирующие специфические гуморальные и клеточные иммунологические реакции [38]. В результате может произойти синтез специфических антител, образование сенсibilизированных лимфоцитов или сформироваться специфическая толерантность или гиперчувствительность [28].

Антигены разделяются: 1) по чужеродности: аллоантигены (гомо-) – принадлежат особям данного вида; ксеноантигены (гетеро-) – не принадлежат особям данного вида; аутоантигены – собственные антигены, например «забарьерные» клетки – клетки мозга, сперматозоиды; собственные клетки с иммунной активностью; 2) по связи с тимусом (вилочковой железой) – Т-зависимые, Т-независимые; 3) по типу вызываемого иммунного ответа – аллергены, иммуногены, толерогены, трансплантационные антигены.

Полноценный (полный) антиген состоит из двух частей: носителя (стабилизирующей части) – 97-99 % молекулы антигена; детерминантной группы (эпитопа) – олигосахаридов или олигопептидов. К полным антигенам относят протеины, полисахариды, нуклеотиды и т.д. Они индуцируют: выработку специфических факторов иммунитета; взаимодействуют с готовыми антителами или сенсibilизированными клетками; формируют иммунологическую память. Неполные (неполноценные, гаптены) антигены разделяются на простые (низкомолекулярные вещества – никель, хром, эфирные масла) и сложные (липиды, нуклеиновые кислоты, стероиды). Гаптены индуцируют в организме – взаимодействие с готовыми антителами или клетками и образование

иммунологической памяти. При определенных условиях могут связываться с структурными и функциональными компонентами индивида и становиться полноценными антигенами с последующей индукцией специфических иммунных реакций.

Свойства антигенов. Чужеродность – индивидуальное свойство антигена для каждого вида организмов или отдельного индивида, детерминированное генетически. Антигенность – мера способности вызывать конкретные иммунологические реакции [6]. Эта совокупность свойств зависит от химической структуры, поверхностно расположенных антигенных детерминант, количества клеток, составляющих данный клон, видовой принадлежности организма. Иммуногенность – способность создавать (невосприимчивость) к каким-либо воздействиям. Специфичность – антигенные особенности, благодаря которым антигены отличаются друг от друга. Это качество определяется не всей молекулой, а характеристикой антигенных детерминант – определенных химически группировок, находящихся на поверхности молекулы антигена [34].

Иммуноглобулины – это белки гамма-глобулиновой природы, синтез которых индуцируется антигеном. Выделяют пять классов иммунных глобулинов, имеющих молекулярную массу 150000 – 900000 дальтон. Антитела одной специфичности против того или иного антигена представлены всегда различными классами, при этом имеется следующая закономерность: после иммунизации появляются первыми антитела класса М, потом G, а последними А и Е.

Отдельные классы иммунных глобулинов имеют следующие характеристики.

Ig M – относятся к тяжелым иммуноглобулинам, среди которых выделяют два подкласса – IgM1 и IgM2. Оба они первыми появляются после антигенного раздражения и являются низкоактивными. Составляют порядка 10% всех классов иммуноглобулинов, имеют 10 валентностей, период полураспада у человека составляет 5 дней.

Ig G - в основном образуются при повторной иммунизации, синтезируются позднее IgM высокоактивные, двухвалентные. Имеют 4 подкласса: IgG1, IgG2,

IgG3 и IgG4. Составляют около 75% всех иммунных глобулинов, период полураспада достигает 23 дней.

Ig A – образуются при антигенном раздражении, являются высокоактивными, разделяются на два подкласса: IgA1 и IgA2. Составляют порядка 15 – 30 % всех иммуноглобулинов с периодом полураспада около 6 суток.

Ig D – функция их недостаточно изучена. Встречаются у больных с хроническим воспалением и множественной миеломой. Период полураспада составляет 3 дня. Общее содержание в крови человека не превышает 1%. По всей видимости, играют существенную роль в дифференцировке В-лимфоцитов, как Ig-рецептор.

Ig E – обуславливают аллергические реакции немедленного типа, выполняя функцию реагинов. Период полураспада составляет 2,5 дня. В крови здоровых людей концентрация ничтожна [2, 38, 80].

Цитокины – это полипептиды, имеющие среднюю молекулярную массу не более 30 кД. Вырабатываются в ответ на активацию клетками иммунной системы и некоторыми другими клетками. Являются участниками иммунных и воспалительных реакций, регуляторами их выраженности и силы. Вырабатываются цитокины в очень низких концентрациях (пг/мл), при этом их секреция занимает крайне малый временной промежуток. Синтез цитокинов всегда начинается с транскрипции генов. Одни и те же цитокины могут продуцироваться различными типами клеток и действовать на различные клетки-мишени. Все цитокины опосредуют свои эффекты через рецепторы на клетках-мишенях. Все цитокины действуют по принципу сети – реализуют си-нергизм, каскадность, антагонизм действия. Регуляция цитокинами осуществляется аутокринно, паракринно, эндокринно. Продуцентами цитокинов являются стромальные соединительно-тканые клетки, которые синтезируют цитокины ответственные за гемопоэз, моноциты-макрофаги и лимфоциты. Моноциты-макрофаги в свою очередь образуют медиаторы воспаления, а продукты

лимфоцитов способствуют развитию антигенспецифического иммунного ответа [8, 35].

Иммунная система обуславливает: клиренс внутренней среды организма от продуктов распада собственных клеток и тканей в процессе физиологической регенерации и патологических процессов; защиту организма от инфекционных агентов, чужеродных, раковых, болеющих, стареющих клеток; обеспечивает оплодотворение яйцеклетки, анатомическое совершенствование эмбриона; индуцирует родовой акт; реализует программу старения; регулирует гомеостаз, аллергические и аутоиммунные процессы (Д.К. Новиков, П.Д. Новиков, 2009).

Различают клеточный, гуморальный, смешанный (основной) иммунитет. Четкое их разделение не всегда возможно. По происхождению антиинфекционный иммунитет классифицируют на видовой (наследственный) и приобретенный (адаптивный). Приобретенный иммунитет может быть искусственным и естественным, а каждый из них активным и пассивным. По качеству приобретенный (адаптивный) иммунитет делят на антитоксический, антимикробный, инфекционный (нестерильный), противовирусный [30, 39].

Сущность видového иммунитета обусловлена биологическими особенностями данного вида животных и человека. Он устойчив, неспецифичен, передается по наследству. Иммунитет является по характеру антиинфекционным и разделяется на противовирусный, противобактериальный, противогрибковый, противопаразитарный и др. Приобретенный (врожденный) иммунитет – это иммунитет, формируемый на момент рождения. Выделяют две формы врожденного иммунитета: активный, который формируется в результате перенесенной внутриматочной инфекции и пассивный, обусловленный передаваемыми трансплацентарно материнскими иммунными глобулинами. Заимствованный иммунитет (перинатальный, естественный) – это пассивный иммунитет плода, ребенка раннего грудного возраста, который обусловлен материнскими иммунными глобулинами, попадающими к ребенку через плаценту или грудное молоко. Внутриклеточный иммунитет – это опосредованная

репрессором резистентность лизогенных бактерий по отношению к профагам. Иммуитет инфекционный (нестерильный) – состояние, которое обусловлено наличием возбудителей заболевания, препятствующих развитию новой инфекции (суперинфекции). Иммуитет местный (региональный) – обеспечивает защиту покровов и органов организма, непосредственно сообщающихся с внешней средой (легкие, мочеполовые органы, желудочно-кишечный тракт); является частью общего иммуитета, обуславливается нормальной микрофлорой, механическими барьерами, комплементом, лизоцимом, лактоферринами, секреторными иммунными глобулинами, макрофагами и др. Иммуитет приобретенный (адаптивный) — возникает после перенесенных инфекций, введения вакцин, готовых АТ. Существует естественно-активный и пассивный приобретенный иммуитет, характеризуется высокой специфичностью, обусловлен гуморальными и клеточными факторами, не наследуем, часто нестабилен. Иммуитет противоопухолевый (иммунологический надзор) — иммунная реактивность по отношению к опухолевым Аг [133]. Иммуитет трансплантационный – изменение состояния иммунной системы реципиента вследствие трансплантации клеток или ткани от другого индивидуума. Иммуитет сопутствующий – развивается у опухоленосителей к метастазам и вторичным опухолям того же типа, что и первичное новообразование. Иммуитет метаболический - обуславливается системой циклических нуклеотидов (цАМФ/цГМФ), низкомолекулярными нуклеиновыми кислотами, белковым. углеводным, липидным, водно-солевым обменаи, системой цитохромов Р-450, эндогенными метаболитами, ферментами и др. [32].

Иммунная система (ИС) – это большая биологическая система, имеющая сложную иерархическую структуру организации. Эта система многокомпонентна, многофункциональна, открыта, работает как взаимосвязанное единое целое. ИС функционирует по следующим принципам:

1. Принцип локального эффекторного действия – основной функцией иммунной системы является воспаление, заключающееся в локализации

внедрившегося патогена на месте к которому стекаются лейкоциты разных типов и последовательно включаются все элементы клеточно-гуморальных реакций.

2. Принцип каскадного действия (цепная реакция) – основную массу неспецифических механизмов иммунных реакций запускают небольшое количество специфических компонентов.

3. Принципы быстроты и сбалансированности развития и торможения иммунных реакций – развитие иммунного ответа обеспечивается за счет выхода из депо соответствующих клеток с последующим быстрым транспортом к месту внедрения патогенна; после уничтожения объекта эффекторные клетки гибнут, и иммунная система переключается на режим спокойного функционирования.

4. Принцип возрастания эффективности и приобретения опыта (иммунологическая память) – образовавшиеся специфические лимфоциты к данному антигену после разрушения последнего гибнут, при этом часть данных лимфоцитов становятся долгоживущими и обеспечивают ускоренный и усиленный иммунный ответ при повторном контакте с антигеном.

5. Принцип избыточности механизмов защиты (многократное дублирование функции компонентами иммунной системы) – на специфическом уровне функционируют пять классов иммунных глобулинов и Т-клетки; на неспецифическом – клеточные (естественные киллеры, макрофаги, эозинофилы, нейтрофилы, базофилы), гуморальные (интерфероны, система комплемента, лизоцим) и другие факторы [131, 132].

Значение в патогенезе рассеянного склероза иммунопатологических и аутоиммунных механизмов к настоящему времени уже подтверждено [7, 78], что доказывает:

1) наличие у больных рассеянным склерозом в мозге, крови и ликворе активированных иммунокомпетентных клеток, повышение уровней экспрессии молекул адгезии и антиген-представления в очагах демиелинизации;

2) повышенная у больных РС продукция иммуноглобулина (Ig), образующего в ликворе олигоклональные группы и антитела к антигенам миелина и вирусам;

3) выделение у больных рассеянным склерозом из тканей мозга, крови и ликвора клонов клеток сенсibilизированных к антигенам миелина.

В качестве основной гипотезы иммунопатогенеза рассеянного склероза выдвигается положение об активном проникновении в ткань мозга через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) Т-клеток, сенсibilизированных к антигенам миелина, которые начинают локально пролиферировать и привлекать другие клетки крови, запуская эффекторные реакции повреждающие миелин, аксоны и олигодендроглиocyты. Вследствие данного процесса вырабатываются цитокины, которые, с одной стороны, оказывают местное повреждающее действие, что способствует выбросу антигенов, а с другой стороны, за счет усиления активности антиген-представления и адгезии лавинообразно привлекают в ткань мозга всё большее количество клеток крови [2, 5, 25, 118].

Иммунный ответ на антиген – это многоступенчатый процесс, в который вовлекаются различные клетки и цитокины – растворимые медиаторы межклеточного взаимодействия. Присутствие двух основных способов выявления и удаления антигенов позволило разделить иммунную систему на гуморальную и клеточную. При этом, гуморальный и клеточный иммунитет друг с другом плотно связаны и действуют одновременно, а все различия, которые имеются между ними, проявляются преимущественно на эффекторном уровне. Основной клеткой гуморального иммунного ответа является В-лимфоцит, который созревает в костном мозге. В-лимфоцит использует в качестве мембранного рецептора для антигена молекулу иммуноглобулина. При активации В-клетки пролиферируют и претерпевают дифференцировку, у которой последней стадией является превращение В-клеток в плазматические клетки, которые, в свою очередь, продуцируют антитела к антигену той же специфичности, что и их мембранно-связанный иммуноглобулин. Гуморальный иммунный ответ формируется посредством интерлейкинов четырех типов – ИЛ3, ИЛ4, ИЛ6 и ИЛ10. Каждый из перечисленных типов интерлейкинов характеризуется своими источниками и точками приложения. В качестве источника чаще всего выступают клетки макрофагального ряда и субпопуляция Т-хелперных клеток второго типа. В

наборе клеточных и гуморальных элементов иммунной системы ведущими компонентами Т-лимфоциты, которые работают с помощью антиген-презентирующих клеток (моноциты, макрофаги, дендритные клетки). В-лимфоциты выступают в качестве антигенов Т-клеткам, в свою очередь которые оказывают другим иммунокомпетентным клеткам содействие в выполнении эффекторных функций. Выполнение данных возможно лишь в результате рецепторного распознавания. При этом, Т-клетки могут распознать только антигены, представленные антигенпрезентирующими клетками, которые несут молекулы того же HLA-типа. Этот феномен получил название «HLA-рестрикция» [130].

Для аутоиммунных реакций в ЦНС пусковой механизм связан с миграцией через ГЭБ клеток. Среди клеток, способных мигрировать из капилляров в нелимфоидные ткани (например, в мозг), составляют большинство неактивированные Т-клетки иммунологической памяти. Протекание процесса миграции контролируется за счет регуляции экспрессии молекул адгезии – по большей части класса селектинов и интегринов, которые экспрессируются соответственно на Т-клетках и эндотелии сосудов [138].

Усиление антиген-представления и активация Т-клеток отмечается при ответе на любой внешний антиген, сопровождаемый продукцией большого количества активационных цитокинов. Этот процесс может усиливаться лавинообразно при связывании молекулы адгезии с соответствующим рецептором на Т-клетке. Как следствие, происходит активация последней, что вызывает продукцию воспалительных цитокинов, которые усиливают на окружающих клетках экспрессию молекул адгезии и стимулируют проникновение новых Т-клеток в ткань.

Формирование клинически значимых аутоиммунных реакций происходит лишь при одновременном срыве механизмов толерантности и появлении аутоагрессивных клеток.

Решающее значение в формировании в центральной нервной системе иммунопатологического процесса имеет баланс про- и противовоспалительных

цитокинов, являющихся секреторными продуктами активированных иммунных клеток и представленных разнообразными молекулами, которые играют важную роль в иммунном ответе при его дифференциации и регуляции. Основные эффекты цитокинов в настоящее время изучены достаточно хорошо. Так, в частности, известно, что активация CD4+Т-лимфоцитов зависит от цитокина ИЛ1, который продуцируется антигенпрезентирующими клетками. А активированные клетки продуцируют сами другие цитокины (ИЛ2 и ИЛ4) и экспрессируют рецепторы к ним. В результате действия этих цитокинов происходит пролиферация CD4+ и CD8+ Т-клеток. Активированными Т-клетками также продуцируется интерферон G [106].

Таким образом, в течение патологического процесса при рассеянном склерозе можно выделить несколько механизмов – иммунопатологический, аутоиммунный, воспалительный и нейродегенеративный. При этом, в изучении патологического процесса очень важно чёткое понимание именно иммунопатологического и аутоиммунного механизмов в развитии этого тяжёлого инвалидизирующего заболевания нервной системы, коим является рассеянный склероз. Изучению этих вопросов и посвящено настоящее исследование, целью которого явилось выделение маркёров иммунного статуса, верифицирующих дисбаланс иммунной системы у больных с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза, а так же корреляции маркёров дисбаланса иммунной системы с особенностями течения различных клинических форм и стадий у больных с этой нозологической формой.

ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКИЕ, ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ И ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ КЛИНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ТЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

2.1. Клиническая характеристика больных с различными клиническими формами рассеянного склероза

Согласно современной классификации клинических форм течения рассеянного склероза, 170 больных, принявших участие в исследовании, были разделены на 3 клинические группы:

1 клиническая группа – 30 пациентов с первично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания

2 клиническая группа – 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 А (50 больных) с ремитирующей клинической формой РС в стадии обострения, подгруппа Б (50 пациентов) с ремитирующей клинической формой РС в стадии ремиссии.

4 группу составили здоровые доноры в количестве 30 человек соответствующей возрастной категории.

Клиническое исследование неврологического статуса больных рассеянным склерозом выполнялось в соответствии с современными диагностическими критериями [36, 46, 75]. Проводилась оценка функциональных систем организма и рассчитывался балл по расширенной шкале инвалидизации по Куртцке (шкала EDSS) (Приложение 1).

Оценка неврологического статуса проводилась по шкале Scripps (Приложение 2).

Согласно современным требованиям к диагностике достоверного рассеянного склероза использовались широко распространенные в мировой практике новые диагностические критерии рассеянного склероза по Мак Дональду (Приложение 3) [113].

2.2. Инструментальные методы исследования больных с различными клиническими формами рассеянного склероза

Всем больным для постановки диагноза «достоверный» рассеянный склероз было проведено исследование с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) [80, 81] для верификации диссеминации очагов в структурах головного мозга (рис. 2.1-2.8).

Проводилось МРТ исследование головного мозга в режиме TSE (Турбо-Спин-Эхо) с получением T2-ВИ (TE/TR = 210/3200) в аксиальной и сагиттальной плоскостях (толщина среза – 8 мм, шаг томографа – 0 мм; FOV=357; MTR = 256).

При этом на аксиальных и сагиттальных срезах для больных РС характерно наличие очагов гиперинтенсивного МР-сигнала неправильной округлой формы диаметром от 6 до 8 мм с относительно четкими контурами и локализующимися паравентрикулярно в правой и левой гемисферах (на уровне передних и задних рогов боковых желудочков). Боковые желудочки как правило, несколько расширены, с заметным паравентрикулярным отеком. На аксиальных срезах определяется слабовыраженная узурация мозолистого тела в средней его трети.

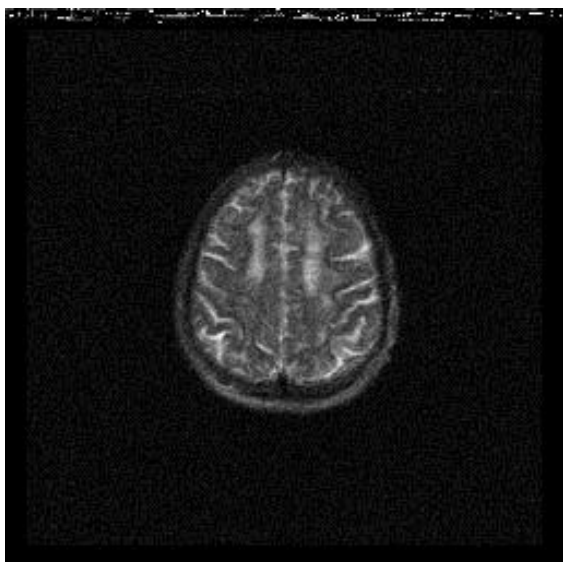


Рис. 2.1. На уровне передних рогов определяются очаги гиперинтенсивного МР сигнала, неправильной округлой формы, диаметром до 8 мм

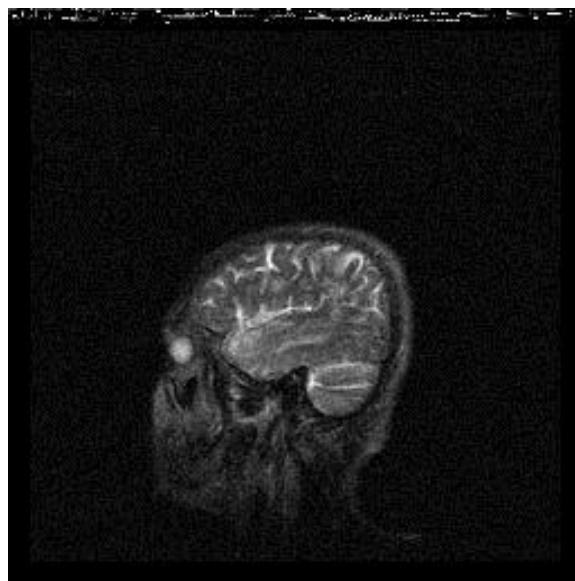


Рис. 2.2. Отмечается узурация мозолистого тела в средней трети



Рис. 2.3. Очаг гиперинтенсивного МР сигнала диаметром до 8мм



Рис. 2.4. Узурация мозолистого тела

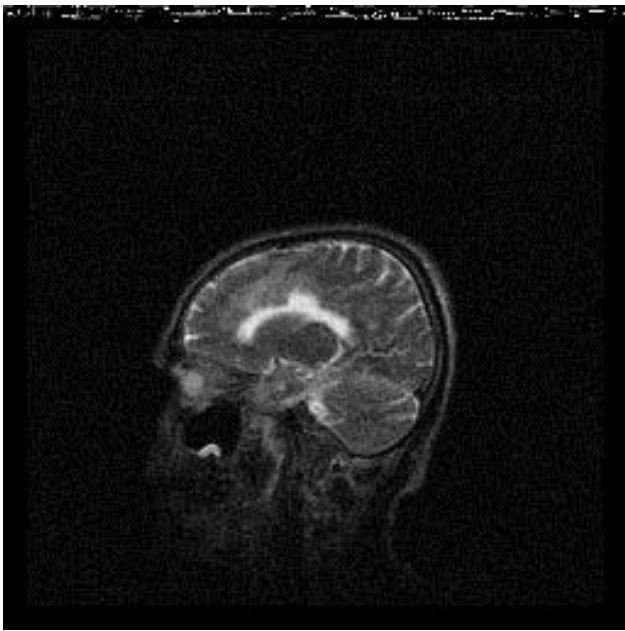


Рис. 2.5. Узурация мозолистого тела

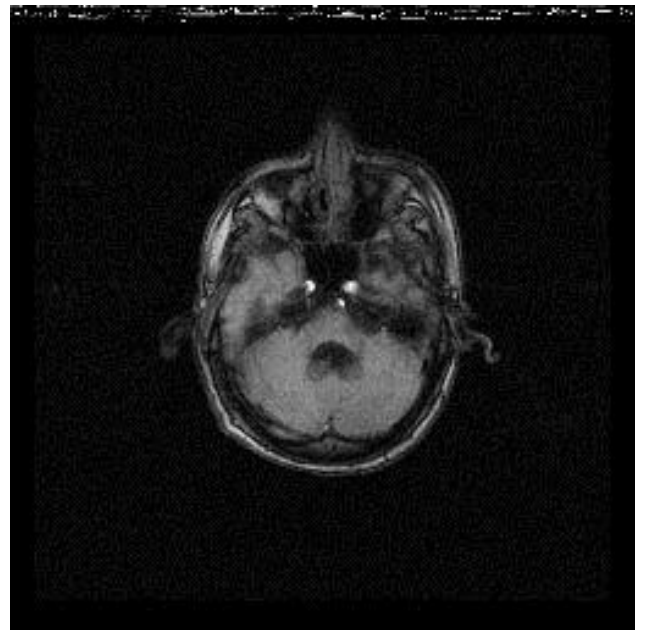


Рис. 2.6. На уровне переднего рога отмечается очаг гиперинтенсивного МР сигнала

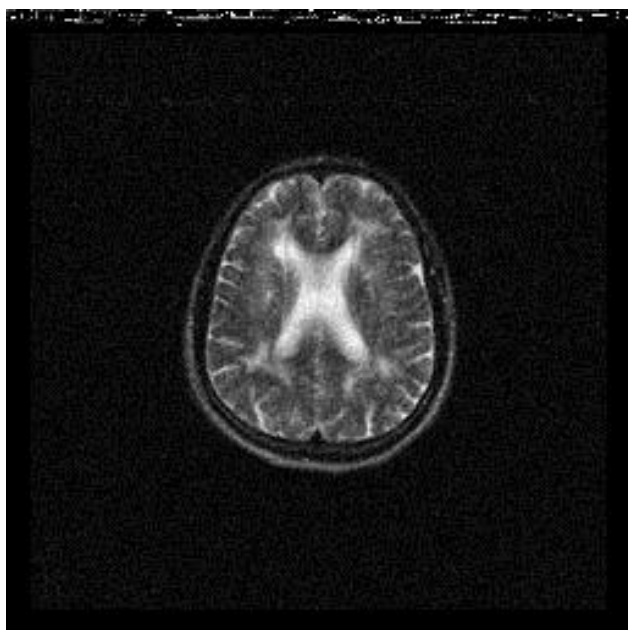


Рис. 2.7. Паравентрикулярно на уровне задних рогов очаги гиперинтенсивного МР сигнала

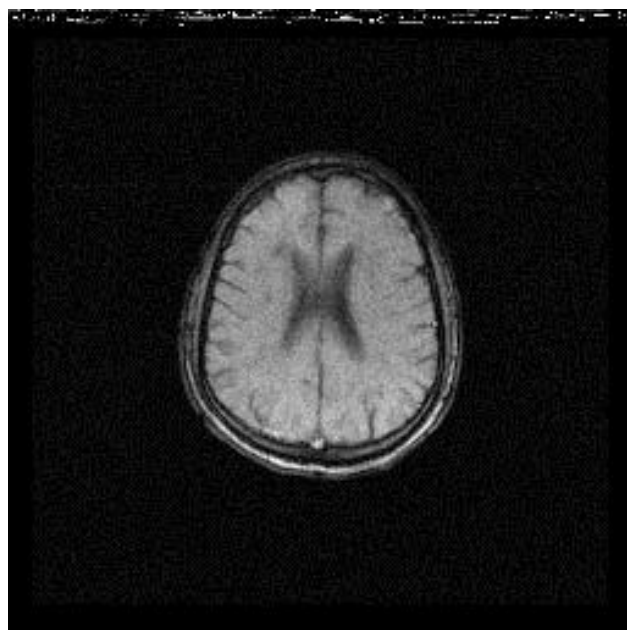


Рис. 2.8. Асимметричное расширение боковых желудочков

На рис. 2.9-2.18 приведены клинические примеры.

Клинический пример 1. Больная О. Обследование 11.08.2006 г. На фоне множественных очагов демиелинизации головного мозга один крупный очаг с локализацией в левом полушарии (рис. 2.9)

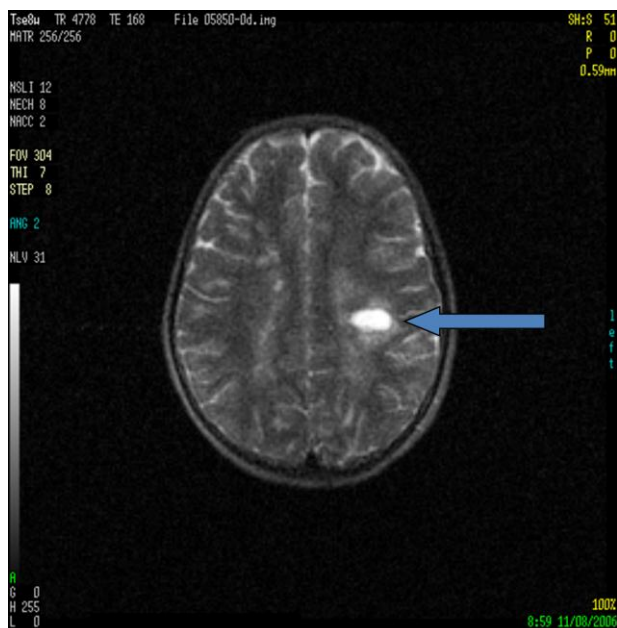


Рис. 2.9. Больная О., 15.03.94 – года рождения

Клинический пример 2. Больной П. Обследование 11.08.2006 г. Очаги демиелинизации в обоих полушариях головного мозга (рис. 2.10)



Рис. 2.10. Больной П., 02.08.2000 – года рождения

Клинический пример 3. Больная Б. Обследование 28.06.2006 г. Множественные разноуровневые очаги демиелинизации в белом веществе головного мозга (рис. 2.11).

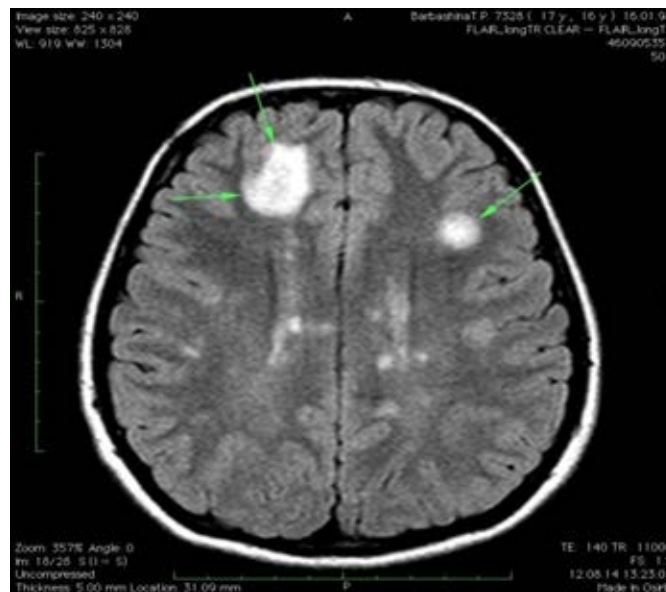


Рис. 2.11. Больная Б., 16 лет. Крупные очаги, а также множественные очаги в белом веществе головного мозга

Клинический пример 4. Больная Е. Множественные очаги демиелинизации в белом веществе головного мозга многоуровневого характера (рис. 2.12).

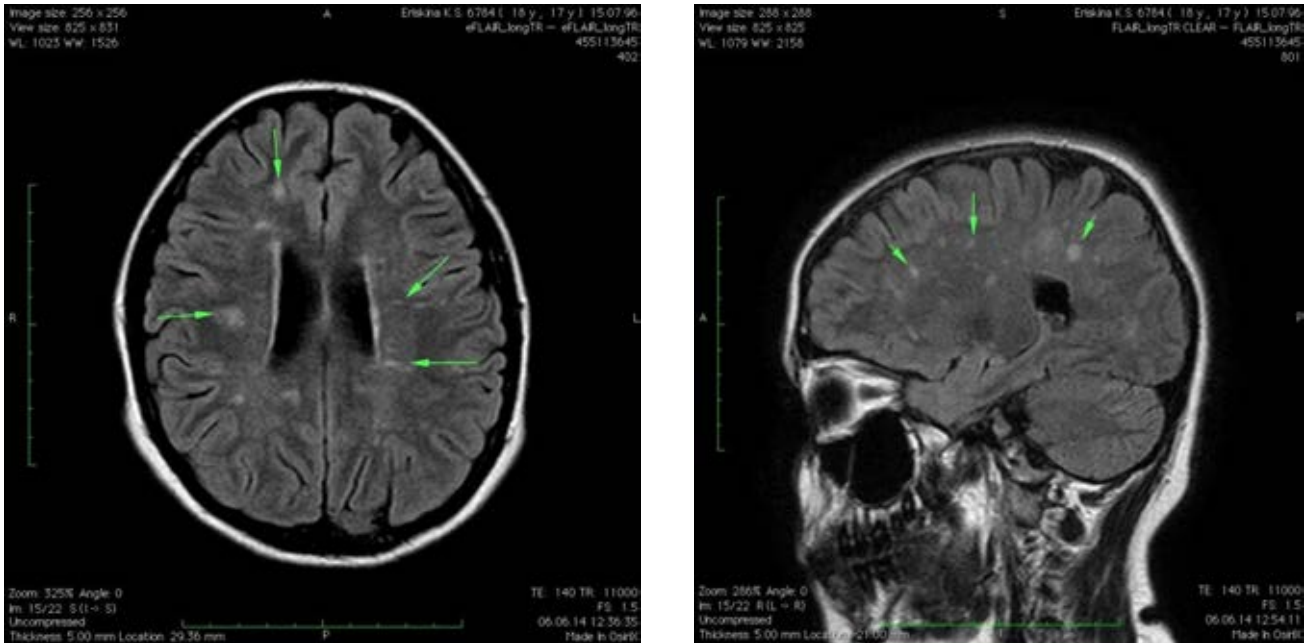


Рис. 2.12. Больная Е., 14 лет. Множественные очаги демиелинизации в белом веществе головного мозга многоуровневого характера
Клинический пример 5. Больная К. Узурация мозолистого тела (рис. 2.13).



Рис. 2.13. Больная К., 16 лет. Узурация мозолистого тела

Клинический пример 6. Больная Л. Множественные очаги демиелинизации в обоих полушариях головного мозга многоуровневого характера (рис. 2.14).

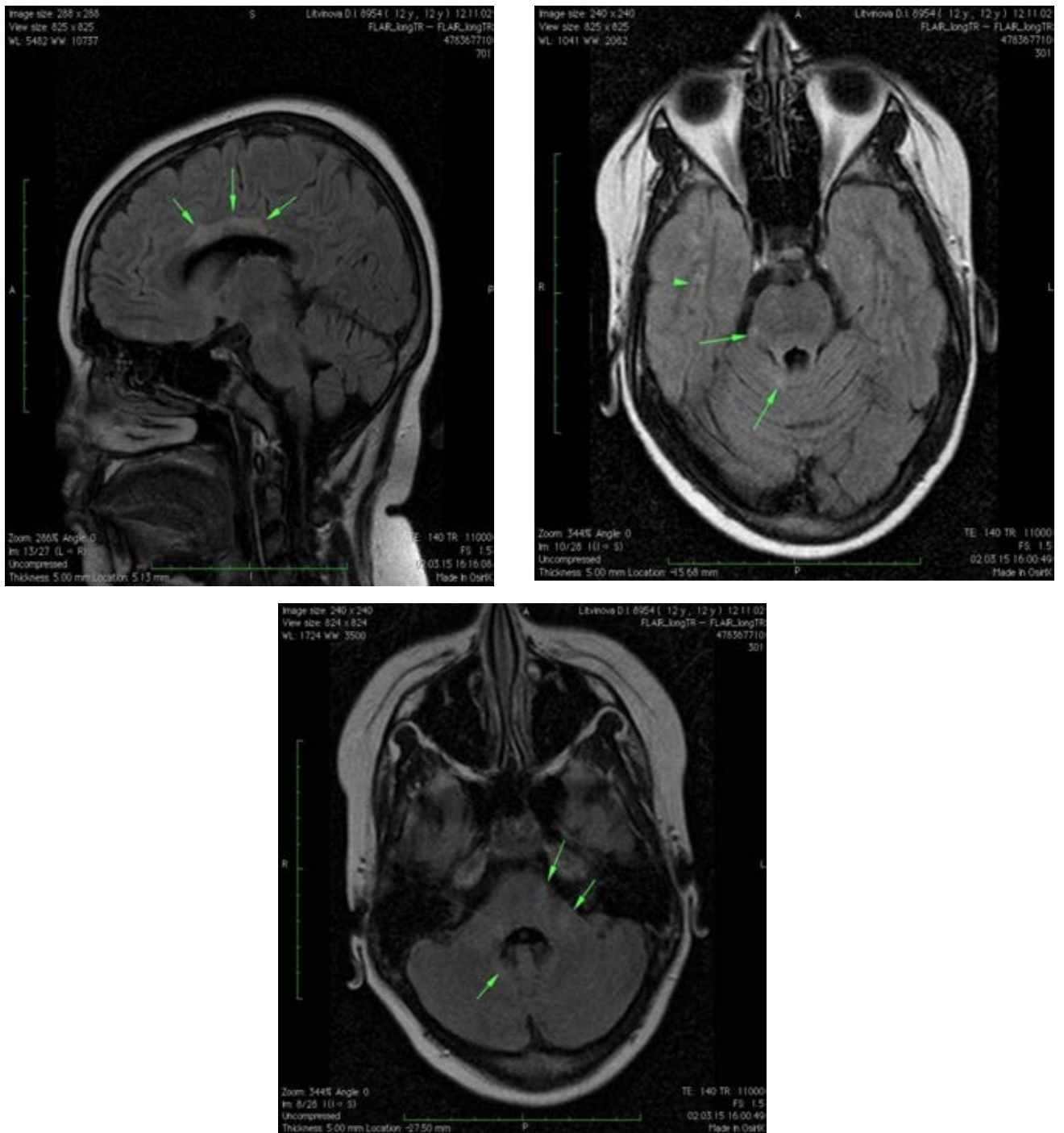


Рис. 2.14. Больная Л., 13 лет. Множественные очаги демиелинизации в обоих полушариях головного мозга многоуровневого характера

Клинический пример 7. Больная Ш. Множественные очаги демиелинизации в белом веществе обоих полушарий головного мозга (рис. 2.15).

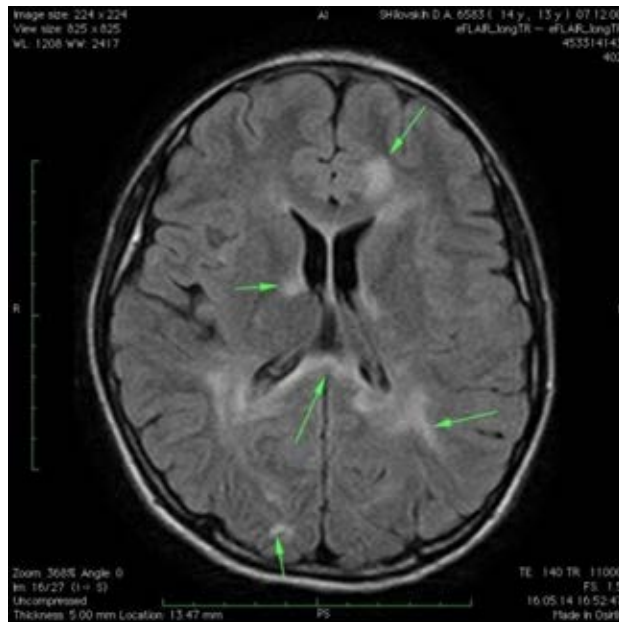


Рис. 2.15. Больная Ш., 14 лет. Множественные очаги демиелинизации в белом веществе обоих полушарий головного мозга

Клинический пример 8. Больная Ш. Очаг демиелинизации на уровне шейного отдела спинного мозга (рис. 2.16).

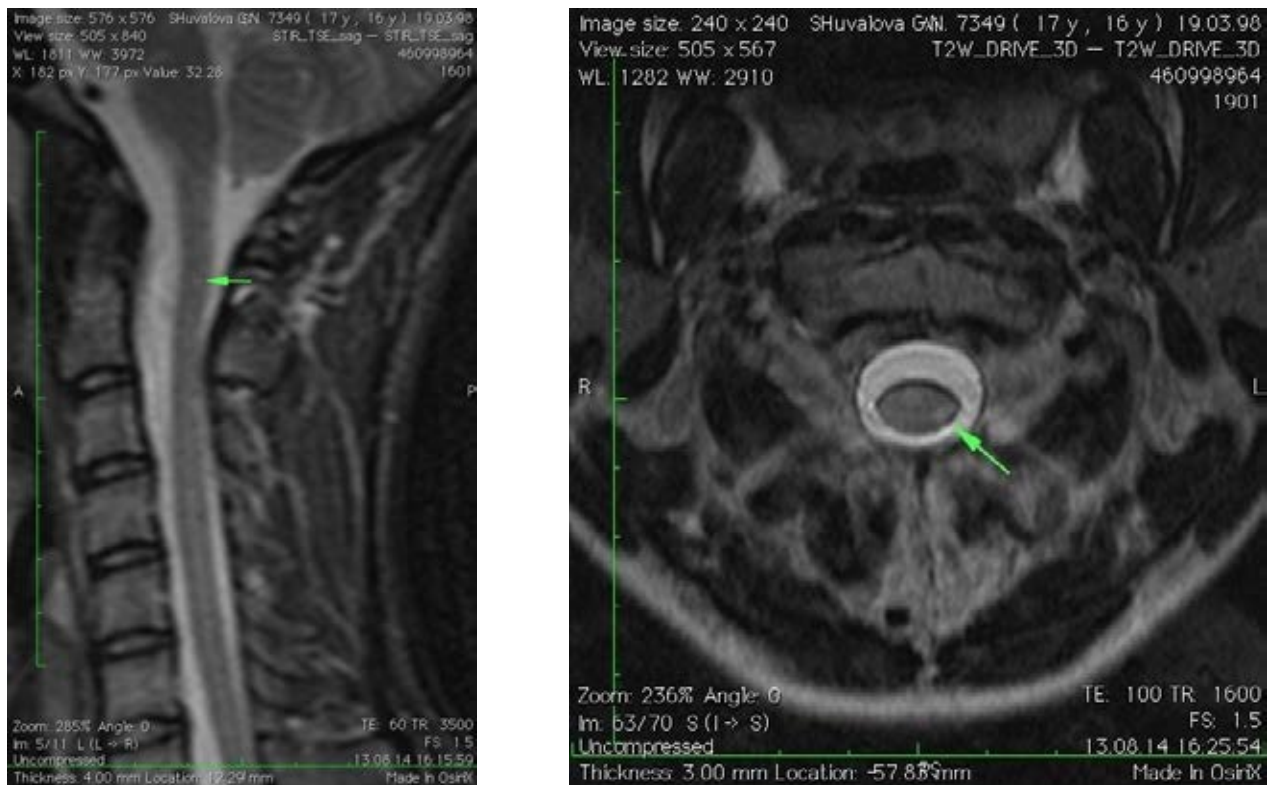


Рис. 2.16. Больная Ш., 16 лет. Очаг демиелинизации на уровне шейного отдела спинного мозга

Клинический пример 9. Больная Г., расширение желудочковой системы как проявление внутренней гидроцефалии, атрофия коры головного мозга и узурация мозолистого тела (рис. 2.17).

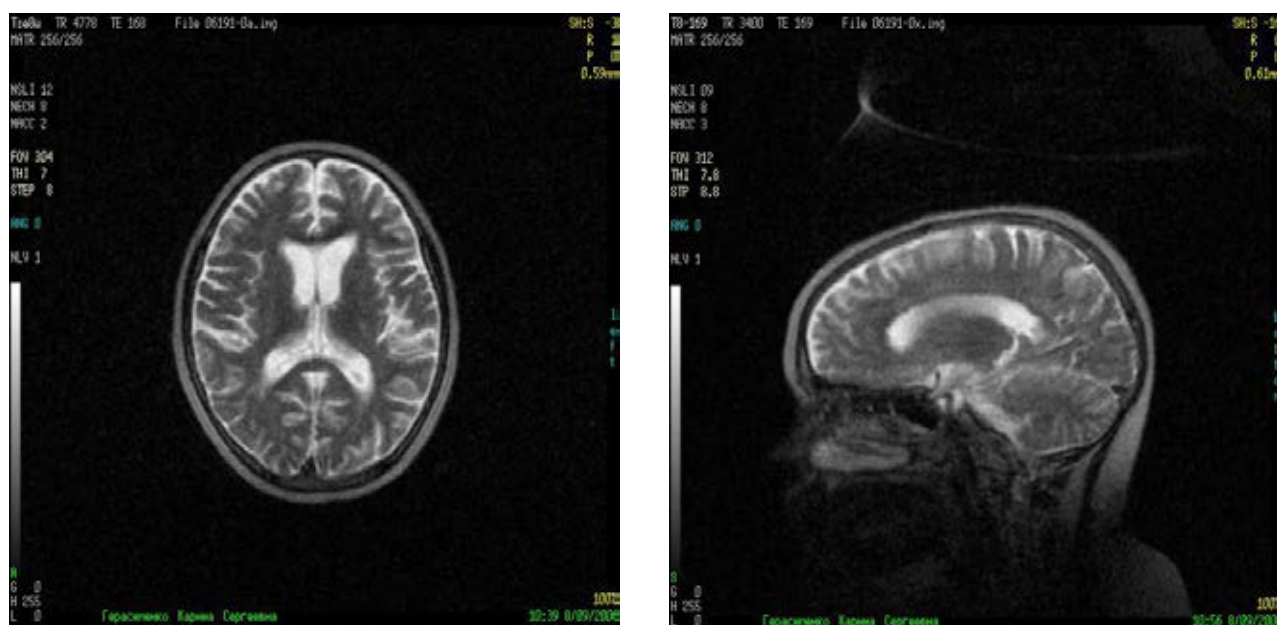


Рис. 2.18 Больная Г., расширение желудочковой системы как проявление внутренней гидроцефалии, атрофия коры головного мозга и узурация мозолистого тела.

Помимо МРТ проводилось нейроофтальмологическое исследование, которое включает в себя исследование остроты зрения, полей зрения, цветового зрения, а также оценку состояния глазного дна. Эти исследования очень важны в диагностике оптического неврита, рассеянного склероза, оптикомиелита – болезни Девика и болезни Лебера – наследственной нейропатии зрительного нерва, протекающей по типу РС. При этих клинических формах острота зрения может падать до амавроза. Поля зрения могут быть изменены, при этом изменения носят переменный характер, особенно при исследовании на цвета, вплоть до появления скотом. Состояние глазного дна является очень важным диагностическим критерием, можно отметить некоторые патологические изменения: широкие и полнокровные вены, ступенчатость границ дисков зрительных нервов, вплоть до развития застойного диска зрительного нерва,

иногда с осложнениями в виде кровоизлияний и полной размытостью границ, побледнение диска зрительного нерва, иногда двустороннее - проявление атрофии. Но патогномичным для рассеянного склероза является побледнение височных половин дисков зрительных нервов.

2.3 Лабораторное исследование иммунного статуса у больных с различными клиническими формами рассеянного склероза

Всем категориям пациентов было проведено клиническое и иммунологическое исследование крови (таблицы 2.1, 2.2).

Таблица 2.1

Клиническое исследование крови

Наименование показателя	Сокращение	Границы нормы	Единицы измерения
Эритроциты	Эритр.	М: 4,0-5,0 Ж: 3,9-4,7	10^{12} /л
Лейкоциты	Лейк.	4,0 – 9,0	10^9 /л
Лимфоциты	Лимф.	20-25	%
Эозинофилы	Эозин.	0,5 – 5,0	%
		0,02 – 0,30	10^9 /л
Нейтрофилы палочкоядерные	Нейтр. ПЯ	1-6	%
		0,04 – 0,30	10^9 /л
Нейтрофилы сегментоядерные	Нейтр. СЯ	47-72	%
		2,00 – 5,50	10^9 /л
Моноциты	Мон.	3-11	%
		0,09 – 0,60	10^9 /л
Оседание эритроцитов	СОЭ	М: 2-10 Ж: 2-15	мм/ч

Иммунологическое исследование крови

Название	Условное обозначение	Единицы измерения	Референсные данные
Т-клетки - CD45+CD3+	Т	10 ⁹ / л	0,8-2,2
Т-хелперы - CD45+CD3+CD4+	Тх	10 ⁹ / л	0,6-1,6
Т-цитотоксические - CD45+CD3+CD8+	Тц	10 ⁹ / л	0,19-0,65
Активированные Т-лимфоциты CD3+HLA-DR	Так	10 ⁹ / л	0,03-0,2
Т-регуляторные лимфоциты CD3+CD4+CD25+	Тр	10 ⁹ / л	0,01-0,2
х)НК-клетки регуляторы CD3-CD16-CD56+	НКр	10 ⁹ / л	0,09-0,6
х)НК-клетки цитотоксические CD3-CD16+CD56+	НКц	10 ⁹ / л	0,12-0,37
НК клетки Т-зависимые CD3+CD16+CD56+	НКт	10 ⁹ / л	0,070-0,077
Клетки-носители HLA-DR антигена	HLA	ед.	0,134-0,139
Маркер апоптоза CD95	Ма	10 ⁹ / л	0,09-0,6
Лейкоциты с интегрином - CD11в	ЛИН	10 ⁹ / л	0,08-0,25
В-клетки - CD19+	В	10 ⁹ / 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 ⁹ /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 этом применялись следующие методики исследования иммунологического статуса.

1. Иммуноглобулины класса G

Иммуноглобулин класса G представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 150 000 Да. IgG составляет около 75% всех растворимых иммуноглобулинов. Основной функцией IgG является связывание с антигенами.

Количественное определение содержания иммуноглобулина G общего в сыворотке крови имеет диагностическое значение при заболеваниях печени, некоторых заболеваниях почек, при ревматоидном артрите и системной красной волчанке, при хронических инфекциях.

Для определения концентрации общего иммуноглобулина класса G использовался набор реагентов IgG общий – ИФА- БЕСТ. Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки при одновременном использовании всех стрипов планшета. Дробное использование набора может быть реализовано в пределах срока годности.

Необходимое оборудование:

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках планшета в двух-волновом режиме: при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм; или только при длине волны 450 нм;
- центрифуга, позволяющая центрифугировать при 1,5-2 тыс. об./мин.;
- термостатируемый шейкер орбитального типа на 700 об./мин., поддерживающий температуру 37 С;
- промыватель планшетов;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками объемом 10-5000 мкл;

- пипетка полуавтоматическая многоканальная со сменными наконечниками объемом 10-350 мкл.

Метод определения основан на двухстадийном «сэндвич»-варианте твердофазного иммуноферментного анализа с применением моноклональных антител к IgG.

На первой стадии калибровочные пробы с известной концентрацией IgG и анализируемые образцы инкубируются в лунках планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к гамма-цепям иммуноглобулинов класса G человека.

На второй стадии связавшийся в лунках IgG обрабатывают конъюгатом МКАТ к легким (каппа и лямбда) цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой. Образовавшиеся иммунные комплексы «иммобилизованные МКАТ-IgG-конъюгат» выявляют ферментативной реакцией с раствором тетраметилбензидина. В анализируемом образце степень окраски пропорциональна концентрации IgG. На основании калибровочного графика в лунках после измерения величины оптической плотности раствора в анализируемых образцах рассчитывается концентрация IgG.

Проведение анализа

Внести во все лунки планшета по 100 мкл рабочего раствора для разведения сывороток.

Внести в соответствующие лунки в дублях по 20 мкл каждой калибровочной пробы и по 20 мкл контрольной сыворотки. В остальные лунки внести в дублях по 20 мкл анализируемых образцов в рабочем разведении.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 20 мин в шейкере при 37 С и 700 об/мин.

По окончании инкубации 5 раз промыть промывочным раствором лунки планшета, чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В процессе каждого цикла промывки вносить в каждую лунку не менее 350 мкл жидкости. После каждого заполнения необходимо полное опорожнение лунок.

По окончании промывки, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге, остатки влаги из лунок тщательно удалить.

Внести во все лунки по 100 мкл конъюгата, заклеить планшет и инкубировать 20 мин. в шейкере при 37 С и 700 об/мин.

По окончании инкубации промыть планшет 5 раз.

Внести во все лунки по 100 мкл раствора тетраметилбензидина, заклеить планшет и инкубировать в темноте 15 мин. при температуре 18-25С.

Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента, при этом содержимое лунок окрашивается в желтый цвет.

Измерить величину оптической плотности в течение 3-10 мин.

Построить калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации в калибровочных пробах.

Определить содержание IgG в контрольной сыворотке и анализируемых образцах по калибровочному графику.

В случае дополнительного разведения анализируемых образцов необходимо полученную концентрацию Ig G умножить на фактор дополнительного разведения.

1 мг/мл IgG соответствует 12,5 МЕ/мл IgG.

2. Иммуноглобулин М

Иммуноглобулин М циркулирует в крови в виде пентамера с молекулярной массой около 970 кДа. Иммуноглобулин М – это наиболее ранний из всех классов иммуноглобулинов. К этому классу относится 5-10% общего содержания иммуноглобулинов сыворотки. Они агглютинируют бактерии, нейтрализуют вирусы, активируют комплемент.

Количественное определение содержания иммуноглобулина общего класса М в сыворотке крови имеет диагностическое значение при инфекционных заболеваниях. Повышение титров свидетельствует об остром воспалительном процессе.

Для определения концентрации общего иммуноглобулина класса М использовался набор реагентов IgM общий-ИФА-БЕСТ. Метод: твердофазный иммуноферментный анализ.

Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки при одновременном использовании всех стрипов планшета. Дробное использование набора может быть реализовано в пределах срока годности.

Необходимое оборудование и последовательность манипуляций такие же, что и при определении концентрации IgG общего.

На первой стадии калибровочные пробы с известной концентрацией IgM общего и анализируемые образцы инкубируются в лунках стрипированного планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к мю-цепям Ig M. На второй стадии связавшийся в лунках IgM обрабатывают конъюгатом МКАТ к легким цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой.

При расчете концентрации IgM применяется коэффициент пересчета 125: 1 мг/мл IgM соответствует 125 МЕ/мл IgM.

3. Иммуноглобулин А

IgA общий представляет собой гликопротеин с молекулярной массой около 160 кДа. Содержание IgA общего в сыворотке крови составляет 15-20% от общего количества иммуноглобулинов. Основная функция сывороточных иммуноглобулинов класса А – защита дыхательных, мочеполовых путей и желудочно-кишечного тракта от инфекций.

Количественное определение содержания IgA общего в сыворотке крови имеет значение для дифференциальной диагностики заболеваний печени, инфекционных заболеваний.

Для определения концентрации общего иммуноглобулина класса А использовался набор реагентов IgA общий-ИФА-БЕСТ. Метод: твердофазный иммуноферментный анализ.

Набор рассчитан на проведение анализа в дублях 41 неизвестного образца, 6 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки при одновременном использовании всех стрипов планшета. Дробное использование набора может быть реализовано в пределах срока годности.

Необходимое оборудование и последовательность манипуляций такие же, что и при определении концентрации IgG общего.

При первой инкубации происходит связывание молекулы IgA из исследуемого образца с моноклональными антителами к альфа-цепям иммуноглобулинов класса А человека, иммобилизованными на внутренней поверхности лунок.

При второй инкубации конъюгат моноклональных антител к лямбда и каппа – цепям иммуноглобулинов человека с пероксидазой связывается с IgA общим, иммобилизованным в ходе первой инкубации.

При расчете концентрации IgA применяется коэффициент пересчета 71,4: 1 мг/мл IgA соответствует 71,4 МЕ/мл IgA.

4. Определение фагоцитарной активности нейтрофилов

Принцип метода

В основе метода лежит способность нейтрофилов периферической крови поглощать микроорганизмы с последующим их разрушением, крупные вирусы, поврежденные клетки или частицы латекса.

Оборудование и материалы:

- микроскоп бинокулярный Биолам Ломо;
- колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК – 2МП (ФЭК);
- кюветы для ФЭК 10 мл;
- камера Горяева;
- центрифуга на 1000-2000 об/мин;
- термостатируемый шейкер орбитального вида на 700 об/мин, поддерживающий температуру 37 С (ShakerST-3 SkyLine);
- одноразовые полистирольные пробирки;

- одноразовые пробирки с гепарином;
- VortexHeidolphREAX 2000;
- дозаторы объемом 10, 100, 1000 мкл;
- физраствор, концентрат латекса, краска по Романовскому.

Проведение анализа

Приготовление рабочего раствора латекса.

Концентрат латекса взболтать. Взять 10 мл физраствора, добавить 0,1 мл латекса, отмыть 2 раза центрифугированием по 10 мин в режиме 1000 об/мин, отобрать супернатант.

Проверка концентрации рабочего раствора латекса.

1 способ: к 0,8 мл физраствора добавить 0,02 мл рабочего раствора латекса, внести в камеру Горяева, подсчитать количество частиц. В большом квадрате должно быть 15-20 частиц (концентрацию регулировать разведением в физрастворе).

2 способ: определение оптической плотности частиц с помощью измерения на ФЭКе. Смотреть в кюветах по 10 мл при длине волны 590 нм против физраствора. Оптическая плотность должна быть в пределах 1,5-2,3.

В сухую пробирку с 2-3 каплями гепарина добавить 5 мл венозной крови, перемешать 5 сек на «Vortex», центрифугировать 5 мин в режиме 1000 об/мин.

Осторожно отобрать супернатант.

Собрать кольцо нейтрофилов. Отмыть 2 раза физраствором по 5 мл, перемешать 5 сек на «Vortex», центрифугировать 2 раза по 10 мин в режиме 1000 об/мин.

Методика рассчитана на пробы с концентрацией нейтрофилов $4,8-8,0 \times 10^9$ /л.

Взять 0,1 мл рабочего раствора латекса, добавить 0,1 мл взвеси нейтрофилов термостатировать при 37 С на шейкере в течение 30 мин.

Центрифугировать 5 мин в режиме 1000 об/мин .

Осторожно отобрать супернатант. Из осадка сделать мазок, окрасить по Романовскому.

Учет результатов осуществляется на микроскопе определением следующих параметров:

подсчет процента фагоцитирующих нейтрофилов (фагоцитарный индекс) от общего их числа

фагоцитарное число (число Райта). Это среднее количество микробов, поглощенных одним нейтрофилом крови. Характеризует поглотительную способность нейтрофилов крови.

5. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов на проточном цитофлуориметре

Принцип метода

В основу проточной цитофлуориметрии заложено проведение фотометрических и флюоресцентных измерений отдельных клеток. Для оценки размеров клеток и внутриклеточных структур применяли фотометрические каналы, а для изучения клеточных маркеров – флюоресцентный канал. При этом использовались моноклональные антитела (МАТ), которые были помечены различными флюорохромными красителями к внутриклеточным и мембранным компонентам клеток. После окрашивания клеток МАТ происходит специфическое связывание последних с клеточными структурами и регистрация флюоресценции, индуцированной излучением лазера. В проточном цитометре свет преобразуется в электрические сигналы, которые обрабатываются, и в конечном итоге определяется количественная величина каждого измеряемого параметра.

Оборудование и материалы

- проточный цитометр Cytomics FC 500 (BeckmanCoulter);
- центрифуга на 1500-2000 об/мин;
- термостат;
- одноразовые полистирольные пробирки;
- Vortex Heidolph REAX 2000;
- дозаторы объемом 10, 100, 1000 мкл;
- физраствор.

Проведение анализа

1. Для каждого образца крови маркируется необходимое количество одноразовых полистирольных пробирок.
2. Внести по 50 мкл хорошо перемешанного образца на дно каждой пробирки.
3. Добавить по 5 мкл моноклональных антител в каждую пробирку в соответствии с маркировкой, перемешать 5 сек на “Vortex”.
4. Инкубировать 15 мин при комнатной температуре в темноте. Перемешать 5 сек на “Vortex”.
5. Для лизиса эритроцитов в пробирки внести 250 мкл Optilyse, перемешать 5 сек на “Vortex”.
6. Инкубировать 10 мин в термостате при 37 °С, перемешать 5 сек на “Vortex”.
7. Добавить 250 мкл физраствора в каждую пробирку.

После настройки прибора, выбора программы исследования и проведения измерений, согласно инструкции, перейти к анализу полученных результатов. Исследование начинается с анализа данных распределения изучаемой клеточной популяции по каналам светорассеяния и выделения лимфоцитарного гейта. Необходимо стремиться к тому, чтобы максимальное количество событий располагалось в правом нижнем квадранте.

Учет результатов осуществляется на основании анализа 10000 событий и выражается в процентах клеток, несущих данный антиген. При необходимости, зная лейкоцитоз и состав лейкоцитарной формулы, можно рассчитать абсолютное количество клеток, несущих тот или иной антиген.

6. Циркулирующие иммунные комплексы

Набор реагентов «ЦИК-ХЕМА» предназначен для определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови человека методом иммунного турбодиметрического анализа.

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) образуются и циркулируют в кровяном русле в ответ на введение агента (антигена). Они представляют собой комплексы, состоящие из антител, антигена и компонентов комплемента.

Уровень циркулирующих иммунных комплексов дает определенное представление об активности иммунного воспаления и эффективности проводимой терапии [8]. Повышение уровня ЦИК отмечается при диффузных болезнях соединительной ткани, подостром инфекционном эндокардите, системных васкулитах, ВИЧ-инфекции, аутоиммунном гепатите, болезни Крона и др. Увеличение содержания ЦИК у больных ревматоидным артритом говорит о развитии системного ревматического процесса. Чаще всего для определения уровня ЦИК применяют метод селективной преципитации полиэтиленгликолем. Однако, учитывая гетерогенность ЦИК, для его определения следует одновременно применять несколько методов, причем наилучшим считается метод связывания ЦИК с C1q-компонентом комплемента. В процессе определения как ЦИК, так и иммуноглобулинов, при анализе полученных результатов следует учитывать, что клиническое значение имеет только повышение их содержания в кратное число раз (в 2, 3 раза и более).

Для более глубокого и всестороннего изучения иммунологических реакций обычно проводят более детальное изучение иммунных комплексов и системы комплемента.

Показания к назначению анализа на ЦИК в клинической лабораторной практике:

- диагностика и мониторинг аутоиммунных заболеваний;
- диагностика и мониторинг хронических инфекционных заболеваний;
- мониторинг хронических воспалительных заболеваний почек;
- в комплексе с другими исследованиями для диагностики иммунодефицитных состояний.

Оборудование и материалы:

- фотометр вертикального сканирования, который позволяет измерять оптическую плотность содержимого лунок планшета при длине волны 450 нм;

- дозаторы со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы в диапазоне 20-250 мкл;

- перчатки резиновые или пластиковые.

Проведение анализа

1. Приготовление планшета.

Вскрыть пакет с планшетом и установить на рамку необходимое количество стрипов. Оставшиеся неиспользованными стрипы хранить в течение всего срока годности набора при температуре +2...+25 С.

Поместить в рамку необходимое количество стрипов – исследуемые образцы в 4 повторах и 4 лунки для контроля Буфера для разведения (A1, A2, B1, B2).

2. Внести Пурпурный Буфер для разведения – 200мкл в нечетные (1,3,5..) стрипы планшета.

Внести Синий Буфер для разведения с 4,5% ПЭГ – 200 мкл в четные (2, 4, 6...) стрипы планшета.

3. Внести по 20 мкл исследуемых образцов в 4 повторах в соответствии со схемой

	1	2	3	4	5
A	-	-	#4	#4	...
B	-	-	#4	#4	...
C	#1	#1	#5	#5	...
D	#1	#1	#5	#5	...
E	#2	#2	#6	#6	...
F	#2	#2	#6	#6	...
G	#3	#3	#7	#7	...
H	#3	#3	#7	#7	...

4. Заклеить планшет бумагой для заклеивания планшета. Инкубировать планшет при температуре +18...+25С в течение 120 минут.

5. Измерить на фотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм величину оптической плотности (ОП) содержимого лунок планшета. Выставить по лункам контроля Буфера для разведения бланк фотометра

(например А1). ОП контроля Буфера для разведения не должно превышать 0.07 оптических единиц.

6. Рассчитать единицы ЦИК. (ОП образца N с Синим Буфером для разведения) МИНУС (ОП образца N с Пурпурным Буфером для разведения). Разницу УМНОЖИТЬ на 1000 +Единицы ЦИК.

Иммунологическое обследование было стандартизованным для всех клинических вариантов рассеянного склероза. У пациентов на проточном цитофлуориметре NAVIOS Beckman Coulter, с помощью моноклональных антител CYTO-STATtetraCHROM идентифицировали клоны и субклоны лимфоцитов; так же 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 Chospitex, (Голландия). Определение про- и противовоспалительных цитокинов (интерлейкинов 4, 6, 8, факторов некроза опухолей альфа) – иммуноферментным методом на наборах фирмы «Протеиновый контур». Так же у пациентов со всеми нозоформами рассеянного склероза использовали стандартизованные гематологические, иммунологические методы и конкретные при отдельных нозоформах – биохимические, клинические и гистохимические параметры.

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

2.4. Методы статистического анализа полученных данных

Основным принципом обеспечения контролируемого клинико-лабораторного мониторинга пациентов является стандартизация сроков обследования; формирование адекватной группы сравнения – здоровых лиц, пациентов; использование панели современных клинико-лабораторных методов, методов математического анализа результатов и т.д.;

Использование математической обработки материалов реализовали в несколько этапов.

На первом этапе (стадия планирования наблюдений и первичного анализа результатов) выполнялась рандомизация пациентов по возрасту, полу, тяжести болезни и др. Для определения репрезентативности выборки и расчета требуемого для получения объективных выводов числа больных в группе использовалась следующая формула:

$$n = \frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{(M_1 - M_2)^2}$$

где величины M_1 и M_2 – средние значения показателей в группе, σ_1 и σ_2 – средние квадратические отклонения соответствующих показателей [15].

Перед статистическим анализом выявляли нормальность распределения показателей по критерию Колмогорова-Смирнова и коэффициенту вариации и с учетом этого выбирали статистические критерии достоверности различий – параметрический, Стьюдента или непараметрический, Вилкоксона-Манна-Уитни [15].

Для нивелирования возможных ошибок определяли и исключали из анализа выскакивающие значения лабораторных параметров из цифровых рядов по Йетсу [44].

Динамику параметров характеризовали так же частотным и результирующим частотным анализами, выявляющих основную тенденцию

вариаций лабораторных параметров от заданного уровня.

На втором этапе оценивали общие количественные изменения слагаемых иммуно-лабораторного статуса мобильным эффектом, характеризующим основную тенденцию вариаций (по достоверной динамике средних величин параметров от исходного уровня), частотным при выявлении количества (%) пациентов, в группе с значимой, II, III степенью иммунных расстройств по конкретным показателям иммунограмм, результирующим частотным (при оценке итоговой, преобладающей динамики параметров в сторону стимуляции или супрессии), графическим анализами [49, 50]. Графический анализ использовался для наглядной оценки (визуализации) изменений иммунного статуса пациентов. Использовался следующий подход: 1) строилась лепестковая диаграмма, в которой по диаметрам откладывались нормированные в заданном масштабе значения лабораторных показателей здоровых лиц, которые в результате образовали окружность определенного диаметра; 2) также по диаметрам диаграммы в виде отдельных точек обозначались в определенном масштабе средние значения параметров пациентов из исследуемых отдельных групп; 3) соединения обозначенных точек формирует ломаную кривую, представляющую собой иммунный профиль.

На третьем этапе характеризовали качественные вариации иммунного статуса путем расчета степени иммунологических расстройств отдельных показателей по формуле:

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

Для интерпретации полученных результатов использовалась следующая шкала:

- менее 33 % - I степень иммунных расстройств (незначимые изменения);
- от 34 до 66% - II степень иммунных расстройств (значимые изменения);
- выше 66% - III степень иммунных расстройств (выраженные изменения).

При наличии знака «←→» иммунные расстройства характеризовались как

иммунологическая недостаточность (ИН), а знака «+» – как гиперфункция иммунной системы (ГИС).

Далее на основе стандартных статистических критериев выделяли показатели, достоверно отличающиеся от заданного уровня и выявляли сигнальные показатели на основе коэффициента диагностической ценности (Kj), рассчитываемого по формуле (А.Л. Горелик, В.А. Скрипкин, 1974):

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

где δ_1 и δ_2 – средние квадратичные отклонения, M_1 и M_2 – средние арифметические значения показателей (соответственно, у здоровых лиц и у пациентов из опытной группы).

Полученные результаты расчетов трактовались следующим образом: чем меньше по модулю рассчитанная величина Kj , тем выше уровень отличий данного параметра от заданного уровня.

В соответствии с представленной методикой определения степени изменения параметров, формировали формулу расстройств иммунной системы (ФРИС), включающую три основных параметра, с указанием вектора и степени их вариаций от уровня нормы.

На четвертом этапе ранговым методом путем сравнения показателей больных, страдающих различными вариантами рассеянного склероза, между собой реализовали оценку выраженности отличий, со следующей трактовкой – наибольшие изменения в позитивную сторону измеряются 1 рангом, затем 2 и так далее. Максимальное отличие характеризует минимальная сумма рангов. Для рейтингового анализа предложено выделять 3 уровня: первый уровень – значительный (при достоверном изменении показателя более чем 66% больных); второй уровень – средний (при изменении показателя у 34-66%, обследованных); третий уровень – незначительный (при достоверном изменении показателя менее чем у 33% больных). Общий уровень отличий параметров групп больных оценивается по этой же шкале, но уже количество (в %) достоверно измененных

показателей от числа всех анализированных параметров.

Далее выполнялось определение динамики отдельных звеньев иммунитета в целом. Суть метода заключается в том, что выделяются основные звенья иммунитета – клеточное, гуморальное, фагоцитарное и др. каждое из которых складывается из типовых лабораторных показателей. Например, клеточное звено включает клетки с рецепторами CD 3,4,8 и др. Динамика каждого звена в целом берется за 100%, которые распределяются по всем показателям (например, по В-звену 5 показателей по 20%). Затем рассчитывается число параметров, которые были увеличены (+) и снижены (-) относительно заданного уровня и по их сумме определяется устойчивая тенденция динамики звена (в процентах) с указанием направления вектора в сторону стимуляции или супрессии [50].

Для удобства анализа лабораторные параметры группировали по звеньям: **биохимическое** - Гл, АСАТ, АЛАТ, Обл, Моч, Х, ЛПП, Ам, ОБ; **гематологическое** - Л, Лф, Эф, ПЯ, СЯ, М, СОЭ, Эр, Нв; для **больных с РС – иммунологическое клеточное** – Т, Тх, Тц, Так, Тр, НКр, НКт, НКц, Ма, НЛА, CD11b; **фагоцитарное** – М, ФП, ФЧ, НСТсп, НСТак, ЦХЧсп, ЦХЧак; **гуморальное** – В, IgA,М,G, ЦИК, МСМ, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8, ФНО; **СРО** - МДА, ДК, КТ, ОШ; **ферментативное (ФЗ)** – СД, К, ГП, ГР, ЦП; **неферментативное звено АОС (НФЗ)** – АОП, ПРЭ, ВЕ, АРЛ, ОТ, НТ.

Для получения характеристики ассоциативных процессов в лабораторной сфере выполняется оценка количества сильных внутрисистемных (перекрестных иммунологических), межсистемных (иммунологических и гематологических), корреляционных связей (с коэффициентом корреляции $> 0,6$). Увеличение числа корреляционных связей косвенно говорит о наличии напряжения в изучаемой системе. Интегральная клинико-лабораторная оценка (рейтинг эффективности – иммунологических, рутинных лабораторных показателей) осуществляется на основе измеренных количественно мобильном, нормализующем и качественном эффекте воздействий; а оценка ассоциативных процессов в лабораторной сфере – по количеству сильных корреляционных связей диагностических тестов

иммунологических расстройств.

На пятом этапе выполнялась итоговая оценка, представляющая собой сумму рангов, определенных в результате четырех предыдущих видов анализа.

Алгоритм трактовки данных итогов лабораторного обследования пациентов включает шесть уровней:

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

2) уточняющая диагностика патологии по частотному и результирующему частотному анализам, выявляющим риск индукции патологии конкретных показателей в популяции больных;

3) конкретизация вариации 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.

ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с предложенной методикой исследования (глава 2), все больные были разбиты на 3 клинические группы:

- группа «**ППФ**» – больные с первично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания (30 человек);

- группа «**ВПФ**» – больные с вторично- прогрессирующей формой клинического течения заболевания (40 человек);

- группа «**РФ**» – больные с клинической формой течения РС (100 человек), которые были разделены на 2 подгруппы:

а) подгруппа «**РФ (обострение)**» – больные с ремитирующей клинической формой РС в стадии обострения (50 человек);

б) подгруппа «**РФ (ремиссия)**» – больные с ремитирующей клинической формой РС в стадии ремиссии (50 человек).

Контрольную группу (группа «**Здоровые**») составили здоровые доноры соответствующей возрастной категории (30 человек).

Для выявления особенностей результатов иммунологического исследования больных РС с различными клиническими формами и стадией заболевания и выявления характерной динамики исследуемых показателей, проводилось сравнение их средних значений между выделенными группами пациентов на основе Т-критерия Стьюдента с последующей визуализацией в виде диаграмм размаха значений показателей.

3.1. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с различными клиническими формами рассеянного склероза в сравнении с донорами

3.1.1. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза

Результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных рассеянным склерозом с первично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания (ППФ), их сравнение и сопоставление с контрольной группой («Здоровые») представлены в таблице 3.1.

Как видно из представленных данных, почти по всем показателям имеются достоверные различия (при $p < 0,05$) между группой больных рассеянным склерозом с первично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания и контрольной группой (исключение составляют только два показателя – «НСТ активированный» и «Иммунные глобулины М». При этом достоверно выше в группе «ППФ» значения следующих показателей: Т-клетки (Т) - CD45+CD3+, измеренные в процентах ($59,37 \pm 0,94$ против $50,70 \pm 0,49$ 10^9 л); Т-хелперы – CD45+CD3+CD4+ (Тх), измеренные в процентах ($31,50 \pm 1,05$ против $29,90 \pm 0,81$ %); Лейкоциты с интегрином – CD11в (ЛИН), измеренные в абсолютных единицах ($0,096 \pm 0,008$ против $0,078 \pm 0,001$ 10^9 л) (рис. 3.1); НК-клетки Т-зависимые CD3+CD16+CD56+ (НКт), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.2), так и в процентах (соответственно, $11,38 \pm 0,29$ против $7,10 \pm 0,12$ % и $0,150 \pm 0,008$ против $0,075 \pm 0,000$ 10^9 л); Клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.3), так и в процентах (соответственно, $23,38 \pm 0,57$ против $13,20 \pm 0,19$ % и $0,473 \pm 0,013$ против $0,155 \pm 0,006$ ед.); Фагоцитарный показатель (ФП) ($71,88 \pm 1,61$ против $59,47 \pm 1,16$ %); Фагоцитарное число (ФЧ) ($7,47 \pm 0,22$ против $6,20 \pm 0,15$ ед.); НСТ спонтанный (НСТсп) ($14,130 \pm 0,33$ против $7,58 \pm 0,09$ %) (рис. 3.4); Цитохимическое число

Таблица 3.1

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных первично-прогрессирующей формой клинического течения РС (ППФ – x_1) и пациентов контрольной группы (Здоровые – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	ППФ (x_1)	Здоровые (x_2)				
Т-клетки (Т), %	59,3700±0,939	50,7000±0,4940	8,6750	17,2360	$x_1 > x_2$	99,99
Т-клетки (Т), 10^9 л	0,7850±0,0350	1,2423±0,0200	-0,4573	-23,3950	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), %	8,5000±0,2630	16,9000±0,3170	-8,4000	-30,5907	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), 10^9 л	0,1125±0,0120	0,3476±0,0030	-0,2351	-52,0130	$x_1 < x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), %	31,5000±1,051	29,9000±0,8120	1,6000	2,1430	$x_1 > x_2$	96,50
Т-хелперы (Тх), 10^9 л	0,4137±0,0290	0,8586±0,0090	-0,4449	-37,3110	$x_1 < x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), %	19,1250±1,227	20,5000±0,1160	-1,3750	-3,4676	$x_1 < x_2$	99,91
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 л	0,34620±0,034	0,4609±0,0130	-0,1147	-7,5066	$x_1 < x_2$	99,99
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	13,5000±0,409	14,3000±0,2810	-0,8000	-3,0154	$x_1 < x_2$	99,65
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 л	0,0855±0,008	0,07800±0,0010	0,0075	2,9759	$x_1 > x_2$	99,61
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	11,3750±0,293	7,1000±0,1170	4,2750	32,0886	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 л	0,1501±0,0080	0,0754±0,0000	0,0747	29,5446	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), %	23,3750±0,566	13,2000±0,1900	10,1750	42,9421	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), абс.	0,4732±0,0130	0,1554±0,0060	0,3178	51,9588	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарный показатель (ФП), %	71,8750±1,610	59,4700±1,1560	12,4050	11,4894	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарное число (ФЧ)	7,4700±0,223	6,2020±0,1500	1,2680	8,9034	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ спонтанный (НСТсп), %	14,1250±0,334	7,5800±0,0860	6,5450	51,6931	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,2112±0,0180	1,0810±0,0120	0,1302	11,1598	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	18,0000±0,313	17,8700±0,5550	0,1300	0,2774	$x_1 > x_2$	78,22
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,1650±0,011	1,1240±0,0140	0,0410	3,4453	$x_1 > x_2$	99,90
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	133,00±10,122	90,5000±1,6550	42,5000	12,3004	$x_1 > x_2$	99,99
Моноциты, абс.	6,2500±0,561	4,6000±0,2220	1,6500	6,4996	$x_1 > x_2$	99,99
IgG, г/л	13,2125±0,397	10,6200±0,3620	2,5925	8,0107	$x_1 > x_2$	99,99
IgA, г/л	2,5698±0,399	1,4940±0,0720	1,0758	7,7717	$x_1 > x_2$	99,99
IgM, г/л	1,5500±0,072	1,4400±0,0910	0,1100	1,4054	$x_1 > x_2$	83,65

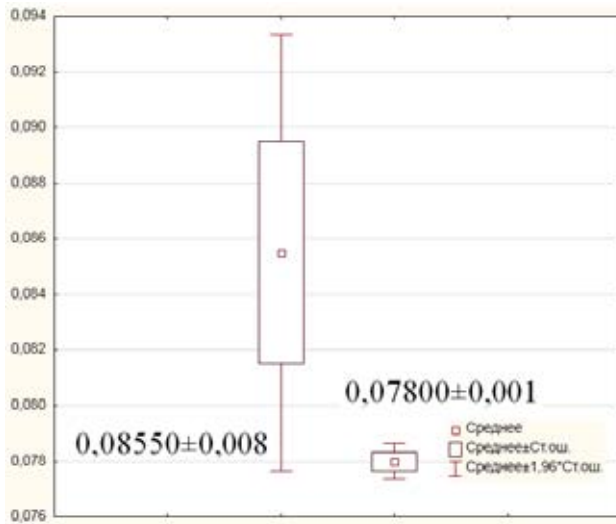


Рис. 3.1. вариабельности показателя «Лейкоциты с интегрином» (CD11b, 10^9 л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

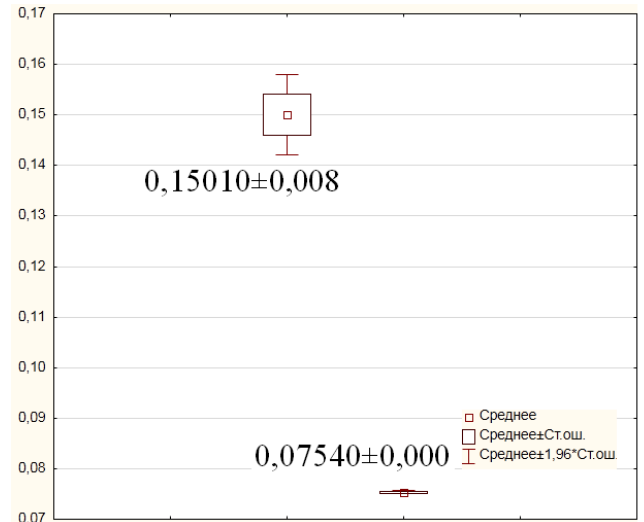


Рис. 3.2. Диаграмма вариабельности показателя «NK-клетки» (CD3-CD16-CD56+, 10^9 л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

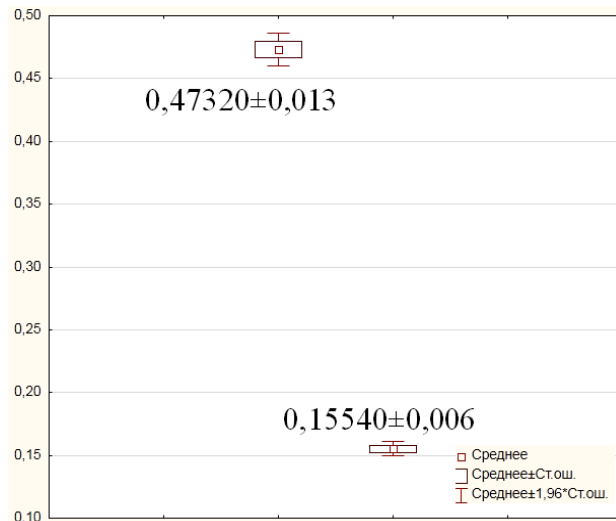


Рис.3.3. Диаграмма вариабельности показателя «HLA-DR клетки» (абс.) в группах «ППФ» и «Здоровые»

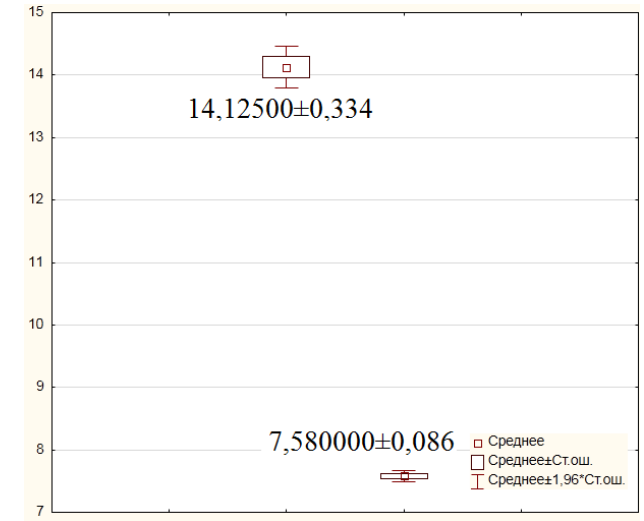


Рис.3.4. Диаграмма вариабельности показателя «НСТ спонтанный» (%) в группах «ППФ» и «Здоровые»

спонтанного НСТ (ЦХЧсп) ($1,211 \pm 0,018$ против $1,081 \pm 0,012$ ед.); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) ($1,165 \pm 0,011$ против $1,124 \pm 0,014$ ед.); Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) ($133,00 \pm 10,12$ против $90,50 \pm 1,66$ УЕ); Моноциты ($6,25 \pm 0,56$ против $4,60 \pm 0,22$ ед.); IgG, г/л ($13,2125 \pm 0,397$ против $10,6200 \pm 0,3620$) (рис. 3.5); IgA, г/л ($2,5698 \pm 0,399$ против $1,4940 \pm 0,0720$). Достоверно ниже в группе «ППФ» оказались значения таких показателей, как: Т-клетки – CD45+CD3+ (Т), измеренный в абсолютных единицах ($0,785 \pm 0,035$ против $1,242 \pm 0,020$ 10^9 л) (рис. 3.6); В-клетки – CD19+ (В), измеренные как в

абсолютных единицах (рис. 3.7), так и в процентах (соответственно, $8,50 \pm 0,26$ против $16,90 \pm 0,320$ % и $(0,113 \pm 0,012$ против $0,348 \pm 0,003$ 10^9 л); Т-хелперы – CD45+CD3+CD4+ (Тх), измеренные в абсолютных единицах ($0,414 \pm 0,029$ против $0,859 \pm 0,009$ 10^9 л) (рис. 3.8); Т-цитотоксические – CD45+CD3+CD8+ (Тц), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $19,125 \pm 1,227$ против $20,500 \pm 0,116$ % и $0,346 \pm 0,034$ против $0,461 \pm 0,013$ 10^9 л); Лейкоциты с интегрином – CD11в (ЛИН), измеренные в процентах ($13,500 \pm 0,409$ против $14,300 \pm 0,281$ %).

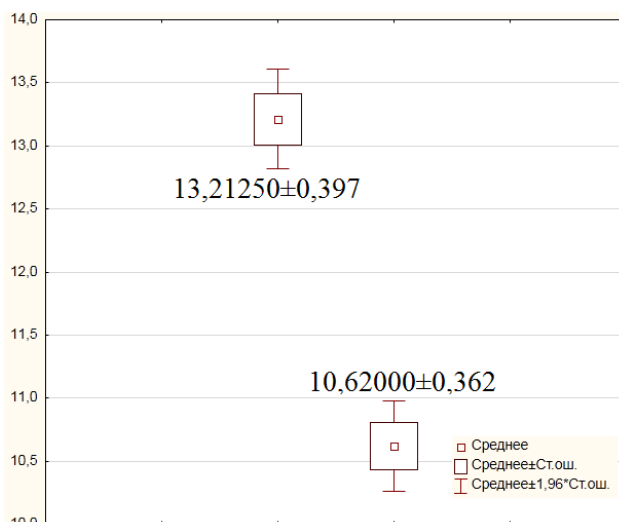


Рис. 3.5. Диаграмма варибельности показателя «IgG» (г/л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

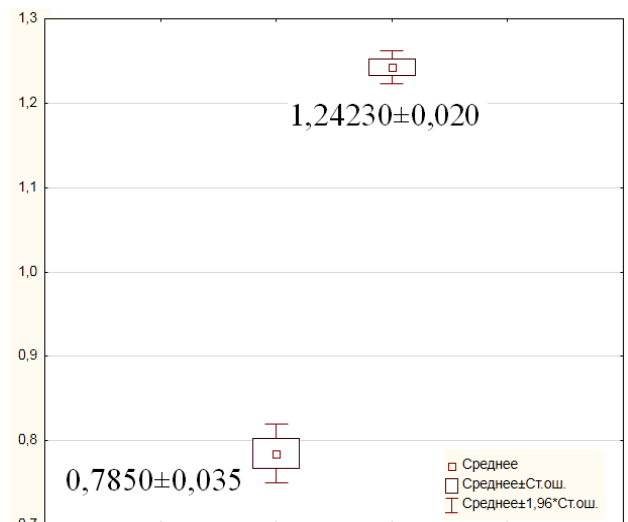


Рис.3.6. Диаграмма варибельности показателя «Т-клетки» (CD45+CD3+, 10^9 л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

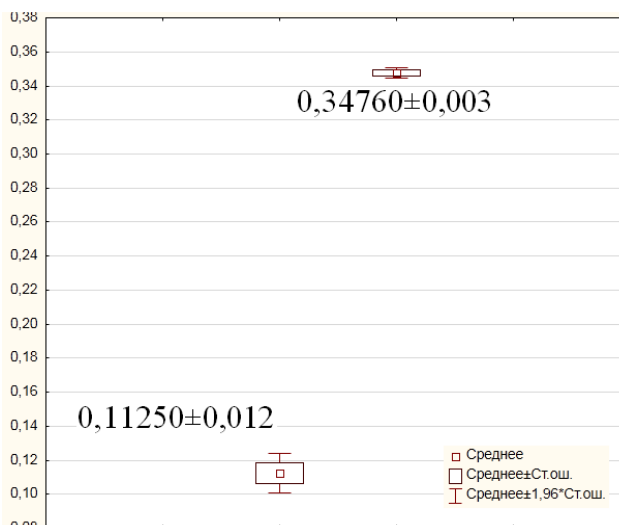


Рис. 3.7. Диаграмма варибельности показателя «В-клетки» (CD19+, 10^9 л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

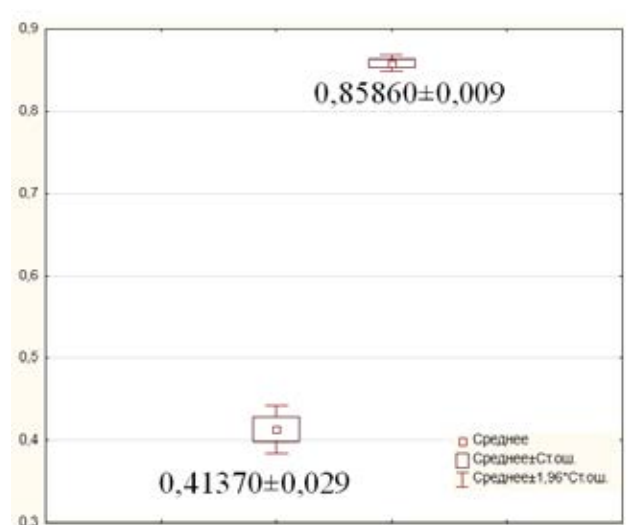


Рис. 3.8. Диаграмма варибельности показателя «Т-хелперы» (CD45+CD3+CD4+, 10^9 л) в группах «ППФ» и «Здоровые»

3.1.2. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза

Результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных рассеянным склерозом с вторично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания (ВПФ), их сравнение и сопоставление с контрольной группой («Здоровые») представлены в таблице 3.2, из которой видно, что почти по всем показателям имеются достоверные различия (при $p < 0,05$) между группой больных рассеянным склерозом с вторично-прогрессирующей формой клинического течения заболевания и контрольной группой (исключение составляют только два показателя – «Цитохимическое число активированного НСТ» и «Иммунные глобулины М». При этом достоверно выше в группе «ВПФ» значения следующих показателей: Т-клетки (Т), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.9), так и в процентах (соответственно, $1,43 \pm 0,16$ против $1,242 \pm 0,02 \cdot 10^9$ л и $62,63 \pm 1,96$ против $50,70 \pm 0,49$ %); Т-хелперы (Тх), измеренные в процентах ($33,50 \pm 0,94$ против $29,90 \pm 0,81$ %) (рис. 3.10); Т-цитотоксические (Тц), измеренные в процентах ($22,13 \pm 0,85$ против $20,50 \pm 0,12$ %); Лейкоциты с интегрином – CD11b (ЛИН), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,089 \pm 0,002$ против $0,078 \pm 0,001 \cdot 10^9$ л и $15,13 \pm 0,54$ против $14,30 \pm 0,28$ %); НК-клетки Т-зависимые (НКТ), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.11), так и в процентах (соответственно, $0,229 \pm 0,009$ против $0,075 \pm 0,000 \cdot 10^9$ л и $11,38 \pm 0,31$ против $7,10 \pm 0,12$ %); Клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.12), так и в процентах (соответственно, $0,463 \pm 0,014$ против $0,155 \pm 0,006$ ед. и $21,750 \pm 0,29$ против $13,20 \pm 0,19$ %); Фагоцитарный показатель (ФП) ($69,75 \pm 0,88$ против $59,47 \pm 1,16$ %) (рис. 3.13); Фагоцитарное число (ФЧ) ($6,84 \pm 0,12$ против $6,20 \pm 0,15$ ед.); НСТ спонтанный (НСТсп) ($15,88 \pm 0,65$ против $7,58 \pm 0,09$ %) (рис. 3.14); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) ($1,178 \pm 0,015$ против $1,0810 \pm 0,0120$ ед.); НСТ активированный (НСТак) ($18,875 \pm 0,634$ против

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных вторично-прогрессирующей формой клинического течения РС (ВПФ – x_1) и пациентов контрольной группы (Здоровые – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	ППФ (x_1)	Здоровые (x_2)				
Т-клетки (Т), %	62,6250±1,961	50,7000±0,4940	11,9250	16,1560	$x_1 > x_2$	99,99
Т-клетки (Т), 10^9 л	1,4300±0,1630	1,2423±0,0200	0,1877	3,5021	$x_1 > x_2$	99,92
В-клетки (В), %	9,8750±0,5370	16,9000±0,3170	-7,0250	-22,5713	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), 10^9 л	0,1772±0,0200	0,3476±0,0030	-0,1704	-25,1869	$x_1 < x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), %	33,5000±0,939	29,9000±0,8120	3,6000	4,9187	$x_1 > x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), 10^9 л	0,6237±0,0460	0,8586±0,0090	-0,2349	-14,2993	$x_1 < x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), %	22,1250±0,852	20,5000±0,1160	1,6250	5,7266	$x_1 > x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 л	0,4112±0,0480	0,4609±0,0130	-0,0497	-2,6705	$x_1 < x_2$	99,09
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	15,1250±0,536	14,3000±0,2810	0,8250	2,8782	$x_1 > x_2$	99,49
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 л	0,0890±0,0020	0,0780±0,0010	0,0110	13,7583	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	11,3750±0,314	7,1000±0,1170	4,2750	31,0319	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 л	0,2285±0,0090	0,0754±0,0000	0,1531	52,6955	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), %	21,7500±0,285	13,2000±0,1900	8,5500	47,3486	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), абс.	0,4625±0,0140	0,1554±0,0060	0,3071	49,1954	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарный показатель (ФП), %	69,7500±0,879	59,4700±1,1560	10,2800	10,3477	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарное число (ФЧ)	6,8362±0,1240	6,2020±0,1500	0,6342	4,8766	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ спонтанный (НСТсп), %	15,8750±0,650	7,5800±0,0860	8,2950	38,4473	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,1775±0,0150	1,0810±0,0120	0,0965	8,5477	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	18,8750±0,634	17,8700±0,5550	1,0050	2,0123	$x_1 > x_2$	95,26
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,1187±0,0120	1,1240±0,0140	-0,0053	-0,4392	$x_1 < x_2$	66,17
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	132,625±6,547	90,5000±1,6550	42,1250	17,0818	$x_1 > x_2$	99,99
Моноциты, абс.	7,0000±0,7190	4,6000±0,2220	2,4000	8,2686	$x_1 > x_2$	99,99
IgG, г/л	12,3862±0,613	10,6200±0,3620	1,7662	4,9719	$x_1 > x_2$	99,99
IgA, г/л	2,2100±0,4300	1,4940±0,0720	0,7160	4,8610	$x_1 > x_2$	99,99
IgM, г/л	1,5500±0,1740	1,4400±0,0910	0,1100	1,1872	$x_1 > x_2$	76,15

17,870±0,555 %); Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) (132,625±6,547 против 90,500±1,655 УЕ); Моноциты (7,00±0,72 против 4,60±0,22 ед.); IgG, г/л (12,39±0,61 против 10,62±0,36); IgA, г/л (2,21±0,43 против 1,49±0,07) (рис. 3.15). Достоверно ниже в группе вторично-прогрессирующей формы рассеянного склероза («ВПФ») оказались значения таких показателей, как: В-клетки (В), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.16), так и в процентах (соответственно, 0,177±0,020 против 0,348±0,003 10^9 /л и 9,875±0,537 против 16,900±0,317 10^9 /л); Т-хелперы (Тх), измеренные в абсолютных единицах (0,625±0,046 против 0,859±0,009 10^9 /л); Т-цитотоксические (Тц), измеренные в абсолютных единицах (0,411±0,048 против 0,461±0,013 10^9 /л); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) (1,119±0,012 против 1,124±0,014 ед.).

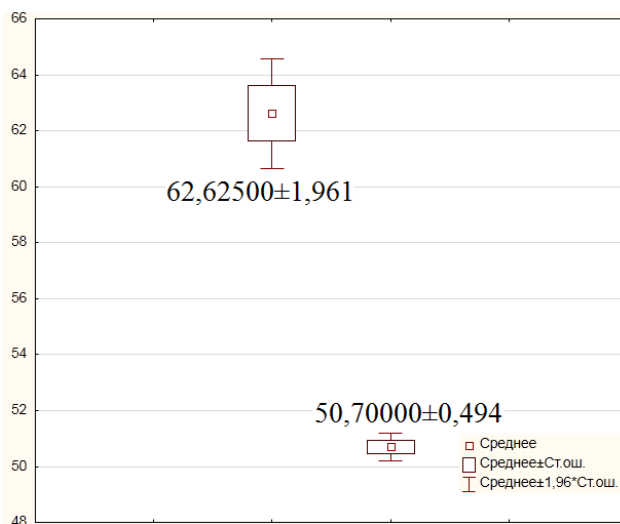


Рис. 3.9. Диаграмма варибельности показателя «Т-клетки» (CD45+CD3+, %) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

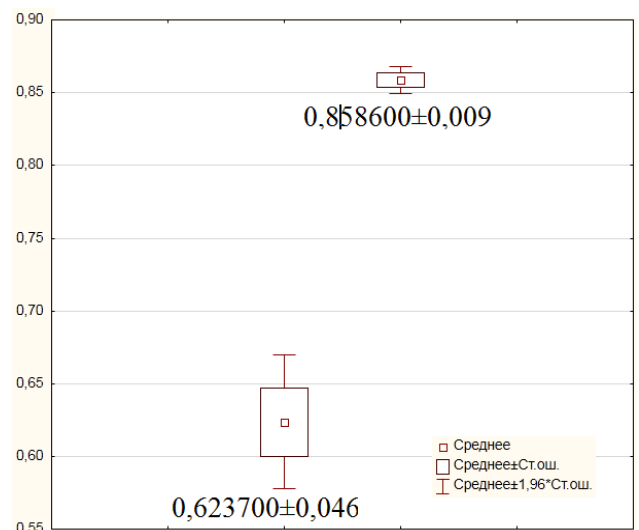


Рис. 3.10. Диаграмма варибельности показателя «Т-хелперы» (CD45+CD3+CD4+, 10^9 /л) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

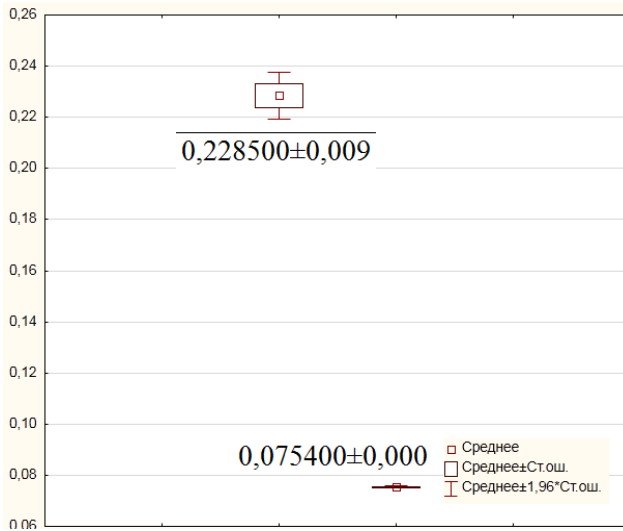


Рис.3.11. Диаграмма варибельности показателя «NK-клетки» ($10^9/l$) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

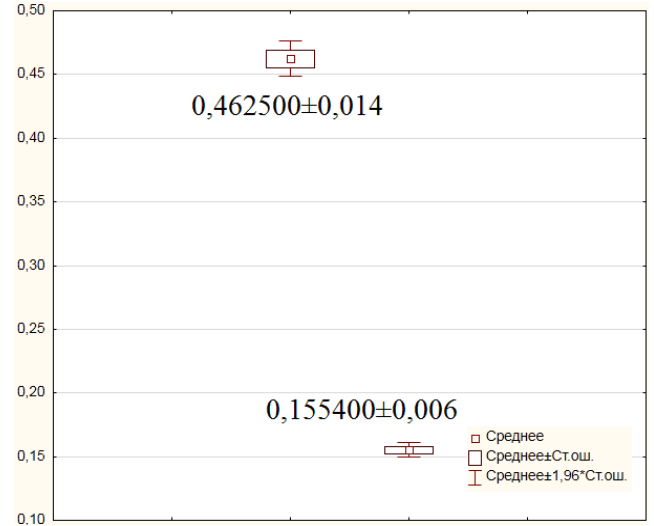


Рис. 3.12. Диаграмма варибельности показателя «HLA-DR клетки» (абс.) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

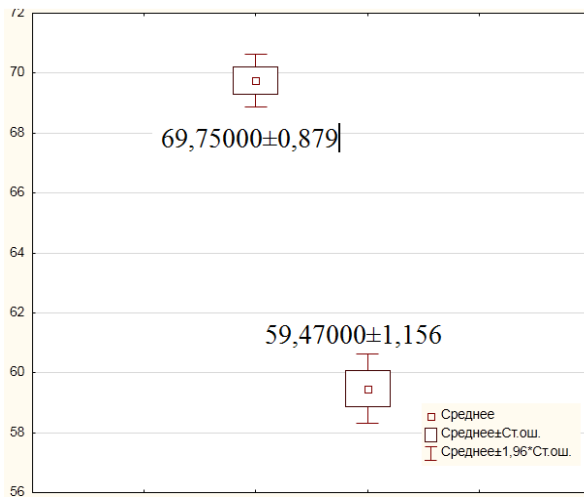


Рис. 3.13. Диаграмма варибельности показателя «Фагоцитарный показатель» (абс.) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

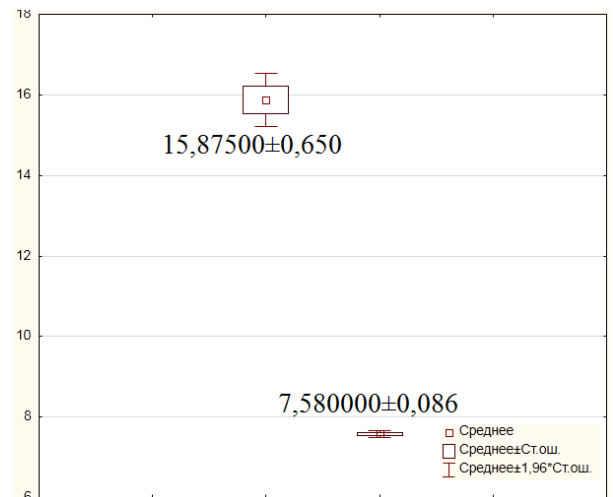


Рис.3.14. Диаграмма варибельности показателя «НСТ спонтанный» (%) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

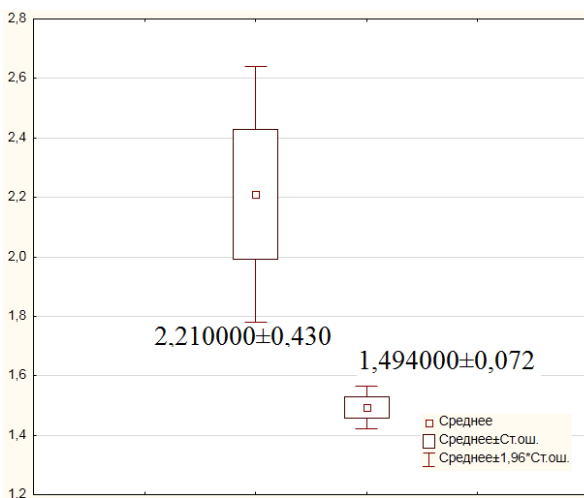


Рис. 3.15. Диаграмма варибельности показателя «IgA» (г/л) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

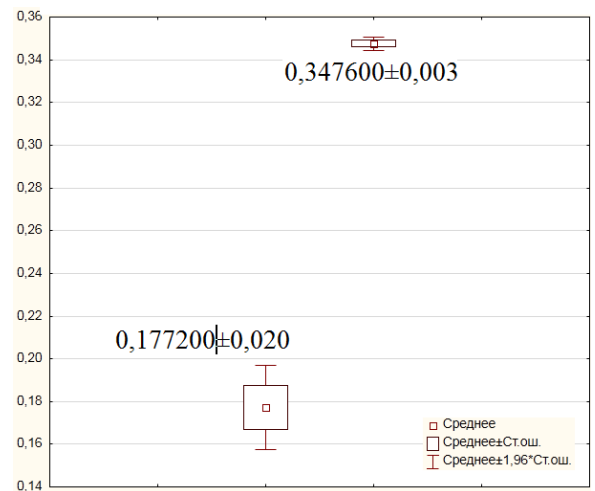


Рис. 3.16. Диаграмма варибельности показателя «B-клетки» ($10^9/l$) в группах «ВПФ» и «Здоровые»

3.1.3. Полученные результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных с ремитирующей формой рассеянного склероза

Результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных рассеянным склерозом с ремитирующей формой клинического течения заболевания (РФ) в стадии обострения (РФ обострение) и в стадии ремиссии (РФ ремиссия), их сравнение и сопоставление с контрольной группой («Здоровые») представлены в таблицах 3.3 – 3.4.

Как следует из таблицы 3.3, почти по всем показателям имеются достоверные различия (при $p < 0,05$) между группой больных рассеянным склерозом с ремитирующей формой клинического течения заболевания в стадии обострения (РФ обострение) и контрольной группой (исключение составляют только два показателя – «Т-хелперы», измеренные в процентах, и «Фагоцитарный показатель». При этом достоверно выше в группе «РФ обострение» значения следующих показателей: Т-клетки (Т), измеренные в процентах ($54,539 \pm 1,001$ против $50,700 \pm 0,494$ %); Т-цитотоксические (Тц), измеренные в процентах ($22,308 \pm 0,886$ против $20,500 \pm 0,116$ %); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.17), так и в процентах (соответственно, $0,349 \pm 0,034$ против $0,078 \pm 0,001$ 10^9 л и $17,231 \pm 1,000$ против $14,300 \pm 0,281$ %); НК-клетки Т-зависимые (НКт), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.18), так и в процентах (соответственно, $0,152 \pm 0,013$ против $0,076 \pm 0,000$ 10^9 л и $9,154 \pm 0,596$ против $7,100 \pm 0,117$ %); Клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $1,227 \pm 0,371$ против $0,155 \pm 0,006$ ед. и $18,769 \pm 0,938$ против $13,200 \pm 0,190$ %); НСТ спонтанный (НСТсп) ($77,077 \pm 1,193$ против $7,580 \pm 0,086$ %) (рис. 3.19); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) ($1,618 \pm 0,017$ против $1,081 \pm 0,012$ ед.); НСТ активированный (НСТак) ($86,308 \pm 1,037$ против $17,870 \pm 0,555$ %) (рис. 3.20); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) ($1,608 \pm 0,020$ против

Таблица 3.3

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения (РФ обострение – x_1) и пациентов контрольной группы (Здоровые – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	РФ обострение (x_1)	Здоровые (x_2)				
Т-клетки (Т), %	54,5386±1,001	50,7000±0,4940	3,83861	7,4568	$x_1 > x_2$	99,99
Т-клетки (Т), 10^9 л	1,0828±0,0780	1,2423±0,0200	-0,15950	-5,4405	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), %	9,6153±0,5240	16,9000±0,3170	-7,2847	-23,5623	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), 10^9 л	0,1753±0,0160	0,3476±0,0030	-0,1723	-30,7542	$x_1 < x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), %	30,6923±1,126	29,9000±0,8120	0,7923	1,0462	$x_1 > x_2$	70,16
Т-хелперы (Тх), 10^9 л	0,5475±0,0360	0,8586±0,0090	-0,3111	-22,8223	$x_1 < x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), %	22,3077±0,886	20,5000±0,1160	1,8077	6,1515	$x_1 > x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 л	0,4366±0,0360	0,4609±0,0130	-0,0243	-1,5617	$x_1 < x_2$	87,79
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	17,2308±1,000	14,3000±0,2810	2,9308	7,5096	$x_1 > x_2$	99,99
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 л	0,3490±0,0340	0,0780±0,0010	0,2710	25,2794	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	9,1538±0,5960	7,1000±0,1170	2,0538	9,7625	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 л	0,1518±0,0130	0,0754±0,0000	0,0764	19,3051	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), %	18,7692±0,938	13,2000±0,1900	5,5692	16,7044	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), абс.	1,2271±0,3710	0,1554±0,0060	1,0717	9,1970	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарный показатель (ФП), %	58,8615±2,071	59,4700±1,1560	-0,6085	-0,5271	$x_1 < x_2$	59,95
Фагоцитарное число (ФЧ)	4,5007±0,2370	6,2020±0,1500	-1,7013	-11,7577	$x_1 < x_2$	99,99
НСТ спонтанный (НСТсп), %	77,0769±1,193	7,5800±0,0860	69,4969	182,4757	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,6176±0,0170	1,0810±0,0120	0,5366	46,4716	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	86,3077±1,037	17,8700±0,5550	68,4377	121,8172	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,6084±0,0200	1,1240±0,0140	0,4844	37,3335	$x_1 > x_2$	99,99
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	74,0769±6,897	90,5000±1,6550	-16,4231	-6,4199	$x_1 < x_2$	99,99
Моноциты, абс.	5,6923±0,3560	4,6000±0,2220	1,0923	5,0965	$x_1 > x_2$	99,99
IgG, г/л	15,0138±0,445	10,6200±0,3620	4,3938	13,3266	$x_1 > x_2$	99,99
IgA, г/л	3,7000±0,3180	1,4940±0,0720	2,2060	19,0228	$x_1 > x_2$	99,99
IgM, г/л	2,1000±0,1000	1,4400±0,0910	0,6600	8,1151	$x_1 > x_2$	99,99

1,124±0,014 ед.); Моноциты (5,692±0,356 против 4,600±0,222 ед.); IgG (15,014±0,445 против 10,620±0,362 г/л); IgA (3,700±0,318 против 1,494±0,072 г/л) (рис. 3.21); IgM (2,100±0,100 против 1,440±0,091 г/л). Достоверно ниже в группе с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения (РФ обострение) оказались значения таких показателей, как: Т-клетки (Т), измеренные в абсолютных единицах (1,083±0,078 против 1,242±0,020 10^9 л); В-клетки (В), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.22), так и в процентах (соответственно, 0,175±0,016 против 0,348±0,003 10^9 л и 9,615±0,524 против 16,900±0,317 10^9 л); Т-хелперы (Тх), измеренные в абсолютных единицах (0,548±0,036 против 0,859±0,009 10^9 л) (рис. 23); Т-цитотоксические (Тц), измеренные в абсолютных единицах (0,437±0,036 против 0,461±0,013 10^9 л); Фагоцитарное число (ФЧ) (4,501±0,237 против 6,202±0,150 ед.); Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) (74,077±6,897 против 90,500±1,655 УЕ) (рис. 24).

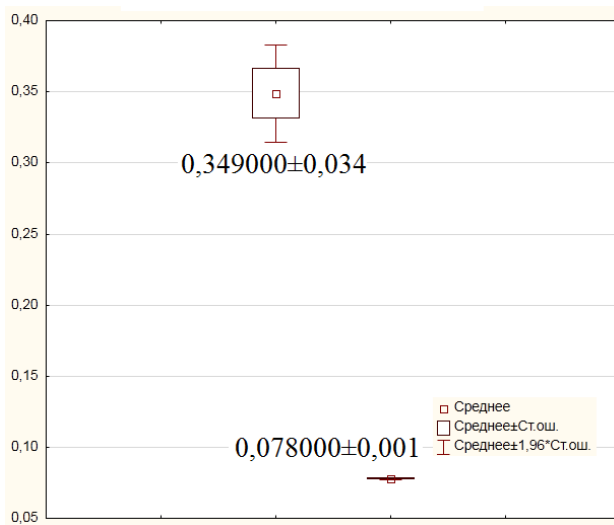


Рис. 3.17. Диаграмма вариабельности показателя «Лейкоциты с интегрином» (10^9 л) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

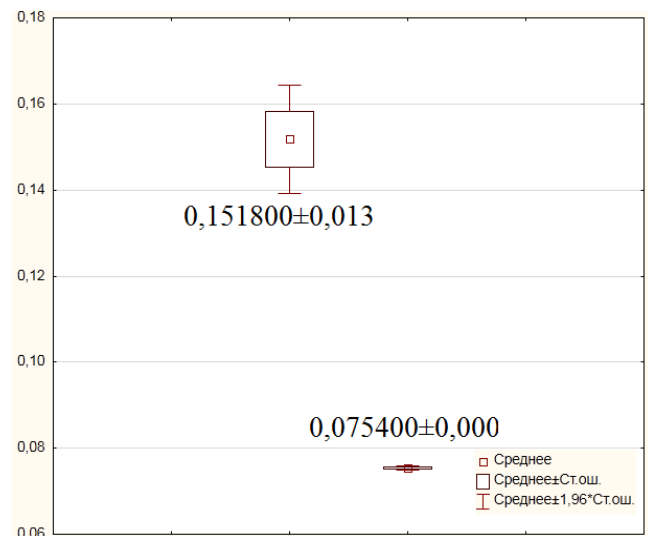


Рис. 3.18. Диаграмма вариабельности показателя «НК-клетки Т-зависимые (НКТ)» (10^9 л) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

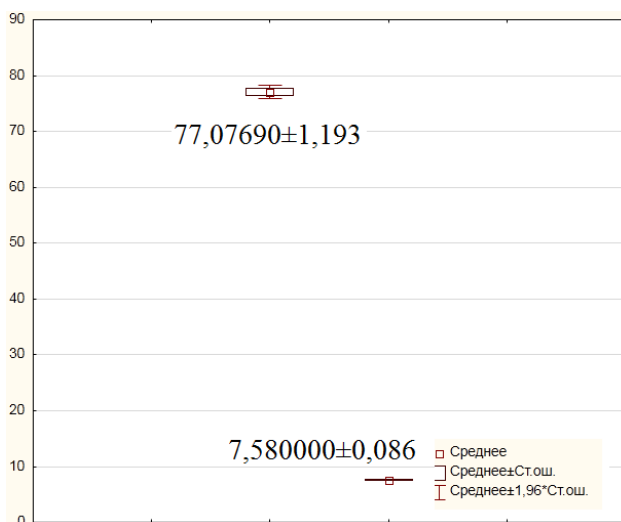


Рис.3.19. Диаграмма вариальности показателя «|НСТ спонтанный (НСТсп)» (%) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

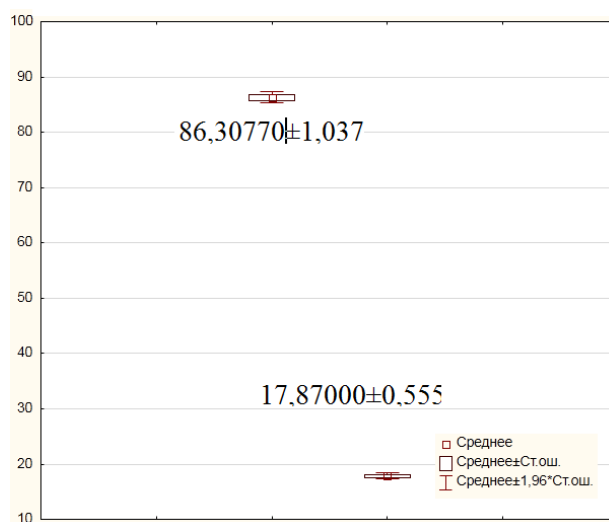


Рис. 3.20. Диаграмма вариальности показателя «|НСТ активированный (НСТсп)» (%) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

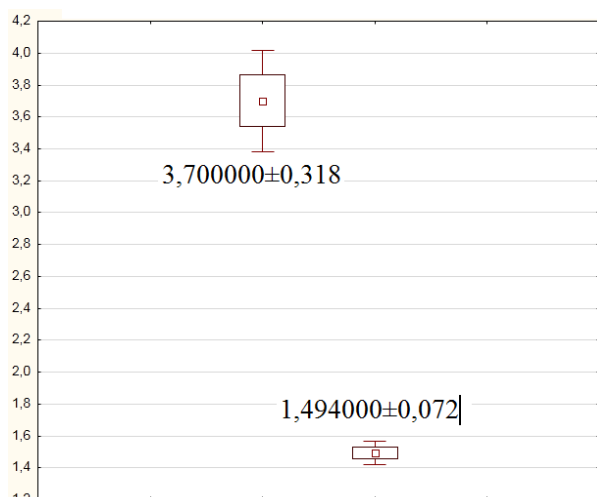


Рис. 3.21. Диаграмма вариальности показателя «|Ig A» (г/л) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

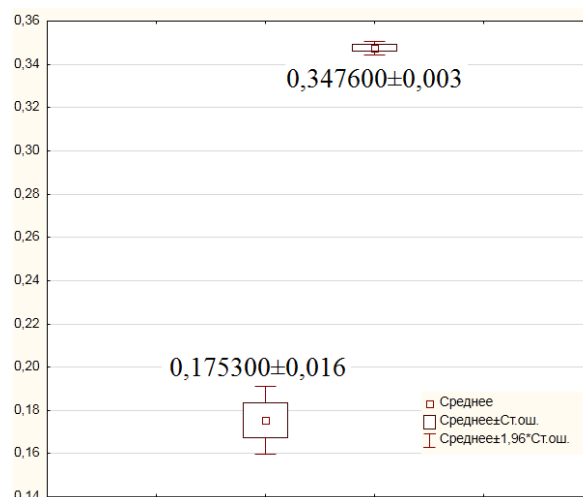


Рис.3.22. Диаграмма вариальности показателя «|В-клетки (В)» (10^9 /л) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

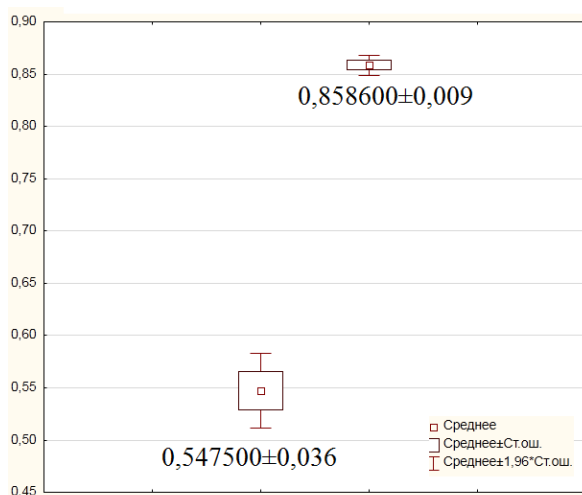


Рис. 3.23. Диаграмма вариальности показателя «Т-хелперы (Тх)» (10^9 /л) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

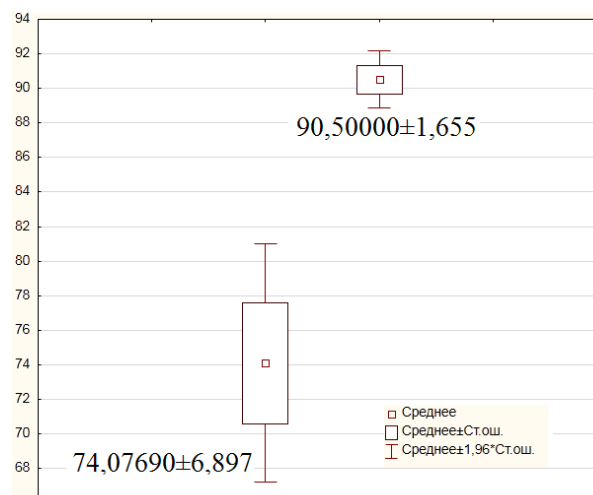


Рис. 3.24. Диаграмма вариальности показателя «Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК)» (УЕ) в группах «РФ обострение» и «Здоровые»

Следует отметить, что максимальные различия отмечены по таким показателям, как: НСТ спонтанный (НСТсп) и активированный (НСТак) – первое и второе место в ранговом ряду (соответственно, значения t-критерия Стьюдента равны 182,48 и 121,82); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) и активированного НСТ (ЦХЧак) – третье и четвертое место в ранговом ряду (соответственно, $t = 46,47$ и $t = 37,33$); В-клетки, измеренные как в абсолютных, так и в относительных единицах – пятое и седьмое место в ранговом ряду (соответственно, $t = -30,75$ и $t = -23,56$); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные в абсолютных единицах – шестое место ($t = 25,18$); Т-хелперы (Тх), измеренные в абсолютных единицах – восьмое место ($t = -22,82$).

В таблице 3.4 представлены результаты лабораторных исследований иммунной системы у больных рассеянным склерозом с ремитирующей формой клинического течения заболевания в стадии ремиссии (РФ ремиссия) в сравнении с контрольной группой («Здоровые»). Как следует из таблицы 3.4, практически по всем показателям имеются достоверные различия (при $p < 0,05$) между группой больных рассеянным склерозом с ремитирующей формой клинического течения заболевания в стадии ремиссии (РФ ремиссия) и контрольной группой (исключение составляет только один показатель – «Лейкоциты с интегрином», измеренный в процентах. При этом достоверно выше в группе «РФ ремиссия» значения следующих показателей: Т-клетки (Т), измеренные в процентах ($54,34 \pm 1,65$ против $51,12 \pm 0,49$ %) (рис. 3.25); Т-хелперы (Тх), измеренные в процентах ($33,62 \pm 1,29$ против $29,90 \pm 0,81$ %); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.26), так и в процентах (соответственно, $0,224 \pm 0,020$ против $0,078 \pm 0,001 \cdot 10^9$ л и $15,00 \pm 0,94$ против $14,30 \pm 0,28$ %); НК-клетки Т-зависимые (НКТ), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.27), так и в процентах (рис. 3.28) (соответственно, $0,199 \pm 0,018$ против $0,075 \pm 0,000 \cdot 10^9$ л и $12,00 \pm 0,68$ против $7,10 \pm 0,12$ %); клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,247 \pm 0,027$ против $0,155 \pm 0,006$ ед. и $15,75 \pm 0,95$ против $13,20 \pm 0,19$ %); Фагоцитарный показатель (ФП) ($62,938 \pm 1,093$ против

Таблица 3.4

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии ремиссии (РФ ремиссия – x_1) и пациентов контрольной группы (Здоровые – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	РФ ремиссия (x_1)	Здоровые (x_2)				
Т-клетки (Т), %	54,3435±1,651	51,11484±0,494	3,2286	4,8978	$x_1 > x_2$	99,99
Т-клетки (Т), 10^9 л	0,8504±0,0580	1,2423±0,0200	-0,3919	-16,0853	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), %	12,6923±0,582	16,9000±0,3170	-4,2077	-13,1851	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), 10^9 л	0,1943±0,0180	0,3476±0,0030	-0,1533	-24,8138	$x_1 < x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), %	33,6154±1,285	29,9000±0,8120	3,7154	4,7526	$x_1 > x_2$	99,99
Т-хелперы (Тх), 10^9 л	0,5250±0,0380	0,8586±0,0090	-0,3336	-23,5895	$x_1 < x_2$	99,99
Т-цитотоксические (Тц), %	19,5385±1,038	20,5000±0,1160	-0,9615	-2,8347	$x_1 < x_2$	99,42
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 л	0,3123±0,0240	0,4609±0,0130	-0,1486	-11,2413	$x_1 < x_2$	99,99
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	15,0000±0,936	14,3000±0,2810	0,7000	1,8702	$x_1 > x_2$	93,51
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 л	0,2239±0,0200	0,0780±0,0010	0,1459	22,8770	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	12,0000±0,682	7,1000±0,1170	4,9000	20,8786	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 л	0,1991±0,0180	0,0754±0,0000	0,1237	21,3816	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), %	15,7500±0,950	13,2000±0,1900	2,5500	7,5758	$x_1 > x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), абс.	0,2470±0,0270	0,1554±0,0060	0,0916	9,6084	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарный показатель (ФП), %	62,9385±1,093	59,4700±1,1560	3,4685	3,4202	$x_1 > x_2$	99,89
Фагоцитарное число (ФЧ)	4,4930±0,2660	6,2020±0,1480	-1,7090	-11,5208	$x_1 < x_2$	99,99
НСТ спонтанный (НСТсп), %	62,8462±2,011	7,5800±0,0860	55,2662	87,0856	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,3100±0,0460	1,0810±0,0120	0,2290	12,9696	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	67,5385±2,269	17,8700±0,5550	49,6685	58,6976	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,4523±0,0250	1,1240±0,0140	0,3283	23,63980	$x_1 > x_2$	99,99
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	67,5385±5,217	90,5000±1,6550	-22,9615	-10,7721	$x_1 < x_2$	99,99
Моноциты, абс.	4,0000±0,3000	4,6000±0,2220	-0,6000	-2,9165	$x_1 < x_2$	99,54
IgG, г/л	19,4654±1,332	10,6200±0,3620	8,8454	17,2256	$x_1 > x_2$	99,99
IgA, г/л	6,2876±0,5950	1,4940±0,0720	4,7936	24,4958	$x_1 > x_2$	99,99
IgM, г/л	1,9938±0,0950	1,4400±0,0910	0,5538	6,8611	$x_1 > x_2$	99,99

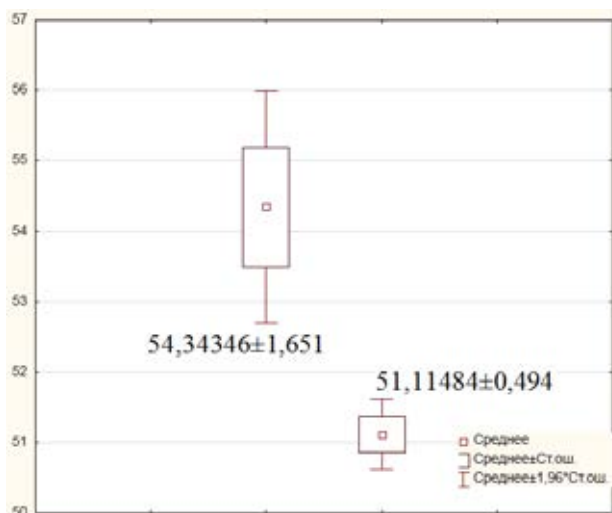


Рис.3.25. Диаграмма варибельности показателя «Т-клетки (Т)» (%) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

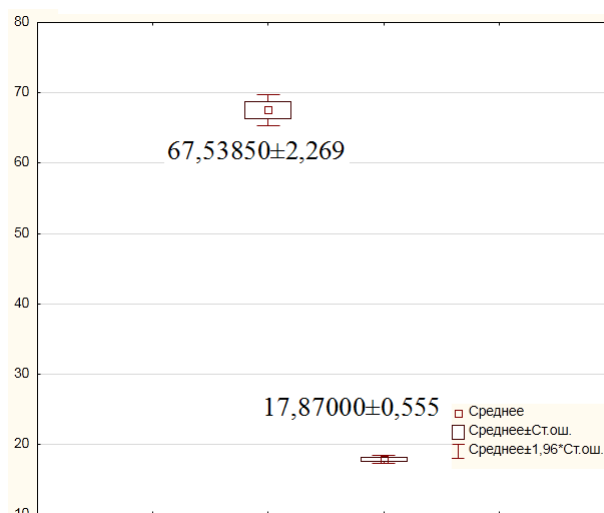


Рис. 3.26. Диаграмма варибельности показателя «НСТ активированный (НСТсп)» (%) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

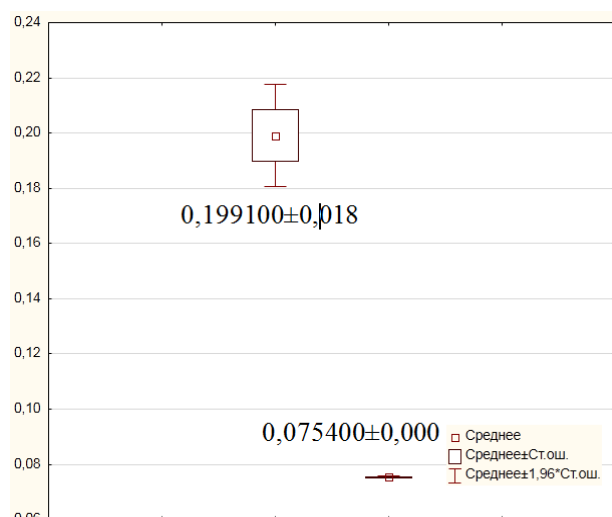


Рис. 3.27. Диаграмма варибельности показателя «НК-клетки Т-зависимые (НКт)» (10^9 /л) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

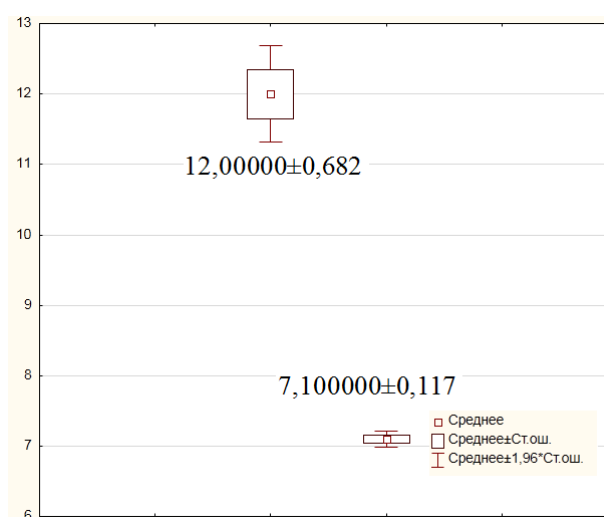


Рис.3.28. Диаграмма варибельности показателя «НК-клетки Т-зависимые (НКт)» (%) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

59,47±1,16 %); НСТ спонтанный (НСТсп) (62,852±2,01 против 7,58±0,09 %) (рис. 3.29); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) (1,31±0,05 против 1,08±0,01 ед.); НСТ активированный (НСТак) (67,54±2,27 против 17,87±0,56 %); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) (1,45±0,03 против 1,12±0,01 ед.); IgG (19,47±1,33 против 10,62±0,36 г/л); IgA (6,29±0,60 против 1,49±0,07 г/л) (рис. 3.30); IgM (1,99±0,10 против 1,44±0,09 г/л). Достоверно ниже в группе с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии ремиссии (РФ ремиссия) оказались значения таких показателей, как: Т-клетки (Т), измеренные в абсолютных единицах (0,85±0,06 против 1,24±0,02 10^9 /л); В-клетки (В),

измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.31), так и в процентах (соответственно, $0,194 \pm 0,018$ против $0,348 \pm 0,003$ 10^9 л и $12,69 \pm 0,58$ против $16,90 \pm 0,32$ %); Т-хелперы (Тх), измеренные в абсолютных единицах ($0,525 \pm 0,038$ против $0,859 \pm 0,009$ 10^9 л); Т-цитотоксические (Тц), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,312 \pm 0,024$ против $0,461 \pm 0,013$ 10^9 л и $19,54 \pm 1,04$ против $20,50 \pm 0,12$ 10^9 л); Фагоцитарное число (ФЧ) ($4,49 \pm 0,27$ против $6,20 \pm 0,15$ ед.); Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) ($67,54 \pm 5,22$ против $90,50 \pm 1,66$ УЕ) (рис. 3.32); Моноциты (Мон.) ($4,00 \pm 0,30$ против $4,60 \pm 0,22$ ед.).

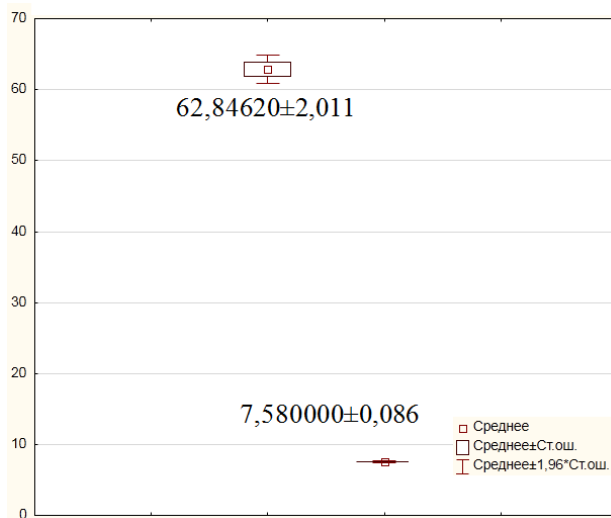


Рис.3.29. Диаграмма варибельности показателя «НСТ спонтанный (НСТсп)» (%) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

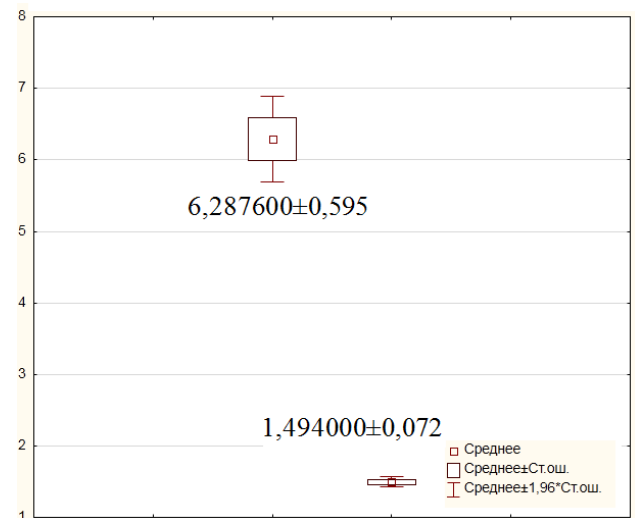


Рис. 3.30. Диаграмма варибельности показателя «IgA» (г/л) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

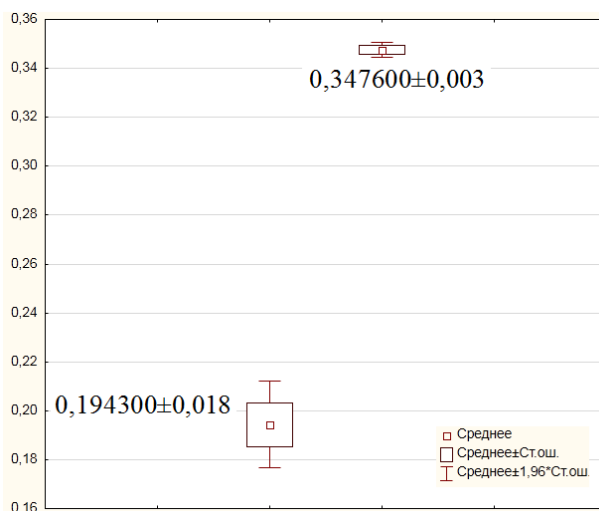


Рис. 3.31. Диаграмма варибельности показателя «В-клетки (В)» (10^9 л) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

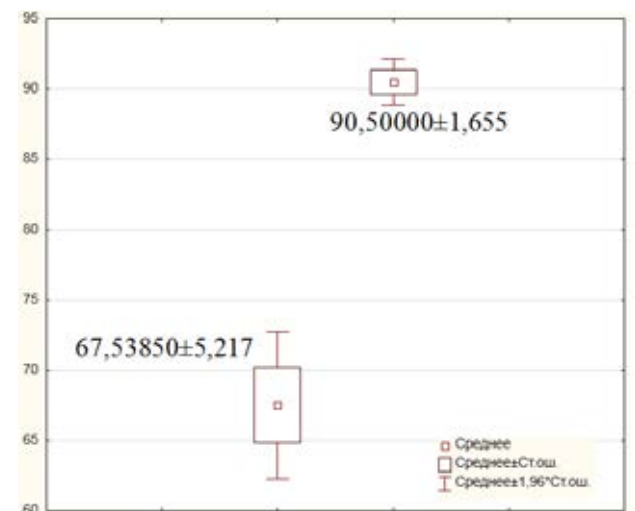


Рис.3.32. Диаграмма варибельности показателя «Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК)» (УЕ) в группах «РФ ремиссия» и «Здоровые»

Следует отметить, что максимальные различия отмечены по таким показателям, как: НСТ спонтанный (НСТсп) и активированный (НСТак) – первое и второе место в ранговом ряду (соответственно, значения t-критерия Стьюдента равны 55,27 и 49,67); В-клетки – третье место в ранговом ряду ($t = -24,81$); Иммунные глобулины А – четвертое место в ранговом ряду ($t = 24,50$); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) – пятое место в ранговом ряду ($t = 23,64$); Т-хелперы – шестое место ($t = -23,59$); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные в абсолютных единицах – седьмое место ($t = 22,88$); НК-клетки, измеренные как в абсолютных, так и в относительных единицах – восьмое и девятое место в ранговом ряду (соответственно, $t = 21,38$ и $t = 20,88$).

3.2. Динамика иммунного статуса при различных клинических формах течения рассеянного склероза

Результаты исследования динамики иммунного статуса больных рассеянным склерозом при различных клинических формах течения заболевания представлены в таблицах 3.5 и 3.6.

Как видно из таблицы 3.5, у больных с ремитирующей формой клинического течения рассеянного склероза в стадии обострения достоверно выше, чем у больных в стадии ремиссии следующие показатели: Т-клетки (Т), измеренные в абсолютных единицах ($1,08 \pm 0,08$ против $0,85 \pm 0,06 \cdot 10^9$ л); Т-цитотоксические (Тц), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,350 \pm 0,03$ против $0,22 \pm 0,02 \cdot 10^9$ л и $17,23 \pm 1,00$ против $15,00 \pm 0,94$ %); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.33), так и в процентах (соответственно, $0,349 \pm 0,034$ против $0,224 \pm 0,020 \cdot 10^9$ л и $17,23 \pm 1,00$ против $15,00 \pm 0,94$ %); клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $1,227 \pm 0,371$ против $0,247 \pm 0,027$ ед. и $18,77 \pm 0,94$ против $15,75 \pm 0,95$ %); Фагоцитарное число (ФЧ) ($4,50 \pm 0,24$ против $4,49 \pm 0,27$ ед.); НСТ спонтанный (НСТсп) ($77,08 \pm 1,19$ против $62,85 \pm 2,01$ %); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) ($1,62 \pm 0,02$ против $1,31 \pm 0,05$ ед.); НСТ активированный (НСТак) ($86,31 \pm 1,04$ против $67,54 \pm 2,27$ %) (рис. 3.34); Цитохимическое число

Таблица 3.5

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения (РФ обострение – x_1) и ремиссии (РФ ремиссия – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	РФ обострение (x_1)	РФ ремиссия (x_2)				
Т-клетки (Т), %	55,3077±1,001	54,4615±1,6510	0,8462	0,8591	$x_1 > x_2$	60,54
Т-клетки (Т), 10^9 /л	1,0828±0,0780	0,8504±0,0580	0,2324	4,67896	$x_1 > x_2$	99,99
В-клетки (В), %	9,6153±0,5240	12,6923±0,5820	-3,0770	-7,6997	$x_1 < x_2$	99,99
В-клетки (В), 10^9 /л	0,1753±0,0160	0,1943±0,0180	-0,0190	-1,5706	$x_1 < x_2$	87,70
Т-хелперы (Тх), %	30,6923±1,126	33,6154±1,2850	-2,9231	-3,3541	$x_1 < x_2$	99,83
Т-хелперы (Тх), 10^9 /л	0,5475±0,0360	0,5250±0,0380	0,0225	0,8485	$x_1 > x_2$	59,95
Т-цитотоксические (Тц), %	22,3077±0,886	19,5385±1,0380	2,7692	3,9771	$x_1 > x_2$	99,97
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 /л	0,4366±0,0360	0,3123±0,0240	0,1243	5,6395	$x_1 > x_2$	99,99
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	17,2308±1,000	15,0000±0,9360	2,2308	3,1916	$x_1 > x_2$	99,74
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 /л	0,3490±0,0340	0,2239±0,0200	0,1251	6,1743	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	9,1538±0,5960	12,0000±0,6820	-2,8462	-6,1566	$x_1 < x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 /л	0,1518±0,0130	0,1991±0,0180	-0,0473	-4,1555	$x_1 < x_2$	99,98
HLA-DR клетки (HLA), %	18,7692±0,938	15,7500±0,9500	3,0192	4,4326	$x_1 > x_2$	99,98
HLA-DR клетки (HLA), абс.	1,2271±0,3710	0,2470±0,0270	0,9801	5,1592	$x_1 > x_2$	99,99
Фагоцитарный показатель (ФП), %	58,8615±2,071	62,9385±1,0930	-4,0770	-3,4130	$x_1 < x_2$	99,86
Фагоцитарное число (ФЧ)	4,5007±0,2370	4,4930±0,2660	0,0077	0,0424	$x_1 > x_2$	96,65
НСТ спонтанный (НСТсп), %	77,0769±1,193	62,8462±2,0110	14,2307	11,9265	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,6176±0,0170	1,3100±0,0460	0,3076	12,3612	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	86,3077±1,037	67,5385±2,2690	18,7692	14,7472	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,6084±0,0200	1,4523±0,0250	0,1561	9,5893	$x_1 > x_2$	99,99
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	74,0769±6,897	67,5385±5,2170	6,5384	1,4818	$x_1 > x_2$	85,50
Моноциты, абс.	5,6923±0,3560	4,0000±0,3000	1,6923	7,1274	$x_1 > x_2$	99,99
IgG, г/л	15,0138±0,445	19,4654±1,3320	-4,4516	-6,2133	$x_1 < x_2$	99,99
IgA, г/л	3,7000±0,3180	6,2876±0,5950	-2,5876	-7,5218	$x_1 < x_2$	99,99
IgM, г/л	2,1000±0,1000	1,9938±0,0950	0,1062	1,5038	$x_1 > x_2$	86,07

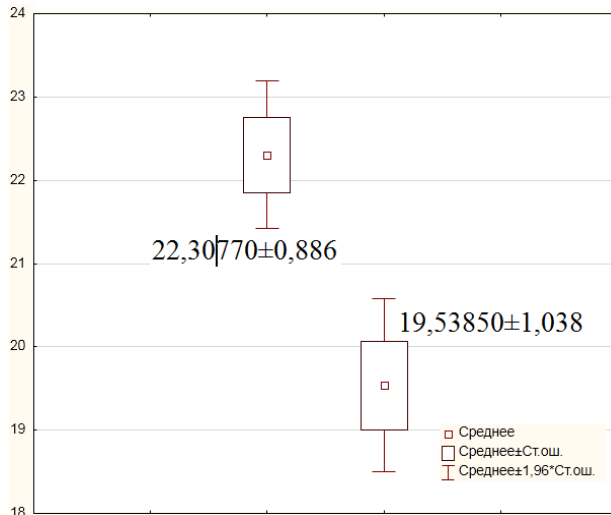


Рис. 3.33. Диаграмма варибельности показателя «Лейкоциты с интегрином» (10^9 /л) в группах «РФ обострение» и «РФ ремиссия»

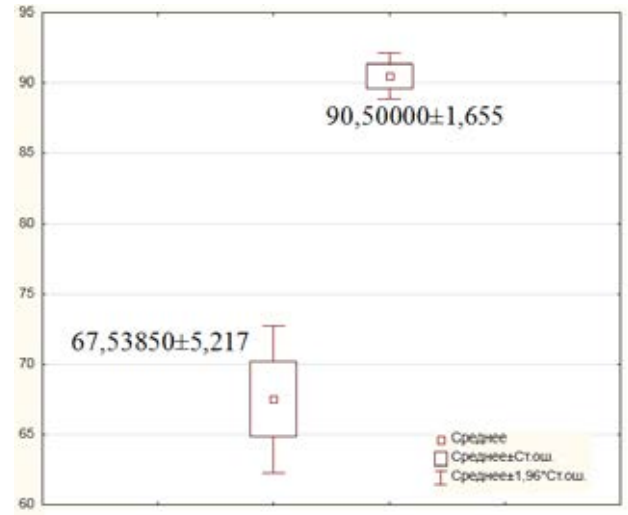


Рис.3.34. Диаграмма варибельности показателя «НСТ активированный» (%) в группах «РФ обострение» и «РФ ремиссия»

активированного НСТ (ЦХЧак) ($1,61 \pm 0,02$ против $1,45 \pm 0,03$ ед.); Моноциты (Мон.) ($5,69 \pm 0,36$ против $4,00 \pm 0,30$ ед.). Достоверно ниже в группе с ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения оказались значения таких показателей, как: В-клетки (В), измеренные в процентах ($9,62 \pm 0,52$ против $12,69 \pm 0,58$ %); Т-хелперы (Тх), измеренные в процентах ($30,69 \pm 1,13$ против $33,62 \pm 1,29$ %); НК клетки Т-зависимые (НКТ), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,152 \pm 0,013$ против $0,199 \pm 0,018$ 10^9 /л и $9,15 \pm 0,60$ против $12,00 \pm 0,68$ 10^9 /л); Фагоцитарный показатель (ФП) ($58,86 \pm 2,07$ против $62,94 \pm 1,09$ %); IgG ($15,01 \pm 0,45$ против $19,47 \pm 1,33$ г/л); IgA ($3,70 \pm 0,32$ против $6,29 \pm 0,59$ г/л).

По таким показателям, как Т-клетки (Т), измеренные в процентах; В-клетки (В) и Т-хелперы (Тх), измеренные в абсолютных единицах; Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) и IgM, достоверных различий не выявлено.

Следует отметить, что максимальные различия отмечены по таким показателям, как: НСТ активированный (НСТак) и спонтанный (НСТсп) (соответственно, значения t-критерия Стьюдента равны 14,74 и 11,93); Цитохимическое число спонтанного и активированного НСТ (соответственно, $t = 12,36$ и $t = 9,59$); В-клетки ($t = -7,70$); Иммунные глобулины А ($t = -7,52$) и Моноциты ($t = 7,13$).

Таблица 3.6

Результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных с вторично-прогрессирующей (ВПФ – x_1) и ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения (РФ обострение – x_2)

Показатель	Доверительный интервал		Отличие показателей	t	Выдвинутая гипотеза	Вероятность гипотезы, %
	ВПФ (x_1)	РФ обострение (x_2)				
Т-клетки (Т), %	55,3077±1,001	62,6250±1,9610	-7,3173	-6,5136	$x_1 < x_2$	99,99
Т-клетки (Т), 10^9 л	1,0828±0,0780	1,4300±0,1630	-0,3472	-3,7655	$x_1 < x_2$	99,94
В-клетки (В), %	9,6153±0,5240	9,8750±0,5370	-0,2597	-0,6784	$x_1 < x_2$	50,09
В-клетки (В), 10^9 л	0,1753±0,0160	0,1772±0,0200	-0,0019	-0,1472	$x_1 < x_2$	88,36
Т-хелперы (Тх), %	30,6923±1,126	33,5000±0,9390	-2,8077	-3,7529	$x_1 < x_2$	99,94
Т-хелперы (Тх), 10^9 л	0,5475±0,0360	0,6237±0,0460	-0,0762	-2,5568	$x_1 < x_2$	98,61
Т-цитотоксические (Тц), %	22,3077±0,886	22,1250±0,8520	0,1827	0,2913	$x_1 > x_2$	77,22
Т-цитотоксические (Тц), 10^9 л	0,4366±0,0360	0,4112±0,0480	0,0254	0,8284	$x_1 > x_2$	58,83
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), %	17,2308±1,000	15,1250±0,5360	2,1058	3,6374	$x_1 > x_2$	99,92
Лейкоциты с интегрином (ЛИН), 10^9 л	0,3490±0,0340	0,0890±0,0020	0,2600	14,8994	$x_1 > x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), %	9,1538±0,5960	11,3750±0,3140	-2,2212	-6,4628	$x_1 < x_2$	99,99
НК клетки Т-зависимые (НКТ), 10^9 л	0,1518±0,0130	0,2285±0,0090	-0,0767	-9,6418	$x_1 < x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), %	18,7692±0,938	21,7500±0,2850	-2,9808	-5,9586	$x_1 < x_2$	99,99
HLA-DR клетки (HLA), абс.	1,2271±0,3710	0,4625±0,0140	0,7646	4,0325	$x_1 > x_2$	99,97
Фагоцитарный показатель (ФП), %	58,8615±2,071	69,7500±0,8790	-10,8885	-9,4875	$x_1 < x_2$	99,99
Фагоцитарное число (ФЧ)	4,5007±0,2370	6,8362±0,1240	-2,3355	-17,1194	$x_1 < x_2$	99,99
НСТ спонтанный (НСТсп), %	77,0769±1,193	15,8750±0,6500	61,2019	88,2937	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп)	1,6176±0,0170	1,1775±0,0150	0,4401	38,4289	$x_1 > x_2$	99,99
НСТ активированный (НСТак), %	86,3077±1,037	18,8750±0,6340	67,4327	108,7798	$x_1 > x_2$	99,99
Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак)	1,6084±0,0200	1,1187±0,0120	0,4897	41,4213	$x_1 > x_2$	99,99
Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), УЕ	74,0769±6,897	132,6250±6,547	-58,5481	-12,0666	$x_1 < x_2$	99,99
Моноциты, абс.	5,6923±0,3560	7,0000±0,7190	-1,3077	-3,1962	$x_1 < x_2$	99,74
IgG, г/л	15,0138±0,445	12,3862±0,6130	2,6276	6,8024	$x_1 > x_2$	99,99
IgA, г/л	3,7000±0,3180	2,2100±0,4300	1,4900	5,4640	$x_1 > x_2$	99,99
IgM, г/л	2,1000±0,1000	1,5500±0,1740	0,5500	5,3751	$x_1 > x_2$	99,99

В таблице 3.6 представлены результаты сравнения значений иммунологических показателей у больных с вторично-прогрессирующей («ВПФ») и ремитирующей формой клинического течения РС в стадии обострения («РФ обострение»), из которой видно, что у больных с вторично-прогрессирующей формой клинического течения РС достоверно выше следующие показатели: Т-цитотоксические (Тц), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,437 \pm 0,036$ против $0,411 \pm 0,048 \cdot 10^9$ л и $22,31 \pm 0,89$ против $22,13 \pm 0,85$ %); Лейкоциты с интегрином (ЛИН), измеренные как в абсолютных единицах (рис. 3.35), так и в процентах (соответственно, $0,359 \pm 0,034$ против $0,089 \pm 0,002 \cdot 10^9$ л и $17,23 \pm 1,00$ против $15,13 \pm 0,54$ %); клетки-носители HLA-DR антигена (HLA), измеренные в абсолютных единицах ($1,227 \pm 0,371$ против $0,463 \pm 0,014$ абс.); НСТ спонтанный (НСТсп) ($77,08 \pm 1,19$ против $15,88 \pm 0,65$ %) (рис. 3.36); Цитохимическое число спонтанного НСТ (ЦХЧсп) ($1,618 \pm 0,017$ против $1,178 \pm 0,015$ ед.); НСТ активированный (НСТак) ($86,31 \pm 1,04$ против $18,88 \pm 0,63$ %) (рис. 3.37); Цитохимическое число активированного НСТ (ЦХЧак) ($1,608 \pm 0,020$ против $1,119 \pm 0,012$ ед.); IgG ($15,02 \pm 0,45$ против $12,39 \pm 0,61$ г/л); IgA ($3,70 \pm 0,32$ против $2,21 \pm 0,43$ г/л) и IgM ($2,10 \pm 0,10$ против $1,55 \pm 0,17$ г/л). Достоверно ниже в группе с вторично-прогрессирующей формой клинического течения РС оказались значения таких показателей, как: Т-клетки (Т), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $1,089 \pm 0,078$ против $1,430 \pm 0,163 \cdot 10^9$ л и $55,308 \pm 1,001$ против $62,625 \pm 1,961$ %); Т-хелперы (Тх), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,548 \pm 0,036$ против $0,624 \pm 0,046 \cdot 10^9$ л и $30,69 \pm 1,13$ против $33,50 \pm 0,94$ %); NK-клетки (NRт), измеренные как в абсолютных единицах, так и в процентах (соответственно, $0,152 \pm 0,013$ против $0,229 \pm 0,009 \cdot 10^9$ л и $9,15 \pm 0,60$ против $11,38 \pm 0,31$ %); HLA-DR клетки (HLA), измеренные в процентах ($18,77 \pm 0,94$ против $21,75 \pm 0,29$ %); Фагоцитарный показатель (ФП) ($58,86 \pm 2,07$ против $69,75 \pm 0,88$ %); Фагоцитарное число (ФЧ) ($4,50 \pm 0,24$ против $4,50 \pm 0,24$ ед.) (рис. 3.38); Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) ($74,08 \pm 6,90$ против $132,63 \pm 6,55$ УЕ); Моноциты ($5,69 \pm 0,36$ против $7,00 \pm 0,72$ ед.). Достоверных различий не выявлено только по одному показателю (В-клетки).

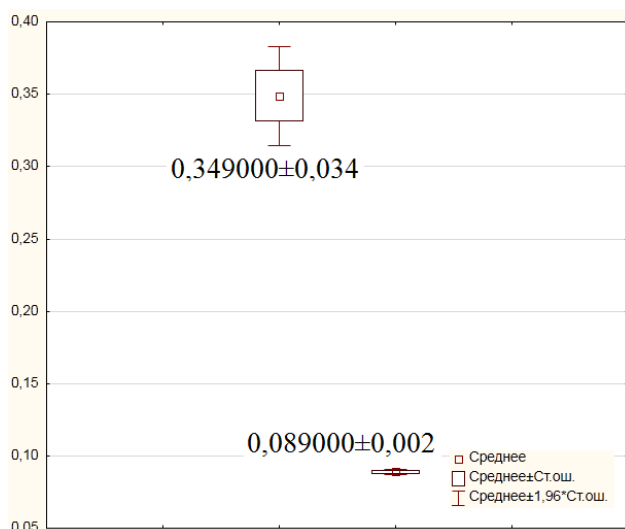


Рис.3.35. Диаграмма вариальности показателя «Лейкоциты с интегрином (ЛИН)» (10^9 л) в группах «ВПФ» и «РФ обострение»

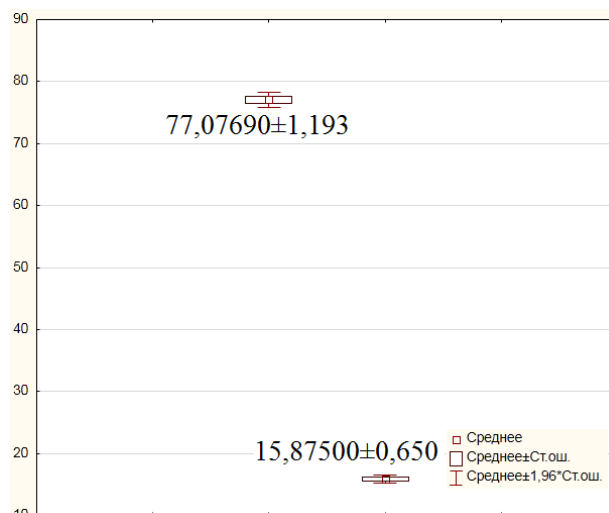


Рис. 3.36. Диаграмма вариальности показателя «НСТ спонтанный (НСТсп)» (%) в группах «ВПФ» и «РФ обострение»

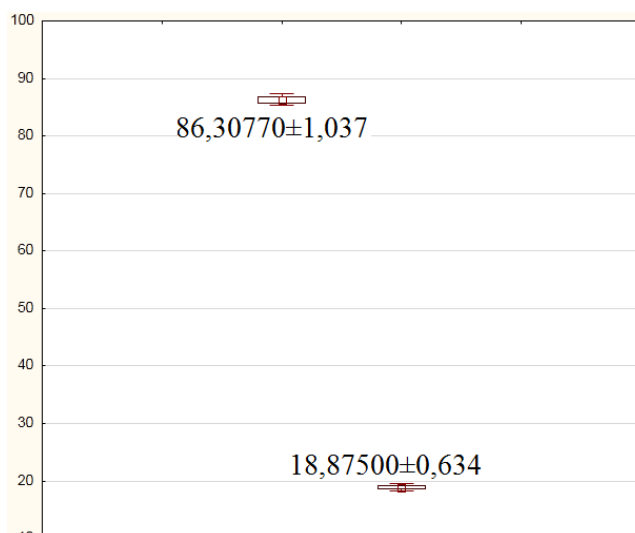


Рис. 3.37. Диаграмма вариальности показателя «НСТ активированный» (%) в группах «ВПФ» и «РФ обострение»

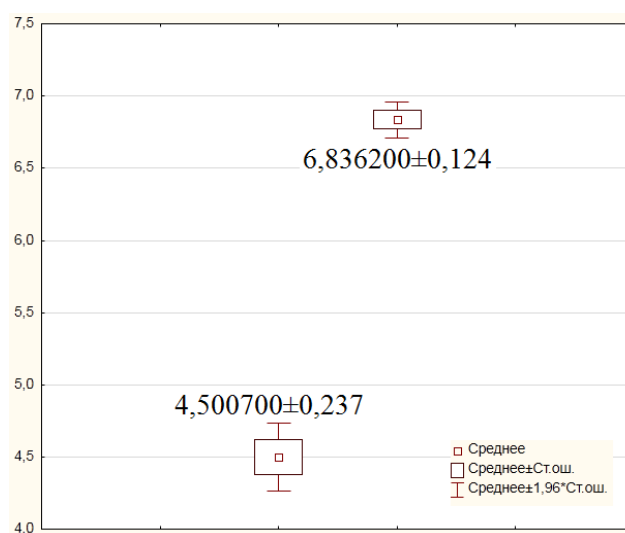


Рис.3.38. Диаграмма вариальности показателя «Фагоцитарное число (ФЧ)» (ед.) в группах «ВПФ» и «РФ обострение»

Следует отметить, что максимальные различия отмечены по таким показателям, как: НСТ активированный (НСТак) и спонтанный (НСТсп) (соответственно, значения t-критерия Стьюдента равны 108,78 и 88,29); Цитохимическое число активированного и спонтанного НСТ (соответственно, $t = 41,42$ и $t = 38,43$); Фагоцитарное число ($t = -17,12$); Лейкоциты с интегрином А ($t = 14,90$) и Циркулирующие иммунные комплексы ($t = -12,07$).

Выводы третьей главы

1. Для выявления особенностей результатов иммунологического исследования больных рассеянным склерозом с различными клиническими формами и стадией заболевания и выявления характерной динамики исследуемых показателей, проводилось сравнение их средних значений между выделенными группами пациентов на основе Т-критерия Стьюдента с последующей визуализацией в виде диаграмм размаха значений показателей.

2. В представленных выше таблицах и рисунках сгруппированы данные параметров иммунологического исследований крови в трех клинических группах больных рассеянным склерозом (больные с первично-прогрессирующей, вторично-прогрессирующей и ремитирующей формой клинического течения заболевания) в сравнении с донорами. При проведении сравнительного анализа, по большинству показателей отмечены достоверные различия, имеющие свои особенности для каждой клинической группы, что требует дальнейшего более детального анализа и обсуждения.

3. Исследование динамики параметров иммунологического исследования крови у больных рассеянным склерозом, выполненное за счет сопоставления между собой различных клинических групп, позволило выявить особенности протекания процесса и выделить показатели, которые могут иметь прогностическую ценность.

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ С И ИЛЛЮСТРАЦИЕЙ И ОБСУЖДЕНИЕМ

Рассеянный склероз является примером хронического аутоиммунного поражения центральной нервной системы преимущественно у молодых (20-40 лет) лиц. В основе патогенеза заболевания лежит сложный многокомпонентный патологический процесс, обусловленный в первую очередь иммуновоспалительными, а также метаболическими, инфекционными и иными механизмами.

Фундаментальными иммунопатологическими механизмами развития рассеянного склероза являются.

1. Состояние гематоэнцефалического барьера через функцию эндотелия, астроцитов, периваскулярной микроглии реализующего пассивную и активную иммунную защиту мозга.

2. Регуляция выраженности иммунопатологических реакций в ЦНС через механизмы антигенного представления и активности адгезии иммунокомпетентных клеток к эндотелию сосудов.

3. Поликлональная избыточная активация Т-лимфоцитов внешними антигенами, индуцирующими аутоагрессивные реакции.

4. Срыв механизмов толерантности и контроля за иммунными реакциями.

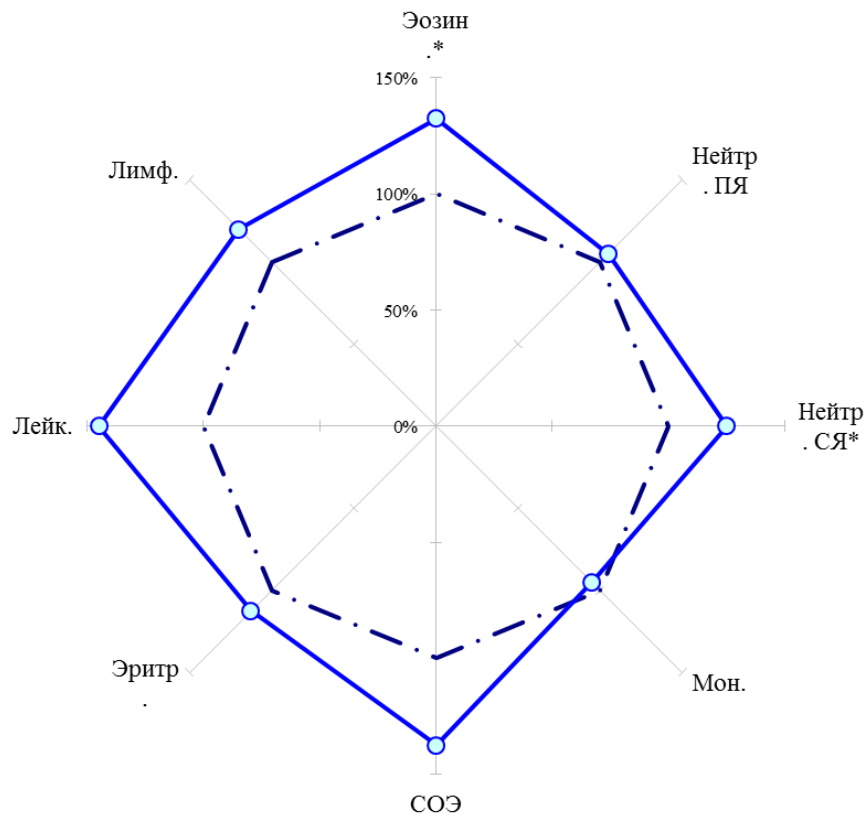
Определенное теоретическое значение для уточнения патогенеза рассеянного склероза имеют изучение типовых и ключевых вариаций и ассоциаций гемато-иммунологических показателей, а также интенсивности перекисного окисления липидов и белков, состояния системы ферментативной и неферментативной антиоксидантной системы у больных (АОС).

Практический аспект исследования заключался в определении спектра и конкретных значений дополнительных сигнальных лабораторных тестов, имеющих диагностико-прогностическое значение для верификации клинических форм и стадии рассеянного склероза.

Методически у пациентов четырех групп, страдающих первично- или вторично-прогрессирующей (ППФ, ВПФ) и ремитирующими формами рассеянного склероза в стадии обострения или ремиссии (РФсо, РФср) изучали 8 рутинных гематологических, 28 иммунологических показателей, см. главу «Материалы и методы».

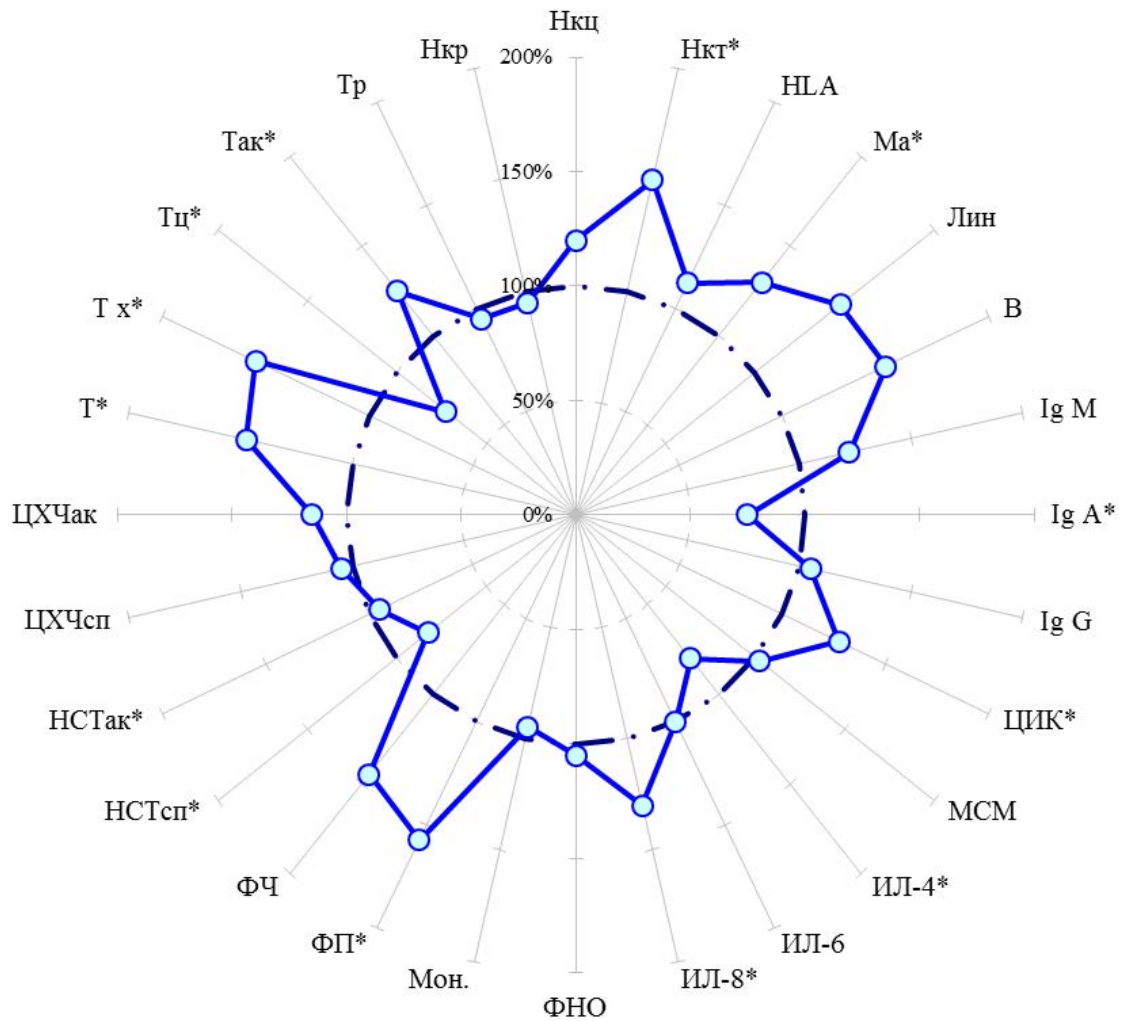
4.1. Влияние клинических форм рассеянного склероза на особенности гемато-иммунологических расстройств у больных

Итоги обследования больных, страдающих первично- и вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза обобщены на рисунках 4.1-4.8.



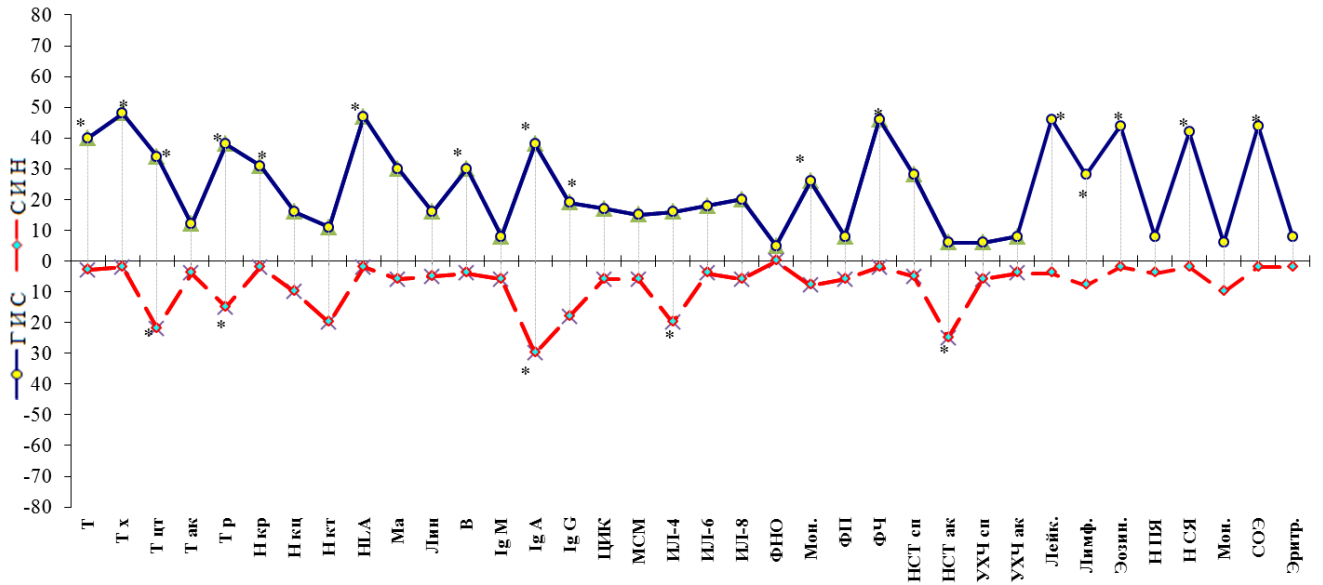
Обозначения: Л-лейкоциты, Лф – лимфоциты, Эф – эозинофилы, Пя, Ся – палочко-сегменто ядерные лейкоциты, М – моноциты, СОЭ – скорость осадения эритроцитов, Эр – эритроциты, окружность – нормализованные показатели здоровых лиц, * - различия достоверны при $p < 0,05$.

Рис 4.1. Графическая визуализация вариаций гематологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза



Обозначения: 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; НЛА – Клетки-носители HLA-DR антигена, Ма – 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.

Рис 4.2. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза



Обозначения: см. выше.

Рис 4.3. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза по частотному анализу

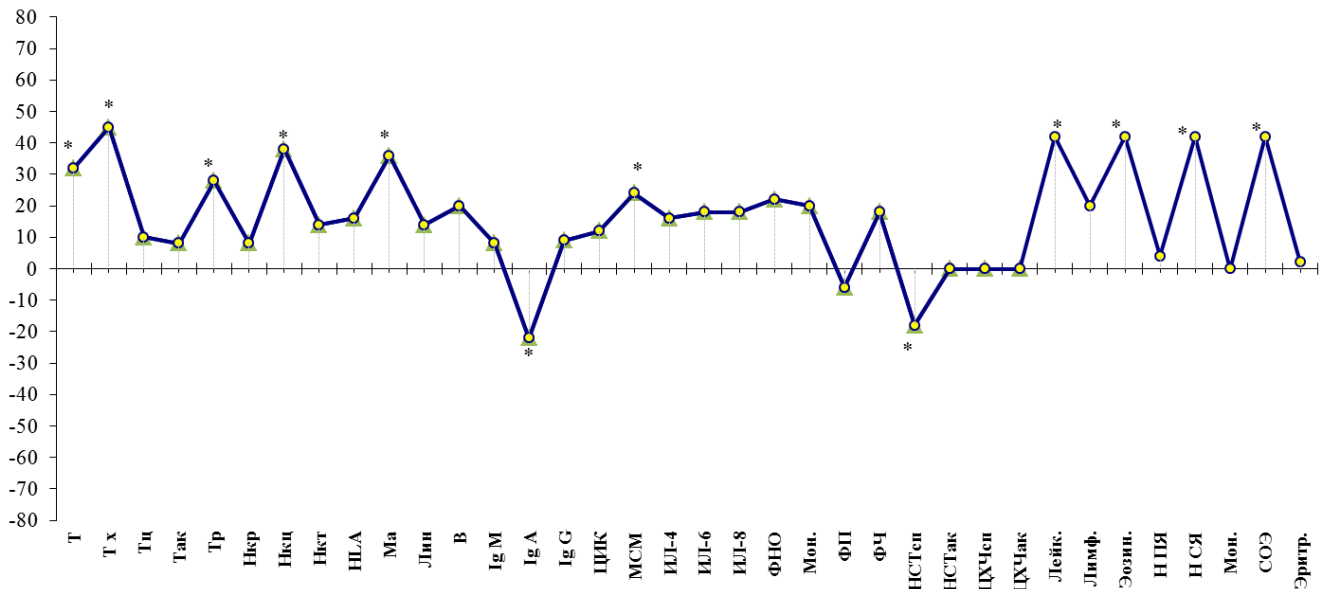


Рис 4.4. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с первично-прогрессирующей формой рассеянного склероза по результирующему частотному анализу

Первично-прогрессирующая форма рассеянного склероза. Как следует из данных рис 4.1, у пациентов с ППФ 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. 4.2). Конкретно у пациентов регистрируется увеличение уровня Т-лимфоцитов, тимусзависимых натуральных киллеров, клеток носителей маркера апоптоза, активация поглотительной и резервной метаболической способности фагоцитов в сочетании с дисбалансом регуляторных Т-зависимых субпопуляций (Т-хелперов и Т-цитотоксических клонов); иммунных глобулинов класса А и циркулирующих иммунных комплексов – индукторов аутоагрессии; противо- и провоспалительного цитокинов (ИЛ 4, ИЛ 8); поглотительной активности и резервной кислородпродуцирующей способности нейтрофилов.

В целом при первично-прогрессирующей форме рассеянного склероза относительно нормативного уровня здоровых лиц регистрируется основная тенденция стимуляции показателей иммунного статуса в 33% против 11% сниженных, при $p < 0,05$. В ранговой оценке указанные изменения являются достоверно и по выраженности – средними.

Использование частотного анализа (рис. 4.3), в принципе подтвердило приведенные данные. Так, у больных рассеянным склерозом так же выявило значимое преобладание частоты формирования активации иммунной системы в 44% - над ее подавлением – в 14%. При этом, у больных отмечалась увеличение уровня - Т-клеток, Т-хелперов, Т-регуляторов, носителей маркера HLADR, маркеров апоптоза (Ma), образования иммунных глобулинов класса М, активных циркулирующих иммунных комплексов, фагоцитарного числа на фоне разнонаправленной вариации числа Т-цитотоксических клеток, тимусзависимых натуральных киллеров (НКт-лимфоцитов); гипои иммуноглобулинемии по классу

А, подавлении оперативного кислородного метаболизма фагоцитов (НСТсп) периферической крови.

Обобщающий результирующий частотный анализ 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 математические значимыми, а качественно – преобладающе стимулирующими - 28% против 6% супрессирующих, $P < 0,05$.

Дополнительную информацию дает определение достоверной динамики обобщенных слагаемых гематологических, а так же показателей клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета, табл. 4.1.

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 (Кj) позволило определить ключевые лабораторные показатели нарушений – формулы расстройств иммунной системы.

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 4.2).

Таблица 4.1

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
РФ со	+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
РФ ср	+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. – 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.

Таблица 4.2

Ключевые показатели иммуно-гематологических показателей у больных рассеянным склерозом

Клинические варианты рассеянного склероза	Формулы гематологических расстройств (ФГР)	Формулы расстройств иммунной системы (ФРИС)
ППФ	$СЯ^+_2 Эф^+_3 Л^+_3$	$Тх^+_3 Т^+_3 Ма^+_2$
ВПФ	$СЯ^+_2 Лф^+_2 Л^+_1$	$IgM^+_3 ФП^+_2 Тх^+_3$
РФ со	$СЯ^+_2 М^-_2 Лф^+_2$	$НКр^+_3 НКт^+_3 ЦИК^+_3$
РФ ср	$СЯ^+_2 М^-_2 Л^+_1$	$ЦИК^+_3 IgA^+_2 Т^+_2$

Обозначения: см. выше

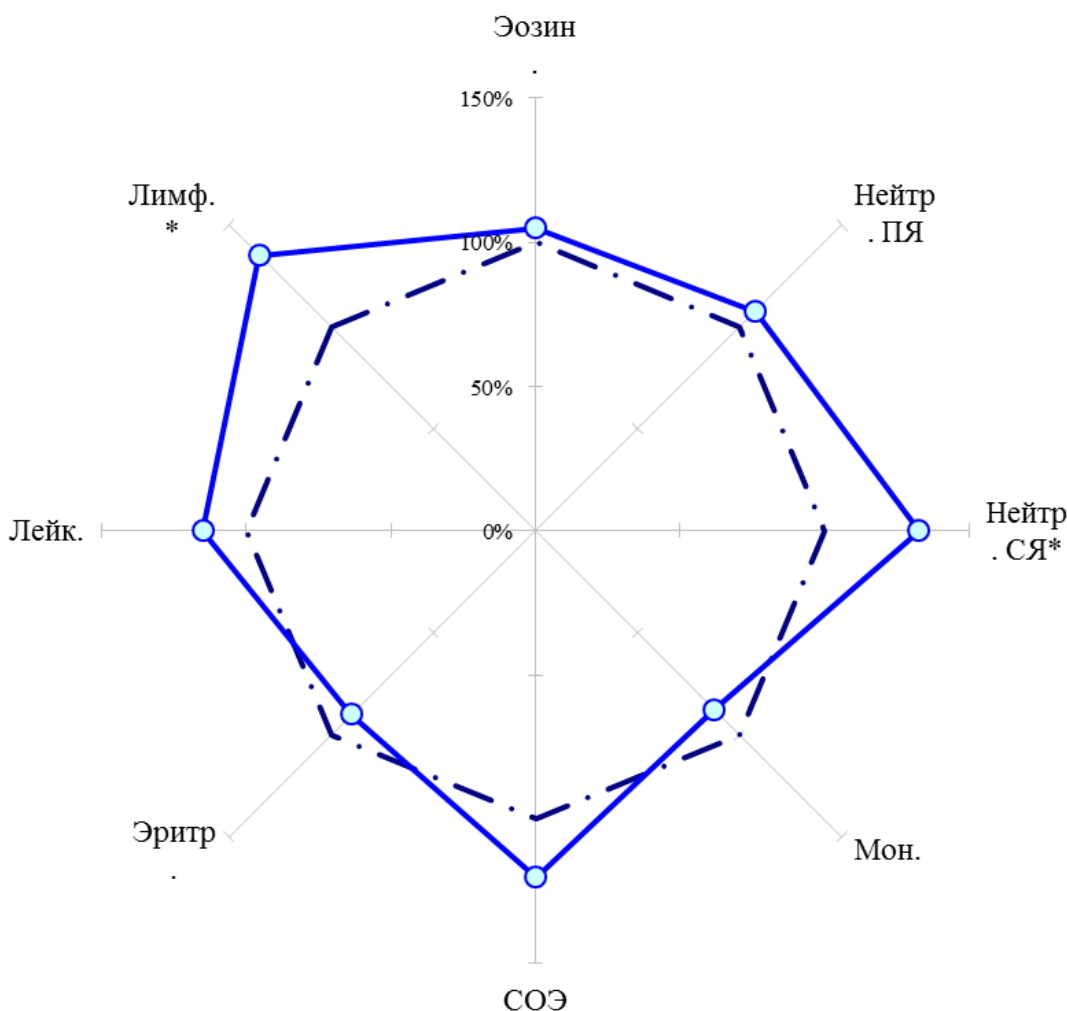
Инверсионный, обратный, анализ слагаемых ФРИС согласно установленной степени изменений сигнальных тестов позволяет определить количественные критически значимые лабораторные критерии, позволяющие уточнить диагноз заболевания по данным иммуно-лабораторного обследования пациентов.

Так, для **первично-прогрессирующей формы рассеянного склероза** значимым было содержание для $T_H > 1,8 * 10^9 / л$; 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.

Поскольку образование достоверных, сильных корреляционных связей лабораторных показателей (внутрисистемных – иммунологических с иммунологическими и межсистемных – иммунологических с гематологическими) их количество является косвенным маркером сбалансированности функции иммунной системы. Для этого определялось не общее число корреляций лабораторных параметров больных, а активность ключевых слагаемых формул расстройств иммунной системы. Так, показано, что **Т-хелперы** образовали сильные положительные связи с лейкоцитами, Т-активными и отрицательные – с Т-цитотоксическими лимфоцитами; **общие Т-клетки** были положительно зависимы от уровня недифференцированных лимфоцитов, циркулирующих иммунных комплексов, провоспалительного интерлейкина 8; в тоже время количество **носителей маркера апоптоза** согласованно менялось с содержанием Т клеток помощников, фагоцитарным показателем, активированным НСТ-тестом (отрицательно). В сумме, таким образом, ключевые тесты сформировали 9 сильных коррелятивных связей. Их качественный анализ свидетельствует преобладание образования внутрисистемных корреляций над межсистемными, и положительных - над отрицательными.

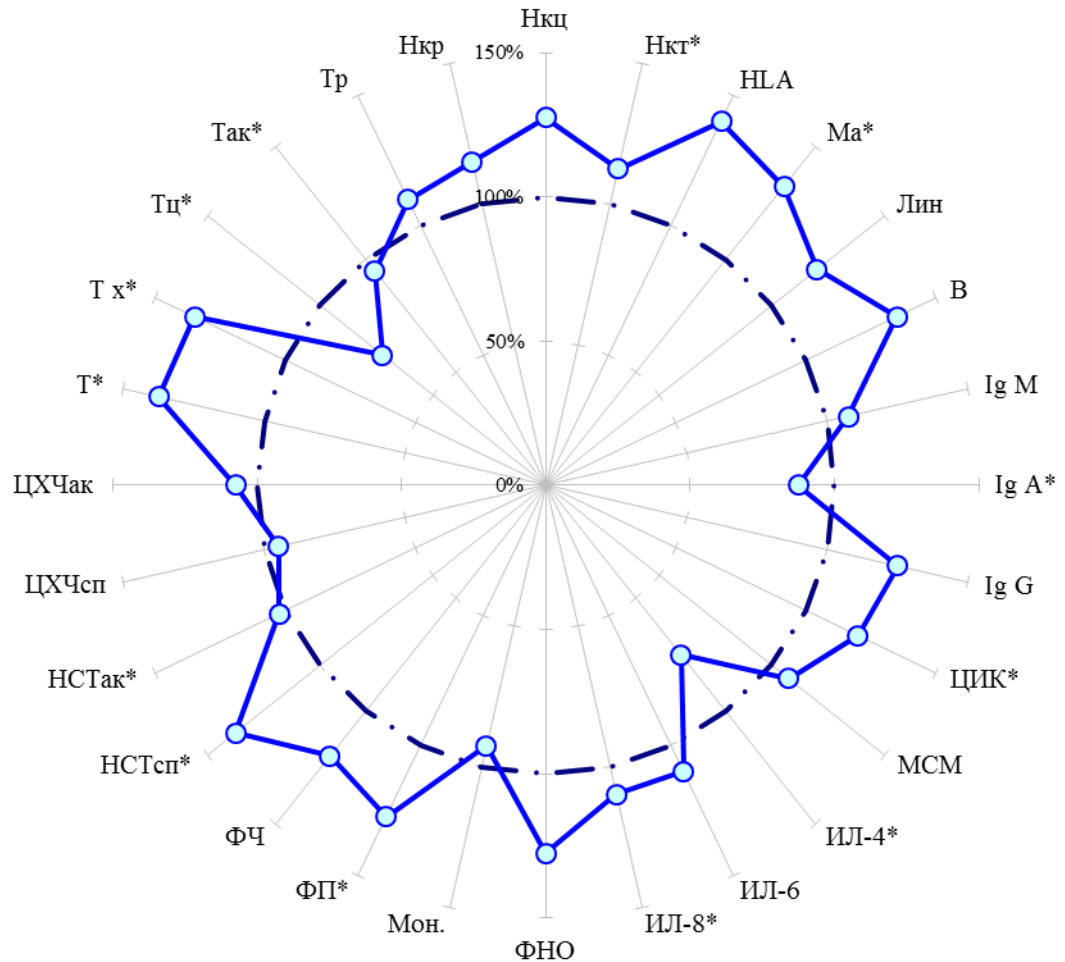
Данные обследования лиц с **вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза** представлены на рисунках 4.5-4.8.

Согласно данным рис. 4.5, при вторично прогрессирующей форме рассеянного склероза у больных формируется увеличение лишь 2 гематологических параметров из 8 изученных – недифференцированных лимфоцитов и зрелых гранулоцитов – сегментоядерных клеток.



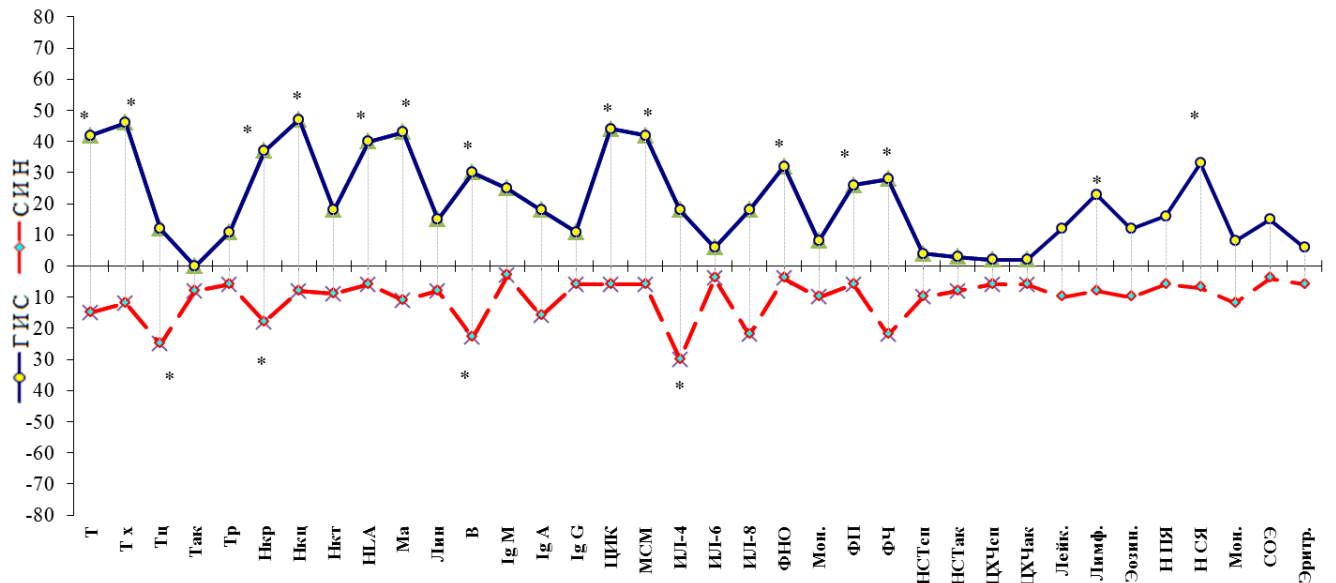
Обозначения: Л-лейкоциты, Лф – лимфоциты, Эф – эозинофилы, Пя, Ся – палочко-сегментоядерные лейкоциты, М – моноциты, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, Эр – эритроциты, окружность – нормализованные показатели здоровых лиц, * - имеются достоверные отличия при $p < 0,05$.

Рис 4.5. Графическая визуализация вариаций гематологических показателей от нормативного уровня у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза



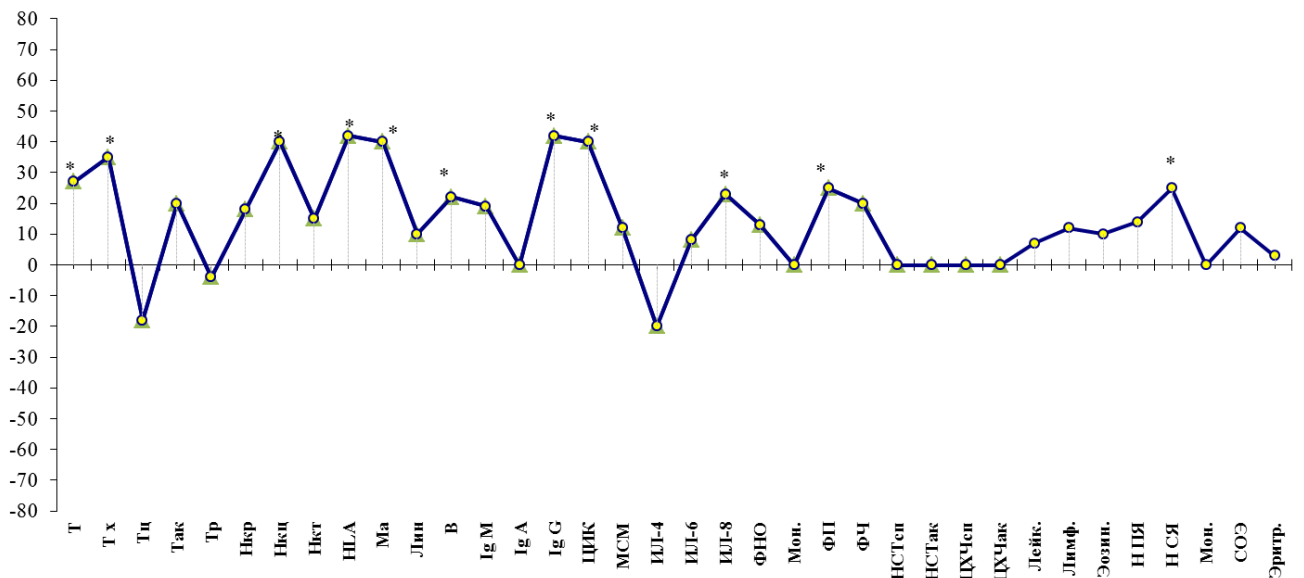
Обозначения: Т-клетки; Тх –Т-хелперы–; Тц– Т-цитотоксические; Так– Т-активные; НКр – натуральные киллеры регуляторы; НКц – натуральные киллеры цитотоксические; НКт – натуральные киллеры тимусзависимые;Тр – Т-регуляторы; НЛА – Клетки-носители HLA-DR антигена, Ма – маркер апоптоза; ЛИН – лейкоциты с интегриновыми 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.

Рис 4.6. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза



Обозначения: см. выше.

Рис. 4.7. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза по частотному анализу



Обозначения, см. выше.

Рис. 4.8. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза по результирующему частотному анализу

Эти изменения сочетались с достоверной динамикой от нормативных значений 13 иммунологических показателей, из 28 изученных (рис. 4.6). Из которых 42% оказались стимулированными, 17% - супрессированными, при $P < 0,05$. В числе активированных тестов оказались – Т-клетки, Т-хелперы, цитотоксические натуральные киллеры, носители маркеров HLADR, CD11B, В-лимфоциты, иммунные глобулины класса G, циркулирующие иммунные комплексы, фактор некроза опухолей альфа, фагоцитарный показатель, спонтанный НСТ тест, что сочеталось с дефицитом Т-цитотоксических супрессоров, противовоспалительного интерлейкина 4. Трактовка этих данных свидетельствует о потенцировании клеточно-гуморальных иммунных реакций на фоне ослабления Т-супрессорных механизмов, дисбаланса про- и противовоспалительных интерлейкинов, активации поглотительной и кислородпродуцирующей способности фагоцитов у больных с данным клиническим вариантом рассеянного склероза.

Частотный анализ в принципе подтверждает эту закономерность (рис. 4.7). И действительно, у пациентов с вторично-прогрессирующей формой рассеянного склероза отмечено накопление Т-, Тх, Так-, HLADR - клеток, двух субпопуляций натуральных киллеров, В-лимфоцитов, иммунных глобулинов классов М и G, циркулирующих иммунных комплексов, увеличение поглотительной способности лейкоцитов по фагоцитарному показателю и числу. В тоже время у других пациентов из этой группы наблюдалось снижение уровня Т-цитотоксических супрессоров, В-лимфоцитов, интерлейкина 4 и фагоцитарного числа.

В итоге по результирующему частотному анализу, см. данные рис 8, 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).

Более подробные данные дает учет распределения изменений по сгруппированным параметрам отдельных звеньев иммунитета (табл. 4.1). В целом

достоверные количественные вариации в ранговой оценке показаны при анализе клеточных, гуморальных, но не гематологических и фагоцитарных параметров. В качественном плане во всех случаях пролеживается единая закономерность преобладания стимуляции показателей над их супрессией. Так, по гуморальным, клеточным, гуморальным, фагоцитарным тестам соответствующие данные составили: 25 и 0%; 45 и 9%; 40 и 10%; 29 и 0%, при $P < 0,05$.

Определение сигнальных параметров гематологических расстройств при ВПФ отобрали: $СЯ^+_2Лф^+_2 Л^+_1$ – средней выраженности увеличение сегментоядерных лейкоцитов, недифференцированных лимфоцитов и минимальное накопление лейкоцитов. Обращается внимание на весьма условно отличие ФГР при ВПФ от ее аналога при ППФ - $СЯ^+_2Эф^+_2Л^+_2$

Сигнальными иммунологическими тестами при вторично-прогрессирующей форме рассеянного склероза оказались – $IgM^+_3 ФП^+_2Тх^+_3$ - гипериммуноглобулинемия третьей степени по М классу белков, активация поглотительной функции нейтрофилов средней выраженности и максимальное избыточное производство Т-хелперов.

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

Итоги определения количества и качества сильных корреляционных связей диагностических составляющих ФРИС при ВПФ показали, что **иммунные глобулины класса М** оказались положительно связанными с $Ig G, В$ –клетками, циркулирующими иммунными комплексами и отрицательно – с противовоспалительным цитокином интерлейкином 4; **Т-хелперы** – согласованно позитивно ассоциировались с числом общих лимфоцитов, Т-клеток, цитотоксических натуральных киллеров, носителей антигена HLADR, негативно – с Т цитотоксическими супрессорами; **фагоцитарный показатель** коррелировал с активированным тестом с нитросиним тетразолием.

В сумме у больных с вторично прогрессирующей формой рассеянного склероза сформировано 10 сильных связей. Обращает на себя внимание минимальное число межсистемных корреляционных связей, в основном с положительным знаком. При этом клеточные параметры ассоциировались с клеточными, гуморальные - с гуморальными, фагоцитарные - с фагоцитарными тестами.

Сравнение выраженности изменений лабораторных показателей с первично- и вторично прогрессирующей формой рассеянного склероза.

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 ВПФ.

Более детализированная оценка вариаций отдельных звеньев иммунитета в целом продемонстрировала примерно одинаковую динамику - существенную по клеточном и гуморальному и невыраженную – по фагоцитарному.

Выявление сигнальных тестов ключевых формул гематологических расстройств – $СЯ^+_2 Эф^+_3 Л^+_3$, $СЯ^+_2 Лф^+_2 Л^+_1$ показало их низкую информационную значимость, отражая накопление зрелых гранулоцитов, общих лейкоцитов и отдельно – эозинофилию или лимфопению.

В тоже время анализ состава ФРИС ($Тх^+_3 Т^+_3 Ма^+_2, IgM^+_3 ФП^+_2 Тх^+_3$) раскрывает различную идентификацию диагностически ценных вариаций иммунологических параметров при различных клинических формах рассеянного склероза. Так, в состав формулы при ППФ попали три клеточных показателя, что однозначно свидетельствует патогенез (Т-зависимый) заболевания, поскольку при ВПФ в формуле определялось – по одному тесту гуморального, фагоцитарного и

клеточного звеньев иммунитета т.е. у больных сформировался смешанный тип лабораторных расстройств.

Таким образом, практическим аспектом определения ФРИС у пациентов является уточнение цифровых значений отобранных ключевых тестов, что может быть использовано в качестве дополнительного метода лабораторной диагностики отдельных форм рассеянного склероза.

Определение способности сигнальных тестов ФРИС образовывать сильные корреляционные связи с другими слагаемыми иммуно-лабораторного статуса качественно и количественно дополняют характеристику реактивности пациентов, точнее ее выраженности.

В целом сравнительная количественная ранговая оценка всех вариантов анализа лабораторных данных продемонстрировало достоверно большую выраженность отличий от нормативных данных при первично-прогрессирующей форме рассеянного склероза относительно ВПФ.

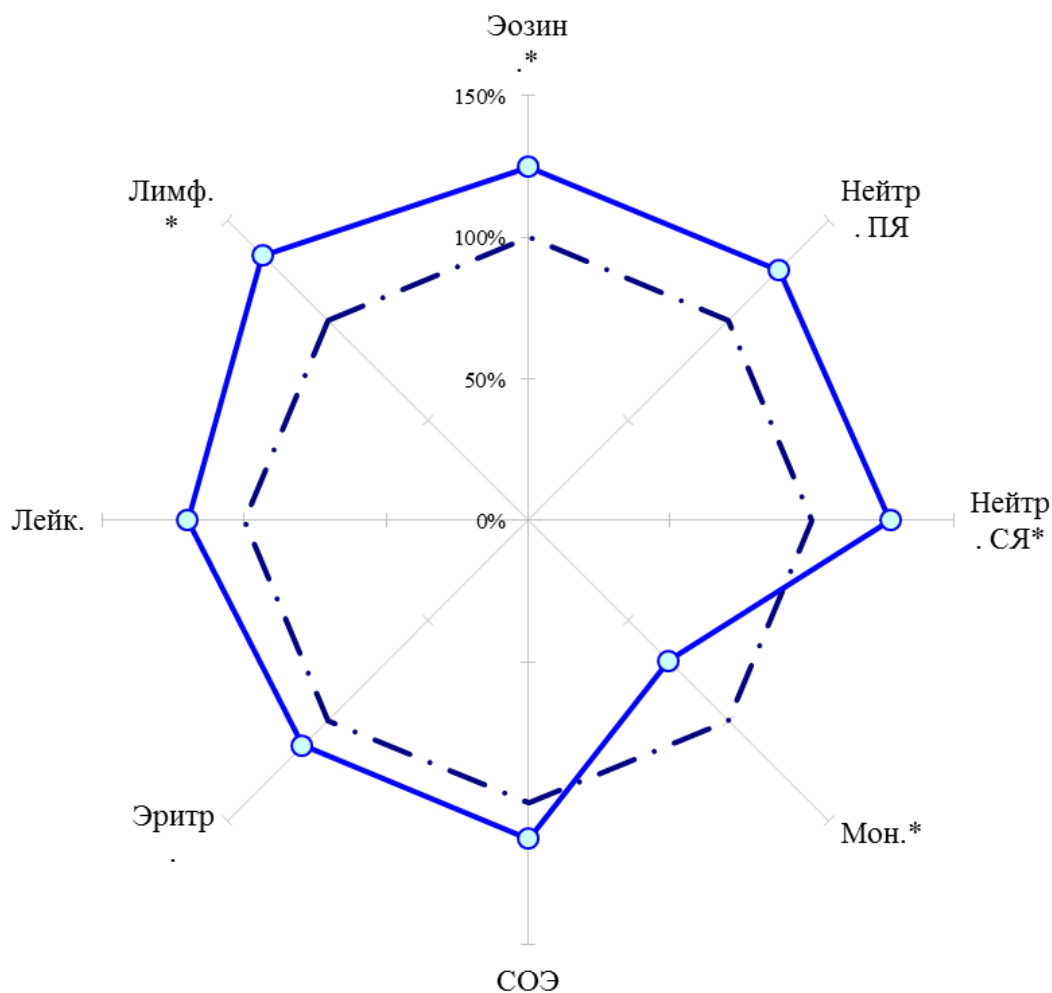
4.2. Влияние стадии рассеянного склероза на особенности гемато-иммунологических расстройств у больных

В настоящем подразделе приводятся данные изучения количественно-качественных особенностей иммуно-патологических расстройств у больных, страдающих ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения и ремиссии (соответственно, рисунки 4.9-4.12 и 4.13-4.16).

Согласно данным рис. 4.9 у пациентов с **ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения** доказано накопление гематологических маркеров воспаления – недифференцированных лимфоцитов, свидетелей алергизации - эозинофилов, зрелых гранулоцитов – сегментоядерных лейкоцитов в сочетании со снижением уровня моноцитов.

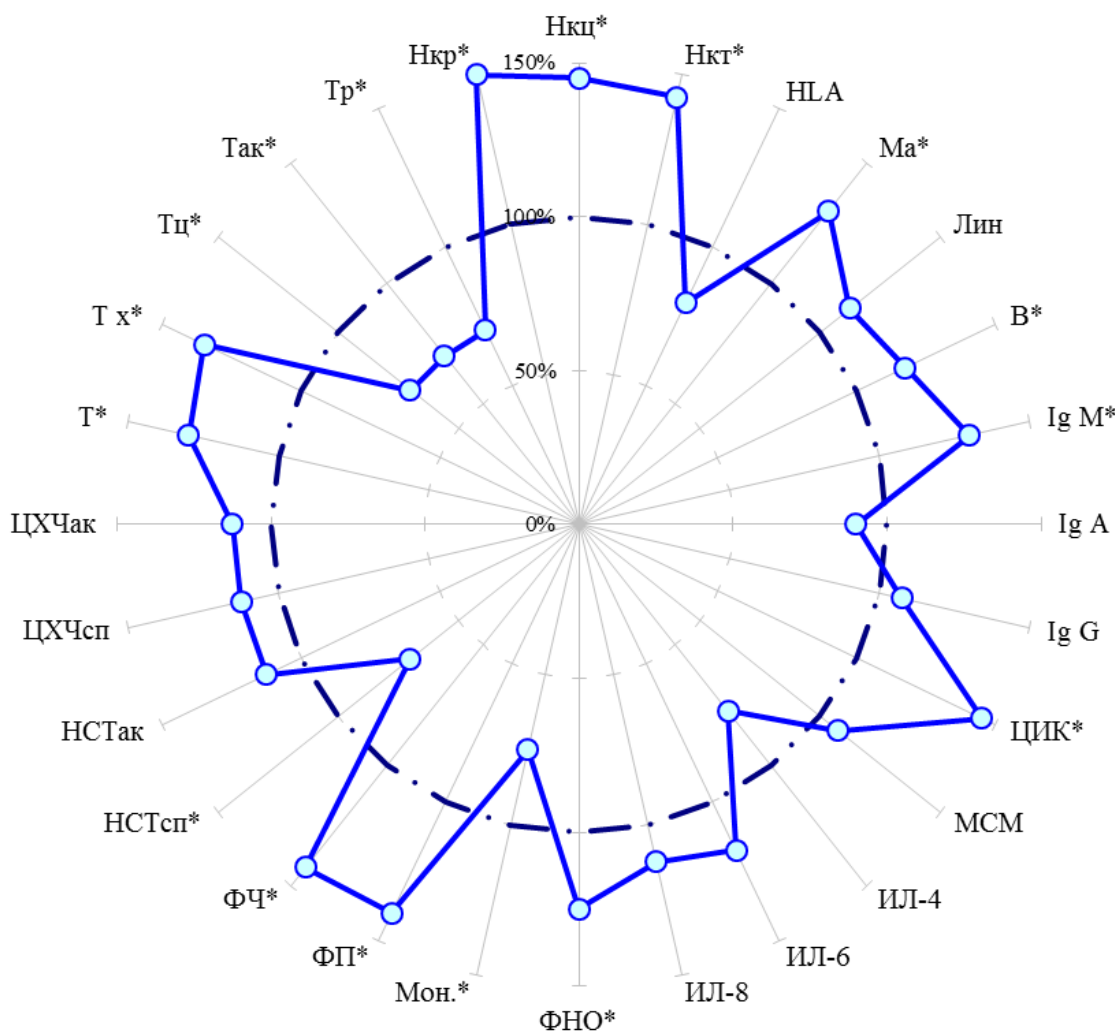
В тоже время у пациентов с этим вариантом рассеянного склероза были выявлены достоверные количественные отличия от нормативных данных здоровых людей 17 иммунологических показателей из 28 изученных (рис. 4.10),

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 $P < 0,05$.



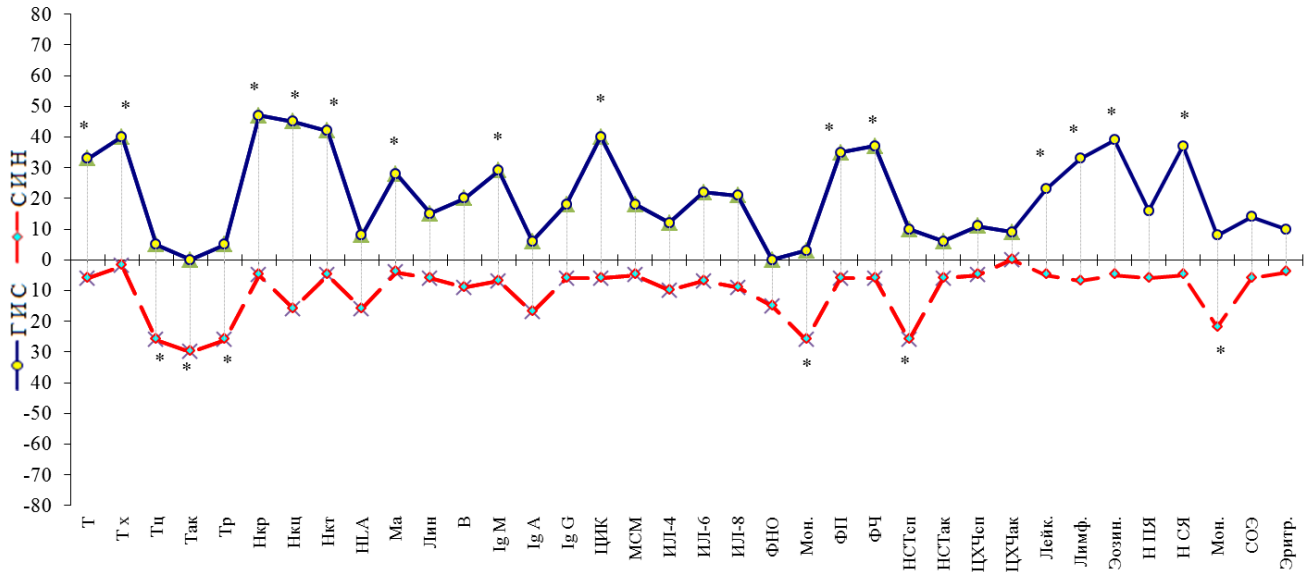
Обозначения: Л-лейкоциты, Лф – лимфоциты, Эф – эозинофилы, Пя, Ся – палочко-сегменто ядерные лейкоциты, М – моноциты, СОЭ – скорость осаднения эритроцитов, Эр – эритроциты, окружность – нормализованные показатели здоровых лиц, * - имеются достоверные отличия при $P < 0,05$.

Рис. 4.9. Графическая визуализация вариаций гематологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения



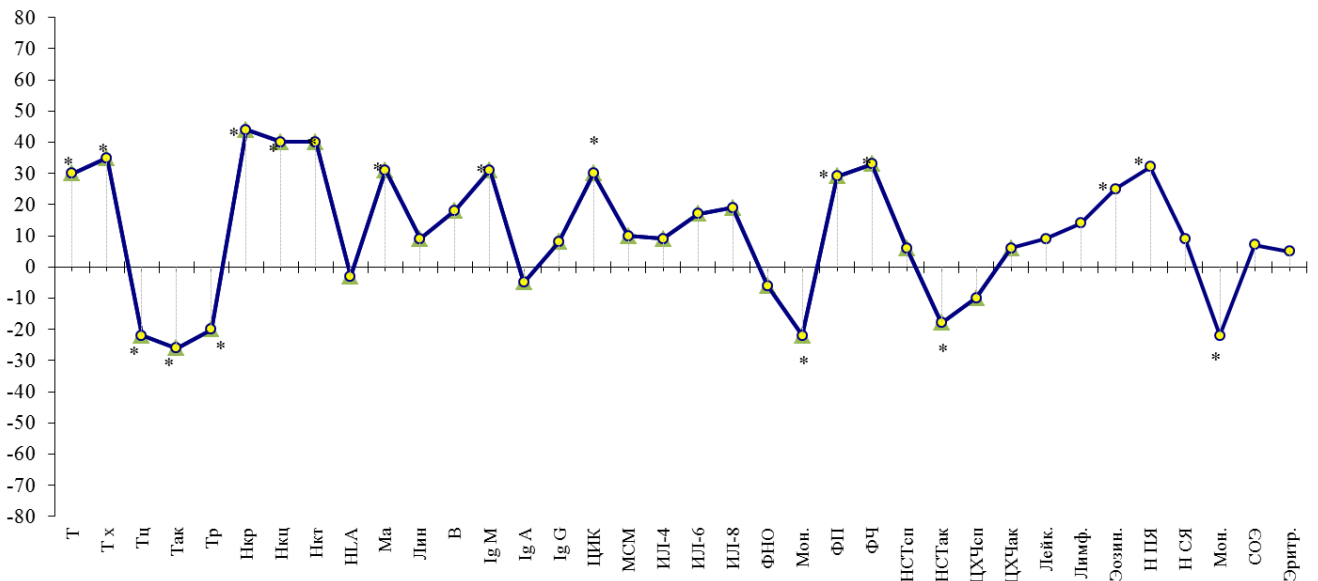
Обозначения: Т-клетки; Тх –Т-хелперы–; Тц– Т-цитотоксические; Так– Т-активные; НКр – натуральные киллеры регуляторы; НКц – натуральные киллеры цитотоксические; НКт – натуральные киллеры тимусзависимые;Тр – Т-регуляторы; НЛА – Клетки-носители HLA-DR антигена, Ма – маркер апоптоза; ЛИН – лейкоциты с интегриновыми 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.

Рис. 4.10. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения



Обозначения: см. выше.

Рис. 4.11. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения по частотному анализу



Обозначения: см. выше.

Рис. 4.12. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии обострения по результирующему частотному анализу

Вариации средних арифметических значений клеточных показателей от нормативных данных оказались разнонаправленными. Стимулирующее действие было документировано по Т-клеткам, их регуляторной субпопуляции с хелперными свойствами, тремя видам натуральных киллеров – регуляторных, цитотоксических, тимусзависимых, носителям кластера дифференцировки CD 95⁺ - маркера апоптоза, супрессирующее - по Т-цитотоксичным, Т- активным, Т-регулирующим лимфоцитам. В-звено оказалось активированным по содержанию В-клеток, иммунных глобулинов первичного ответа класса М, аутоагрессивным циркулирующим иммунным комплексам, провоспалительному фактору - некроза опухолей альфа. Фагоцитарные реакции находились в состоянии дисбаланса, поскольку число моноцитов было сниженным, а поглотительная и метаболическая способность нейтрофилов - увеличенной (фагоцитарный показатель и число, спонтанный тест с нитросиним тетразолием) (рис. 4.10).

Частотный анализ, уточняющий частоту формирования патологии отдельных показателей заданного уровня, в популяции больных, в общем, подтвердил установленную выше закономерность (рис. 4.11). Все изученные показатели разделились на две неравные группы с стимулирующим и супрессирующим вектором, соответственно по Т клеткам, Т хелперам, регулирующим, цитотоксическим, тимусзависимым натуральным киллерам, Ма-лимфоцитам, Ig М, ЦИК, ФП, ФЧ и по – цитотоксическим, Т - активным, Т регулирующим клеткам, моноцитам, спонтанному НСТ тесту. При этом процент распределения изменений параметров от нормативного уровня - 39 и 17% оказался математически значимым, а итоговая вариация суммы показателей от нормы нет, имея 3 несущественный ранг.

Частотный результирующий анализ (рис. 4.12), 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 этом пять тестов оказались сниженными – Т-цитотоксические лимфоциты супрессоры, Т-активные клетки, Т-регуляторы, моноциты, спонтанный метаболический тест с

нитросиним тетразолием. Итоговое отклонение показателей от нормативного уровня было значимым, а распределение на повышенные и пониженные - недостоверным, 30 и 17%, $P > 0,05$.

Детализация нарушений отдельных звеньев иммунитета показала, что применительно к гематологическим тестам в 50% отмечалась стимуляция, в 0% - супрессия. Однако в сумме итоговая динамика параметров оказалась недостоверной – 25% - 3 ранг. Реакция клеточных и гуморальных звеньев иммунитета оказалась качественно однотипной, но количественно различной – преимущественная стимуляция, соответственно 55 и 27%, 40 и 0%, со значимыми итоговыми изменениями сгруппированных показателей, измеренных значительным и средним рангами.

Вариации слагаемых фагоцитарного звена оказались иными: общий вектор повышения и снижения параметров оказался паритетным -29 и 29%, а общая, суммарная динамика их изменений – достоверной.

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.

При оценке напряжения в иммунной системе по числу корреляционных связей показано, что **НК регуляторы** оказались положительно связанными с лейкоцитами, недифференцированными лимфоцитами, отрицательно – с Т-регуляторами; **тимусзависимые натуральные киллеры** – с фагоцитарным показателем и носителями маркера апоптоза; **циркулирующие иммунные комплексы** в свою очередь были позитивны зависимы от уровня Т активных

лимфоцитов, иммунных глобулинов класса М и негативно – от выраженности активированного НСТ теста. В результате ключевые слагаемые ФРИС больных с ремитирующим течением рассеянного склероза образовали 8 достоверных ассоциаций.

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.

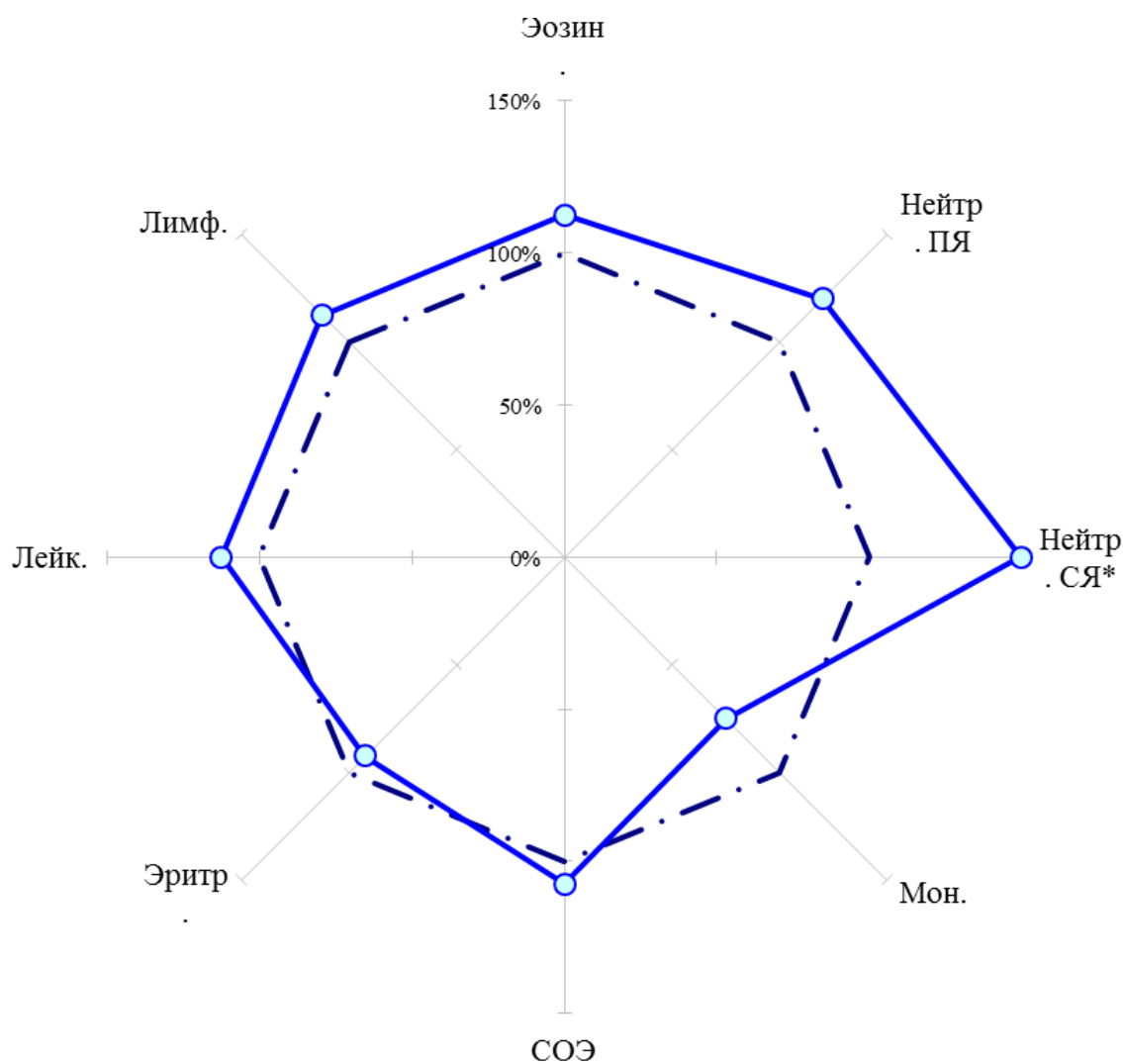
У больных рассеянным склерозом в стадии ремиссии обнаружены другие результаты.

Из данных рис. 4.13 следует, что от нормативного уровня у пациентов с рассеянным склерозом в стадии ремиссии отмечается достоверное увеличение уровня сегментоядерных лейкоцитов и снижение – моноцитов т.е. двух показателей из 8 изученных.

Согласно данным рис. 4.14, вариации иммунологических тестов от нормативного уровня, так же оказались более чем скромными. И, действительно, отличия суммы параметров от заданного уровня оказались недостоверными (3 ранг), а распределение динамики в сторону стимуляции и супрессии (22-8%) также незначимыми. Качественно от нормативных данных у больных установлено увеличение содержания – Т-клеток, цитотоксических натуральных киллеров, носителей антигена HLADR, В-лимфоцитов, иммунных глобулинов класса А, циркулирующих иммунных комплексов, величины спонтанного НСТ теста, что сочеталось с гипоиммуноглобулинемией G и торможением образования противовоспалительного цитокина - интерлейкина 4.

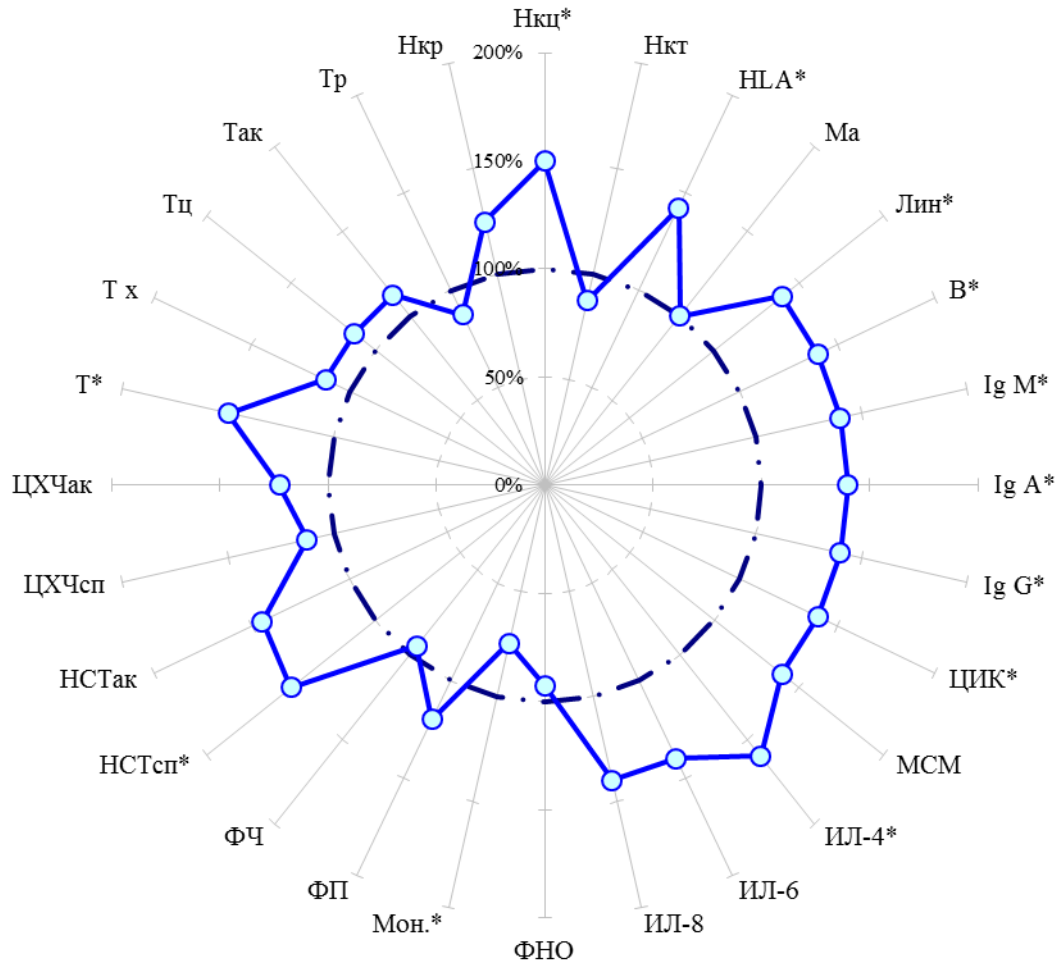
Итоги частотного анализа также оказались несущественными (рис. 4.15).

В тоже время результирующий частотный анализ (рис. 4.16), определяющий основную тенденцию изменений иммунологических параметров, продемонстрировал у больных, страдающих рассеянным склерозом в стадии обострения значимую динамику от нормативного уровня здоровых лиц.



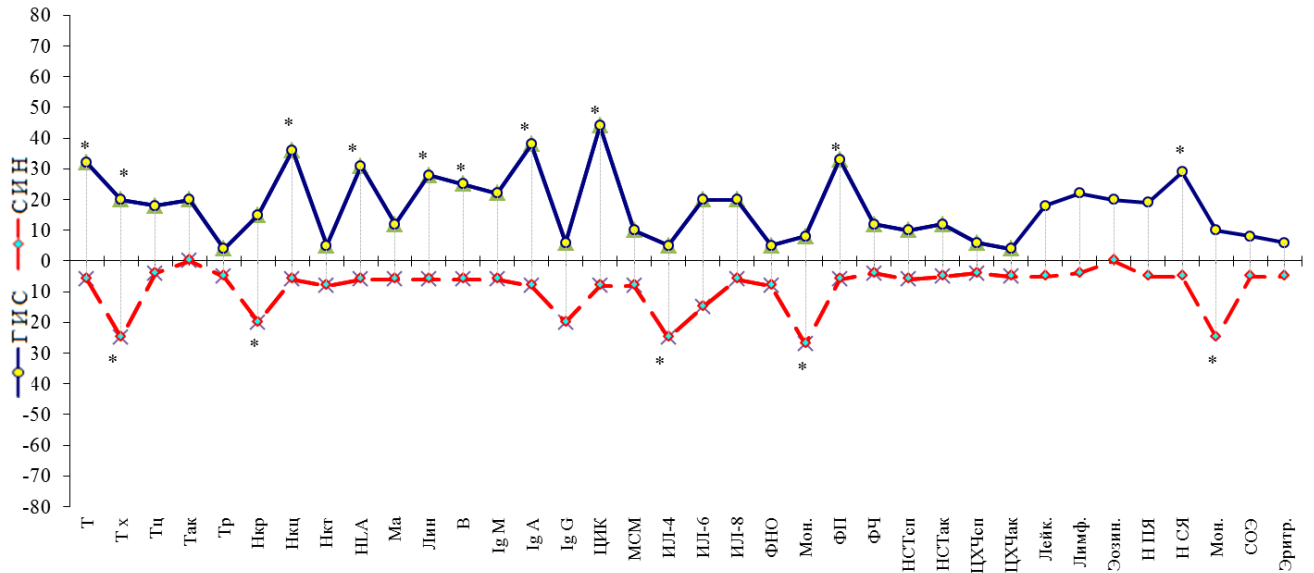
Обозначения: Л-лейкоциты, Лф – лимфоциты, Эф – эозинофилы, Пя, Ся – палочко-сегменто ядерные лейкоциты, М – моноциты, СОЭ – скорость осаждения эритроцитов, Эр – эритроциты, окружность – нормализованные показатели здоровых лиц, * - достоверность отличий при $P < 0,05$.

Рис. 4.13. Графическая визуализация вариаций гематологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии ремиссии



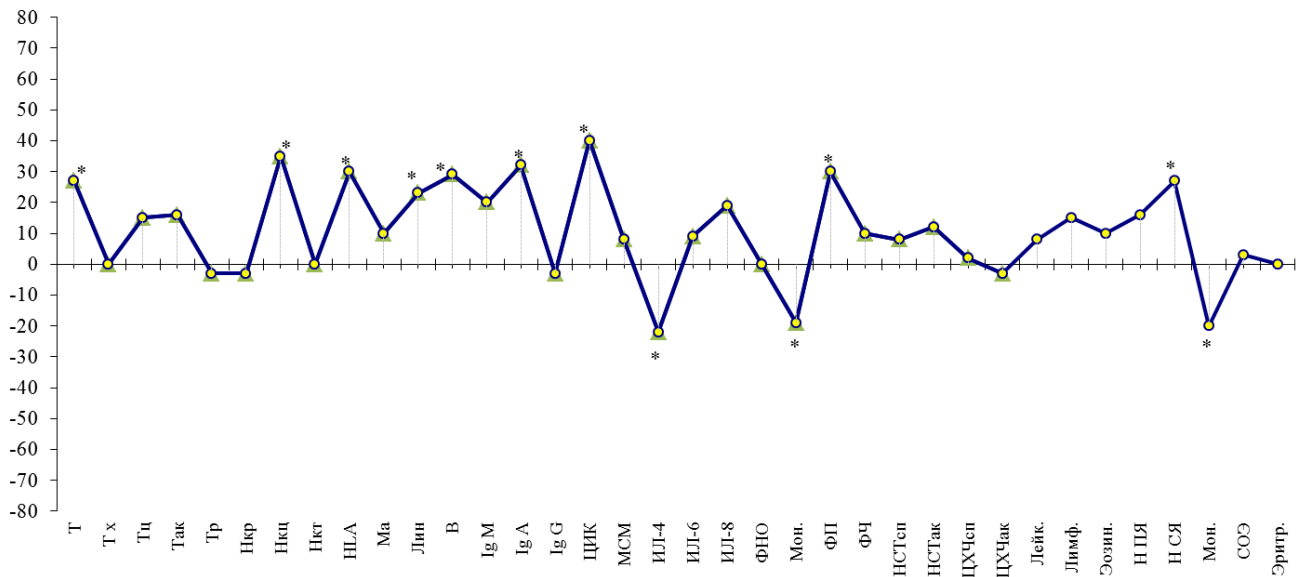
Обозначения: Т-клетки; Тх –Т-хелперы–; Тц– Т-цитотоксические; Так– Т-активные; НКр – натуральные киллеры регуляторы; НКц – натуральные киллеры цитотоксические; НКт – натуральные киллеры тимусзависимые;Тр – Т-регуляторы; НЛА – Клетки-носители HLA-DR антигена, Ма – маркер апоптоза; ЛИН – лейкоциты с интегриновыми 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.

Рис. 3.14. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии ремиссии



Обозначения, см. выше.

Рис. 4.15. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии ремиссии по частотному анализу



Обозначения, см. выше.

Рис. 4.16. Графическая визуализация вариаций иммунологических показателей от нормативного уровня у больных с ремитирующей клинической формой течения рассеянного склероза в стадии ремиссии по результирующему частотному анализу

Вариации гематологических и фагоцитарных тестов у пациентов оказались случайными, а клеточных и гуморальных – достоверными (табл. 4.1). Определение стимулирующего/супрессирующего вектора вариаций параметров показал его значимость по Т-В-зависимым показателям в пользу активации. В целом эти данные свидетельствуют общую низкую выраженность гематоиммунологических характеристик больных в стадии ремиссии рассеянного склероза.

Более определенную информацию дает определение ключевых мишеней патологии (табл. 4.2).

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 $^+_2$ T $^+_2$) 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 иммунопатологии 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; T $^+_2 > 2,5 \cdot 10^9$ /л.

Количество сильных корреляционных связей свидетельствует оптимальное функционирование иммунной системы с трактовкой, чем больше число корреляций, тем выше реактивность. Установлено, что **циркулирующие иммунные комплексы** положительно интегрированы с В-клетками, носителями маркера CD11b, иммунными глобулинами класса А и отрицательно - с IgG; **IgA** – соответственно с фагоцитарным показателем, иммунными глобулинами класса М и - с IgG, интерлейкинами 4; **Т лимфоциты** – были позитивно ассоциированы с цитотоксическими натуральными киллерами, клетками носителями антигена HLADR, спонтанным тестом с нитросиним тетразолием и негативно – с

моноцитами. В сумме у пациентов в стадии ремиссии рассеянного склероза обнаружено 12 сильных корреляционных связей. Этот показатель оказался наивысшим.

Сравнение выраженности изменений лабораторных показателей с ремиттирующей формой рассеянного склероза в стадии обострения и ремиссии.

Оценка количественных вариаций лабораторных показателей больных с рассеянным склерозом показала, что из 7 вариантов анализа в стадии обострения процесса изменения были достоверными в 6 случаях, ремиссии – лишь трех. Определяющей динамикой изменения показателей были стимуляция, лишь по фагоцитарным тестам в обеих группах больных она была неопределенной.

Сужение числа гематологических тестов до ключевых слагаемых ФГР не внесло ясности в диагностику заболевания. Видимо формула крови не является информативной при рассеянном склерозе.

Что же касается формулы расстройств иммунной системы, то она является диагностически значимой, поскольку, с одной стороны, указывает на вовлечение в патологический процесс конкретных звеньев иммунитета, с другой, персонифицирует ключевые лабораторные параметры, с третьей, детализирует вектор и степень их изменений.

Например, ФРИС при Рфсо - НКр⁺₃НКт⁺₃ЦИК⁺₃ отражает преобладающее нарушение клеточного (2 теста) и гуморального (один) звеньев иммунитета, с предельным накоплением регулирующих и тимусзависимых натуральных киллеров и иммуно-активных циркулирующих комплексов антиген-антитело. Трактовка этих данных имеет диагностическую составляющую при цифровой конкретизации сигнальных тестов формулы и в тоже время обозначает мишени для лечебной направленной иммунокоррекции больных.

В стадии ремиссии заболевания определяются принципиально иные мишени. Так, ФРИС приобрела вид - ЦИК⁺₃IgA⁺₂ Т⁺₂, свидетельствующей преимущественное поражение гуморального (2 параметра) и клеточного (один)

звенья иммунитета, с предельным накоплением ЦИК и средним - иммунных глобулинов класса А и Т-клеток.

В результате проведенных исследований 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.

Важное значение для практики является определение рейтинга снижающейся выраженности отличий гемато-иммунологических показателей от нормативных значений четырех клинических вариантов рассеянного склероза. Для этого использовался ранговый метод основанный на определении и суммации 1-3 рангов отличий от нормативных значений данных здоровых лиц - средних значений лабораторных параметров больных, итогов частотного, результирующего частотного анализов, изменений гематологических показателей, слагаемых клеточного (Т-клетки, Тх, Тц, Так,Тр, НКр, НКт, НЛА, Ма, носителей маркера CD11в, гуморального (В-лимфоциты, IgA, IgM, IgG, ЦИК, МСМ, ИЛ4, ИЛ6, ИЛ8, ФНО), фагоцитарного (М, ФП, ФЧ, НСТсп, НСТак, ЦХЧсп, ЦХЧак) звеньев иммунитета, числа сильных корреляционных связей составляющих типовых формул расстройств иммунной системы.

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 гемато-иммунологического 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.

Вовлеченность конкретных звеньев иммунитета больных в патологический процесс рассеянного склероза.

Определенный интерес представляло исследовать задействованность отдельных звеньев иммунитета пациентов в патологическом процессе в зависимости от клинических форм рассеянного склероза у больных. Для этой цели использовалась рейтинго-ранговая оценка при которой учитывался процент изменения лабораторных параметров от нормативного уровня с следующей шкале: достоверные вариации < 33% параметров характеризовали как минимальные, несущественные (III), 33-66% - как средние (II), >66% - как значительные(I). Для анализа объединенных ключевых гемато-иммунологических показателей использовали слагаемые ФГР и ФРИС. Полученные данные обобщены в табл. 4.3.

Таблица 4.3.

Вовлеченность отдельных звеньев иммунитета в патологический процесс в зависимости от клинических вариантов заболевания в формализованной оценке

Нозоформы	Звенья иммунитета				Итоговая ФРИСоб
	Гематол.	Т-зави- симые	В-зави- симые	Неспе- цифичес кие	
ППФ	25%/III	55% /II	40%/II	43%/II	$Tx^+_3 T^+_3 Ma^+_2$
ВПФ	25%/III	55% /II	40%/II	43%/II	$IgM^+_3 ФП^+_2 Tx^+_3$
РФсо	50%/II	82%/I	40%/II	57%/ II	$HKp^+_3 HKT^+_3 ЦИК^+_3$
РРср	13%/III	36/II	60%/II	29%/ III	$ЦИК^+_3 IgA^+_2 T^+_2$

Обозначения: ФРИСоб – объединенная формула, остальное, см. текст.

Из таблицы 4.3 следует, что при первично- и вторично-прогрессирующих формах рассеянного склероза регистрируются несущественные изменения гематологических тестов и средние - Т-В-зависимых и неспецифических показателей.

У пациентов с ремитирующим РС в стадии обострения показаны достоверные, средней выраженности, вариации гематологических, гуморальных, фагоцитарных показателей и значительные - клеточных. У тех больных в стадии ремиссии определяются несущественные отличия от нормы гематологических, неспецифических и средние – специфических Т-В-зависимых.

Перерасчет с помощью коэффициента диагностической ценности сигнальных слагаемых формул гематологических и иммунологических расстройств, показал преимущество вторых над первым. Следовательно вариации состава формулы крови при рассеянном склерозе являются несущественно вторичными.

Таким образом, выявлена идентичная реакция гематологических (несущественная) и (стимулирующая средняя) всех иммунологических параметров при ППФ и ВТП. В стадии обострения наблюдается предельная активация Т-зависимых с средняя – гематологических, гуморальных, неспецифических показателей. В стадии ремиссии заболеванием достоверным было увеличение лишь Т-В-зависимых тестов.

Выводы четвертой главы

1. В результате проведенного исследования установлена несущественная реакция гематологических тестов при первично-, вторично-прогрессирующей формах течения РС и при ремитирующей форме РС в стадии ремиссии и средняя – при ремитирующей форме РС в стадии обострения.

2. Выявлена достоверная стимуляция величин всех иммунологических показателей при всех нозоформах рассеянного склероза, за исключением инертности фагоцитоза в стадии ремиссии заболевания.

3. Для первично-прогрессирующей формы рассеянного склероза характерна 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 .

4. Для вторично-прогрессирующей формы рассеянного склероза характерна активация иммунного статуса за счет стимуляции клеточного, гуморального, фагоцитарного звеньев иммунитета с следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами: IgM^+_3 $ФП^+_2$ Tx^+_3 .

5. Для ремитирующей формы рассеянного склероза в стадии обострения характерна активация иммунного статуса за счет стимуляции клеточного, в меньшей степени гуморального звеньев иммунитета с следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами: $НКр^+_3$ $НКт^+_3$ $ЦИК^+_3$.

6. Для ремитирующей формы рассеянного склероза в стадии ремиссии характерна 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 .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассеянный склероз является хроническим аутоиммунным заболеванием центральной нервной системы, часто имеющее неуклонно прогрессирующее течение, с периодами обострения и ремиссии, приводящее к быстрой инвалидизации больного. В течение патологического процесса при РС можно выделить несколько механизмов: иммунопатологический, аутоиммунный, воспалительный и нейродегенеративный. Но очень важно в изучении патологического процесса чёткое понимание именно иммунопатологического и аутоиммунного механизмов.

Базовыми иммунопатологическими механизмами развития рассеянного склероза являются: состояние гематоэнцефалического барьера через функцию эндотелия, астроцитов, периваскулярной микроглии реализующего пассивную и активную иммунную защиту мозга; регуляция выраженности иммунопатологических реакций в ЦНС через механизмы антигенного представления и активности адгезии иммунокомпетентных клеток к эндотелию сосудов; поликлональная избыточная активация Т-лимфоцитов внешними антигенами, индуцирующими аутоагрессивные реакции; срыв механизмов толерантности и контроля за иммунными реакциями.

Определенное теоретическое значение для уточнения патогенеза рассеянного склероза имеют изучение типовых и ключевых вариаций и ассоциаций гемато-иммунологических показателей, выявление и верификация функционального дисбаланса иммунной системы в патогенезе рассеянного склероза.

Практический аспект исследования заключался в определении спектра и конкретных значений дополнительных сигнальных лабораторных тестов, имеющих диагностико-прогностическое значение для верификации клинических форм и стадии рассеянного склероза.

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.

В настоящем исследовании приняли участие 170 больных рассеянным склерозом, которые были разбиты на три клинических группы: первично-прогрессирующая, вторично-прогрессирующая и ремитирующая (с выделением отдельно стадии обострения и ремиссии) форма клинического течения. Для выявления особенностей результатов иммунологического исследования больных рассеянным склерозом с различными клиническими формами и стадией заболевания и выявления характерной динамики исследуемых показателей, проводилось сравнение их средних значений между выделенными группами пациентов и донорами на основе соответствующих статистических критериев с последующей визуальной трансформацией полученных результатов.

В результате проведенных исследований установлено, что характерной особенностью изученных вариантов рассеянного склероза является итоговая активация иммунного статуса с различным 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.

Важное значение для практики является определение рейтинга снижающейся выраженности отличий гемато-иммунологических показателей от нормативных значений четырех клинических вариантов рассеянного склероза. 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.

Предложенный этапный алгоритм аналитической трактовки результатов оценки неспецифического рутинного гемато-иммунологического 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.

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

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: незначительная реакция гематологических тестов при ППФ, ВПФ, РФср и средняя – при РФоб; достоверная, стимуляция величин всех иммунологических показателей при всех нозоформах заболевания, за исключением инертности фагоцитоза в стадии ремиссии рассеянного склероза.

3. На основе полученных данных исследования выделены маркёры 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 со следующими ключевыми диагностически значимыми сигнальными тестами: ЦИК⁺₃ IgA⁺₂ T⁺₂.

4. Выделенные маркёры 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 маркёров 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 маркёры 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 – $T > 2,5 * 10^9 / л$, $Tx > 1,8 * 10^9 / л$, $Ma - 0,11-0,14 / л$; для ВПФ – $IgM > 4,6 г / л$, $ФП - 96,6-120,7\%$, $Tx > 1,82 * 10^9 / л$; 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 маркёров с различными клиническими формами и стадиями течения рассеянного склероза, целесообразно использовать при коррекции патогенетически обоснованной терапии и выработки алгоритма прогноза течения рассеянного склероза.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Аг – антигены

АОС – антиоксидантная система

ВАК – высшая аттестационная комиссия

ВГМУ – Воронежский государственный медицинский университет

ВПФ – вторично-прогрессирующая форма рассеянного склероза

ГИС – гиперфункция иммунной системы

ГКГС – главный комплекс гистосовместимости

ГПО – глутатионпероксидаза

ГРУ – глутатионредуктаза

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ИЛ - интерлейкин

ИН – иммунологическая недостаточность

ИО – иммунный ответ

ИС – иммунная система

ИФА – иммуноферментный анализ

КД – кетодиены

ЛИН – лейкоциты с интегриновыми рецепторами

МДА – малоновый диальдегид

МРА – магнитно-резонансная ангиография

МРТ – магнитно-резонансная томография

МФС – моноклеарная фагоцитарная система

НСТ – нитросиний тетразолий

ОС – окислительный стресс

ОШ – основания Шиффа

ППФ – первично-прогрессирующая форма рассеянного склероза

РРС – ремитирующая форма рассеянного склероза

РС – рассеянный склероз

РФсо - ремиттирующая форма в стадии обострения

РФср – ремиттирующая форма в стадии ремиссии

СОД – супероксиддисмутаза

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРО – свободнорадикальное окисление

ФГР – формула гематологических расстройств

ФНО – фактор некроза опухоли

ФРИС – формула расстройств иммунной системы

ФС – функциональная система

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

ЦНС – центральная нервная система

ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты

ЦХЧ – цитохимическое число

ЭВМ – электронно-вычислительная машина

CD - cluster of differentiation

EDSS - expanded disability status scale

HLA - human leukocyte antigens

Ig - иммуноглобулин

NK - natural killer cells

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрахманова, М.Г. Роль мононуклеарных фагоцитов в патогенезе рассеянного склероза / М.Г. Абдрахманова, С.К. Минбаев, Д.А. Савченко и др. // Медицина и экология. - 2007. - №4 (45). – С. 23-29.
2. Акимов, С.Б. Клинико-иммунологическая диагностика и иммунокоррекция при рассеянном склерозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.36, 14.00.13 / Акимов Станислав Борисович. – Санкт-Петербург, 2003. – 20 с.
3. Аминофф, М.Дж. Клиническая неврология: пер. с англ. / М.Дж. Аминофф, Д. А. Гринберг, Р. П. Саймон; под общ. ред. О.С. Левина. - 2-е изд. доп. - Москва: МЕДпресс-информ, 2009. – 480 с.
4. Андреева, И.И. Инверсия гомеостатических свойств иммунной системы при рассеянном склерозе / И.И. Андреева, Л.П. Сизякина, З.А. Гончарова // Медицинский вестник Юга России. - 2016. - №2. – С. 23-27.
5. Байдина, Т.В. Исследование патогенеза рассеянного склероза как основа его таргетной терапии / Т.В. Байдина, Е.М. Куклина, Н.В. Селянина и др. // Пермский медицинский журнал. - 2018. - №1. – С. 27-32.
6. Баркова, Э. Н. Иммунологические сдвиги при рассеянном склерозе в стадии ремиссии / Э. Н. Баркова, Е. А. Шмурыгина, Н. А. Курлович // Здоровье и образование в XXI веке. - 2010. - №2. – С. 160.
7. Бисага, Г.Н. Иммунопатологические различия ремиттирующего и прогрессирующего рассеянного склероза / Г.Н. Бисага, Н.М. Калинина, С.Б. Акимов и др. // Иммунология. - 2000. - № 3. - С. 41- 44.
8. Бисага, Г.Н. Параметры клеточного иммунитета и цитокинового статуса у больных рассеянным склерозом / Г.Н. Бисага, Н.М. Калинина, С.Б. Акимов и др. // Медицинская иммунология. - 2002. - №4-5. – С. 637-644.
9. Бисага, Г.Н. Рассеянный склероз: диагностика и патогенетическая терапия: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.13, 14.00.19 / Бисага Геннадий Николаевич. – Санкт-Петербург, 2004. – 248 с.

10. Боброва, Н.И. Исследование и анализ распространенности, состояния и развития заболеваемости рассеянным склерозом среди взрослого населения / Н.И. Боброва, В.Б. Измайлов, М.А. Луцкий, В.М. Фролов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. - 2015. - Т.14, №3. – С. 618-622.

11. Бойко, А.Н. Клиническая эпидемиология рассеянного склероза в Москве. Современные клиничко – демографические особенности на примере популяции одного из округов города / А.Н. Бойко, Т.М. Кукель, Е.И. Гусев и др. // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114, № 2–2. – С. 10–15.

12. Бойко, А.Н. Немедикаментозные методы лечения и образ жизни при рассеянном склерозе / А.Н. Бойко, М.Е. Гусева, С.А. Сиверцева. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 240 с.

13. Быков, Ю.Н. Клинические, функциональные, иммунологические методы исследования в диагностике дебюта рассеянного склероза / Ю.Н. Быков, Ю.М. Леонтьева, М.А. Черных // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). - 2004. - №5. - С. 16-19.

14. Высоцкая, Л.М. Особенности иммунологических и нейрофизиологических показателей у детей с рассеянным склерозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09, 14.00.13 / Высоцкая Людмила Михайловна. – Москва, 2007. – 26 с.

15. Герасимов, А.Н. Медицинская статистика / А.Н. Герасимов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – 480 с.

16. Гоженко, А.И. Сопряженность нейрофизиологических, нейропсихологических и аутоиммунных нарушений у больных рассеянным склерозом / А.И. Гоженко, О.Ю. Науменко // Мир медицины и биологии. - 2015. – Т.11, №2-2 (50). – С. 22-25.

17. Голубев, В.Л. Неврологические синдромы: рук-во для врачей / В.Л. Голубев, А.М. Вейн. - 5-е изд., испр. - Москва: МЕДпресс-информ, 2014. - 736 с.

18. Гончарова, З.А. Клиничко–эпидемиологическая характеристика рассеянного склероза (проспективное 20–летнее исследование): автореф. дис. ... д–ра мед. наук / З.А. Гончарова. – Иваново, 2012. –320 с.

19. Грибова, Н.П. Особенности течения рассеянного склероза в зависимости от наличия факторов риска в анамнезе (аналитическое эпидемиологическое исследование) / Н.П. Грибова, И.В. Худякова // Вестн. нов. мед. технол. – 2009. – Т. 16. – С. 159–160.

20. Гусев, Е.И. Неврология: национальное руководство / под ред. Е. И. Гусева, А. Н. Коновалова, В. И. Скворцовой. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. — Т. 1. — 880 с.

21. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз: достижения десятилетия / Е.И. Гусев, А.Н. Бойко // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Рассеянный склероз. — 2007. — № 4, спец. вып. — С. 6—13.

22. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз: справочник терминов / Е.И. Гусев, А.Н. Бойко, И.Д. Столяров. – 2-е изд., доп. и изменен. – М.: РООИ «Здоровье человека», 2015. – 448 с.

23. Дементьев, А.С. Неврология: стандарты медицинской помощи / А.С. Дементьев, Н.И. Журавлева, С.Ю. Кочетков, Е.Ю. Чепанова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 784 с.

24. Елисеева, Д.Д. Количественный и функциональный дефект регуляторных Т-клеток CD4+CD25+Foxp3+ у больных рассеянным склерозом / Д.Д. Елисеева, И.А. Завалишин, С.Н. Быковская // Вестник РГМУ. - 2011. - №6. - С. 67-70.

25. Елисеева, Д.Д. Критерии активности патологического процесса при рассеянном склерозе по результатам исследования регуляторных Т-клеток: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11, 14.03.09 / Елисеева Дарья Дмитриевна. – Москва, 2011. – 24 с.

26. Елисеева, Д.Д. Регуляторные Т-клетки CD4+CD25+Foxp3+ у больных ремитирующим рассеянным склерозом / Д.Д. Елисеева, И.А. Завалишин, С.Н. Быковская и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2011. - №2. – С. 9-13.

27. Жирнова, И.Г. Анализ иммунного статуса при тяжелых формах демиелинизирующих и смешанных полинейропатий / И.Г. Жирнова, Л.В.

Комелькова, М.И. Царева и др. // Альманах клинической медицины. - 2001. - №4. – С. 58-59.

28. Жирнова, И.Г. Показатели гуморального иммунитета и маркеры активации лимфоцитов крови больных рассеянным склерозом / И.Г. Жирнова, Л.В. Комелькова, Н.В. Переседова и др. // Альманах клинической медицины. - 2001. - №4. – С. 38-40.

29. Завалишин, И.А. Аутоиммунные заболевания в неврологии / И.А. Завалишин, М.А. Пирадов, А.Н. Бойко и др. // Клиническое руководство. Том 2. – Москва, 2014. – 192 с.

30. Загребина, И.А. Различные типы течения и динамика иммунного и гормонального статуса у больных рассеянным склерозом: дис. ...канд. мед. наук: 14.00.13 / Загребина Инна Анатольевна. – Новосибирск, 2006. – 161 с.

31. Зафранская, М.М. Иммунологический мониторинг пациентов с рассеянным склерозом после аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / М.М. Зафранская, Д.Б. Нижегородова, М.Ю. Юркевич и др. // Иммунология. - 2015. - №5. – С. 284-289.

32. Земсков, А.М. Метаболический иммунитет как фактор оценки реактивности организма / А.М. Земсков, В.М. Земсков, М.А. Луцкий и др. // Успехи современной биологии. - 2017. - Т.137, №3. – С. 300-310.

33. Иванова, И.П. Получение Т-клеточной вакцины и ее применение для лечения рассеянного склероза / И.П. Иванова, В.И. Селедцов, Н.В. Банул и др. // Медицинская иммунология. - 2005. - №1. – С. 27-32.

34. Калашникова, А.А. Изменения параметров иммунитета у больных рассеянным склерозом в зависимости от вариантов течения и активности заболевания: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.00.46 / Калашникова, Анастасия Андреевна. – Санкт-Петербург, 2002. – 21 с.

35. Калинина, Н.М. Особенности распределения HLA-антигенов, параметры иммунитета и цитокиновый статус у пациентов рассеянным склерозом-жителей Санкт-Петербурга / Н.М. Калинина, П.И. Давыдова, Г.Н. Бисага и др. // Медицинская иммунология. - 1999. - №3-4. – С. 64.

36. Карлов, В.А. Неврология: рук-во для врачей / В.А. Карлов. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва: МИА, 2011. – 664 с.

37. Кимова, М.В. Некоторые особенности состояния клеточного звена иммунитета у больных с ремиттирующим и прогрессирующим типами течения рассеянного склероза / М.В. Кимова, О.А. Пронина, Н.В. Гнучев и др. // Медицинская иммунология. - 2005. – Т.7, №2-3. - С 141-142.

38. Кимова, М.В. Сравнительное исследование гуморального иммунитета у больных с прогрессирующим и ремиттирующим типами течения рассеянного склероза / М.В. Кимова, О.А. Пронина, Н.В. Гнучев и др. // Медицинская иммунология. - 2005. – Т.7, №2-3. – С. 141.

39. Ковтун, О.П. Иммунологическая диагностика рассеянного склероза / О.П. Ковтун, К.С. Невмержицкая, А.Д. Смолкин, А.В. Молдованов // Системная интеграция в здравоохранении. - 2010. - Т.4. – С. 60-69.

40. Кондратьева, О.С. Социально-экономические проблемы больных рассеянным склерозом / О. С. Кондратьева, Т. В. Матвеева // Неврологический вестн. — 2002. — Т. 34, вып. 1/2. — С. 53—54.

41. Котов, С.В. Основы клинической неврологии: рук-во / С.В. Котов. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 972 с.

42. Кула, И.И. Клинико-иммунологические сопоставления в дебюте демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11 / Кула Ирина Ивановна. – Санкт-Петербург, 2017. – 24 с.

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

44. Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине: рук-во для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сессик; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. – М.: Практическая медицина, 2016. – 480 с.

45. Ларина, И.В. Рассеянный склероз и адгезивная активность лейкоцитов и сыворотки крови (клинико-иммунологическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.13 / Ларина Ираида Васильевна. – Москва, 2009. – 27 с.
46. Левин, О.С. Неврология: Справочник практического врача / О.С. Левин, Д.Р. Штульман. - 9-е изд. - Москва: МЕДпресс-информ, 2014. - 1024 с.
47. Лихачев, С.А. Фармакоэкономические исследования препаратов иммуномодулирующего действия при лечении рассеянного склероза / С.А. Лихачев, А.Г. Буняк // Медицинские новости. - 2012. - №1. – С. 45-48.
48. Луцкий, М.А. Анализ значимости иммунопатологических и аутоиммунных механизмов в патогенезе рассеянного склероза / М.А. Луцкий, Ю.А. Пожидаева, В.А. Быкова // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2017. – Т. 16. – № 2. – С. 278-281.
49. Луцкий, М.А. Анализ непрерывности течения патологического процесса при рассеянном склерозе / М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.П. Савиных, Ю.А. Пожидаева, Н.М. Буравлева // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2018. – Т. 17. – № 1. – С. 77-80.
50. Луцкий, М.А. Динамика показателей иммунного статуса при рассеянном склерозе / М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.П. Савиных, М.А. Смелянец // Вестник Воронежского института высоких технологий. - 2016. - № 1(16). – С. 4-7.
51. Луцкий, М.А. Динамика показателей иммунного статуса у больных с первично-прогредиентной формой клинического течения рассеянного склероза / М.А. Луцкий, М.В. Фролов, В.П. Савиных // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. - 2011. - Т.10, №2. – С. 259-262.
52. Луцкий, М.А. Классификация и типизация течения патологического процесса при рассеянном склерозе / М.А. Луцкий, В.В. Разуваева, Ю.А. Пожидаева // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2017. – Т. 16. – № 2. – С. 335-339.

53. Луцкий, М.А. Непрерывность течения патологического процесса при рассеянном склерозе / М.А. Луцкий, А.М. Земсков, В.П. Савиных // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. - 2013. - Т.12, №2. – С. 567-569.

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

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

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

57. Малик, О. Рассеянный склероз. Краткий справочник: пер. с англ. под ред. А.Н. Бойко / О. Малик, Э. Доннели, М. Барнетт. – М.: Практическая медицина, 2015. – 128 с.

58. Маслянский, А.Л. Анти-В-клеточная терапия аутоиммунных заболеваний / А.Л. Маслянский, В.И. Мазуров, Е.Г. Зоткин и др. // Медицинская иммунология. - 2007. - №1. – С. 15-34.

59. Мегерян, В.А. Клинико-иммунологические особенности больных с различными фенотипами рассеянного склероза: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11 / Мегерян Виктор Александрович. – Ростов-на-Дону, 2018. – 24 с.

60. Мументалер, М. Дифференциальный диагноз в неврологии: рук-во по оценке, классификации и дифференциальной диагностике неврологических симптомов: пер. с нем. / М. Мументалер, К. Бассетти, К. Дэтвайлер. - 4-е изд. - Москва: МЕДпресс-информ, 2014. - 360 с.

61. Неврология: нац. рук-во; кратк. изд-е / под ред. Е.И. Гусева [и др.]. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 688 с.

62. Неретин, В.Я. Клинико-иммунологические аспекты и терапия аутоиммунных заболеваний нервной системы / В.Я. Неретин, С.В. Котов, О.П. Сидорова и др. // Альманах клинической медицины. - 2000. - №3. – С. 148-155.

63. Никифоров, А.С. Нервные болезни: учеб. пособие / А.С. Никифоров. - Москва: МИА, 2010. – 832 с.

64. Никифорова, И.Г. Особенности взаимосвязи нейроиммунологических нарушений и демиелинизирующего поражения при рассеянном склерозе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.16, 14.00.19 / Никифорова Ирина Григорьевна. – Санкт-Петербург, 2003. – 22 с.

65. Одинак, М.М. Аутогенные IL-10-модифицированные дендритные клетки в иммунотерапии рассеянного склероза: анализ первых результатов клинических исследований / М.М. Одинак, В.С. Чирский, Г.Н. Бисага и др. // Гены и клетки. - 2010. - №3. - С. 90-95.

66. Одинак, М.М. Клиническая диагностика в неврологии: рук-во для врачей / М.М. Одинак, Д.Е. Дыскин. - 2-е изд., стереотип. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. – 528 с.

67. Олейников, В.Г. Вторично-прогредиентный рассеянный склероз: прогностические критерии формирования (клиническое, иммунологическое и магнитно-резонансное томографическое исследование): дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.13 / Олейников, Владимир Геннадьевич. – Москва, 2004. – 163 с.

68. Пирадов, М.А. Аутоиммунные заболевания нервной системы: состояние проблемы и перспективы / М.А. Пирадов, Н.А. Супонева // Вестн. РАМН. – 2015. – Т. 70. – С. 183–187.

69. 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.

70. Рассеянный склероз. Современные аспекты этиопатогенеза, диагностики, особенностей клинического течения и лечения: монография / М.А.

Луцкий [и др.]. – Воронеж, Типография ВУНЦ ВВС «ВВА им.проф. Н.Е. Жуковского и Ю.А. Гагарина», 2016. – 163 с.

71. Рассеянный склероз: диагностика, лечение, специалисты / под ред. И.Д. Столярова, А.Н. Бойко. – Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2008. - 320 с.

72. Селедцова, Г.В. Клинические и иммунологические аспекты Т-клеточной вакцинотерапии у больных прогрессирующей формой рассеянного склероза / Г.В. Селедцова, И.П. Иванова, С.В. Мамаев и др. // Медицинская иммунология. - 2012. - №1-2. – С. 103-108.

73. Сибиряк, С.В. Возвращение к Т-супрессорам / С.В. Сибиряк // Медицинский вестник Башкортостана. - 2007. - №3-4. – С. 78-82.

74. Спирин, Н.Н. Ведение больных с рассеянным склерозом: методические рекомендации / Н.Н. Спирин, А.Н. Бойко, И.О. Степанов и др. – М.: РООИ «Здоровье человека», 2015. – 68 с.

75. Тесты и шкалы в неврологии: рук-во для врачей / под ред. А.С. Кадыкова [и др.]. - Москва: МЕДпресс-информ, 2015. - 224 с.

76. Титова, Л.В. Использование лимфоцитафереза в лечении больных рассеянным склерозом / Л.В. Титова, М.С. Любарский, А.А. Смагин и др. // Бюллетень СО РАМН. - 2004. - №1. – С. 105-108.

77. Топическая диагностика заболеваний и травм нервной системы: учеб. пособие / под ред. М.М. Одинака. - 4-е изд., перераб. и доп. - Москва: МИА, 2010. – 232 с.

78. Тотолян, А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний / А.А. Тотолян // Медицинская иммунология. - 1999. - №1-2. – С. 75-108.

79. Тотолян, Н.А. Актуальность и информативность иммунодиагностики рассеянного склероза / Н.А. Тотолян, И.В. Грязева, А.А. Скоромец и др. // Медицинская иммунология. - 1999. - №3-4. – С. 90.

80. Тринитатский, Ю.В. Клинико-иммунологические и МРТ-основы диагностики и лечения рассеянного склероза: автореф. дис. ... д-ра. мед. наук: 14.00.13 / Тринитатский, Юрий Владимирович. – Москва, 2003. – 45 с.

81. Трофимова, Т.Н. Лучевая диагностика рассеянного склероза / Т.Н. Трофимова, Н.А. Тотолян, А.В. Пахомов. – Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2010. – 128 с.
82. Фаткуллина, У.Ш. NMDA-рецепторы Т-лимфоцитов регулируют синтез цитокинов у больных рассеянным склерозом / У.Ш. Фаткуллина, Л.Ф. Зайнуллина, К.З. Бахтиярова, Ю.В. Вахитова // Иммунология. - 2013. - №6. – С. 339-343.
83. Фрейдлин, И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции / И.С. Фрейдлин // Медицинская иммунология. - 2005. - №4. – С. 347-354.
84. Цементис, С.А. Дифференциальная диагностика в неврологии и нейрохирургии: пер. с англ. / С.А. Цементис; под ред Е.И. Гусева. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 384 с.
85. Шмидт, Т.Е. Рассеянный склероз: рук-во для врачей / Т.Е. Шмидт, Н.Н. Яхно. – 5-е изд. - М.: МЕДпресс-информ, 2016. – 272 с.
86. Шмидт, Т.Е. Рассеянный склероз: эпидемиология, факторы риска, патогенез, клиника и прогрессирование (по материалам 29-го конгрессаECTRIMS) / Т.Е. Шмидт // Неврологический журнал. - 2014. - №1. – С. 49-54.
87. Шмидт, Т.Е. Эпидемиология, патогенез, клиника, дифференциальная диагностика рассеянного склероза и оптикомиелита [по материалам совместного конгресса американского и Европейского комитетов по изучению рассеянного склероза. Сентябрь 2014, Бостон, США (2014 Joint actrimms-ectrimms meeting (msj, 2014, v. 20, № S1)] / Т.Е. Шмидт // Неврологический журнал. - 2015. - №1. – С. 49-57.
88. Alenda, R. Blood lymphocyte subsets identify optimal responders to IFN-beta in MS / R. Alenda, L. Costa-Frossard, R. Alvarez-Lafuente et al. // J Neurol. – 2018. – Vol. 265, № 1. – P. 24–31.
89. Aranami, T. Differential Expression of CD11c by Peripheral Blood NK Cells Reflects Temporal Activity of Multiple Sclerosis / T. Aranami, S. Miyake, T. Yamamura // J Immunol. – 2006. – Vol. 177. – P. 5659-5667.

90. Belbasis, L. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. / L. Belbasis, V. Bellou, E. Evangelou et al. // *Lancet Neurol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 263–273.
91. Blewett, M.M. Lipid autoreactivity in multiple sclerosis / M.M. Blewett // *Med hypotheses.* – 2010. – Vol. 74, № 3. – P.433–442.
92. Bsteh, G. Long Term Clinical Prognostic Factors in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: Insights from a 10-Year Observational Study / G. Bsteh, R. Ehling, A. Lutterotti et al. // *PLOS One.* – 2016. – Vol. 11, №1. – P. 1-14.
93. Chen, D. CD40-Mediated NF- κ B Activation in B Cells Is Increased in Multiple Sclerosis and Modulated by Therapeutics / D. Chen, S.J. Ireland, G. Remington et. al. // *J Immunol.* – 2016. – Vol. 197, №11. – P. 4257-4265.
94. Comabella, M. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis / M. Comabella, X. Montalban // *The Lancet Neurology.* – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 113–126.
95. Cree, B.A.C. Current therapeutic landscape in multiple sclerosis: an evolving treatment paradigm / B.A.C. Cree, J. Mares, H.-P. Hartung // *Current Opinion in Neurology.* – 2019. – Vol. 32, № 3. – P. 365–377.
96. Cusick, M.F. Multiple sclerosis: autoimmunity and viruses / M.F. Cusick, J.E. Libbey, R.S. Fujinami // *Current Opinion in Rheumatology.* - 2013 – Vol. 25, № 4. – P. 496–501.
97. Dendrou, C.A. Immunopathology of multiple sclerosis / C.A. Dendrou, L. Fugger, M.A. Friese // *Nature Reviews Immunology.* – 2015. – Vol. 15. – P. 545-558.
98. Einstein, O. Neural Precursors Attenuate Autoimmune Encephalomyelitis by Peripheral Immunosuppression / O. Einstein, N. Fainstein, I. Vaknin et al. // *Annals of Neurology.* – 2007. – Vol. 61, № 3. – P. 209–218.
99. Franklin, R. The biology of CNS remyelination / R. Franklin, M. Kotter // *J neurol.* – 2008. – Vol. 255, № 1. – P. 19–25.
100. Fransson, M.E. The T-cell pool is anergized in patients with multiple sclerosis in remission / M.E. Fransson, L.S.E. Liljenfeldt, J. Fagius et al. // *Immunology.* – 2008. – Vol. 126. – P. 92–101.

101. Freedman, M.S. Severe, Highly Active, or Aggressive Multiple Sclerosis / M.S. Freedman, C.A. Rush // *Continuum* – 2016. – Vol. 22, № 3. – P. 761–784.

102. Frischer, J.M. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains / J.M. Frischer, S. Bramow, A. Dal-Bianco et al. // *Brain: A Journal of Neurology*. – 2009. – Vol. 132. – P. 1175–1189.

103. Harris, V.K. Phase I Trial of Intrathecal Mesenchymal Stem Cell-derived Neural Progenitors in Progressive Multiple Sclerosis / V.K. Harris, J. Stark, T. Vyshkina et al. // *EBioMedicine*. – 2018. – Vol. 29. – P. 23-30.

104. Hemmer, B. Role of the innate and adaptive immune responses in the course of multiple sclerosis / B. Hemmer, M. Kerschensteiner, T. Korn // *Lancet Neurol*. – 2015. - Vol. 14. – P. 406–419.

105. Hernández-Pedro, N.Y. Initial Immunopathogenesis of Multiple Sclerosis: Innate Immune Response / N.Y. Hernández-Pedro, G. Espinosa-Ramirez, V.P. de la Cruz et al. // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2013. - Vol. 2013. – 15 p.

106. Jelcic, I. Memory B Cells Activate Brain-Homing, Autoreactive CD4+T Cells in Multiple Sclerosis / I. Jelcic, F. Al Nimer, J. Wang et al. // *Cell*. – 2018. – Vol. 175, № 1. – P. 85–123.

107. Kaer, L.V. Natural killer T cells in multiple sclerosis and its animal model, experimental autoimmune encephalomyelitis / L.V. Kaer, L. Wu, V.V. Parekh // *Immunology*. – 2015. – Vol. 146. – P. 1–10.

108. Karni, A. Innate Immunity in Multiple Sclerosis: Myeloid Dendritic Cells in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Are Activated and Drive a Proinflammatory Immune Response / A. Karni, M. Abraham, A. Monsonogo et al. // *The Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 177. – P. 4196-4202.

109. Knier, B. Association of Retinal Architecture, Intrathecal Immunity, and Clinical Course in Multiple Sclerosis / B. Knier, G. Leppenotier, C. Wetzlmair et al. // *JAMA Neurology*. – 2017. – Vol. 74, №7. – P. 847-856.

110. Kuhle, J. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study / J. Kuhle, G. Disanto, R. Dobson et al. // *Multiple Sclerosis Journal*. – 2015. – Vol. 21, № 8. – P. 1013–1024.

111. Lagumersindez-Denis, N. Differential contribution of immune effector mechanisms to cortical demyelination in multiple sclerosis / N. Lagumersindez-Denis, C. Wrzos, M. Mack // *Acta Neuropathol.* – 2017. – Vol. 134, № 1. – P. 15–34.

112. La Rocca, C. Immunometabolic profiling of T cells from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis reveals an impairment in glycolysis and mitochondrial respiration / C. La Rocca, F. Carbone, V. De Rosa et al. // *Metabolism Clinical and Experimental.* – 2017. – Vol. 77. – P. 39–46.

113. Lee, D.-H. Diagnostic value of the 2017 McDonald criteria in patients with a first demyelinating event suggestive of relapsing remitting multiple sclerosis / D.-H. Lee, M. Peschke, K.S. Utz, R.A. Linker // *European Journal of Neurology.* – 2018. - doi: 10.1111/ene.13853.

114. Legroux, L. Multiple Sclerosis and T Lymphocytes: An Entangled Story / L. Legroux, N. Arbour // *J Neuroimmune Pharmacol.* – 2015. – Vol. 10, № 4. – P. 528–546.

115. Lehmann-Horn, K. Deciphering the Role of B Cells in Multiple Sclerosis—Towards Specific Targeting of Pathogenic Function / K. Lehmann-Horn, S. Kinzel, M.S. Weber // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2017. Vol. 18, № 10. – P. 2048 – 2065.

116. Li, R. Reassessing B cell contributions in multiple sclerosis / R. Li, K.R. Patterson, A. Bar-Or // *Nature Immunology.* – 2018. – Vol. 19, №7. – P. 696–707.

117. Li, Y. CD6 as a potential target for treating multiple sclerosis / Y. Li, N.G. Singer, J. Whitbred et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2017. Vol. 114, № 10. – P. 2687-2692.

118. Libbey, J.E. Role of Pathogens in Multiple Sclerosis / J.E. Libbey, M.F. Cusick, R.S. Fujinami // *International Reviews of Immunology.* – 2013. – Vol. Early Online. – P. 1–18.

119. Lisak, R.P. Neurodegeneration in multiple sclerosis: defining the problem / R.P. Lisak // *Neurology.* – 2007. – Vol. 68, № 3. – P. 5–12.

120. Machado-Santos, J. The compartmentalized inflammatory response in the multiple sclerosis brain is composed of tissue-resident CD8⁺T lymphocytes and B cells / J. Machado-Santos, E. Saji, A.R. Trojanski et al. // *Brain: A Journal of Neurology*. – 2018. – Vol. 141. – P. 2066–2082.

121. Magliozzi, R. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology / R. Magliozzi, O. Howell, A. Vora et al. // *Brain*. – 2007. – Vol. 130. – P. 1089-1104.

122. Martin, R. Current multiple sclerosis treatments have improved our understanding of MS autoimmune pathogenesis / R. Martin, M. Sospedra, M. Rosito, B. Engelhardt // *Eur. J. Immunol.* - 2016. – Vol. 46. – P. 2078–2090.

123. Matsuura, M. Immunomonitoring measures in relapsing-remitting multiple sclerosis / M. Matsuura, Sh. Arayama, H.-Y. Wang et al. // *Journal of Neuroimmunology*. – 2004. – Vol. 148. – P. 192–199.

124. MSIF. Atlas of MS 2013: Mapping Multiple Sclerosis Around The World / Multiple Sclerosis International Federation. - 2013. – Режим доступа: <http://www.msif.org/wp-content/uploads/2014/09/Atlas-of-MS.pdf>.

125. Montalban, X.ECTRIMS/EAN Guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis / X. Montalban, R. Gold, A.J Thompson et al. // *Multiple Sclerosis Journal*. – 2018. – Vol. 24, № 2. – P. 96-120.

126. Mowry, E.M. Demyelinating events in early multiple sclerosis have inherent severity and recovery / E.M. Mowry, M. Pesic, B. Grimes et al. // *Neurology*. – 2009. – Vol. 72. – P. 602–608.

127. Porrini, A.M. Memory and naive CD4⁺ lymphocytes in multiple sclerosis / A.M. Porrini, D. Gambi, G. Malatesta // *J Neurol*. – 1992. – Vol. 239. P. 437-440.

128. Prinz, M. Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease / M. Prinz, J. Priller // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2014. – Vol. 15, № 5. – P. 300–312.

129. Prolonged dynamic clinico-immunological observation of 85 patients with definite multiple sclerosis: first steps towards monitoring process activity / E.I. Gusev, T.L. Demina, A.N. Boiko, B. V. Pinegin // *J Neurol*. – 1994. – Vol. 241. - P. 500-510.

130. Rose, L.M. Selective loss of a subset of T helper cells in active multiple sclerosis (two-color cell sorter analysis/T helper subpopulations/neuroimmunologic disease) / L.M. Rose, A.H. Ginsberg, T.L. Rothstein et al. // *Proc. Nati. Acad. Sci. USA.* – 1985. - Vol. 82, №21. - P. 7389-7393.
131. Severson, C. T-cells in multiple sclerosis / C. Severson, D.A. Hafler // *Results probl cell differ.* – 2010. – Vol. 51. – P. 75–98.
132. Sinha, S. Immune regulation of multiple sclerosis by CD8+ T cells / S. Sinha, F.R. Itani, N.J. Karandikar // *Immunologic Research.* – 2014. – Vol. 59, № 1–3. – P. 254–265.
133. Symington, G.R. A “profile” of immune responsiveness in multiple sclerosis / G.R. Symington, I.R. Mackay, S. Whittingham et al. // *Clin. exp. Immunol.* – 1978. – Vol. 31. – P. 141-149.
134. Yin, J. The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity, and Cancer / J. Yin, K.L. Valin, M.L. Dixon, J.W. Leavenworth // *Journal of Immunology Research.* – 2017. - Vol. 2017. – 12 p.
135. Ulivieri, C. Regulation of T Cell Activation and Differentiation by Extracellular Vesicles and Their Pathogenic Role in Systemic Lupus Erythematosus and Multiple Sclerosis / C. Ulivieri, C.T. Baldari // *Molecules.* – 2017. – Vol. 22, №2. – P. 225-238.
136. Weber, M.S. Cooperation of B Cells and T Cells in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis / M.S. Weber, B. Hemmer // *Molecular Basis of Multiple Sclerosis.* - Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009 – P. 115-126.
137. Weiner, H.L. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis / H.L. Weiner // *J Neurol.* – 2008. – Vol. 255, № 1. – P. 3–11.
138. Wekerle, H. T-Cell Autoimmunity in the Central Nervous System / H. Wekerle // *Intervirology.* – 1993. – Vol. 35. – P. 95-100.
139. Yshii, L.M. Inflammatory CNS disease caused by immune checkpoint inhibitors: status and perspectives / L.M. Yshii, R. Hohlfeld, R.S. Liblau // *Clinical Rheumatology.* – 2018. – Vol. 37, № 4. – P. 1107–1110.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Оценка функциональных систем по Куртцке (в баллах)

Функциональная система	Балл
1	2
1. Пирамидная система	<p>0 – норма</p> <p>1 – признаки патологии без двигательных нарушений</p> <p>2 – минимальные двигательные нарушения</p> <p>3 – от легкого до умеренного парапареза или гемипареза (явная слабость, но большинство движений может выполняться непродолжительное время, слабость представляет для больного проблему); выраженный монопарез (движения практически полностью отсутствуют)</p> <p>4 – выраженный парапарез или гемипарез (движения затруднены), умеренный тетрапарез (двигательные возможности ограничены, движения могут выполняться непродолжительное время) или моноплегия</p> <p>5 – параплегия, гемиплегия или выраженный тетрапарез</p> <p>6 – тетраплегия</p>
2. Мозжечок	<p>0 – норма</p> <p>1 – патологические симптомы без координаторных нарушений</p> <p>2 – легкая атаксия (явный тремор или неловкость движений, легкие нарушения координации)</p> <p>3 – умеренно выраженная туловищная атаксия или атаксия в конечностях (тремор или неловкость движений нарушают все виды движений)</p> <p>4 – тяжелая атаксия во всех конечностях (большинство двигательных функций трудновыполнимо)</p> <p>5 – невозможность выполнения координированных движений в связи с атаксией</p>
3. Стволовые функции	<p>0 – норма</p> <p>1 – только патологические симптомы</p> <p>2 – умеренно выраженный нистагм или другие легкие нарушения</p> <p>3 – грубый нистагм, выраженная слабость наружных глазодвигательных мышц или умеренное нарушение функций или других черепно-мозговых нервов</p> <p>4 – выраженная дизартрия или какое-либо другое нарушение функций</p> <p>5 – невозможность глотать или говорить</p>

1	2
<p>4. Чувствительность</p>	<p>0 – норма 1 – снижение вибрационной чувствительности или двумерно пространственного чувства в одной или двух конечностях 2 – легкое снижение тактильной или болевой или глубокой чувствительности и/или умеренное снижение вибрационной чувствительности в одной или двух конечностях или снижение вибрационной чувствительности (двумерно-пространственного чувства) в трех или четырех конечностях. 3 – умеренное снижение тактильной или болевой или глубокой чувствительности и/или существенное снижение вибрационной чувствительности в одной или двух конечностях или легкое снижение тактильной или болевой чувствительности и/или умеренное снижение во всех пробах на глубокую чувствительность в трех или четырех конечностях 4 – выраженное снижение тактильной или болевой чувствительности или потеря проприоцептивной чувствительности, изолированные или в сочетании друг с другом в одной или двух конечностях; либо умеренное снижение тактильной или болевой чувствительности и/или грубое снижение проприоцептивной чувствительности в более чем двух конечностях. 5 – выпадение всех видов чувствительности в одной или двух конечностях или умеренное снижение тактильной или болевой и/или потеря проприоцептивной чувствительности почти на всей поверхности туловища 6 – выпадение всех видов чувствительности на туловище и конечностях</p>
<p>5. Функция тазовых органов</p>	<p>0 – норма 1 – легкая задержка мочеиспускания или императивные позывы 2 – умеренно выраженная задержка или императивные позывы на мочеиспускание или дефекацию или редко возникающее недержание мочи (периодическая самокатетеризация, сдавление руками мочевого пузыря для его опорожнения или эвакуации кала при помощи пальцев). 3 – частое недержание мочи 4 – требуется практически постоянная катетеризация (и постоянные вспомогательные меры для эвакуации стула) 5 – утрата функции мочевого пузыря 6 – утрата тазовых функций</p>

1	2
6. Функция зрения	<p>0 – норма</p> <p>1 – скотома с остротой зрения (корректируемой) выше 0.6 (20/30)</p> <p>2 – скотома на стороне худшей остроты зрения, с максимальной остротой зрения (корректируемой) от 0.6 (20/30) до 0.35 (20/59)</p> <p>3 – большая скотома на стороне худшего зрения, либо умеренное ограничение полей зрения, максимальной остротой зрения (корректируемой) от 0.35 (20/60) до 0.15-0.2 (20/99).</p> <p>4 – на стороне хуже видящего глаза выраженное ограничение полей зрения с максимальной остротой зрения (корректируемой) от 0.2 (20/100) до 0.1 (20/200); 3-я степень плюс максимальная острота зрения у лучше видящего глаза 0.35 (20/60) и ниже.</p> <p>5 – максимальная острота зрения у хуже видящего глаза (корректируемая) менее 0.1 (20/200); 4-я степень плюс максимальная острота у лучше видящего глаза 0.35 (20/60) и ниже.</p> <p>6 – 5-я степень плюс максимальная острота зрения у лучше видящего глаза 0.35 (20/60) и менее.</p>
7. Церебральные функции	<p>0 – норма</p> <p>1 – только нарушения настроения (не влияющие на балл по шкале EDSS)</p> <p>2 – легкое снижение мыслительных процессов</p> <p>3 – умеренное снижение мыслительных процессов</p> <p>4 – выраженное снижение мыслительных процессов</p> <p>5 – деменция либо некомпетентность больного</p>
8. Другие функции (какие-либо другие неврологические симптомы, связанные с РС) а) Спастичность б) Другие	<p>0 – нет</p> <p>1 – легкие (выявляемые только при специальных пробах)</p> <p>2 – умеренные (легкое нарушение функции)</p> <p>3 – выраженные (выраженные нарушения функции)</p> <p>0 – нет</p> <p>1 – другие симптомы, связанные с РС</p>

Расширенная шкала инвалидизации по Куртцке (шкала EDSS)

Балл	Описание
0.0	Норма в неврологическом статусе
1.0	Признаков инвалидизации нет. Минимальные признаки нарушений (1-ой степени) в одной функциональной системе (ФС), исключая церебральную.
1.5	Признаков инвалидизации нет. Минимальные признаки нарушений (1 степени) в более, чем одной ФС (за исключением церебральной).
2.0	Легкие признаки инвалидизации (2-ой степени) в одной ФС.
2.5	Легкие признаки инвалидизации (2-ой степени) в 2-х ФС.
3.0	Умеренные признаки инвалидизации (3-ей степени) в одной ФС. Либо легкие признаки инвалидизации (2-ой степени) в 3-х или 4-х ФС. Ходячий.
3.5	Ходячий. Умеренные признаки инвалидизации (3-ей степени) в одной ФС и в 1-2 ФС – 2-ой степени. Либо в 2-х ФС – 3 степени. Либо в 5 ФС – 2-ой степени.
4.0	Ходячий. Посторонней помощи не требуется. Самообслуживание сохранено проводит в повседневной активности около 12 часов в день. Относительно выраженные признаки инвалидизации (4-ой степени) в 1 ФС, либо сочетание меньших степеней инвалидизации, но превышающее значения предыдущих баллов. Может пройти без посторонней помощи или остановки около 500 м.
4.5	Ходячий. Посторонней помощи не требуется. Повседневная активность не нарушена. Может ходить в течение всего дня. Возможна необходимость в небольшой помощи. Относительно выраженные признаки инвалидизации (4-ой степени) в 1 ФС, либо сочетание меньших степеней инвалидизации, но превышающее значение предыдущих баллов. Может пройти без посторонней помощи или остановки около 300 м.
5.0	Может пройти без посторонней помощи или остановки 200 м. Повседневная активность нарушена. В 1 ФС – 5-ая степень, либо сочетание меньших степеней инвалидизации, превышающее значения для 4.0 баллов.
5.5	Может пройти без посторонней помощи или остановки около 100 м. Повседневная активность ограничена. В одной ФС – 5-ая степень, либо сочетание меньших степеней, но превышающих степени, оговоренные в пункте 4.0.
6.0	Ходьба с периодической/односторонней постоянной поддержкой около 100 м с или без отдыха. 3-я степень в более, чем 2-х ФС.
6.5	Ходьба с постоянной двусторонней поддержкой около 20 м без отдыха. 3-я степень более чем в 2-х ФС.
7.0	Не может пройти даже и 5 м без помощи. Прикован к инвалидной коляске, в которой передвигается самостоятельно. Посторонняя помощь не требуется. Повседневная активность в инвалидной коляске 12 часов в день. 4-ая степень более чем в 1 ФС.
7.5	Может пройти всего несколько шагов. Передвигается только в инвалидной коляске. Требуется помощь в передвижении. Не может находиться в инвалидной коляске в течение всего дня. 4-ая степень более чем в одной ФС.
8.0	Прикован к кровати/стулу или передвигается в инвалидной коляске. Может находиться вне постели большую часть дня. Основные функции самообслуживания сохранены. Активно пользуется руками. 4-ая степень в нескольких ФС.
8.5	Прикован к постели большую часть дня. В некоторой степени может пользоваться руками. Самообслуживание частичное. 4-ая степень в нескольких ФС.
9.0	Беспомощный, прикованный к постели больной. Может вступать в контакт и есть. 4-ая степень в большинстве ФС.
9.5	Полностью беспомощный, прикованный к постели больной. Не может полноценно вступать в контакт или есть/глотать. 4-ая степень фактически во всех ФС.
10.0	Смерть из-за рассеянного склероза.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Оценка неврологического статуса по шкале Scripps

Функциональные системы	Максимальное число баллов	Норма	Лёгкая	Умеренная	Выраженная
Мышление и настроение	10	10	7	4	0
Черепные нервы:	21				
острота зрения		5	3	1	0
Поля зрения, диски, зрачки		6	4	2	0
глазодвигательные функции		5	3	1	0
нистагм		5	3	1	0
Бульбарные черепные нервы	5	5	3	1	0
Двигательная сфера:	20				
правая рука		5	3	1	0
левая рука		5	3	1	0
правая нога		5	3	1	0
левая нога		5	3	1	0
Сухожильные рефлексы:	8				
верхние конечности		4	3	1	0
нижние конечности		4	3	1	0
Симптом Бабинского D, S (по 2 балла каждая сторона)	4	4	-	-	0
Чувствительность	12				
правая рука		3	2	1	0
левая рука		3	2	1	0
правая нога		3	2	1	0
левая нога		3	2	1	0
Мозжечок	10				
верхние конечности		5	3	1	0
нижние конечности		5	3	1	0
Походка, равновесие	10	10	7	4	0
Специальная категория: мочевой пузырь/кишечник, сексуальные нарушения	0	0	-3	-7	-10
Общий балл	100				

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Диагностические критерии рассеянного склероза по Мак Дональду

Клинические проявления (атаки)	Объективные очаги на МРТ	Дополнительные данные, необходимые для постановки диагноза РС
2 и более	2 и более	Не требуются; достаточно клинических проявлений (дополнительные признаки желательны, но должны соответствовать рассеянному склерозу)
2 и более	1	Рассеянность очагов в «пространстве» на МРТ3,4 или положительные данные ликвора и 2 и более очагов на МРТ, соответствующие рассеянному склерозу или ожидать следующей клинической атаки с другими клиническими проявлениями
1	2 и более	Рассеянность очагов во «времени» на МРТ или вторая клиническая атака
1 (моносимптомный дебют)	1	Рассеянность очагов в пространстве на МРТ3,4 или положительные данные ликвора и 2 или более очагов на МРТ, соответствующих рассеянному склерозу Рассеянность очагов во «времени» на МРТ или вторая клиническая атака
0 (прогрессирующая симптоматика)	1	Появление олигоклональных антител и увеличение глобулинов в ликворе Рассеянность очагов в «пространстве» на МРТ3,4: 9 и более очагов в режиме T2 - или 2 или более очагов в спинном мозге - или 4-8 очагов в головном мозге и 1 очаг в спинном мозге - или положительные ЗВП в сочетании с 4-8 очагами в головном мозге и 1 спинальным очагом Рассеянность очагов во «времени» на МРТ или продолжающееся в течение года прогрессирование заболевания