

НАО «Западно-Казахстанский медицинский
университет имени Марата Оспанова»

УДК 616.832-004.2

На правах рукописи

ХАМИДУЛЛА АЛИМА АБАЕВНА

**Клинико-иммунологическая характеристика
течения рассеянного склероза**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные руководители
доктор медицинских наук,
профессор
Г.Б. Кабдрахманова
кандидат медицинских наук,
доцент
А.П. Утепкалиева
Зарубежный консультант
PhD, MD
Slawomir Michalak
(Польша)

Республика Казахстан
Актобе, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	3
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Современные взгляды на эпидемиологические, этиопатогенетические механизмы развития рассеянного склероза.....	12
1.2 Клинические проявления и диагностика рассеянного склероза.....	16
1.3 Лечение рассеянного склероза на современном этапе.....	18
1.4 Клинические и биохимические маркеры активности рассеянного склероза.....	20
1.5 Современные представления о значении генетических факторов в развитии рассеянного склероза.....	25
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	30
2.1 Характеристика обследованных лиц.....	30
2.2 Методы исследования.....	31
2.2.1 Клинические методы исследования.....	31
2.2.2 Нейровизуализационные методы исследования.....	32
2.2.3 Иммунологические методы исследования.....	32
2.2.3.1 Интерферон-связывающие антитела (BAbs).....	32
2.2.3.2 Интерферон-нейтрализующие антитела (NAbs).....	35
2.2.3.3 Биомаркеры активности рассеянного склероза (виперин, USP18, SOS3, интерлейкин 17F).....	36
2.2.4 Статистические методы.....	36
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	38
3.1 Клиника неврологических проявлений у больных рассеянным склерозом.....	38
3.2 Результаты иммунологических методов исследования.....	40
3.3 Взаимосвязь выявленных антител к интерферонам и маркеров активности рассеянного склероза с клиническими параметрами.....	46
3.4 Обсуждение результатов исследования.....	57
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	68
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	75
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	76
ПРИЛОЖЕНИЯ	99

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001. Межгосударственный стандарт. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 15.101-98. Межгосударственный стандарт. Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ГОСТ 7.1-84. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95. ИСО 214-76. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Рассеянный склероз (РС) – это хроническое дизиммунное нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, проявляющееся мультифокальной неврологической симптоматикой, для которого характерны непрерывное прогрессирование и разные темпы инвалидизации.

Шкала EDSS (Expanded Disability Status Scale) – шкала оценки тяжести состояния больных рассеянным склерозом.

Ремиттирующий рассеянный склероз – тип течения заболевания, при котором периоды обострений завершаются полной или частичной ремиссией; вне обострения состояние больных остается стабильным.

Вторично-прогрессирующий рассеянный склероз – тип течения заболевания, характеризующийся постепенным нарастанием неврологических расстройств, на фоне которого могут наблюдаться эпизоды обострений.

Первично-прогрессирующий рассеянный склероз – тип течения рассеянного склероза, при котором с самого начала заболевания наблюдается неуклонное нарастание неврологического дефицита. Ремиссии при данной форме не наблюдаются.

Клинически изолированный синдром (КИС) – представляет собой первый эпизод развития неврологической симптоматики.

Радиологически изолированный синдром (РИС) – выявление очагов демиелинизации на МРТ снимках, соответствующих радиологическим критериям РС, однако клинических проявлений на данный момент не отмечается.

Обострение рассеянного склероза – субъективные (сообщаемые пациентом) или объективные симптомы, характерные для острого воспалительного демиелинизирующего процесса в ЦНС (фокального или мультифокального), наблюдавшиеся в прошлом или имеющиеся в настоящее время, с острым или подострым началом, длительностью не менее 24 часов, при отсутствии лихорадки или признаков инфекционного заболевания. Перечисленные симптомы должны быть подтверждены данными объективного исследования неврологического статуса, после того, как неврологическое состояние больного было стабильным или улучшалось на протяжении не менее месяца. В клинических испытаниях обострение определяется как появление симптома, ведущее к изменению тяжести заболевания (инвалидности). Два отдельных обострения должны быть разделены периодом в 30 дней от начала первого до начала второго. Средняя длительность обострения составляет 4-6 недель, варьируя от 1-2 дней до нескольких месяцев. Обострения наблюдаются при ремиттирующем (РРС). Вторично-прогрессирующее течение РС (ВПРС) может быть как с, так и без обострений.

Ремиссия рассеянного склероза – отчетливое улучшение состояния больного РС в виде уменьшения выраженности или исчезновения симптома

и/или симптомов, которое должно длиться не менее 24 часов и при длительности ремиссии более месяца она может быть определена как стойкая. Если в период от 24 часов до 1 месяца появляется новый симптом или группа симптомов или отчетливое ухудшение уже имевшихся симптомов, то это не расценивается как новое обострение, а является продолжением предыдущего и ремиссия определяется как нестойкая существенное улучшение неврологических симптомов, которые длились, как минимум, 24 часа, то есть после обострения.

Эскалация – начало лечения с препаратов первой линии ПИТРС. В случае неэффективности препаратов первой линии ПИТРС, проявляющейся частыми обострениями, прогрессированием инвалидизации или при появлении нейтрализующих антител к препаратам ИНФ-бета переходят к назначению препаратов второй линии.

Деэскалация (индукция) – назначение короткого курса препаратов с сильным воздействием при агрессивном дебюте рассеянного склероза, тяжелых обострениях с накоплением остаточного неврологического дефицита, коротких ремиссиях, активном вовлечении в патологический процесс ствола головного мозга или шейного отдела спинного мозга. В дальнейшем, после агрессивной терапии, предполагается переход на более мягкое, легкопереносимое, длительное лечение.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

РС	– Рассеянный склероз
ИФН	– Интерферон
NAbs	– Neutralizing antibodies - интерферон-нейтрализующие антитела
BAbs	– Binding antibodies - интерферон-связывающие антитела
MPT	– Магнитно-резонансная томография
ЦНС	– Центральная нервная система
ПИТРС	– Препараты, изменяющие течение РС
HLA-система	– Human Leucocyte Antigen (человеческий лейкоцитарный антиген)
TNF	– Фактор некроза опухоли
Трег	– Трег - регуляторные Т-клетки
КИС	– Клинически изолированный синдром
РИС	– Радиологически изолированный синдром
EFNS	– European Federation of Neurological Societies (Европейская федерация неврологических обществ)
ГЭБ	– Гематоэнцефалический барьер
EDSS	– Expanded Disability Status Scale - расширенная шкала инвалидизации
ЦСЖ	– Церебро-спинальная жидкость
MxA	– Белок резистентности к миксовирусу А
TRAIL	– Индуцируемый опухолевым фактором лиганд
Виперин	– Viperin - virus inhibitory protein, endoplasmic reticulum-associated, interferon-inducible (противовирусный белок, связанный с эндоплазматическим ретикуломом, интерферон-индуцируемый)
USP18	– Убиквитин-специфическая пептидаза-18
SOCS	– Suppressor of cytokine signaling (супрессор цитокиновой сигнализации)
IL	– Интерлейкин
ФС	– Функциональная система
NEDA	– No evidence of disease activity (нет проявлений активности заболевания)
BREMS	– Bayesian Risk Estimate for Multiple Sclerosis score (Байесовская шкала оценки риска для рассеянного склероза)
PPV	– Positive predictive value (прогностическая ценность положительного результата)
NPV	– Negative predictive value (прогностическая ценность отрицательного результата)
RLU	– Relative Light Unit (единица относительного света)
ELISA	– Enzyme-linked immunosorbent assay (твердофазный иммуносорбентный анализ)
ROC-анализ	– Receiver Operating Characteristics analysis (анализ «рабочей характеристики приемника»)

AUC – Area under the ROC-Curve (площадь под кривой)
Se – Sensitivity (чувствительность)
Sp – Specificity (специфичность)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Рассеянный склероз (РС) представляет собой актуальную медицинскую и социально-значимую проблему во всем мире. Это связано с тем, что РС поражает лиц молодого возраста, неизбежно приводя к развитию нетрудоспособности [1, 2]. В последние десятилетия отмечается увеличение заболеваемости РС, а также омоложение данного контингента больных [3].

РС является одним из самых «дорогостоящих» заболеваний. Затраты, связанные с лечением больных РС, объединяют затраты на непосредственно медицинскую помощь и на социальную поддержку. В Великобритании ежегодно на лечение больных РС затрачивается 1,2 млрд. фунтов стерлингов, из которых 150 млн приходится непосредственно на медицинскую помощь, а 300 млн – на социальную поддержку. «Стоимость» РС напрямую связана со степенью инвалидизации больных. В среднем, в европейских странах ежегодно на одного пациента с легкой степенью инвалидизации затрачивается около 17-18 тыс. евро, а лечение больных с тяжелой степенью инвалидизации требует, по данным ряда авторов, от 23 000 до 62 000 евро [4].

Несмотря на достижения в области современной клинической нейрофизиологии, нейроиммунологии и нейрогенетики, все еще полностью не раскрыты вопросы этиологии и механизмов развития РС, не выявлены патогномоничные признаки заболевания, позволяющие со 100-процентной уверенностью диагностировать РС [5].

По-прежнему лечение РС остается одной из актуальных проблем. Выраженная гетерогенность ответа на проводимую терапию требует разработки простых методов оценки активности заболевания и эффективности данного лечения. Это позволит выстроить правильную тактику лечения для конкретного пациента, т.к. подбор подходящего препарата с использованием иммунологических и генетических исследований лежит в основе персонализированного подхода к терапии РС [6].

Интерфероны-бета (ИНФ-бета) считаются наиболее эффективными препаратами первой линии для лечения ремиттирующего РС [7]. Несмотря на то, что имеются долгосрочные результаты по эффективности и безопасности ИНФ-бета, исследования показывают, что у 30-40% пациентов РС, получающих ИНФ-терапию могут развиваться нейтрализующие антитела (NAbs) к ИНФ-бета [8, 9], которые снижают биодоступность ИНФ-бета, приводя к снижению эффективности проводимой терапии. В среднем NAbs формируются в течение 6-18 месяцев от начала терапии, опережая клинические симптомы прогрессирования заболевания [10, 11]. Постоянно высокие титры NAbs могут снизить биологическую активность ИНФ-бета, что проявляется увеличением числа обострений, прогрессированием заболевания и продолжающейся активностью заболевания по данным МРТ [12-16]. Их образование является предиктором прогрессирования заболевания в следующие 5 лет, а риск развития обострений при их обнаружении увеличивается на 50% [17]. Кроме того, для выявления пациентов, которые отвечают на ИНФ-бета, целесообразно

использовать биомаркер, который индуцируются в ответ на введение ИНФ-бета. К белкам, относительно специфичным для ИНФ-бета, относятся: белок резистентности к миксовирусу А, β -2 микроглобулин, неоптерин, олигоаденилсинтетаза [18-20], индуцируемый опухолевым фактором лиганд [21], виперин [22, 23].

В настоящее время ведется активный поиск биомаркеров РС, способных прогнозировать развитие заболевания, определить активность и темп прогрессирования заболевания, оценить эффективность проводимой терапии. Изучение биомаркеров РС поможет лучше понять механизмы развития заболевания, что способствует разработке новых терапевтических стратегий, воздействуя на различные патогенетические этапы развития РС: воспаление, дегенерацию и регенерацию [24]. Выявление биомаркеров РС является сложной медико-биологической задачей. Для решения данной проблемы необходимо проведение исследований с применением современных методов диагностики [25].

На сегодняшний день отсутствуют данные о формировании NAb у больных РС в Республике Казахстан. С целью изучения содержания связывающих и нейтрализующих антител к ИНФ-бета, а также для выявления биомаркеров активности течения РС мы провели данное исследование.

Полученные результаты могут быть использованы для дальнейшей разработки алгоритма выявления пациентов с недостаточным ответом на ИНФ-терапию и подбора оптимального лечения больных РС со своевременной коррекцией проводимой терапии.

Цель исследования:

Изучить влияние интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител и биомаркеров активности РС на клиническое течение заболевания.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние интерферонотерапии на клиническое течение заболевания у больных рассеянным склерозом
2. Определить содержание интерферон-связывающих (BAbs), интерферон-нейтрализующих антител (Nabs) и биомаркеров активности РС - виперина, USP-18, SOCS3 и IL17F у исследуемых больных.
3. Оценить влияние интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител и биомаркеров активности рассеянного склероза на течение заболевания.
4. Определить прогностические уровни биомаркеров активности рассеянного склероза для мониторинга эффективности проводимой терапии.

Научная новизна:

Впервые проведено исследование интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител, биомаркеров активности и прогрессирования заболевания у больных РС в Республике Казахстан. Изучена взаимосвязь иммунологических показателей с клиническим течением заболевания. Впервые изучено клиническое значение экспрессии виперина как прогностического фактора в отношении частоты обострений у больных РС.

Практическая значимость:

Проведенное научное исследование позволяет выявить взаимосвязь между нейтрализующими антителами к ИНФ-бета, биологическими маркерами активности РС с клиническими проявлениями заболевания. Результаты работы имеют практическую значимость: выявление изменений показателей биомаркеров активности РС могут служить индикатором неэффективности ранее проводимого лечения и основанием для пересмотра терапии больных РС. Результаты научной работы могут быть использованы во всех неврологических учреждениях для разработки алгоритмов определения эффективности проводимой терапии, а также для разработки локальных протоколов диагностики и лечения РС.

Полученные результаты научного исследования могут быть использованы в образовательном процессе (лекции, практические занятия) при освоении дисциплины «Неврология».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. На фоне интерферонотерапии снижается количество обострений и степень инвалидизации по шкале EDSS у больных рассеянным склерозом.

2. Частота формирования интерферон-связывающих антител составляет 35%, интерферон-нейтрализующих антител 30%. На фоне интерферонотерапии повышается содержание SOCS3, USP-18; показатели вилерина и IL17F не меняют своих значений в течение года наблюдения.

3. У больных РС со связывающими антителами средний балл инвалидизации по шкале EDSS ниже, чем у больных без связывающих антител. Показатели вилерина положительно коррелируют с частотой обострений. Уровень вилерина у больных с обострениями выше, чем у больных без обострений. Показатели USP18, SOCS3 отрицательно коррелируют с уровнем инвалидизации. Нейтрализующие антитела и IL17F не оказывают значимого влияния на течение заболевания в краткосрочном исследовании.

4. Уровень вилерина более 0,2 ng/ml является показателем риска развития обострения рассеянного склероза и может применяться как дополнительный маркер мониторинга эффективности проводимого лечения.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены на расширенном заседании научно-проблемной комиссии ЗКГМУ им. М. Оспанова.

Результаты проведенного исследования доложены на:

- международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики и лечения болезней нервной системы» (22 апреля 2016 г. Шымкент, Казахстан);

- LVI научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, посвященной 25-летию Независимости Республики Казахстан (27 апреля 2016 г. Актобе, Казахстан);

- на межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Вопросы междисциплинарной клинической неврологии» (4 марта 2017 г. Орнебург, РФ);

- VII ежегодной международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы медицины» (1-2 мая 2018 г. Баку, Азербайджан);
- Международном Конгрессе стран Тюркского мира по рассеянному склерозу (14-17 февраля 2019 г. Анкара, Турция).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 10 научных печатных работ, из них 1 статья - в издании индексируемом в информационной базе Scopus – «Georgian Medical News» (SJR=0,14 в 2017); 4 статьи - в изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки РК; 4 тезиса – в сборниках международных конференций (в том числе зарубежных – 2 и индексируемых в базе Scopus - 1).

Внедрение результатов исследования. Материалы исследования внедрены в практическое здравоохранение – в работу отделения неврологии Государственного Коммунального Предприятия «Больница скорой медицинской помощи» на Праве Хозяйственного Ведения г. Актобе. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры неврологии (Приложение А).

Личный вклад автора. Разработка цели и задач научного исследования, проведение набора данных и обследования пациентов, непосредственный анализ регистрационных карт пациентов больных РС, проведение иммунологических исследований, статистическая обработка результатов исследования, формулирование выводов и рекомендаций.

Структура и объем диссертации. Объем диссертации – 98 страниц машинописного текста, включая титульный лист, содержание, нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, основная часть, заключение, выводы, практические рекомендации и список использованных источников. В конце диссертации приложения. Структура диссертации: разделов - 3, рисунков - 13, таблиц - 23. Список использованных источников - 324.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные взгляды на эпидемиологические, этиопатогенетические механизмы развития рассеянного склероза

РС – это хроническое дизиммунное нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы (ЦНС), проявляющееся мультифокальной неврологической симптоматикой, для которого характерны непрерывное прогрессирование и разные темпы инвалидизации [26]. В последние годы наблюдается рост заболеваемости РС во всем мире, в настоящее время насчитывается около 3 млн. больных РС [27]. При этом женщины болеют в 1,5-2 раза чаще мужчин. Средний возраст начала заболевания 20-50 лет. По данным Всемирной организации здравоохранения среди неврологических заболеваний РС является одной из основных причин стойкой инвалидизации лиц молодого возраста [28, 29].

В последнее время имеет место значительное повышение распространенности РС во всем мире. Это связано как с истинным увеличением частоты заболевания, так и с улучшением методов диагностики, позволяющих выявить заболевание на ранних стадиях, внедрением в клиническую практику препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС), совершенствованием медико-социальной реабилитации больных РС и увеличением продолжительности жизни больных. К причинам истинного роста числа РС можно отнести высокий уровень загрязнения воздуха в промышленных городах [30], распространение вредных привычек, большая частота использования искусственного вскармливания новорожденных, изменения в диете городских жителей приводящих к нарушению иммунорегуляции [31, 32].

РС является одним из самых «дорогостоящих» заболеваний в мире. Несмотря на то, что исследования по экономическим затратам РС в различных странах дают различные результаты, бремя, накладываемое РС очевидно. Показатели среднегодовых затрат, связанных с РС варьируют в различных странах от 22 486 евро на человека с РС в год во Франции до 84 384 евро в Норвегии [33, 34].

Затраты, связанные с лечением больных РС объединяют затраты на непосредственно медицинскую помощь и на социальную поддержку. В Великобритании ежегодно на лечение больных РС затрачивается 1,2 млрд. фунтов стерлингов, из которых 150 млн. приходится непосредственно на медицинскую помощь, а 300 млн. – на социальную поддержку. «Стоимость» РС напрямую связана со степенью инвалидизации больных, увеличиваясь приблизительно в семь раз с €16.000€ при EDSS от 0-1 баллов до €116.000 при 8-9 баллов, причем большая часть финансового бремени ложится на самих пациентов – от 74-88% [35-37].

Распространенность РС в разных странах неодинакова. Выявлена прямая зависимость между частотой встречаемости заболевания и географическим расположением территории. Так, частота заболеваемости уменьшается с Севера на Юг по мере приближения к экватору. Самые высокие показатели распространенности РС обычно обнаруживаются между 45 и 65 градусами

северной широты [38]. Та же закономерность обнаружена в южном полушарии. Болезнь очень редко встречается на экваторе.

В зависимости от географической широты выделяют три зоны распространенности РС (Kurtzke JF1993): зоны высокого риска (30 и более случаев на 100 тыс. населения), зоны среднего риска (5-29 на 100 тыс.) и зоны низкого риска (менее 5 на 100 тыс.). К регионам с высокой распространенностью РС относят Канаду, Северную Америку, большую часть Северной Европы, Новой Зеландии, юго-восток Австралии и Израиль. Зоны среднего риска включают южную Европу, южную часть Соединенных Штатов и северную Австралию. К зоне низкого риска принято относить Азию, большую часть Африки и Южную Америку [39]. В результате многочисленных исследований, выявивших высокие показатели распространенности РС в некоторых странах (до 300 случаев РС на 100 тыс. населения), Brett J. (2014) рекомендует расширить трехзонную шкалу распространенности до пяти: 0-13 – очень низкий; 13-38 – низкий; 38-70 – средний; 70-170 – высокий; 170-350 на 100 тыс. населения – очень высокий риск. Согласно данной шкале такие страны, как Англия, Германия, Швейцария с коэффициентом распространенности 100-150 случаев на 100 тыс. будут классифицированы как страны «высокого» риска, а страны с показателем до 350 на 100 тыс. населения (Канада, Норвегия, Швеция, Шотландия, Ирландия) отнесены к «очень высокому» риску, хотя по предыдущей классификации они принадлежали к одной зоне распространенности. К категории очень низкого риска следует отнести Малайзию, Тайланд и большинство стран Африки с нулевым или очень низким уровнем распространенности с целью отделения их от таких стран, как Аргентина, Уругвай, Новая Зеландия, где распространенность РС достигает от 13 до 38 случаев на 100 тыс. [40].

По литературным данным показатель распространенности РС в Норвегии составил 203 на 100 тыс. населения [41]. Новая Зеландия является страной с высоким уровнем риска РС с общей распространенностью 73,1 на 100 тыс. населения [42]. Распространенность РС в Северной Америке и Европе составляет приблизительно 100-250 [43], в латиноамериканских странах 1-22 на 100 тыс. [44]. Россию можно отнести к зоне со средним риском РС, с показателем распространенности 30-70 на 100 тыс. населения [45]. Эквадор является страной с низкой распространенностью РС. При этом, наблюдается разная частота встречаемости данного заболевания в разных регионах страны от 0,75 до 5,05 на 100 тыс. населения [46]. Распространенность РС в Китае и Японии составляет 1,39 и 7,7 на 100 тыс. населения соответственно. Rosati G. (2001) отметил, что среди туркмен, казахов, киргизов, коренных сибиряков, северных и южных индейцев, китайцев, японцев РС встречается достаточно редко [47].

С 1970-х годов было признано, что пациенты с РС в Азии имеют разные клинические особенности по сравнению с больными РС в Северной Америке и Европе. Это позволило выделить так называемый азиатский тип РС. Основные различия заключались в более низкой распространенности, редких семейных случаях, в более тяжелом поражении зрительного нерва и спинного мозга,

частых обострениях в зрительном нерве и спинном мозге, меньшем поражении головного мозга и мозжечка, в более низкой доле прогрессирующего течения заболевания и низкой частоте положительных олигоклональных полос [48]. Например, олигоклональные антитела в цереброспинальной жидкости пациентов в северной Европе выявляются в 95% наблюдений, на Дальнем Востоке – в 35-45%. В исследовании Kenji et al. (1996) отмечают выборочное поражение оптического нерва и спинного мозга у японских больных. Несмотря на идентичность в проводимой терапии, у пациентов РС в Японии отмечалась более низкая степень инвалидизации по сравнению с больными РС в Англии [49]. У пациентов с азиатским типом РС по сравнению с пациентами с европейским типом РС было меньше очагов в головном мозге при проведении МРТ, но больше контрастируемых гадолинием очагов в спинном мозге (47% против 17%). Также была выявлена четкая взаимосвязь между аллелями DRB1*1501 и DRB5*0101с европейским типом РС (41,2%). При этом, не было выявлено корреляции данных аллелей с азиатским типом РС (0%) [50].

В настоящее время этиология РС остается до конца невыясненной. Согласно данным многочисленных исследований предполагается, что в развитии РС большую роль играет аутоиммунный механизм, обусловленный активацией Т-лимфоцитов, в результате чего в организме развивается аутоиммунный процесс, направленный на повреждение белков и липидов миелиновой оболочки [51, 52].

Существующие на сегодняшний день данные позволяют определить РС как полигенное мультифакторное заболевание, предрасположенность к которому обусловлена взаимодействием различных вариаций генов с факторами окружающей среды [53, 54].

Большую роль в запуске иммунной реакции в ответ на внедрение любого антигена играет – HLA-система (Human Leucocyte Antigen). Эта система представляет собой набор аллелей генов, располагающийся на 6-ой хромосоме, и обуславливает различие иммунных реакций каждого человека [55, 56].

Факторами окружающей среды, установленными как наиболее связанными с повышенным риском развития РС, считаются вирусные инфекции [57], снижение уровня витамина D [58], курение [59].

Определенный вирус, вызывающий развитие РС не выявлен, но среди вирусных инфекций большая роль отводится герпес-вирусам [60, 61], вирусу Эпштейна-Барра [62]. Также предполагается, что причиной могут быть вирус кори [63], ретровирус, передающийся половым путем [64].

О роли вирусных инфекций в развитии РС свидетельствуют так называемые «микроэпидемии» РС. Наиболее известная «микроэпидемия» описана на Фарерских островах, где до 1941-1942 гг. не было зафиксировано ни одного случая РС. После оккупации островов британскими войсками, в период с 1943 по 1982 годы были зарегистрированы случаи РС. Данный феномен связывают с занесением на данную территорию инфекционных агентов [65]. Также подобные «микроэпидемии» отмечались во второй половине XX века в Англии, на острове Сардиния (Италия), в Польше, США (штат Флорида), в Чехии и провинции Ходаланд (Норвегия) [66].

В ряде исследований высказано предположение о связи курения с более высоким риском развития РС [67], ранним переходом ремиттирующего РС во вторично-прогрессирующий РС и худшим долгосрочным прогнозом [68]. Механизм влияния курения на нервную систему, вероятно, связан с нейротоксическим действием табачного дыма, который влияет на процессы демиелинизации, аксональной дегенерации, подавляя при этом производство интерферонов и оксида азота [69-72]. Также была выявлена ассоциация курения с появлением нейтрализующих антител к интерферонам бета и к натализумабу, что снижает эффективность терапии. Прекращение курения значительно снижает риски, связанные как с РС, так и с другими заболеваниями и смертностью [73, 74].

Одним из факторов риска развития РС рассматривается недостаток витамина D. Витамин D участвует в иммунопатологических реакциях, подавляя избыточную активность CD3+-Т-клеток, которые повреждают миелин [75, 76]. Низкие уровни витамина D в сыворотке крови коррелировали с увеличением числа обострений и прогрессированием инвалидизации. Также прослеживалась обратная связь между концентрацией витамина D и количеством активных очагов на МРТ. Низкий уровень 25-гидроксивитамина D ассоциировался с ранним переходом КИС в достоверный РС [77-80].

В основе развития РС лежит аутоиммунный процесс, связанный с нарушением толерантности Т-лимфоцитов к компонентам миелина. В настоящее время в патогенезе РС выделяют 2 фазы: развитие воспалительной реакции в ЦНС и нейродегенерация. Воспаление включает в себя активацию клеток иммунной системы, их проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и разрушение миелинового волокна. Нейродегенеративные процессы, развивающиеся вне стадии обострения РС, сопровождаются повреждением и гибелью не только аксонов, но и самих нейронов [81, 82].

Для развития аутоиммунного повреждения необходимым условием является активация аутореактивных Т-лимфоцитов (CD4+) в периферической крови специфическими антигенами, которые представляются антиген-презентирующими клетками. После антиген-презентирования Т-лимфоциты дифференцируются в Т-хелперы 1-го и 2-го типа: Th1 секретируют провоспалительные цитокины и Th2 – противовоспалительные [83]. Активированные аутоагрессивные Т-лимфоциты мигрируют через гематоэнцефалический барьер в ЦНС при участии хемокинов, молекул адгезии, протеаз [84]. Там они реактивируются аутоантигенами миелина и секретируют провоспалительные цитокины: ИФН-гамма, фактор некроза опухоли (ФНО)- α , лимфотоксин и др. ИФН-гамма активирует макрофаги, которые разрушают миелиновую оболочку аксонов, ФНО- α может оказывать прямое повреждающее действие на олигодендроциты. Повреждение олигодендроцитов приводит к нарушению их миелинообразующей функции и демиелинизации нервного волокна [85, 86].

В патогенезе РС участвуют процессы не только клеточного, но и гуморального иммунитета, опосредованного В-клетками [87, 88]. В-лимфоциты вырабатывают антитела к белкам и липидам миелиновой оболочки, активируя

систему комплемента, что приводит к протеолизу белков миелина и олигодендроцитов [89]. Дальнейшее повреждение, связанное с накоплением продуктов свободнорадикального окисления, оксида азота, протеолитическими ферментами носит цитотоксический характер и приводит к дегенерации нервного волокна [90, 91]. После воспалительной демиелинизации наступает ремиссия. Во время ремиссии повышается уровень экспрессии противовоспалительных цитокинов (интерлейкины - 4,5,10), которые обладают нейропротективным эффектом и участвуют в процессе ремиелинизации [92].

Ряд авторов описывают регуляторные Т-клетки CD4+CD25+Foxp3+ (Трег), которые участвуют в подавлении патологического иммунного ответа при аутоиммунных заболеваниях. Выявлено значительное снижение количества Трег в периферической крови больных РС в стадии обострения и их достоверное повышение во время ремиссии, чем больше длительность заболевания, тем ниже количество Трег [81, с. 11; 93].

Таким образом, патогенез РС заключается в развитии воспалительных и нейродегенеративных изменений в ЦНС с преобладанием того или иного процесса на разных стадиях заболевания [94, 95].

1.2 Клинические проявления и диагностика рассеянного склероза

В настоящее время клинические формы РС выделяют на основе типа течения заболевания: ремиттирующий РС, вторично-прогрессирующий РС, первично-прогрессирующий РС и первично-прогрессирующий РС с обострениями. В начальном периоде заболевания у 85-90% больных отмечается ремиттирующее течение, при котором периоды обострений завершаются полной или частичной ремиссией; вне обострения состояние больных остается стабильным [96]. По мере прогрессирования течение РС трансформируется во вторично-прогрессирующий РС, характеризующийся постепенным нарастанием неврологических расстройств, на фоне которого могут наблюдаться эпизоды обострений [97]. Первично-прогрессирующий РС встречается в 10-15% случаев. При этом с самого начала заболевания наблюдается неуклонное нарастание неврологического дефицита. Ремиссии при данной форме не наблюдаются. При первично-прогрессирующем РС с обострениями отмечается прогрессирующее нарастание неврологической симптоматики с самого начала заболевания, на фоне которого наступают обострения. Данная клиническая форма встречается редко, в 3-5% [41, с. 17; 98, 99].

Также отдельно выделяют клинически изолированный синдром (КИС) и радиологически изолированный синдром (РИС). КИС представляет собой первый эпизод развития неврологической симптоматики. Результаты исследований выявили высокий риск перехода КИС в клинически достоверный РС: в течение первых 3-х лет у 50-60% пациентов с КИС развивается клинически достоверный РС [100]. При РИС на МРТ снимках выявляются очаги демиелинизации, соответствующие радиологическим критериям РС, однако клинических проявлений на данный момент не отмечается [101, 102].

В клинической картине РС выявляют разной степени выраженности симптомы поражения пирамидных, мозжечковых и чувствительных путей, отдельных черепных нервов, нарушение функций тазовых органов, также могут часто встречаться когнитивные нарушения, утомляемость, болевые синдромы [103].

При ретробульбарном неврите отмечается снижение остроты зрения, ощущение тумана перед глазами, центральные и периферические скотомы, концентрическое сужение полей зрения, нарушение цветового восприятия. Во время обострения на глазном дне изменений не выявляется. Через несколько недель зрение постепенно улучшается. В этот период выявляется феномен «клинического расщепления» в оптической сфере: побледнение височной половины или всего диска зрительного нерва при сохранении зрительных функций [104, 105].

Вследствие интенционного дрожания глазодвигательных мышц у больных РС развивается нистагм. Межъядерная офтальмоплегия связана с поражением медиального продольного пучка в стволе мозга и характеризуется снижением конвергенции и нарушением функции медиальной прямой мышцы при взгляде в сторону, противоположную очагу поражения [106].

Поражение мозжечка встречается в $\frac{3}{4}$ случаев и проявляются нарушением походки, дисметрией, дисдиадохокinezом, интенционным тремором конечностей. Интенционное дрожание речевой мускулатуры делает речь больного прерывистой «скандированной». Интенционный тремор, нистагм и скандированная речь составляют классическую триаду Шарко, характерную для РС, а в пентаду Марбурга еще входят побледнение височных половин дисков зрительных нервов и выпадение брюшных рефлексов [107].

Нарушения чувствительности могут проявляться парестезией и гипестезией. В результате демиелинизации проводников глубокой чувствительности в задних столбах возникает симптом Лермитта – ощущение прохождения электрического тока по позвоночнику при наклоне головы [108].

Двигательные нарушения занимают ведущее место среди проявлений заболевания и тяжело инвалидизируют больных. Повышение мышечного тонуса по спастическому типу является следствием демиелинизации кортико-спинальных путей, проявляется нарушением активных движений. Признаком поражения пирамидного пути является наличие патологических знаков, сухожильно-надкостничная гиперрефлексия, снижение или отсутствие брюшных рефлексов в сочетании с другими симптомами РС [109].

Синдром расстройств функций тазовых органов проявляется нарушением мочеиспускания, дефекации и эрекции. Нарушения акта мочеиспускания относят к числу весьма тяжелых инвалидизирующих осложнений неврологических заболеваний, которое значительно снижает качество жизни больных [110].

Нарушение нейропсихологических функций складываются из когнитивно-мнестических функций в виде ухудшения памяти и внимания, нарушения логического мышления, замедленного усвоения информации и

психоэмоциональных расстройств, проявляющихся депрессией, эйфорией со снижением критики [111, 112].

Отличительной особенностью клинической картины РС является синдром «клинической диссоциации», который отражает несоответствие между симптомами поражения одной или нескольких систем. Например, мышечная слабость без сухожильной гиперрефлексии; отсутствие патологических знаков при нижнем спастическом парапарезе; угасание поверхностных при сохранности глубоких брюшных рефлексов; значительное снижение зрения при неизменном глазном дне при наличии оптического неврита или выраженные изменения на глазном дне, изменение полей зрения и наличие скотом при нормальной остроте зрения [113].

Первые клинические признаки РС основывались на объективных неврологических клинических признаках, подтверждающих «рассеивание во времени и в пространстве». В 1983г. С. Poser et al. предложили критерии, подтверждающие диагноз, с использованием параклинических методов исследования - выявление олигоклональных антител групп иммуноглобулина G в спинномозговой жидкости и исследования вызванных потенциалов головного мозга для выявления субклинических очагов [114, 115].

По мере широкого применения МРТ, на смену критериям С. Poser в 2001 году международной экспертной группой были предложены «критерии Мак-Дональда». В 2005, 2010 гг. эти данные были дополнены рекомендациями по оценке диссеминации патологического процесса во времени и уточнениями значения спинальных очагов. Новые критерии позволяют ускорить диагностику заболевания с максимальной точностью. Также учитывают наличие клинических проявлений, объективных клинических признаков поражения нервной системы и дополнительные методы исследования, необходимых для установления диагноза. Последние дополнения были внесены от 2017г. и включают два наиболее значимых изменения: ранняя диагностика рассеянного склероза может быть выполнена у пациентов с КИС при наличии диссеминации в пространстве, наличии олигоклональных антител, и не требует доказательств диссеминации во времени; симптомные и/или асимптомные МРТ очаги, за исключением очагов зрительного нерва, могут рассматриваться с позиции диссеминации в пространстве и во времени [116-120].

1.3 Лечение рассеянного склероза на современном этапе

Лечение РС является сложным процессом, который обусловлен гетерогенностью течения и активности заболевания. Единого метода лечения, который бы останавливал активность РС у всех пациентов нет. Предложены алгоритмы, помогающие врачу выбрать терапию, наиболее подходящую конкретному пациенту на каждой стадии заболевания.

Терапия РС складывается из купирования обострений, назначения симптоматического лечения и применения иммуномодулирующих средств.

Согласно стандартам лечения РС, принятым EFNS (European Federation of Neurological Societies - Европейской федерации неврологических обществ), методом купирования обострений РС является проведение кортикостероидной

внутривенной пульс-терапии: 1-2 г метилпреднизолона в течение 5 дней без последующего назначения перорального приема преднизолона [121].

Учитывая патоморфологические изменения, развивающиеся при РС, и патогенез заболевания, современный алгоритм лечения включает 4 группы препаратов. К препаратам I ряда относятся интерфероны-бета (ИНФ-бета) и глатирамера ацетат (копаксон); II ряда – моноклональные антитела (натализумаб и др.), цитостатик - митоксантрон, иммуномодулятор - финголимод (гиления) и лаквинимод; III ряда – иммуноглобулины для внутривенного введения, циклофосфамид; IV – препараты, находящиеся на стадии клинических исследований [122, 123].

ИНФ-бета 1a и 1b являются препаратами первого выбора в патогенетическом лечении РС [124]. Эффективность данных препаратов в отношении снижения частоты обострений, замедления скорости прогрессирования и уменьшения возникновения новых очагов на МРТ головного и спинного мозга показана в многочисленных международных мультицентровых клинических исследованиях [125-127]. Механизм действия интерферонов заключается в снижении продукции провоспалительных цитокинов, замедлении пролиферации Т-клеток и в стимуляции выработки противовоспалительных цитокинов [128, 129]. Также, воздействуя на активность матриксных металлопротеиназ и молекул адгезии, ИНФ-бета препятствуют проникновению Т-клеток через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) в ЦНС. Кроме того, ИНФ-бета влияют на синтез фактора роста астроцитами, оказывая иммуномодулирующее действие [130-132].

Глатирамера ацетат действует на самое начальное звено патогенеза РС, образуя с главным комплексом гистиосовместимости II класса прочную связь, вытесняя из тримолекулярного комплекса другие аутоантигены, являясь ложной мишенью для активированных аутоагрессивных Т-лимфоцитов [133]. Глатирамера ацетат влияет на дифференциацию Т-клеток в сторону противовоспалительных цитокинов - интерлейкины – 4, 10, фактор некроза опухоли – бета и др., обеспечивающих протективный эффект [134]. Результаты исследований показали, что препарат не только способствует урежению обострений, но и замедляет нарастание инвалидизации [135].

Натализумаб (тизабри) – гуманизированное моноклональное антитело и антогонист $\alpha 4$ -интегрина, который препятствует миграции лейкоцитов через ГЭБ в очаги воспаления, подавляет воспалительную активность в пораженных тканях, влияет на взаимодействие клеток в тканях ЦНС. Применяется в дозе 300 мг, вводится внутривенно в виде инфузии один раз в 4 недели. При длительном применении натализумаба повышается риск развития прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии и других оппортунистических инфекций [136-138].

Финголимод (гиления) является модулятором сфингозин-1-фосфат рецепторов. Связываясь с S1P1-рецепторами, он предотвращает выход лимфоцитов из лимфатических узлов, тем самым препятствует проникновению аутоагрессивных лимфоцитов через ГЭБ в ЦНС. Принимают препарат ежедневно в дозе 0,5 мг per os [139].

Митоксантрон представляет собой цитотоксический препарат, который прерывает синтез ДНК и тем самым прекращает пролиферацию лейкоцитов. Митоксантрон может привести к снижению частоты обострений до 80%, но его длительное применение вызывает угнетение функций костного с развитием стойкой лейкопении, а также осложняется риском развития кардиомиопатии. Рекомендованная в настоящее время схема лечения – 12 мг/м² [140, 141].

Терифлуномид – ингибитор дигидрооротат дегидрогеназы – митохондриального фермента, участвующего в синтезе пириимидина в пролиферирующих клетках, что приводит к противовоспалительному эффекту, снижая количество Т- и В-лимфоцитов. В то же время терифлунамид не влияет на деление гемопоэтических клеток. Рекомендован в дозе 7 и 14 мг. [142, 143].

Диметил-фумарат – производное фумаровой кислоты, участвует в окислительно-восстановительных процессах тканевого дыхания. Оказывает противовоспалительный и нейропротективный эффект [144].

В настоящее время приняты 2 основные стратегии назначения препаратов для патогенетического лечения РС: эскалация и деэскалация (индукция). Под эскалацией понимают начало лечения с препаратов первой линии ПИТРС. В случае неэффективности препаратов первой линии ПИТРС, проявляющейся частыми обострениями, прогрессированием инвалидизации или при появлении нейтрализующих антител к препаратам ИНФ-бета переходят к назначению препаратов второй линии. Деэскалация может применяться в следующих случаях: агрессивный дебют РС, тяжелые обострения с накоплением остаточного неврологического дефицита, короткие ремиссии, активное вовлечение в патологический процесс ствола головного мозга или шейного отдела спинного мозга. В подобных случаях назначается короткий курс препаратов с сильным воздействием. В дальнейшем, после агрессивной терапии, предполагается переход на более мягкое, легкопереносимое, длительное лечение. На сегодняшний день препаратами выбора для индукции могут быть митоксантрон, натализумаб, иммуносупрессоры, кладрибин, алемтузумаб. При выборе тактики лечения необходимо ориентироваться на клинические данные (активность и тяжесть РС, тип течения) и параклинические критерии, в первую очередь МРТ и биомаркеры (иммунологические, биохимические и др.) [122, с. 80; 145-149].

Лечение РС – это сложный, длительный процесс. Существующие методы лечения позволяют с различной степенью эффективности уменьшить риск обострений, замедлить прогрессирование заболевания, отсрочить инвалидизацию. Вопрос лечения РС требует дальнейшего изучения и проведения исследований по изучению эффективности существующих препаратов и разработке новых методов лечения.

1.4 Клинические и биохимические маркеры активности рассеянного склероза

ИНФ-бета являются хорошо изученным ПИТРС. Применение ИНФ-бета при РС снижает частоту обострений на 40% [150-152]. Раннее назначение ИНФ-бета у пациентов с КИС увеличивает время до первого рецидива и

перехода в достоверный РС, а также снижает прогрессирование инвалидизации [153, 154]. Несмотря на лечение, у части пациентов продолжает сохраняться как клиническая, так и рентгенологическая активность заболевания [155].

Прогрессирование инвалидизации является ключевым показателем долгосрочного эффекта ПИТРС и может определяться разными способами: устойчивое увеличение показателя степени инвалидизации по шкале инвалидизации EDSS; время до перехода во ВПРС; время до достижения 4,0 или 6,0 баллов по шкале инвалидизации EDSS; изменение баллов в нескольких функциональных системах по шкале повреждений Куртцке. Однако, стойкое увеличение на 1,0 балл и более, сохраняющееся при 2-х последовательных посещениях с интервалом в 6 месяцев признается как точный показатель отсутствия ответа на ИНФ-бета-терапию [156, 157].

Для оценки эффективности проводимого лечения при РС, наряду с клиническими параметрами, очень важным является проведение МРТ, т.к. появление новых активных очагов на МРТ выявляется примерно в 5-10 раз чаще, чем клинические обострения [41, с. 11]. В основе МРТ-мониторинга при РС лежит оценка воздействия ИНФ на патогенетические звенья развития заболевания. Как известно, одним из направлений действия ИНФ является их влияние на молекулы адгезии и матриксные металлопротеазы, способствующее снижению проницаемости ГЭБ и предотвращению появления новых очагов демиелинизации. При неэффективности ИНФ процессы демиелинизации будут прогрессировать и отражаться в картине МРТ в виде новых активных очагов [158, 159].

Снижение или отсутствие ответа на ИНФ-терапию можно частично объяснить формированием нейтрализующих антител [160-162], что в большинстве случаев объясняется генетическими индивидуальными особенностями ответа на проводимую терапию [163]. Решающим моментом в определении чувствительности к интерферонотерапии и анализе активности болезни является тестирование на нейтрализующие антитела к интерферону-бета и определение биомаркеров активности РС.

ИНФ-бета, как и другие лекарственные средства белковой природы (ИНФ- α , эритропоэтин, VIII фактор свертывания крови, человеческий инсулин), полученные путем рекомбинации генов, могут быть иммуногены. Выработка антител к ИНФ-бета связана с нарушением иммунной толерантности к собственным антигенам. Нарушение иммунной толерантности, в свою очередь, вызывается при повторяющемся предоставлении аутоантигена иммунной системе в течение нескольких месяцев [164]. Наиболее вероятной причиной индукции толерантности к ИФН-бета могут быть особенности генетического фона: HLA-DRB1*0401 и HLA-DRB1*0408 и SNP rs9272105 (внутри комплекса HLA, 6 хромосомы) ассоциированы с продукцией NAbs к ИФН-бета. Предполагается, что присутствие данных аллелей представляет риск развития NAbs [165, 166].

Среди множества других причин развития иммуногенности ИФН-бета можно выделить следующие факторы: состояние больного, дозировка и способ введения препарата [167], длительность лечения, сочетание с другими

лекарственными средствами. Так наличие сопутствующих заболеваний может вызвать посттрансляционную модификацию молекулы ИФН-бета, изменяя ее качество в более или менее иммуногенную сторону; чем выше доза препарата и длительнее лечение, тем больше вероятность развития иммунного ответа [168]; одновременное применение иммунодепрессантов, таких как метатрексат и азатиоприн могут уменьшить образование антител [169, 170]. Ряд авторов считают, что применение кортикостероидов в самом начале ИФН-терапии может снизить риск формирования NAbs [171, 172].

VAbs могут появиться уже в течение первых 3 месяцев от начала терапии ИФН. Через 12 месяцев процент VAbs-положительных пациентов зависит от способа введения ИФН и самого препарата. У пациентов, получавших подкожный ИФН-бета-1b он составил 97%, подкожный ИФН-бета-1a - 58% и внутримышечный ИФН-бета-1a – 33% [173]. В других исследованиях также были выявлены различия между препаратами ИФН и частотой VAbs с наибольшими значениями для ИФН-бета (50-80%), умеренной реакцией на Rebif (25-45%) и низким уровнем для Avonex (5-30%) [174-176]. Шмидт Т. с соавт. приводят сведения, что NAbs к ИФН-бета-1b появляются в 28-45% случаев, к ИФН-бета-1a для подкожного введения – в 11-24%, к ИФН бета-1a для внутримышечного введения - лишь в 2-5% случаев [177].

Oger J. et al. полагают, что пациентам с повышенным уровнем VAbs целесообразно провести оценку уровня NAbs [178]. Hegen et al. высказали мнение о необходимости прекращения лечения ИФН-бета уже в тот момент, когда выявляются Vabs [179]. Более того, эти антитела способны перекрестно реагировать с другими ИФН-ами. При анализе перекрестной иммуногенности между различными коммерческими формами ИФН, была выявлена кроссреактивность между ИФН-бета1b и ИФН-бета 1a, а также между ИФН-бета и эндогенным интерфероном [180, 181], что необходимо учитывать при пересмотре терапии.

По данным Pachner et al. постоянно высокие титры NAbs могут снизить биологическую активность [182]. В многочисленных исследованиях показано, что у пациентов, которые становятся положительными в отношении антител, наблюдаются более высокие показатели количества обострений, продолжающаяся активность на МРТ и более высокая частота прогрессирования заболевания [183-186].

У пациентов с NAbs-позитивностью среднее число активных очагов на МРТ головного мозга в T2 режиме было в 4 раза больше по сравнению с Nab-негативными пациентами [187, 188]. Также значительное различие в уменьшении количества новых очагов на МРТ головного мозга в T2 режиме у больных РС наблюдалось в исследовании ВЕСОМЕ. У тех, кто сохранил биологическую активность, соотношение увеличивающихся T2 гиперинтенсивных повреждений уменьшилось с 7,6 перед лечением до 2,6 после лечения, что эквивалентно уменьшению на 66%. Для группы пациентов, с отсутствием биологической эффективности интерферонов, т.е. NAbs-позитивных, снижение составило только от 8,5 до 5,8, что на 32% меньше, чем в предыдущей группе. Таким образом, утрата биоактивности интерферонов

вследствие высоких уровней NAbs приводила к снижению терапевтической эффективности ИНФ-бета, что проявлялось отсутствием уменьшения гиперинтенсивных T2 повреждений на МРТ [189].

Влияние NAbs на прогрессирование РС становится заметным позже - после 4 лет терапии, поэтому краткосрочные исследования не могут достоверно оценить эффективность проводимой терапии на прогрессирование заболевания [41, с. 184]. В 4-летнем исследовании ИНФ-бета скорость прогрессирования по шкале инвалидизации EDSS в NAbs-положительной группе была выше, чем в NAbs-отрицательной группе [15, р. 46]. В работах Лиждвой В. с соавт. также прослеживается тенденция к более выраженному неврологическому дефициту по шкале инвалидизации EDSS в группе больных с высокими титрами NAbs, по сравнению с пациентами с нормальными и средними титрами NAbs [190]. Противоречивые результаты о влиянии NAbs на клиническое течение РС были выявлены в исследовании BENEFIT, где докладывается об отсутствии влияния интерферон-нейтрализующих антител на биологическую эффективность ИНФ-бета в течение 3-х лет наблюдения [191].

Ряд исследований был посвящен изучению вопроса влияния пола на ответ на иммуномодулирующую терапию [192-194]. В исследовании Magyari et al. мужчины и женщины одинаково реагировали на интерферонотерапию в контексте частоты обострений, и NAbs снижали эффективность ИНФ в одинаковой степени у обоих полов [195]. В другом исследовании ответ на интерферонотерапию у мужчин был значительно выше, чем у женщин. Наиболее вероятным объяснением такого различия является влияние половых гормонов на иммунную систему [196].

Для выявления пациентов, которые отвечают на ИНФ-бета, целесообразно использовать биомаркер, который индуцируется в ответ на введение ИНФ-бета и отражает их активность. По мнению Comabella et al. (2009) низкий уровень ИНФ-индуцируемых генов в моноцитах связан с плохим ответом на ИНФ-терапию [22, р. 3363].

По сведениям, приводимым Giovannoni et al., нейрофиламенты – структурные белки аксонов и дендритов, являются надежными маркерами их повреждения. Высокие концентрации нейрофиламентов в ЦСЖ являются предиктором прогрессирования в течение 2-3 лет. Авторы предложили применять оценку содержания нейрофиламентов в ЦСЖ при проведении клинических испытаний в качестве суррогатной конечной точки для оценки эффективности проводимой терапии: снижение уровня нейрофиламентов в ЦСЖ, как доказательство уменьшения аксональной дегенерации, будет свидетельствовать о хорошем ответе на лечение [197]. По данным Necker et al. (2011) отмечалось повышение уровня маркера IL1RN у пациентов с хорошим клиническим исходом. IL1RN подавляет активность провоспалительных цитокинов IL1A и IL1B путем связывания с их рецептором [198]. Введение IL1RN животным с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом улучшало клиническое течение заболевания [199].

Ряд авторов полагают, что уровни экспрессии ИНФ-индуцируемых генов в периферической крови пациентов РС до начала лечения могут служить в

качестве биомаркера оценки клинической эффективности ИНФ-терапии [200]. В работах Axtell et al. отмечалось повышенное содержание IL17F у больных РС до начала ИНФ-терапии, а также его высокие концентрации коррелировали с плохим ответом на ИНФ-терапию [201]. Во время исследования на экспериментальных животных при низких уровнях IL-17 отмечалось снижение активности процесса [202]. IL17 является одним из цитокинов, продуцируемых Т-клетками (в особенности, Th17 клетками) в ответ на внедрение внутриклеточной или внеклеточной инфекций [203, 204].

Белок МхА-противовирусный белок, индуцируемый интерферонами I типа [205], считается одним из самых чувствительных и специфических маркеров биоактивности ИНФ-бета [206, 207]. Экспрессия МхА значительно снижается при формировании NAbs к ИНФ [208, 209]. Kracke et al. (2000) также указывают на то, что уровни МхА могут стать суррогатным маркером для оценки эффективности ИНФ-бета. Результаты исследования свидетельствуют о значительном повышении уровня противовирусного белка МхА у пациентов, получавших терапию ИНФ-ми, чем у больных без иммуномодулирующей терапии или получавших иммуносупрессивную терапию. Во время обострений концентрация МхА была достоверно ниже, чем во время ремиссии, а также у пациентов с меньшим количеством обострений МхА был выше, чем у тех, кто плохо отвечал на лечение [210].

Убиквитин-специфическая пептидаза-18 (USP18) фермент, индуцируемый ИНФ типа I [211], идентифицирован как более специфический и более чувствительный биомаркер активности ИНФ-бета, чем противовирусный белок МхА. В исследованиях S. Malhotra et al. (2010, 2013) среди множества маркеров активности ИНФ-бета USP18 был единственным геном, экспрессия которого была значительно ниже в группе больных РС по сравнению со здоровым контролем [212], низкие уровни USP18 коррелировали с высокой активностью РС [213]. У мышей с генетическим дефицитом USP18 отмечался тяжелый неврологический дефицит в виде судорог, тремора, атаксии и преждевременной смерти [214].

Виперин (Viperin - virus inhibitory protein, endoplasmic reticulum-associated, interferon-inducible) - белок, идентифицированный из макрофагов больных, получавших ИНФ-терапию [215]. В литературе сообщается, что он оказывает противовирусное действие против ряда вирусов, включая вирус иммунодефицита человека, гепатит С, вирус Западного Нила, вирус лихорадки денге, вирус Чикунгунья, вирус гриппа А и цитомегаловируса [216]. Pachner R. et al. (2009) отметили в своих работах, что мониторинг биомаркеров МхА и виперина способствует раннему выявлению NAbs-позитивности у больных РС, получающих ИНФ-терапию. В этом исследовании у Vabs+/NAbs+ больных РС отмечалось низкое содержание МхА и виперина как в начале исследования, так и через 6 месяцев от начала исследования [12, p. 1495]. Таким образом, низкий уровень виперина может быть связан с более высокой активностью заболевания.

В настоящее время выявлено семейство супрессоров цитокиновой сигнализации, представленное белками SOCS1-7 (suppressor of cytokine

signaling – SOCS), которые регулируют воспалительные реакции, инициированные цитокинами [217, 218]. Предполагается, что эти белки регулируют дифференцировку Т-лимфоцитов в сторону Th1 или Th2-клеток. SOCS3 в основном экспрессируется в Th2-клетках и ингибирует Th1-дифференцировку, SOCS5 экспрессируется в Th1-клетках и ингибирует дифференциацию в сторону Th2-клеток [219]. Терехов И. с соавт. (2017) отмечают, что SOCS4 помимо участия в противовоспалительных реакциях, регулируют механизмы клеточной гибели, способствуя реализации программ апоптоза или аутофагии [220]. Противовоспалительный эффект SOCS3 выявлен в работах Лим В. с соавт. (2014), при этом отмечалось повышенное содержание SOCS3 в крови больных бронхиальной астмой по сравнению со здоровым контролем [221].

SOCS-3 могут быть индуцированы различными цитокинами, такими как IL-6, IL-12 и ИНФ- γ и отрицательно регулировать действия этих цитокинов [222, 223]. Сверхэкспрессия SOCS-3 снижает уровень ИНФ- γ [224, 225]. В экспериментальном исследовании у мышей, обработанных SOCS3-трансдуцированными дендритными клетками на начальной фазе экспериментального аутоиммунного энцефалита отмечалась доброкачественное течение заболевания, что доказывает предположение о положительном влиянии SOCS3 на симптомы модели РС [226].

Таким образом вопрос о клиническом значении NAbs остается дискуссионным. Несмотря на результаты многочисленных исследований в области изучения биомаркеров РС, необходимо дальнейшее изучение данного вопроса для идентификации наилучшего маркера, определяющего статус больного в отношении ответа на проводимую терапию. Раннее выявление пациентов со сниженным ответом на ИНФ-терапию позволит разработать алгоритм дифференцированного подхода к каждому конкретному больному, что является неотъемлемой частью персонализированной медицины при лечении больных РС.

1.5 Современные представления о значении генетических факторов в развитии рассеянного склероза

Этиология РС является комплексной, с вовлечением генетических факторов. О существовании генетической предрасположенности к РС стало известно уже с середины XX века. РС относится к группе аутоиммунных заболеваний, при которых в организме формируются антитела к собственным структурам. При РС первичной мишенью для патологического процесса является миелин ЦНС. Результаты полногеномных исследований выявили аллельные варианты более, чем в 35 цитокиновых локусах, как факторы предрасположенности к более 15-ти аутоиммунным заболеваниям, в том числе к РС [227].

В настоящее время ведется активный поиск новых ассоциаций различных полиморфных локусов, играющих роль генетических факторов риска, с отдельными патоморфологическими, патогенетическими, клиническими и диагностическими аспектами, характеризующими течение РС. Определяющими

приверженность к РС генами, рассматриваются гены вовлеченные в аутоиммунный процесс и воспаление: гены цитокинов и их рецепторов, иммуноглобулинов, компонентов комплемента, костимулирующих молекул и другие. Первой была выявлена ассоциация с определенными аллелями генов главного комплекса гистосовместимости, расположенного на хромосоме 6. Эта ассоциация остается единственной, последовательно подтверждаемой генетической чертой РС у европеоидов [228, 229].

Молекулярно-генетическими методами исследования установлено, что мутации в генах IL2RA и IL7RA, а именно rs2104286, rs12722489 и rs6897932, вероятно, являются предикторами развития РС. Результаты исследования Багинского Ф.В. показали значимую роль генетических изменений в данных аллелях у больных РС, при этом частота встречаемости гомозиготных состояний мутантных аллелей rs12722489, rs2104286 и rs6897932 генов IL2RA и IL7RA составила 1,43, 5,71 и 11,43% соответственно [230-232].

Ген CTLA4, кодирующий антиген 4 цитотоксических Т-лимфоцитов (ctLA4, или cD152) – костимулирующий рецептор Т-лимфоцитов, является важным негативным регулятором активности Т-клеток, участвующим в поддержании периферической Т-клеточной толерантности. Имеются доказательства, свидетельствующие о влиянии аллелей гена HLA-DRB1 класса II, который кодирует β -цепь гетеродимера, представляющего антиген cD4 Т-лимфоцитам на развитие РС. По данным А.В. Субботина и соавт. (2004) была выявлена ассоциативная связь между РС и аллелем HLA DRB1*(15). В группе больных РС он встречался гораздо чаще, чем в контрольной группе. При анализе проявлений заболевания связи между клиническими особенностями и присутствием аллеля DRB1*(15) обнаружено не было. Больные РС – носители гомозигот по аллелю T полиморфного локуса C+3953T гена ИЛ-1 β и по аллелю 2R полиморфного локуса VNTR-intr2 гена ИЛ-1 α имели более высокие показатели прогрессирования инвалидизации. Была обнаружена тенденция взаимовлияния генов ИЛ-1 β , ИЛ-1 α ; а гены C/C ИЛ-1 β и 4R/4R ИЛ-1 α выполняли протективную роль у больных РС. При изучении роли полиморфных участков генов HLA-DRB1, CTLA4, TGFB1, IL4, CCR5, RANTES, MMP9 и TIMP1 в развитии РС методом семейного анализа у этнических русских, была выявлена ассоциация аллеля HLA-DRB1*15 с РС. Вопрос об участии гена, кодирующего матриксную металлопротеиназу - MMP9, в формировании предрасположенности к РС остается спорным. Так, в работах одних авторов отмечалось значимое снижение аллеля T гена MMP9 у больных РС по сравнению со здоровой группой, в работе других ученых аллель T выступает в качестве аллеля предрасположенности к РС, результаты исследований О.Ю. Макарычевой и соавт. (2011) указывают на ассоциацию аллелей MMP9*(-1562)C с РС [233-235]. И.А. Николаева с соавт. (2008) приводят данные, что у якутов выявлено отличие по полиморфному варианту -308G/A гена TNF α при сравнении с другими азиатскими популяциями. У лиц русской национальности, проживающих в Якутии, частота исследованных аллелей не отличается от частоты, наблюдаемой в других европейских популяциях. Авторы высказали предположение о возможной связи гена APOE с

развитием РС, а также о его влиянии на течение заболевания, что имеет ценность для прогнозирования течения заболевания [236].

Результаты многих исследований подтвердили роль ФНО α в восприимчивости к РС у человека. Клинические наблюдения указывают, что развитие воспалительных процессов в ЦНС связано с нарушением регуляции TNF; что аллели TNF α 1 и TNF α 9 встречаются чаще в группе больных РС. В работах других авторов достоверной разницы в распределении аллелей TNF α (-308) у больных и в контрольной группе не было выявлено. В одном из исследований показано, что аллель TNF α (-308)A может передаваться от здоровых гетерозиготных родителей детям [237-242]. С.А. Ельчанинова с соавт. (2012) при изучении связи факторов некроза опухоли TNF α с развитием и особенностями течения РС пришли к выводу, что полиморфизм гена TNF α (rs1800629) у женщин ассоциирован с риском развития РС. Высокий ликворный уровень TNF α в ЦНС в период обострения РС не связан с полиморфизмом гена TNF α (rs1800629), однако является прогностически неблагоприятным в отношении частоты последующих обострений заболевания, что необходимо учитывать при выборе тактики терапии [243].

В полногеномном исследовании 4218 больных РС было выявлено более 90 локусов за пределами главного комплекса гистосовместимости связанных с РС. Около 30% выявленных участков совпали с локусами, которые ранее были установлены, как связанные хотя бы с одной другой аутоиммунной патологией [244]. В ходе другого полногеномного исследования была подтверждена связь 17 однонуклеотидных полиморфизмов, относящихся с трем локусам: HLA, IL-2RA, 5p13.1 с развитием РС. В двух независимых когортах с общим количеством 4192 больных РС и 7498 здоровых лиц авторы выявили защитную роль полиморфизма rs9292777, расположенного на 5p13.1, для фенотипа рассеянного склероза. Также было подтверждено, что восприимчивость к РС обусловлена множеством генов, кодирующих не только молекулы цитокинов (CXCR5, IL2RA, IL7R, IL7, IL12RB1, IL22RA2, IL12A, IL12B, IRF5, TNFRSF1A, TNFRSF14, TNFSF14), костимулирующих факторов (CD37, CD40, CD58, CD80, CD86, CLECL1), сигнальных молекул (CBLB, GPR65, MALT1, RGS1, STAT3, TAGAP, TYK2), но и генами молекул, участвующих в метаболизме витамина D (CYP27B1, CYP24A1) [245-248].

Казахстанскими учеными проведен поиск ассоциации DR2-специфичности гена DRB1, а также однонуклеотидных полиморфизмов гена фактора некроза опухоли TNF α (-308 G/A), генов интерлейкинов IL-1 β (-511 C/T), IL-2 (-475 A/T и -631 G/A), IL-6 (-634 C/G), гена параоксаназы PON1 (M55L, Q192R) и гена митохондриальных транспортных белков UCP2 (-866 G/A) с развитием РС в двух основных этнических группах - казахской и русской. Обнаружены статистически достоверные ($p < 0,05$) различия в распределении генотипов в участке - 634 G/C гена IL-6 среди казахов, в частотах аллелей локуса - 308 A/G промоторной области гена TNF α у русских, в полиморфном сайте Q192R гена PON1 в казахской группе между пациентами, страдающими РС, и здоровыми лицами. Достоверные различия в распределении генотипов и частотах аллелей в полиморфных сайтах генов IL-1

β (-511 C/T), IL-2 (-475 A/T и -631 G/A), PON1 (M55L), UCP2 (-866 G/A) выявлены не были [249].

В работах многих авторов изучали связь отдельных полиморфных генов с различными клиническими проявлениями и течением заболевания. При изучении ассоциаций различных вариантов аллелей генов TNFα, IL18, KIF1B (rs10492972), CD40 (rs6074022) с клиническими проявлениями заболевания в популяции пациентов, проживающих в Кемеровской области, была получена связь аллельного варианта GC гена IL18 с частотой обострений заболевания. В группе пациентов с гомозиготным генотипом обострения заболевания возникали реже, чем в группе с гетерозиготным генотипом G.C. Также в исследовании J.C. Jensen с соавт. (2010) было выявлено более сильное влияние полиморфного локуса rs6074022 на тяжесть РС у мужчин, однако по данным других авторов связи полиморфизмов в гене CD40 с тяжестью и скоростью прогрессирования РС не было установлено. В исследовании Д.С. Коробко с соавт. (2012) более высокий уровень инвалидизации был связан с генотипом CC полиморфизма rs6074022 и CG полиморфизма rs11086998 гена CD40, а генотип CC полиморфизма rs11086998 отвечал за более высокую скорость прогрессирования РС. В исследовании других авторов выявлена ассоциация генотипа C/C и аллеля C полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 с быстро прогрессирующим ремиттирующим РС; раннее начало заболевания связано с носительством аллеля A в полиморфном локусе rs1800629 гена TNF-α [250-252].

В работе А.О. Гридиной (2015) ген HLA-DRB1*3с был ассоциирован с частыми обострениями при ремиттирующем рассеянном склерозе, тогда как генотип G/A TNFRSF1A (rs4149584), сочетание женского пола и аллеля A TNFRSF1A (rs4149584) - с высокой скоростью прогрессирования заболевания; причем генотип G/G TNFRSF1A (rs4149584) имел протективное влияние на прогрессирование заболевания [253].

Результаты ряда исследований позволяют полагать, что генетические факторы влияют не только на риск развития, на особенности клинического течения РС, но и на эффективность применяемой терапии. В работах Е.Ю. Царевой и соавт. отмечено влияние полиморфизма генов CCR5, DRB1, IFNG, TGFB1, IFNAR1, IL7RA, и, возможно, TNF, CTLA4 на формирование ответа на прием копаксона. CCR5*d, IFNAR1*16725G, IFNG*874T и IFNB1*153T/T являются компонентами комбинаций, связанных с оптимальным ответом на лечение ИФН-β. В исследовании 100 пациентов с ремиттирующим РС риск развития резистентности к терапии глатирамера ацетатом оказался выше у больных, несущих генотипы TT и TC полиморфного варианта rs1883832 CD40, к терапии ИНФ - у носителей генотипов TC, CC в локусе rs6074022 гена CD40 [254, 255]. Эффективность терапии глатирамера ацетатом у больных ремиттирующим РС была ассоциирована с генотипом G/A TNF-α (rs1800629) в отношении снижения темпов инвалидизации, с HLA-DRB1*4 и генотипом T/C CD40 (rs6074022) - в отношении частоты обострений [256].

S. Hoffmann и соавт. (2008) идентифицировали 2 аллели HLA класса II - HLA-DRB1*0401 и HLA-DRB1*0408. Присутствие обеих аллелей

ассоциируется с формированием нейтрализующих антител к ИФН- β , которые снижают биологическую эффективность препарата. В ряде работ показано, что присутствие HLA-DRB1*15 или с DRB1*07/DQA1*02 с A*26 или B*14 может быть связано с более высоким риском появления нейтрализующих антител к ИФН- β [257].

Таким образом, в настоящее время вопрос изучения генов, связанных с РС, представляет собой актуальную проблему. Развитие РС может быть обусловлено сочетанием отдельных генов. Риск развития РС обусловлен сочетанием нескольких генов, отдельные эффекты которых вне комбинаций могут не приводить к РС. Возможно, что РС развивается в том случае, когда провоцирующий заболевание фактор воздействует на предрасположенного к болезни человека. Изучение генетического полиморфизма актуально как для диагностики РС, так и для разработки прогностических критериев течения РС, что позволит в последующем подобрать подходящую схему лечения для пациентов уже на начальных этапах заболевания [258].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено краткосрочное, проспективное исследование больных РС с изучением иммунологических показателей (интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител, а также биомаркеров активности заболевания - вилерина, SOCS3, USP18 и IL17F) и анализом их влияния на течение заболевания. Выборка сплошная: были обследованы больные рассеянным склерозом г. Актобе. Критериями включения в исследование послужили: установленный диагноз РС, ремиттирующее течение со степенью инвалидизации у больных не выше 5,5 баллов по шкале инвалидизации EDSS. Критерии исключения: вторично-прогрессирующее течение, степень инвалидизации выше 5,5 баллов по шкале инвалидизации EDSS.

На первом этапе было проведено клиническое обследование 34-х больных РС, получающих терапию интерферонами-бета не менее 1 года. Иммунологическое исследование крови было проведено у 30-ти больных РС. Также была сформирована группа контроля из 20-ти практически здоровых лиц, идентичная по полу и возрасту исследуемым в группе больных рассеянным склерозом.

На втором этапе для анализа динамики иммунологических показателей и их взаимосвязи с течением заболевания проводился повторный клинический осмотр и иммунологическое исследование через год 23-х больных РС (четверо пациентов сменили место жительства, трое пациентов отказались от участия во втором этапе).

Иммунологические исследования проводились в специализированной лаборатории Познаньского университета медицинских наук (Польша). Научная работа выполнена на основании Приложения к Соглашению о сотрудничестве между медицинским университетом Кароля Марцинковского в г. Познань (Республика Польша) и Западно-Казахстанским государственным медицинским университетом им. Марата Оспанова в г. Актобе (Республика Казахстан). Данное исследование проведено в рамках прикладной инициативной научно-исследовательской работы кафедры неврологии ЗКГМУ им. М. Оспанова (регистрационный номер №116РК00511).

Исследование было одобрено Этическим комитетом ЗКГМУ им. Марата Оспанова (протокол №6 от 18.10.2010). Для участия в исследовании у всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

2.1 Характеристика обследованных лиц

Исследованные больные РС составили основную группу в количестве 34-х человек. Возраст больных основной группы составил 36,0 (35,0-41,3) лет. Количество женщин - 22 человека (65%), мужчин - 12 человек (35%). Средний балл инвалидизации по шкале EDSS у больных РС был равен $3,6 \pm 1,5$ баллам. Средняя длительность заболевания составила 13,9 (7,5-13,9) лет, средняя длительность терапии 3,5 (3,4-5,3) лет.

В контрольную группу были включены 20 здоровых лиц, средний возраст которых составил 37,0 (34,8-41,2) лет ($p=0,899$). Количество женщин – 15

человек (75%), мужчин - 5 человек (25%). Контрольная группа была набрана для проведения иммунологических исследований с целью выявления различий иммунологических показателей у здоровых лиц и больных РС, получающих интерферонотерапию. Забор крови у лиц контрольной группы проводился однократно, в начале исследования. Распределение исследованных лиц по группам представлено в таблице 1.

Таблица 1 - Распределение исследованных лиц по группам и по полу

Исследуемые лица	Основная группа	Контрольная группа
Женщины	22	12
Мужчины	15	5
Общее количество	34	20

2.2 Методы исследования

2.2.1 Клинические методы исследования

Неврологический статус больных РС проводился по общепринятой схеме с оценкой состояния черепно-мозговой иннервации, двигательной, чувствительной сфер, мозжечковой системы, высших мозговых функций. Для бальной оценки состояния функциональных систем (ФС) использовалась шкала неврологического дефицита, предложенная Джоном Куртцке [259] (Приложение Б). Данная шкала основана на комплексной оценке пирамидных, мозжечковых, стволовых, зрительных, психических расстройств, нарушений чувствительности и функций тазовых органов. Количество баллов от 0 до 6-ти оценивается по каждой ФС в отдельности и зависит от выраженности нарушений функций каждой системы. При этом, минимальное значение баллов соответствует сохранности функций системы; количество баллов, превышающее значение нуля - более глубокому повреждению системы. На основании выявленных нарушений по основным ФС оценивалась степень инвалидизации больных по расширенной шкале инвалидизации Куртцке – Expanded Disability Status Scale (EDSS) (Приложение В). Согласно шкале EDSS выделяют три степени тяжести инвалидизации. При легкой степени (от 0 до 3,0 баллов) у больных наблюдаются отдельные неврологические симптомы. Средняя (умеренная) степень соответствует 3,5-5,5 баллам и характеризуется независимостью пациентов от постоянной посторонней помощи. Показатель EDSS выше 6,0 баллов соответствует тяжелой (выраженной) степени инвалидизации, когда больные нуждаются в постоянной посторонней помощи. В течение года наблюдения подсчитывалось количество обострений у исследованных больных РС.

Для характеристики течения заболевания использовалась шкала NEDA-3. Критерий NEDA (no evidence of disease activity) подразумевает отсутствие обострений, отсутствие на МРТ новых или увеличивающихся очагов и прогрессирования инвалидизации [260]. В клинических исследованиях показатель NEDA-3 используют для характеристики течения заболевания у пациентов с РРС и оценки эффективности препарата. Препарат считается

эффективным, если впервые 1-2 года лечения приводит к соблюдению критерия NEDA-3 у большего числа пациентов [1, с. 98]. Клиническая значимость NEDA-3 в течение первых 2-х лет наблюдения имеет положительную прогностическую ценность как показатель стабилизации РС (PPV – positive prognostik value=78,3%): в течение последующих 7-ми лет показатель EDSS не должен превысить 5-ти баллов [261].

Степень риска для вторичного прогрессирования в течение 10-ти лет определялась по шкале BREMS. Шкала BREMS представляет собой инструмент для прогнозирования течения заболевания и позволяет вычислить риск перехода во вторичное прогрессирование в течение 10-ти лет для отдельного пациента по демографическим и клиническим параметрам, собранным в течение первого года болезни [262]. Степень риска высчитывается по следующей формуле: (возраст в декадах \times 0,05) – 1,07 (в случае пациента женского пола) + 0,81 (в случае сочетания пирамидных и чувствительных расстройств в дебюте) + 0,64 \times количество вовлеченных систем в дебюте + 0,52 (в случае неполного восстановления после дебюта) + 0,71 (в случае обострения, сопровождающегося двигательными и сфинктерными расстройствами) + 0,44 (при достижении 4.0 баллов по шкале EDSS вне обострения).

Пациенты с исходным показателем BREMS > 2,0 имеют высокую вероятность достижения вторичного прогрессирования в течение 10 лет (PPV=0,86; NPV=0,83). У пациентов со значением BREMS < (-0,63), вероятнее всего, прогрессирования не произойдет (PPV=1,00; NPV=0,17).

2.2.2 Нейровизуализационные методы исследования

Для изучения рентгенологической активности процесса проводилась оценка результатов магнитно-резонансной томографии (МРТ). При анализе результатов МРТ-снимков головного и спинного мозга подсчитывалось количество очагов до исследования и через год от начала исследования.

2.2.3 Иммунологические методы исследования

Для изучения иммунологического статуса больных рассеянным склерозом применялись лабораторные методы: уровни VAbs, вилперина, USP18, SOSC3, IL-17F определялись методом ELISA. NAbs оценивались при помощи анализа репортерного гена люциферазы.

2.2.3.1 Интерферон-связывающие антитела (VAbs)

Анализ содержания ИНФ-связывающих антител (VAbs) у пациентов в начале исследования и через год проводился модифицированным методом ELISA, разработанного в Отделении нейрохимии и невропатологии кафедры неврологии Познанского университета медицинских наук (Познань, Польша) [181, р. 2] (рисунок 1). ELISA проводили с использованием 96-луночных планшетов для ИФА (Nunc, Роскилд, Дания). Препараты ИНФ-бета были разбавлены в 0,05М бикарбоната натрия (pH=9,6) до получения конечной концентрации 1 мкг/мл на лунку. Затем в лунки планшета помещался готовый раствор ИНФ, после чего планшеты оставлялись при комнатной температуре в

течение 12 часов. После аккуратных промывок фосфатно-буферным раствором, содержащим 0,05% Tween 20, неспецифические связывающие сайты были заблокированы 1%-ным раствором бычьего сывороточного альбумина в 0,05%-ном фосфатно-буферном растворе Tween 20. Затем планшеты промывали 0,05%-ным фосфатно-буферным раствором Tween 20 с последующим добавлением в качестве стандарта козьих антител против человеческих интерферонов (Sigma-Aldrich) в уменьшающихся разведениях 1:20, 1:50, 1: 100, 1: 200 и 1: 400. Сыворотка исследуемой группы была исследована при разведении 1:100. После инкубации при комнатной температуре планшеты промывали PBS-0,05% Tween 20. На следующей стадии добавляли вторичные антитела: конъюгированные с щелочной фосфатазой козьи антитела к IgG кролика (Sigma-Aldrich) или кроличьи антитела к IgG человека (Sigma-Aldrich). В качестве субстрата использовали Р-нитрофенилфосфат (Sigma-Aldrich) и реакцию останавливали 1 МНСl. Абсорбцию измеряли с помощью ИФА-считывателя ELx800 (Bio-ТЕК) на длине волны 405 нм.

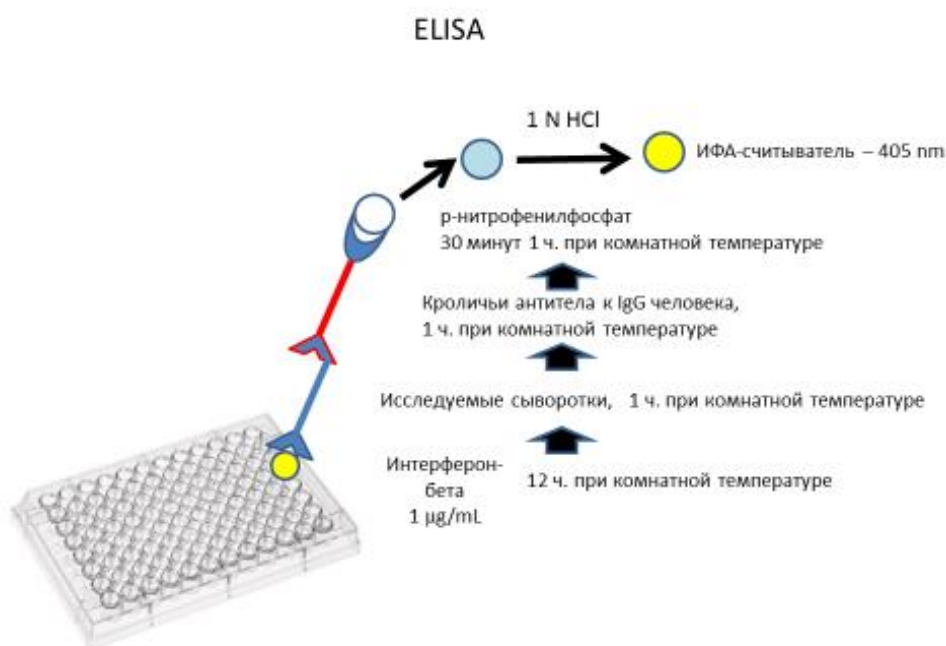


Рисунок 1 – Определение связывающих антител (VABs)

Вышеупомянутая процедура проводилась последовательно для планшетов, покрытых всеми исследуемыми препаратами интерферона - Rebif, Betaferon и Avonex.

Результаты были выражены в следующих единицах измерения: оптическая плотность (O.D.), арбитарные единицы AU/ml (AU - произвольные единицы), рассчитанные по формуле:

$(10 \times \text{поглощение испытуемого образца} / \text{поглощение пороговой величины со значением, определяемым как 95-й перцентиль абсорбции для каждой серии испытуемых образцов (Rebif, Betaferon, Avonex) и реципрокного разведения сыворотки} ([1: x]^{-1}, \text{ где } x - \text{разбавление}), \text{ полученного на стандартной кривой.}$

Стандартная кривая была основана на логарифмической регрессии между абсорбцией и обратным стандартным разбавлением ($R^2=0,9777$) (рисунок 2). Стандартная кривая также была рассчитана для корреляции между концентрацией стандарта и поглощением света (рисунок 3). Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения MedCalc ver.11.0.1.0. Результаты считались статистически значимыми, когда p был $\leq 0,05$.

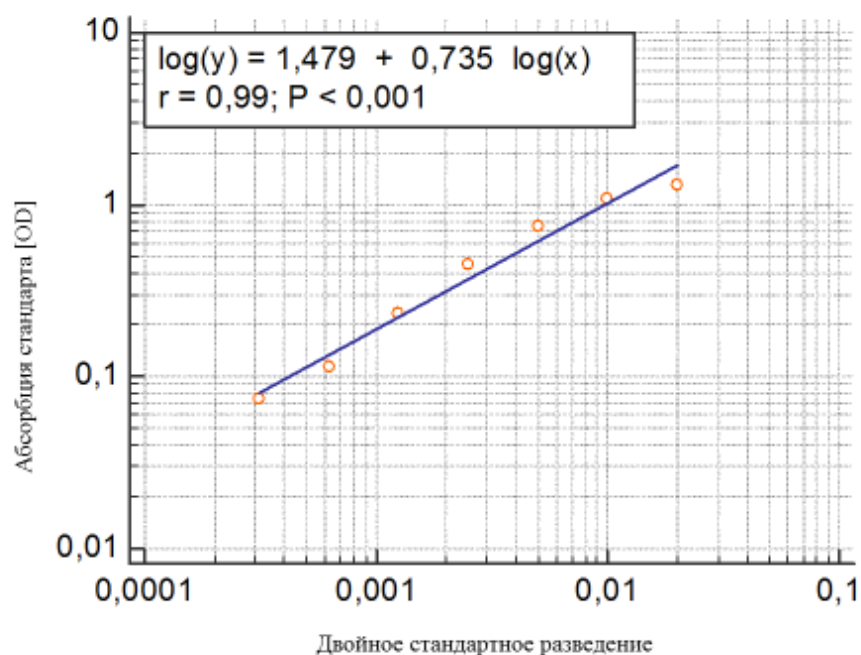


Рисунок 2 – Стандартная кривая для двойного стандартного разведения

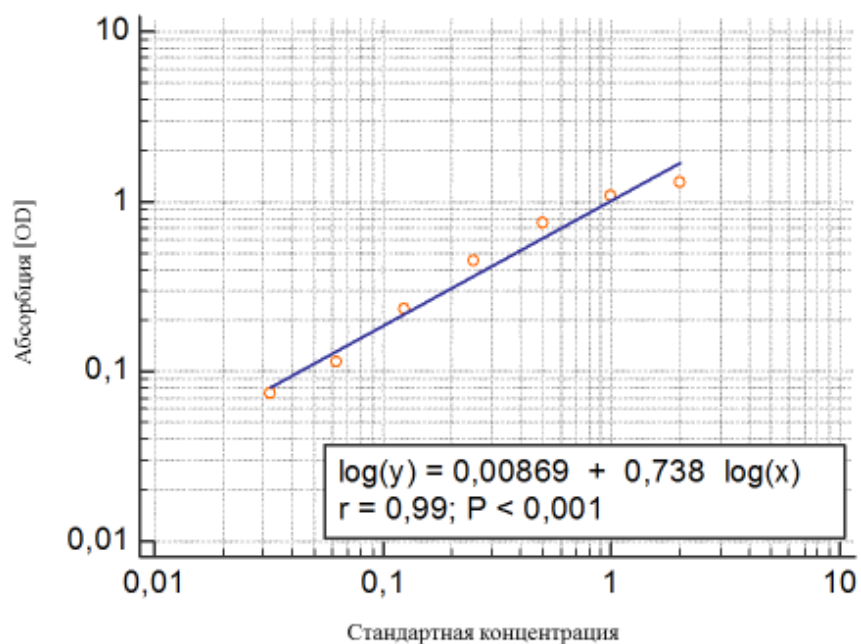


Рисунок 3 – Стандартная кривая для стандартной концентрации

2.2.3.2 Интерферон-нейтрализующие антитела (NAbs)

Нейтрализующие антитела оценивались при помощи анализа репортерного гена люциферазы с использованием стандартных клтеек iLite® I типа для анализа интерферона (Euro-Diagnostica, Sweden) согласно инструкции производителя. Он основан на принципе стимуляции гена люциферазы с помощью интерферона (рисунок 4). Присутствие NAbs ингибирует стимулирующее действие ИНФ, поэтому интенсивность света ниже. В качестве стандарта был использован человеческий рекомбинантный интерферон-бета (Abcam). Также были использованы положительные и отрицательные контрольные сыворотки (Euro-Diagnostica).

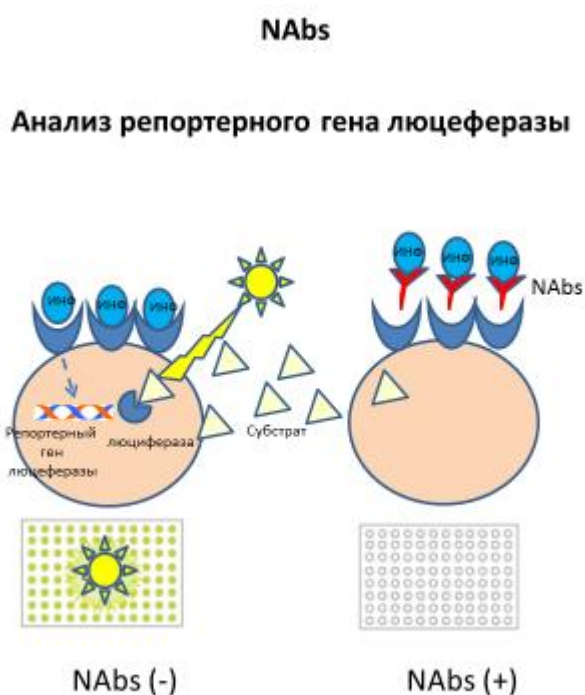


Рисунок 4 – Определение нейтрализующих антител (NAbs)

До проведения анализа тестируемые образцы сыворотки инкубировались при 56°C в течение 30 минут для инактивации остаточного интерферона-бета – тепловая инактивация. Затем образцы сыворотки были предварительно разбавлены разбавителем (Diluent D): 60 мкл образца со 100 мкл разбавителя В. На следующем этапе образцы стандартного интерферона, контрольной сыворотки (положительная, отрицательная для NAbs) и образцы пациентов добавлялись в соответствующие лунки планшета. Затем микропланшет накрывали крышкой, аккуратно перемешивали и инкубировали в течение 30 минут при 37°C с 5% CO₂.

Стандартные клетки iLite® I типа для анализа интерферона (iLite Type IFN Assay Ready Cells) были разморожены на водяной бане при температуре 37°C в течение 15 минут. После процедуры размораживания в каждую лунку было добавлено 50 мкл разбавленных клеток. Микропланшет закрывали крышкой, перемешивали и инкубировали в течение 18 часов при 37°C с 5% CO₂. На следующий день флакон с тест-системой Bright-Glo™ Luciferase был

разморожен за 30 минут до завершения инкубации. Субстрат был приготовлен согласно инструкции производителя. 50 мкл субстрата добавляли в каждую лунку. После перемешивания планшет был оставлен на 2 минуты при комнатной температуре в защищенном от света месте. Затем микропланшет считывали в люминиметре (FLx800 (Bio-ТЕК)).

Между единицами относительного света (RLU) и стандартной концентрацией была рассчитана корреляция и выстроена стандартная кривая (рисунок 5). Если соотношение между интенсивностью света образца и усредненным стандартом составляет $> 1,0$, образец считался отрицательным для NAbs, если он равен $\leq 1,0$, образец считался положительным для NAbs.

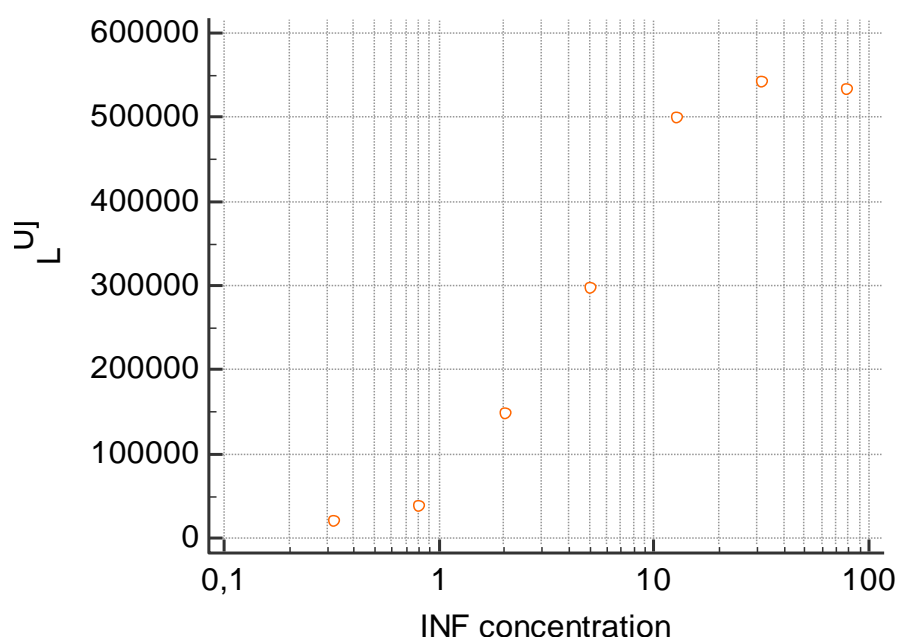


Рисунок 5 – Стандартная кривая для нейтрализующих антител (NAbs)

2.2.3.3 Биомаркеры активности рассеянного склероза (виперин, USP18, SOSC3, интерлейкин 17F)

Биомаркеры активности рассеянного склероза определялись с применением наборов ELISA Kit в соответствии с инструкциями производителя: виперин определялся с помощью твердофазного метода ELISA (Human Virus Inhibitory Protein, Viperin ELISA Kit, MyBiosource, USA); USP18 с помощью твердофазного метода ELISA (Human ubiquitin specific peptidase 18 ELISA Kit, MyBiosource, USA), SOSC3 с помощью твердофазного метода ELISA (Human suppressor of cytokine signaling 3 ELISA Kit, MyBiosource, USA), интерлейкин 17F определялся твердофазным методом ELISA (Abcam, UK).

2.2.4 Статистические методы

Статистический анализ проводился с использованием лицензионного программного обеспечения MedCalc версии 18.2.1. (64-бит) и программы Statistica 10.0.

Распределение переменных было проверено с использованием теста Д'Агостино-Пирсона. Сопряженные переменные при ненормальном распределении были протестированы с использованием теста Вилкоксона, независимые переменные были протестированы с использованием теста Манна-Уитни. Для оценки качественных или категоризированных переменных использовался критерий хи-квадрата. Проанализирована ранговая корреляция между клиническими измерениями и биомаркерами. Для определения прогностической значимости биомаркеров активности РС был проведен анализ ROC.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Были проанализированы результаты клинических, нейровизуализационных методов исследования и иммунологические показатели у исследуемых больных.

3.1 Клиника неврологических проявлений у больных рассеянным склерозом

Анализ результатов клинического наблюдения свидетельствовал о тенденции к снижению среднего показателя EDSS по сравнению с исходным уровнем. Также, отмечалось снижение среднего количества обострений заболевания по сравнению с исходным. За период наблюдения у 56,5% больных обострений не отмечалось. 43,4% больных испытали одно обострение в год. Общее количество очагов повреждения на МРТ головного и спинного мозга увеличилось. Клиническая характеристика больных РС приведена в таблице 2.

Таблица 2 – Клиническая характеристика больных РС

Клинико-радиологический критерий	В начале исследования	Через 1 год от начала исследования	p
Количество обострений медиана; межквартильный размах	1,0 0,0-4,0	0,0 0,0-1,0	p<0,0001*
EDSS среднее ± SD	3,6±1,5	3,5±1,8	p=0,016
BREMS медиана; межквартильный размах	1,37 0,55-2,08		
NEDA медиана; минимум- максимум		1,0 0,0-3,0	
MPT	8,5±3,2	9,4±3,2	0,019
*p – количество обострений через год от начала исследования по отношению к исходному			

При исследовании неврологического статуса по функциональной шкале Куртцке количество пораженных систем ЦНС составляло от 1 до 5. Степень инвалидизации по шкале EDSS у 35,3% больных была легкой, у 64,7% больных – средней. При этом средний бал EDSS составил 3,6±1,5 баллов. Характеристика повреждения функциональных систем по шкале Куртцке представлена на рисунке 6 и в таблице 3.

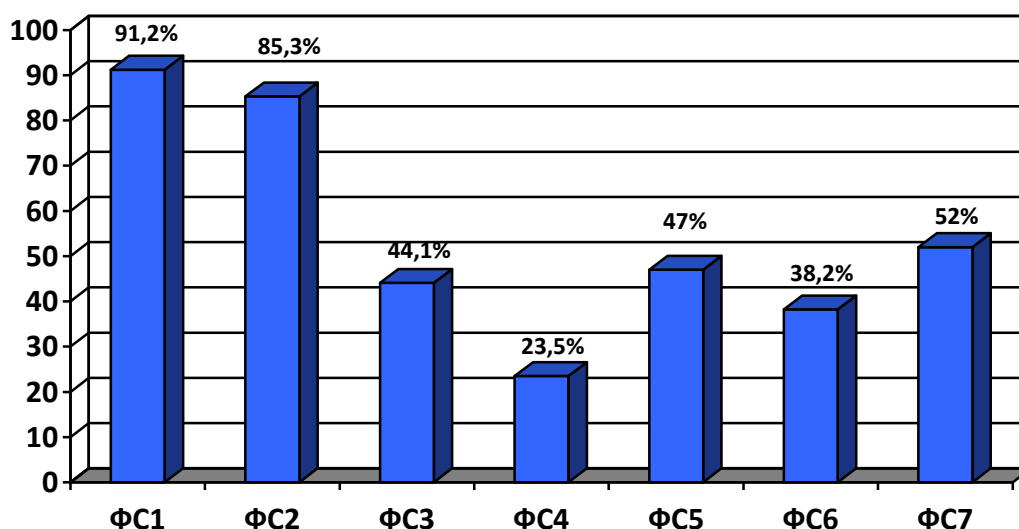


Рисунок 6 – Характеристика повреждения функциональных систем по шкале Куртцке

Таблица 3 – Частота и степень выраженности неврологических расстройств у больных РС

ФС по шкале Куртцке	Частота выявления	Средний балл по шкале Куртцке
Пирамидные функции	91,2% (31 ч)	2,6±1,1
Функции мозжечка	85,3% (29 ч)	2,6±1,2
Функции ствола головного мозга	44,1% (15 ч)	1,9±0,5
Чувствительность	23,5% (8 ч)	1,5±1,1
Функции кишечника и мочевого пузыря	47% (16 ч)	1,4±0,5
Функции зрения	38,2% (13 ч)	2,3±1,6
Когнитивные функции	52% (19 ч)	1,8±0,7

Оценка неврологического статуса у больных РС выявила преобладание синдрома двигательных нарушений в 91,2% случаев, который клинически характеризовался нижним спастическим парапарезом. Гиперрефлексия в нижних конечностях была выявлена в 87,1% случаев, при этом отмечались высокие коленные рефлексы с клонусом коленных чашечек и стоп, положительный симптом Бабинского. Снижение мышечной силы в 1,0 балл отмечалось в 16,1% случаев; парезы умеренного или выраженного характера – у 61,3% исследованных больных. Средний балл, характеризующий степень выраженности двигательных расстройств по функциональной шкале (FS1), составил 2,6±1,1.

Симптомы поражения функций мозжечка определялись в 85,3% случаев и проявлялись статической и локомоторной атаксией, мозжечковой мышечной гипотонией в конечностях, инкоординацией. Статическая и локомоторная

атаксия была выявлена у 82,7% больных. Интенционный тремор и мимоподание при выполнении координаторных проб отмечались у 62,1% больных. Диффузная мышечная гипотония в конечностях выявлена в 86,2% случаев. Средний балл, отражающий степень выраженности мозжечковых расстройств по функциональной шкале (FS2), составил $2,6 \pm 1,2$.

Нарушения функций стволовых структур были отмечены у 44,1% больных. Горизонтальный нистагм крупноамплитудного характера был выявлен в 86,6%, поражение тройничного нерва – в 6,6%, периферический парез лицевого нерва – в 13,3% случаев. Средний балл, отражающий степень выраженности поражения функций ствола головного мозга (FS3), составил $1,9 \pm 0,5$.

Чувствительные расстройства проявлялись легким или умеренным снижением болевой, температурной и проприоцептивной чувствительности и встречались в 23,5% случаев. Средний балл, отражающий степень выраженности чувствительных расстройств по функциональной шкале (FS4), составил $1,5 \pm 1,1$.

Нарушения тазовых функций были выявлены у 47% исследованных больных и характеризовались центральными расстройствами в виде задержки мочи и стула. Средний балл, отражающий степень выраженности функций тазовых органов (FS5), составил $1,4 \pm 0,5$.

Синдром зрительных расстройств был выявлен в 38,2% случаев, который характеризовался бледностью височных половин дисков зрительных нервов (46%), наличием скотом (30,8%), сужением или выпадением полей зрения (15%), снижением остроты зрения. У 30,7% больных была выявлена атрофия зрительного нерва, что объясняет высокое значение среднего балла, отражающего степень выраженности нарушения функции зрения (FS6) – $2,3 \pm 1,6$.

Нарушение когнитивных функций было выявлено у 52% больных со средним значением (FS7) $1,8 \pm 0,7$. При этом отмечалось доминирование лобного синдрома в виде снижения критики и эйфории. Кроме того, пациенты предъявляли жалобы на повышенную утомляемость, отмечался депрессивный фон настроения. Мнестические расстройства проявлялись в виде снижения краткосрочной памяти (63%).

3.2 Результаты иммунологических методов исследования

На начальном этапе было проанализировано содержание ИНФ-связывающих (VAb) и ИНФ-нейтрализующих (NAbs) антител.

Результаты измерения (VAb) в начале исследования и через год от начала исследования показаны в таблицах 4 и 5. Анализ нижеуказанных данных показал, что применение ИНФ-терапии может стимулировать выработку VAb. Кроме того было выявлено, что VAb могут присутствовать в крови как у больных, получающих ИНФ-бета, так и у здоровых лиц [263]. Применяемая мера измерения VAb может повлиять на их значимость. Только при выражении концентрации VAb в $\mu\text{g/ml}$ было выявлено значимое различие между значениями содержания VAb у пациентов и здоровых лиц.

Таблица 4 – Интерферон-связывающие (VAbs) антитела в начале исследования

Исследуемые группы / Антитела	Основная группа	Контрольная группа	p
VAbs [OD]	0,102 (0,078-0,127)	0,080 (0,068-0,102)	0,0547 ¹
VAbs [0/1]*	13% положительный 4/30	5% положительный 1/20	0,3845 ²
VAbs [AU/ml]	11,75 (9,86-15,44)	10,88 (9,63-13,31)	0,3484 ¹
VAbs [µg/ml]	2,56 (2,04-3,00)	2,04 (1,62-2,48)	0,0200 ¹
VAbs [RSD]	0,00014 (0,00009-0,00020)	0,00011 (0,00009-0,00016)	0,2673 ¹
<p>*n-положительные образцы, N – общее количество</p> <p>Примечания:</p> <p>1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха: ¹U-тест Манна Уитни; ²χ² Пирсона</p> <p>2 Значения VAbs выражены в следующих единицах измерения: [OD] - оптическая плотность; [0/1] - качественно; [AU/ml] - произвольные единицы на миллилитр; [µg/ml] - концентрация; [RSD] - двойное разведение</p>			

Таблица 5 – Интерферон-связывающие (VAbs) антитела через год от начала исследования

Исследуемые группы / Антитела	Основная группа	Контрольная группа	p
VAbs [OD]	0,062 (0,043-0,088) ³	0,080 (0,068-0,102)	0,0049 ¹
VAbs [0/1]*	35% положительный 8/23	5% положительный 1/20	0,0985 ²
VAbs [AU/ml]	8,44 (5,78-11,89) ⁴	10,88 (9,63-13,31)	0,0638 ¹
VAbs [µg/ml]	2,70 (2,09-4,11)	2,04 (1,62-2,48)	0,0048 ¹
VAbs [RSD]	0,00019 (0,00011-0,00031)	0,00011 (0,00009-0,00016)	0,0627 ¹
<p>*n - положительные образцы, N – общее количество</p> <p>Примечание - Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха: ¹U-тест Манна Уитни; ²χ² Пирсона; ³p=0,0007; критерий Вилкоксона, VAbs в начале исследования и через год от начала исследования у больных РС; ⁴p=0,018 критерий Вилкоксона, VAbs в начале исследования и через год от начала исследования у больных РС</p>			

Результаты анализа интерферон-нейтрализующих (NAbs) показаны в таблицах 6, 7 и выражены в двух единицах измерения: качественно и количественно в единицах интенсивности света [LU/ml]. Как у больных РС, так и у здоровых лиц на исходном уровне присутствуют NAbs. Однако, при качественном выражении содержания NAbs статистически значимых различий между анализируемыми группами выявлено не было.

Через год от начала исследования отмечалось увеличение продукции NAbs у пациентов РС. При этом, качественный и количественный анализ выявления NAbs показал значимые различия между группами исследованных.

Таблица 6 – Интерферон-нейтрализующие (NAbs) антитела в начале исследования

Исследуемые группы/Антитела	Основная группа	Контрольная группа	p
NAb [LU/ml]	4,25 (2,31-9,65)	14,42 (3,16-34,12)	0,0155 ¹
NAb [0/1]*	13% положительный 4/30	5% положительный 1/20	0,3332 ²
<p>*n - положительные образцы, N – общее количество</p> <p>Примечания:</p> <p>1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха;</p> <p>2 ¹U-тест Манна Уитни;</p> <p>3 ²χ² Пирсона</p> <p>4 Значения NAbs выражены в следующих единицах измерения: [LU/ml] – единицы свечения; [0/1] – качественно</p>			

Таблица 7 – Интерферон-нейтрализующие (NAbs) антитела через год от начала исследования

Исследуемые группы/Антитела	Основная группа	Контрольная группа	p
NAb [LU/ml]	1,21 (0,90-1,35) ³	14,42 (3,16-34,12)	p<0,0001 ¹
NAb [0/1]*	30% положительный 7/23	5% положительный 1/20	0,0468 ²
<p>*n - положительные образцы, N – общее количество</p> <p>Примечания</p> <p>1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха;</p> <p>2 ¹U-тест Манна Уитни;</p> <p>3 ²χ² Пирсона;</p> <p>4 ³p<0,0001 критерий Вилкоксона, NAbs в начале исследования и через год от начала исследования у больных РС</p>			

Был проведен анализ связи между длительностью заболевания, а также возраста пациентов с разной иммунной реакцией против ИНФ. При этом, длительность заболевания не различалась у VAbs-положительных (65,50; 32,50–93,50; месяцы; медиана; межквартильный размах) и VAbs-отрицательных (85,50; 41,00-233,00; месяцы; медиана; межквартильный размах) больных РС

($p=0,3141$). Через год наблюдения длительность заболевания также не влияла на VAbs-позитивность (64,50; 22,50-99,00; месяцы; медиана; межквартильный размах) и VAbs-негативность (129,00; 63,00-252,00; месяцы; медиана; межквартильный размах) у больных РС ($p=0,0956$).

Также не было выявлено различий в длительности заболевания между NAbs-положительными (154,00; 54,00-241,50; месяцы; медиана; межквартильный размах) и NAbs-отрицательными (85,00; 44,25-198,25; месяцы; медиана; межквартильный размах) больными РС в начале исследования ($p=0,6374$), и между NAbs-положительными (75,00; 41,50-203,25; месяцы; медиана; межквартильный размах) и NAbs-отрицательными (86, 00; 54,50–209,75; месяцы; медиана; межквартильный размах) больными РС через год от начала исследования ($p=0,7211$).

Анализ возрастного аспекта среди пациентов с VAbs-, NAbs-положительными и отрицательными результатами не выявил различий как в начале исследования, так и через год от начала исследования. При этом, средний возраст VAbs-положительных пациентов в начале исследования составил 35,50 (межквартильный размах 31,00-44,00) лет, VAbs-отрицательных пациентов - 35,00 (межквартильный размах 31,00-43,50) лет ($p = 0,7893$). Через год от начала исследования, с учетом перемещения пациентов из группы VAbs-отрицательных в группу VAbs-положительных, средний возраст VAbs-положительных пациентов составил 39,00 (межквартильный размах 33,00-47,50) лет, VAbs-отрицательных - 35,50 (межквартильный размах 31,00-49,00) лет ($p=0,7810$).

Различий между возрастом пациентов с NAbs-положительным и NAbs-отрицательным результатом не отмечалось как в начале исследования, так и через год от начала исследования. При этом, в начале исследования средний возраст больных с NAbs-положительным результатом составил 47,00 (межквартильный размах 39,00-52,50) лет, с NAbs-отрицательным - 35,00 (межквартильный размах 31,00-43,50) лет ($p=0,0675$). Через год от начала исследования, с учетом перемещения пациентов из группы с NAbs-отрицательным результатом в группу пациентов с NAbs-положительным результатом, средний возраст составил 36,00 (межквартильный размах 35,00-46,00) лет и 36,5 (межквартильный размах 32,00-49,00) лет соответственно ($p=0,6434$).

На следующем этапе исследования был проведен анализ содержания биомаркеров активности РС. При этом, не было выявлено различий в концентрации вилперина в крови больных рассеянным склерозом и контрольной группой в начале исследования. Также, нами не было выявлено различий между концентрацией вилперина в начале исследования и через год от начала исследования в группе больных РС.

Анализ содержания USP18 у пациентов РС и контрольных образцов не выявил различий в начале исследования. Однако, через год от начала исследования, отмечалось его значимое повышение в группе больных РС. При этом данный показатель концентрации USP18 превышал его значение в крови лиц контрольной группы.

Концентрации SOCS3 на исходном уровне были чрезвычайно низки в обеих группах. Спустя год от начала исследования отмечалось значимое повышение уровня SOCS3 в группе больных РС, превысив при этом данный показатель в контрольной группе.

Концентрация IL17F не различалась между его содержанием у пациентов РС на исходном уровне и через год от начала исследования, а также в сравнении с его содержанием в крови лиц контрольной группы. Результаты исследования показателей биомаркеров РС представлены в таблице 8 и 9.

Таблица 8 – Концентрации биомаркеров активности РС в начале исследования

Исследуемые группы / Маркеры	Основная группа	Контрольная группа	p
Виперин [ng/ml]	0,0 (0,0-0,33)	0,22 (0,0-0,35)	0,7110
USP-18 [ng/ml]	1,64 (1,04-4,35)	2,33 (1,79-3,95)	0,2056
SOCS 3 [pg/ml]	0,0 (0,00-0,00)	0,0 (0,0-67,86)	0,4748
IL-17F [pg/ml]	33,65 (5,03-90,93)	58,93 (33,65-114,2)	0,8664
Примечания			
1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха;			
2 p - Критерий суммы рангов Вилкоксона			

Таблица 9 – Концентрации биомаркеров активности РС через год

Исследуемые группы / Маркеры	Основная группа	Контрольная группа	p
Виперин [ng/ml] ч/згод	0,19 (0,12-0,34)	0,22 (0,0-0,35)	0,7110
USP-18 [ng/ml] ч/згод	3,57* (2,61-4,35)	2,33 (1,79-3,95)	0,0215
SOCS 3 [pg/ml] через год	93,56** (68,38-131,71)	0,0 (0,0-67,86)	0,0470
IL-17F [pg/ml] через год	33,65 (0,00-79,24)	58,93 (33,65-114,2)	0,8664
Примечания			
1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха;			
2 p - Критерий суммы рангов Вилкоксона			
*p=0,0054; USP-18 в начале исследования и через год у больных РС;			
**p=0,0024; SOCS3 в начале исследования и через год у больных РС			

На следующем этапе исследования был проведен анализ содержания биомаркеров активности РС при выявлении и при отсутствии антител к интерферонам. Таким образом, концентрации вилперина, USP18, SOCS3 и IL17F у VAbs-положительных и у VAbs-отрицательных пациентов не дали значимых различий как в начале исследования, так и через год от начала исследования (таблицы 8, 9).

При анализе содержания биомаркеров в зависимости от NAb статуса, мы также не выявили различий между присутствием NAb и уровнем вилперина, USP18, SOCS3 и IL17F в начале исследования и через год от начала исследования (таблицы 10, 11).

Таблица 10 – Концентрации биомаркеров активности РС у VABs-положительных и VABs-отрицательных, NAbs-положительных и NAbs-отрицательных пациентов в начале исследования

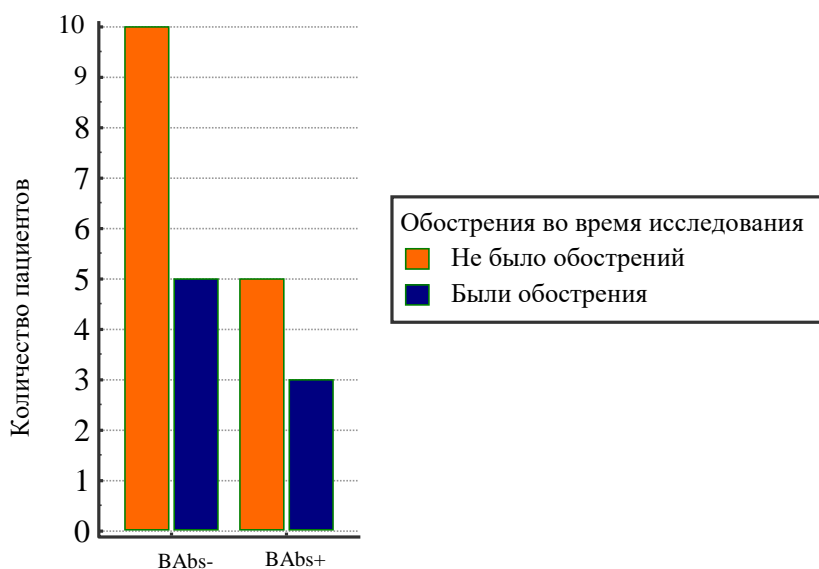
Исследуемые группы / маркеры	VABs - положительные пациенты	Vabs - отрицательные пациенты	NAbs- положительные пациенты	NAbs - отрицательные пациенты
1	2	3	4	5
Виперин [ng/ml]	0,0 (0,0-0,0)	0,19 (0,0-0,39)	0,37 (0,00-0,79)	0,00 (0,00-0,30)
p	0,0679		0,4533	
USP-18 [ng / ml]	24,77 (1,98-137,28)	2,17 (1,11-4,22)	1,84 (1,20-2,45)	2,67 (1,33-7,45)
p	0,1272		0,2997	
SOCS3[pg / ml]	196,160 (0,0-630,26)	0,00 (0,00-24,910)	0,00 (0,00-54,02)	0,00 (0,00-133,87)
p	0,2299		0,5964	
IL-17 F [pg/ml]	201,13 (98,99-1017,20)	36,41 (20,13-96,85)	62,29 (16,82-144,45)	39,18 (20,13-169,84)
p	0,1984		0,9512	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха; 1- U-тест Манна Уитни				

Таблица 11 – Концентрации биомаркеров активности РС у VABs-положительных и VABs-отрицательных, NAbs-положительных и NAbs-отрицательных пациентов через год от начала исследования

Исследуемые группы / маркеры	VAb - положительные пациенты	Vab- отрицательные пациенты	NAbs- положительные пациенты	NAbs - отрицательные пациенты
Виперин [ng / ml]	0,19 0,12-0,34	0,19 0,12-0,36	0,22 0,15-0,34	0,18 0,11-0,32
p	1,0000		0,7637	
USP-18 [ng / ml]	3,96 2,61-7,88	7,70 4,27-10,01	4,09 2,56-9,96	6,54 4,27-9,68
p	0,1066		0,3851	
SOCS 3 [pg / ml]	96,17 66,96-131,71	92,35 77,39-150,81	109,85 83,09-137,63	93,56 60,60-136,85
p	0,7226		0,4423	
IL-17 F [pg/ml]	50,53 17,48-108,78	50,60 0,00-240,87	30,91 4,37-56,91	90,93 6,37-191,94
p	0,9332		0,2448	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; межквартильного размаха; 1- U-тест Манна Уитни				

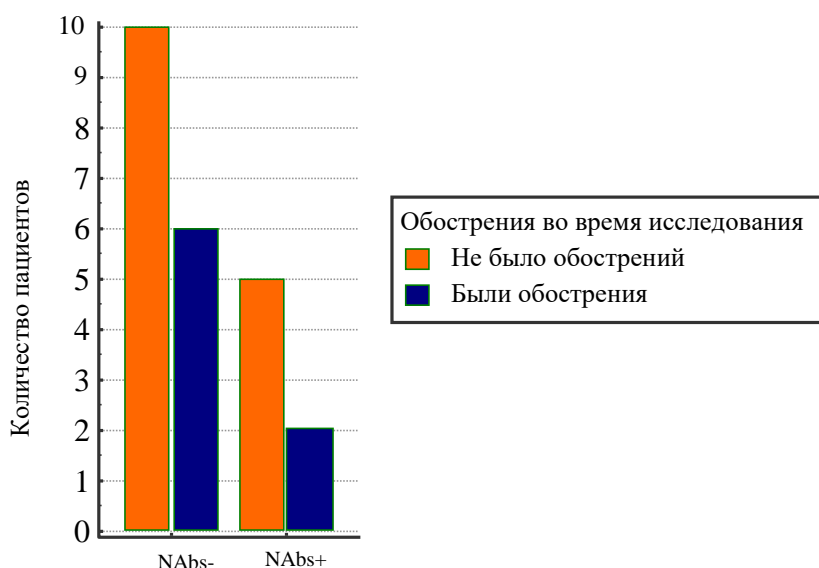
3.3 Взаимосвязь выявленных антител к интерферонам и маркеров активности рассеянного склероза с клиническими параметрами

Через год от начала исследования при анализе частоты обострений у Vabs-отрицательных и Vabs-положительных больных ($p=0,5344$), а также у Nabs-отрицательных и Nabs-положительных больных РС ($p=0,6858$) различий выявлено не было (рисунок 7, 8).



VAbs через год от начала исследования

Рисунок 7 – Распределение больных с обострениями и без обострений в VAbs-отрицательной и VAbs-положительной группах



NAbs через год от начала исследования

Рисунок 8 – Распределение больных с обострениями и без обострений в Nabs-отрицательной и Nabs-положительной группах

Анализ различий клинических параметров с учетом выявленных антител к интерферонам представлен в таблице 12. При этом не было выявлено различий в частоте обострений и количестве новых очагов на МРТ за время исследования у Vabs-положительных и Vabs-отрицательных, Nabs-положительных и Nabs-отрицательных больных РС. Различий в показателях степени инвалидизации у больных РС в зависимости от Nabs-статуса также выявлено не было. Однако, у VAbs-положительных больных отмечался более низкий уровень инвалидизации по шкале EDSS через год от начала исследования.

Таблица 12 – Различия в частоте обострений, показателях инвалидизации и количестве новых очагов на МРТ у VABs-положительных и VABs-отрицательных, NABs-положительных и NABs-отрицательных пациентов через год от начала исследования

Клинико-радиологические критерии	VABs-положительные пациенты	VABs-отрицательные пациенты	NABs-положительные пациенты	NABs – отрицательные пациенты	p
Количество обострений во время исследования	0,0	0,0	0,0	0,0	p=0,8831 (VABs)
Медиана;					
минимум- максимум	0,0-1,0	0,0-4,0	0,0-1,0	0,0-6,0	p=0,5425 (NABs)
EDSS через год от начала исследования	2,2	5,0	4,5	4,0	p=0,0214 (VABs)
Медиана;					
Межквартильный размах	1,5-4,0	3,5-5,9	1,6-4,9	2,2-5,2	p=0,6873 (NABs)
Количество новых очагов на МРТ во время исследования	0,5	1,0	2,0	0,5	p=0,9190 (VABs)
Медиана;					
minimum - maximum	0,0-2,0	0,0-3,0	0,0-3,0	0,0-1,0	p=0,1875 (NABs)
p - U-тест Манна Уитни					

Далее нами были проанализированы показатели NEDA и BREMS у больных РС. Не было выявлено различий между количеством пациентов с показателями BREMS выше 2-х и ниже 2-х среди VABs-позитивных и VABs-негативных пациентов в начале исследования (p=0,2439) и через год от начала исследования (p=0,1213). Также не было выявлено разницы между уровнем BREMS и статусом NABs в начале исследования (p=0,2137). Однако, через год от начала исследования, в группе NABs-положительных пациентов не было выявлено лиц с баллом BREMS, превышающим 2. Других различий в соотношении антител к интерферонам с показателями NEDA и BREMS нами выявлено не было.

По окончании годового исследования, с учетом полученных результатов, для анализа влияния биомаркеров активности РС (виперина, USP18, SOCS3, IL17F) на клиническое течение заболевания исследуемые больные были разделены на 2 группы: 1 группа (10 человек) – больные РС, перенесшие

обострения во время наблюдения и 2 группа (13 человек) – больные без обострений во время наблюдения.

Концентрация вилперина через год от начала исследования была выше у больных РС, испытавших обострения за время исследования (таблица 13, рисунок 9). Медиана в группе больных без обострений составила 0,155 ng/ml (0,10-0,23), у больных с обострениями за время наблюдения – 0,333 ng/ml (0,19-0,54).

Таблица 13 – Содержание вилперина у больных РС с учетом наличия обострений за время наблюдения

Группы больных РС	Вилперин ng/ml в начале исследования	Вилперин ng/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без обострений во время исследования	0,00 (0,05-0,37)	0,155 (0,10-0,23)	p=0,1074
Пациенты с обострениями во время исследования	0,098 (0,03-0,40)	0,333 (0,19-0,54)	p=0,1769
p ¹	p=0,2779	p=0,047	

Примечания:

1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75;

2 p¹U-тест Манна Уитни;

3 p²критерий Вилкоксона

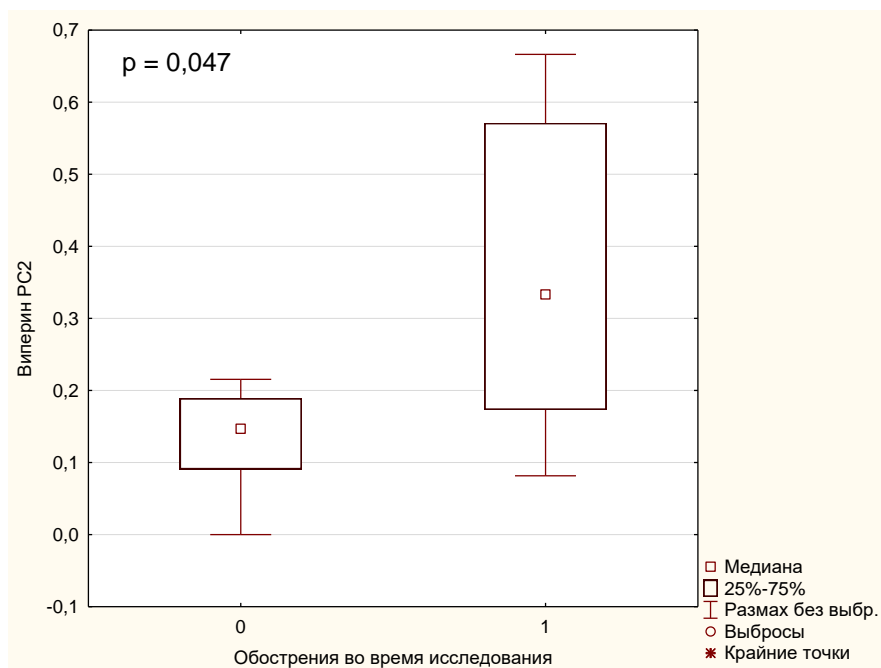


Рисунок 9 – Содержание вилперина через год от начала исследования у больных с обострениями и без обострений во время исследования

В таблицах 14, 15, 16 представлены результаты анализа содержания биосаркеров с учетом наличия обострений заболевания.

Таблица 14 – Содержание USP18 у больных РС с учетом наличия обострений за время наблюдения

Группы больных РС	USP18 ng/ml в начале исследования	USP18 ng/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без обострений во время исследования	3,25 (1,09-13,10)	7,14 (0,52-23,76)	0,0474
Пациенты с обострениями во время исследования	1,597 (26,75-75,26)	5,77 (3,63-8,20)	0,0124
p ¹	0,1002	0,2725	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; p ¹ U-тест Манна Уитни; p ² критерий Вилкоксона			

Таблица 15 – Содержание SOCS3 у больных РС с учетом наличия обострений за время наблюдения

Группы больных РС	SOCS3 pg/ml в начале исследования	SOCS3 pg/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без обострений во время исследования	0,00 (0,00-156,062)	96,171 (68,381-138,834)	0,0697
Пациенты с обострениями во время исследования	0,00 (0,00-34,972)	94,385 (74,560-136,045)	0,0305
p ¹	0,4062	0,9485	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; 2 p ¹ U-тест Манна Уитни; 3 p ² критерий Вилкоксона			

Таблица 16 – Содержание IL-17F у больных РС с учетом наличия обострений за время наблюдения

Группы больных РС	IL-17F pg/ml в начале исследования	IL-17F pg/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без обострений во время исследования	53,22 26,169-99,832	36,40 19,48-104,32	0,7766
Пациенты с обострениями во время исследования	39,176 0,00-250,27	63,77 0,00-240,868	0,9611
p ¹	1,0000	0,8968	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; 2 p ¹ U-тест Манна Уитни; 3 p ² критерий Вилкоксона			

Таким образом, анализ содержания USP18 выявил повышение показателей данного маркера как у пациентов без обострений, так и у больных РС, перенесших обострения за время исследования (таблица 14). Концентрация SOCS3 была повышена только у пациентов, испытавших обострения за время наблюдения (таблица 15). В содержании IL-17F не было выявлено различий в отношении обострений (таблица 16).

Для выявления различий между биохимическими маркерами активности рассеянного склероза и радиологическими параметрами исследуемые были разделены на 2 группы: пациенты без новых очагов на МРТ (4 человека) и пациенты с новыми очагами на МРТ за время наблюдения (7 человек). Виперин был единственным биомаркером, который был значительно ниже у пациентов с новыми очагами поражения на МРТ за время исследования (таблица 17). Мы не наблюдали различий между содержанием USP18, SOCS3 и IL-17F и новыми очагами поражения на МРТ (таблица 17, 18, 19 и 20).

Таблица 17 – Содержание виперина у больных РС с учетом наличия новых очагов на МРТ за время исследования

Группы больных РС	Виперин ng/ml в начале исследования	Виперин ng/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без новых очагов на МРТ	0,342 (0,0-1,255)	0,192 (0,143-0,666)	0,7540
Пациенты с новыми очагами на МРТ	0,00 (0,00-0,302)	0,116 (0,00-0,552)	0,0562
p ¹	0,0444	0,1441	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; p ¹ U-тест Манна Уитни; p ² критерий Вилкоксона			

Таблица 18 – Содержание USP18 у больных РС с учетом наличия новых очагов на МРТ за время исследования

Группы больных РС	USP18 в начале исследования, ng/ml	USP18 через год от начала исследования, ng/ml	p ²
Пациенты без новых очагов на МРТ	1,639 (0,844-7,453)	4,6131 (1,222-7,875)	0,3472
Пациенты с новыми очагами на МРТ	2,921 (0,968-227,182)	8,229 (2,706-12,989)	0,3367
p ¹	0,5839	0,2733	
Примечания 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; 2 p ¹ U-тест Манна Уитни; 3 p ² критерий Вилкоксона			

Таблица 19 – Содержание SOCS3 у больных РС с учетом наличия новых очагов на МРТ за время исследования

Группы больных РС	SOCS3 в начале исследования, pg/ml	SOCS3 через год от начала исследования, pg/ml	p ²
1	2	3	4
Пациенты без новых очагов на МРТ	0,00 0,0-222,64	82,16 53,23-212,04	0,1127
Пациенты с новыми очагами МРТ	0,00 0,0-392,32	118,08 50,26-181,26	0,3333
p ¹	0,5258	1,0000	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; 2 p ¹ U-тест Манна Уитни; 3 p ² критерий Вилкоксона			

Таблица 20 – Содержание IL-17F у больных РС с учетом наличия новых очагов на МРТ за время исследования

Группы больных РС	IL-17F pg/ml в начале исследования	IL-17F pg/ml через год от начала исследования	p ²
Пациенты без новых очагов на МРТ	90,929 0,00-229,162	93,886 0,00-138,998	0,9158
Пациенты с новыми очагами на МРТ	36,676 0,00-96,8516	26,945 0,00-67,548	0,7471
p ¹	0,8538	0,7125	
Примечания: 1 Результаты представлены в виде медианы; q25-q75; 2 p ¹ U-тест Манна Уитни; 3 p ² критерий Вилкоксона			

Далее нами проведена корреляционная оценка взаимосвязи между содержанием биохимических маркеров активности РС с клиническими параметрами (таблица 21, 22).

Таблица 21 – Анализ ассоциации содержания биомаркеров в начале исследования с клиническими параметрами

Клинический параметр	Виперин		USP18		SOCS3		IL-17F	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Количество обострений во время исследования	0,259	0,200	-0,333	0,096	-0,143	0,484	-0,009	0,965
EDSS в начале исследования	0,067	0,727	-0,460	0,003*	0,032	0,865	-0,060	0,754
EDSS через год	0,124	0,545	-0,491	0,061	0,013	0,948	-0,163	0,427

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Количество новых очагов на МРТ	0,253	0,186	0,138	0,687	0,209	0,537	-0,105	0,758
BREMSO	-0,158	0,404	-0,207	0,273	-0,151	0,426	0,003	0,986
NEDA	-0,270	0,422	0,178	0,601	0,043	0,900	-0,074	0,830
*p<0,005								

Таблица 22 – Анализ ассоциации содержания биомаркеров через год с клиническими параметрами

Клинический параметр	Виперин		USP18		SOCS3		IL-17F	
	коэффициент корреляции (r)	p	коэффициент корреляции (r)	p	коэффициент корреляции (r)	p	коэффициент корреляции (r)	p
Количество обострений во время исследования	0,487	0,018*	-0,246	0,258	-0,063	0,774	-0,022	0,915
EDSS в начале исследования	0,066	0,727	0,043	0,841	-0,397	0,060	-0,054	0,776
EDSS через год	0,124	0,545	0,045	0,837	-0,304	0,045*	0,046	0,835
Количество новых очагов на МРТ	-0,514	0,106	0,474	0,140	0,095	0,781	-0,096	0,563
BREMSO	0,016	0,942	0,090	0,682	-0,284	0,189	-0,017	0,947
NEDA	0,000	1,000	0,178	0,601	0,110	0,746	-0,143	0,676
*p<0,05								

Как видно из таблиц 21, 22 анализ ранговой корреляции по Спирмену показал положительную связь концентрации виперина через год с частотой обострений за время наблюдения. Выявлена отрицательная корреляционная связь между показателем тяжести заболевания по шкале EDSS и уровнем USP18 в начале исследования (рисунок 10). Также выявлена отрицательная корреляционная связь между показателем тяжести заболевания по шкале EDSS и концентрацией SOCS3 через год от начала исследования (рисунок 11).

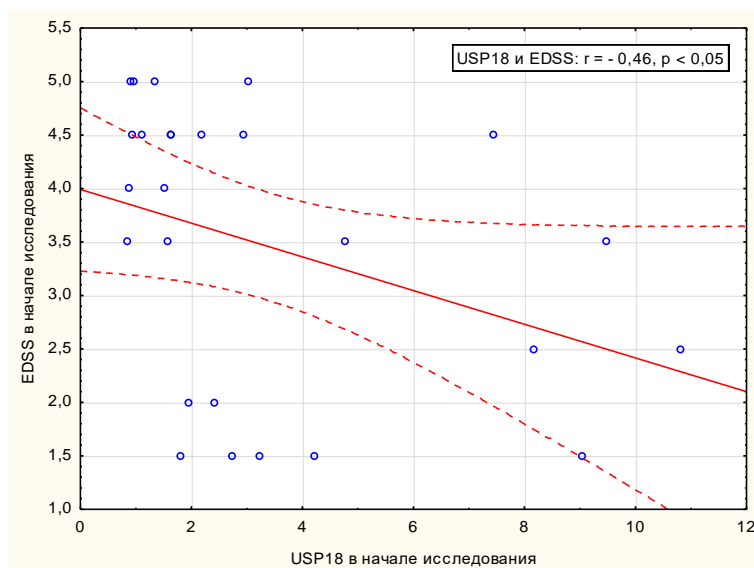


Рисунок 10 – Корреляционная связь между показателем тяжести заболевания по шкале EDSS в начале исследования и уровнем USP18 в начале исследования

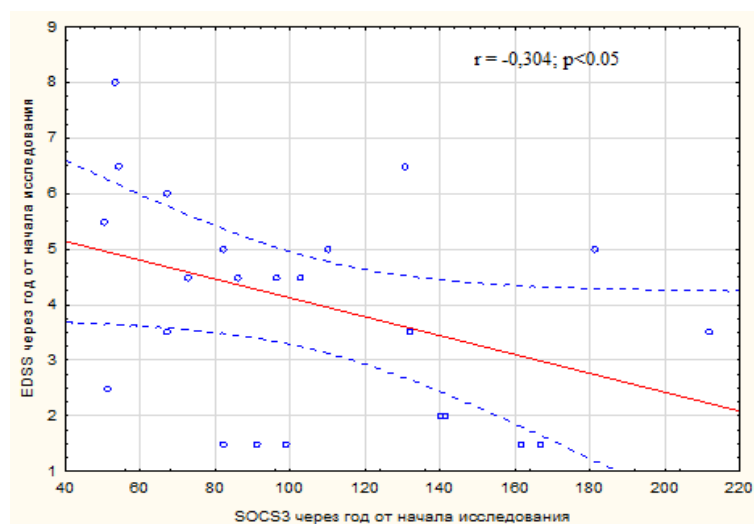


Рисунок 11 – Корреляционная связь между показателем тяжести заболевания по шкале EDSS через год от начала исследования и уровнем SOCS3 через год от начала исследования

Для оценки клинической информативности прогностической значимости биомаркеров активности РС был проведен ROC-анализ (receiver operating analysis). Выявлена значимая связь между уровнем вилперина и количеством обострений у больных РС (AUC – 0,817 ($p=0,03$), чувствительность – 75%, специфичность – 86,7%). При этом уровень отсечки (cut-of) вилперина составил 0,2 ng/ml (рисунок 12).

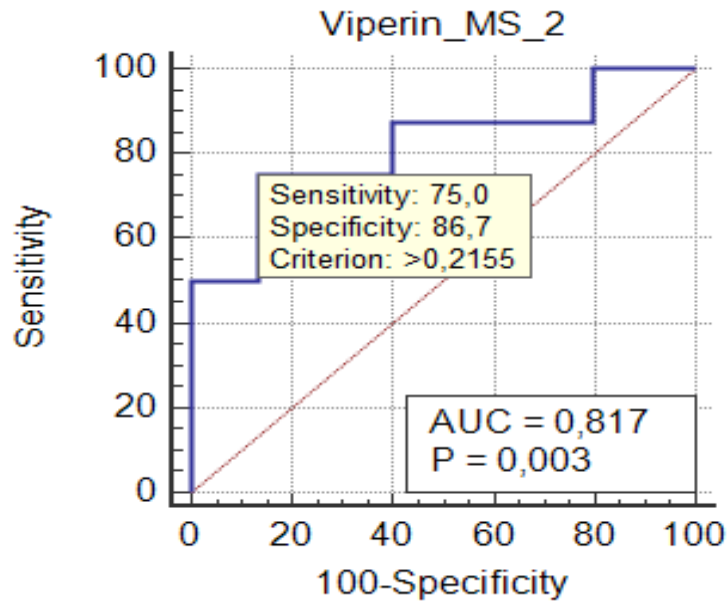


Рисунок 12 – ROC анализ ассоциации концентрации виперина через год от начала исследования с количеством обострений за время наблюдения

Как показал проведенный ROC-анализ результатов, виперин связан с частотой обострений РС и с определенной долей вероятности позволяет прогнозировать течение заболевания. Уровень виперина выше 0,2 ng/ml свидетельствует о наличии риска обострений РС. Ассоциации других биомаркеров (IL-17F, USP18 и SOCS3) с обострениями и новыми очагами на МРТ выявлено не было.

Полученные результаты послужили основанием для создания схемы оценки эффективности терапии рассеянного склероза, согласно которой, при соблюдении критериев NEDA у больных РС, получающих ИНФ-бета, рекомендуется определять содержание виперина в крови (рисунок 13). При уровне виперина выше 0,2 ng/ml существует риск развития обострений РС. Предложенный анализ способствует раннему выявлению пациентов с недостаточной эффективностью проводимой интерферонотерапии на ранних этапах лечения при отсутствии объективных клинических и радиологических признаков активности заболевания. Эти выводы, получены на выборке из 30 человек, и требуют проведения дальнейших исследований на большем количестве больных.

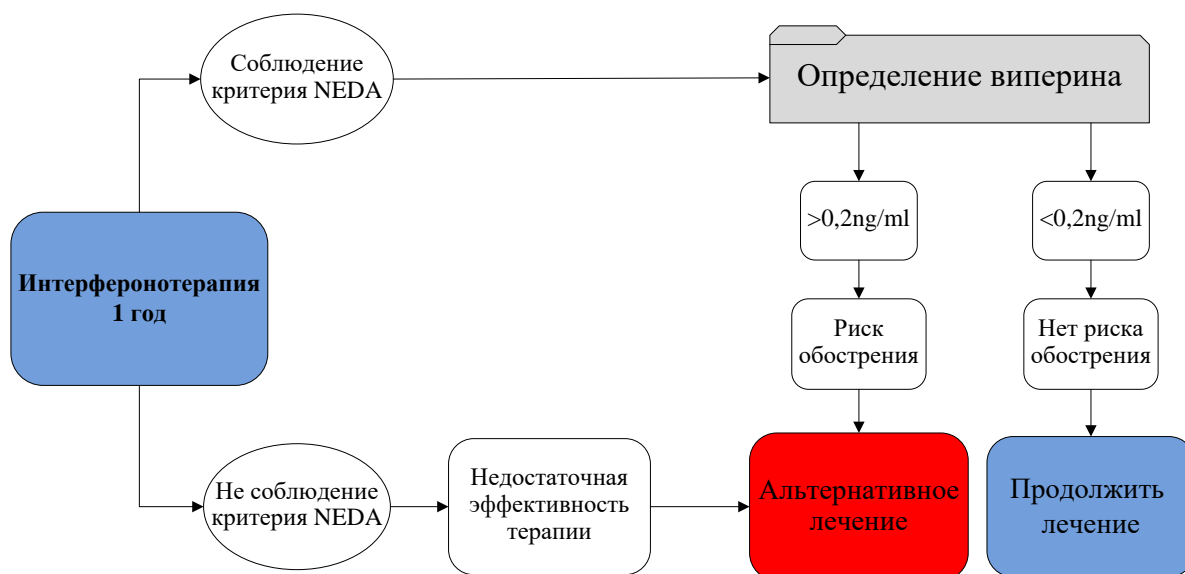


Рисунок 13 – Схема мониторинга эффективности терапии рассеянного склероза

Клинический случай больной РС.

Больная Н., 1981 г.р., в январе 2016 г. поступила в неврологическое отделение БСМП г. Актобе с жалобами на ассиметрию лица справа, онемение и слабость в ногах, шаткость походки, быструю утомляемость.

Из анамнеза заболевания: болеет с декабря 2015 г., когда появилось нарушение зрения в виде «пленки» перед глазами и двоения в глазах, онемение в ногах. Симптоматика самостоятельно регрессировала в течение недели. Данное ухудшение в течение 4-х дней, когда появились онемение в ногах, шаткость походки. В течение суток появилась асимметрия лица.

Неврологический статус. Мелкоразмашистый нистагм при взгляде вправо. Периферический парез VII пары справа. Тонус в мышцах сохранен. Сухожильные рефлексы равномерно оживлены. Брюшные рефлексы – abs. Патологический симптом Бабинского положительный с обеих сторон. Парезов нет. Чувствительность снижена с уровня T12 по проводниковому типу. В позе Ромберга пошатывание. Координаторные пробы выполняет с легкой интенцией. Нарушения функций тазовых органов нет. На МРТ головного мозга от января 2016 г. в перивентрикулярном веществе обоих полушарий визуализируются очаги гиперинтенсивного на T2 ВИ и FLAIR MP – сигнала размерами до 1,3 см, связанные с телами боковых желудочков.

Был выставлен диагноз: Рассеянный склероз. Ремиттирующее течение. Обострение.

Проведено лечение - пульс-терапия метилпреднизолоном 1000 мг №5. В динамике отмечалось улучшение с восстановлением двигательной активности мимических мышц, чувствительных нарушений и регрессом мозжечковой атаксии. По шкале EDSS уровень неврологических расстройств во время ремиссии приравнялся 1,5 баллам; амбулаторный индекс 0. С февраля 2016 г. назначена иммуномодулирующая терапия препаратом интерферон-бета 1а.

В феврале 2017 г. отмечалось обострение в виде чувства стягивания в левой ноге, усиления шаткости и двоения в глазах с хорошим восстановлением после лечения в стационаре (EDSS-1,5 балла). На МРТ головного мозга от 2017г. в динамике новых очагов не выявлено, в перивентрикулярном веществе обоих полушарий визуализируются очаги гиперинтенсивного на T2 ВИ и FLAIR MP – сигнала размерами до 2,0 см, связанные с телами боковых желудочков.

Таким образом, за период наблюдения в 2016-2017 гг. у больной отмечался один эпизод обострения; прогрессирования степени инвалидизации по шкале EDSS не наблюдалось; на МРТ головного мозга новых очагов повреждения не выявлено, но отмечается увеличение старых очагов в размере.

Для характеристики течения заболевания использовалась шкала NEDA-3. Критерий NEDA (no evidence of disease activity) подразумевает отсутствие обострений, отсутствие на МРТ новых или увеличивающихся очагов и прогрессирования инвалидизации. У нашей больной было 1 обострение (1), прогрессирования инвалидизации нет (0), радиологическая активность есть (1), т.е. критерий NEDA-3 не выполняется.

Степень риска для вторичного прогрессирования в течение 10-ти лет определялась по шкале BREMS. Степень риска высчитывается по следующей формуле:

(возраст в декадах × 0,05)
-1,07 (в случае пациента женского пола)
+0,81 (в случае сочетания пирамидных и чувствительных расстройств в дебюте)
+0,64 × количество вовлеченных систем в дебюте
+0,52 (в случае неполного восстановления после дебюта)
+0,71 (в случае обострения, сопровождающегося двигательными и сфинктерными расстройствами)
+0,44 (при достижении 4.0 баллов по шкале EDSS вне обострения).

В нашем примере: возраст пациентки 35 лет, т.е. 3,5 декада; пациентка женского пола; в дебюте - вовлечение 3-х систем (зрительной, нарушение стволовых функций, мозжечковые нарушения); после дебюта отмечалось полное восстановление; обострений с двигательными и сфинктерными расстройствами не было; EDSS не достиг уровня 4,0 баллов.

$$3,5 \times 0,05 - 1,07 + 0,64 \times 3 = 1,025$$

Таким образом, показатель BREMS у нашей больной равен 1,025.

Пациенты с исходным показателем BREMS > 2,0 имеют высокую вероятность достижения вторичного прогрессирования в течение 10 лет. У пациентов со значением BREMS < (-0,63), вероятнее всего, прогрессирования не произойдет.

Результаты иммунологических исследований данной пациентки указаны в таблице 23.

Таблица 23 – Содержание исследуемых показателей у больной Н. в начале исследования и через год от начала исследования

Исследуемые показатели	ВAb [0/1]	ВAb [AU/ml]	NAb [0/1]	NAb [LU/ml]	Виперин [ng/ml]	USP-18 [ng/ml]	SOCS 3 [pg/ml]	IL-17F [pg/ml]
В начале исследования	положительный	24,73	отрицательный	8,484	0,0	227,182	392,32	0
Через год от начала исследования	положительный	11,96	положительный	0,894	0,55	2,71	139,99	0

В данном клиническом случае на фоне применения интерферона-бета у больной отмечалось одно обострение, что привело к несоблюдению критерия NEDA в наблюдаемый период. Показатель BREMS был меньше 2-х, что свидетельствует об отсутствии риска перехода во вторично-прогрессирующее течение в течение первых 10 лет заболевания.

Факт отсутствия риска перехода во вторично-преогрессирующее течение можно объяснить тем, что интерферон-связывающие антитела могут пролонгировать период полураспада интерферонов. В начале исследования выявлялись лишь интерферон-связывающие антитела, через год от начала исследования – как интерферон-связывающие, так и интерферон-нейтрализующие антитела. Полученные результаты согласовываются с литературными данными, где указывается, что интерферон-связывающие антитела появляются в крови больных РС раньше, чем интерферон-нейтрализующие антитела.

При анализе содержания биомаркеров активности и прогрессирования РС было выявлено повышение показателей виперина через год от начала исследования, однако данный показатель превысил уровень 0,2 ng/ml, что представляет риск для развития обострений. Уровень содержания USP-18, SOCS 3 снизился через год от начала исследования. Это также может быть связано со снижением эффективности интерферонов.

Анализируя данный клинический случай, свидетельствующий о наличии риска развития обострений у пациента, получающего лечение препаратами первой линии, можно предположить, что проводимая терапия недостаточно эффективна, что связано с обратным эффектом виперина, который ингибирует образование интерферона-бета и снижает их биологический эффект. Данному пациенту необходимо рекомендовать альтернативное лечение в виде назначения глатирамера ацетата или препарата из второй линии терапии РС.

3.4 Обсуждение результатов исследования

Данная научная работа посвящена клинико-иммунологическому исследованию больных РС, в которой проанализирована взаимосвязь между клинической активностью заболевания с иммунологическими показателями у больных РС, получающих интерферона-бета. Была проведена корреляция между показателями клинического течения заболевания (число обострений;

степень инвалидизации по шкале EDSS; количество новых очагов на МРТ) с антителами к интерферонам (VAbs и NAbs) и биомаркерами активности заболевания (виперин, USP18, SOCS3, IL-17F).

По результатам клинического исследования неврологический статус больных РС характеризовался превалированием двигательных расстройств в виде центральных параличей и координаторных нарушений, таких как мозжечковая атаксия, мышечная гипотония, инкоординация. Подобная клиническая картина РС, с доминированием двигательных и мозжечковых расстройств, описана ранее в других клинических исследованиях [264, 265]. Также, у больных, среди всех синдромов поражения нервной системы, значительное место занимает синдром когнитивных расстройств (52%). Эти данные находят отражение в работах других авторов, где когнитивные нарушения были выявлены в 51-66% больных РС [266-268]. Стволовые расстройства нами были выявлены в 44,1% случаев, что также соответствует литературным данным, согласно которым симптомы поражения ствола встречаются в 36-81% случаев [113, с. 4]. При оценке функций тазовых органов, нарушения были выявлены в 42,5% случаев, что не противоречит данным ряда исследований, результаты которых свидетельствуют о наличии тазовых расстройств у больных РС в пределах 10-97% случаев [269-271].

Мы обнаружили, что единицы измерения, используемые для выражения VAbs и NAbs, могут влиять на интерпретацию результатов. Определенные биомаркеры могут иметь различное клиническое значение в зависимости от единиц измерения активности болезни. Наличие VAbs может быть выражено в единицах оптической плотности, произвольных единицах, концентрации, взаимном разбавлении или качественно («положительный»/«отрицательный»). VAbs могут определяться в крови как на фоне ИНФ-терапии, так и у здоровых лиц, не получающих ИНФ. В нашем исследовании VAbs были выявлены в 35% и 5% случаев в основной и контрольной группах соответственно. При качественном анализе показателей VAbs в основной и контрольной группах выявленные изменения не были значимыми. Тем не менее, концентрация VAbs была выше в группе больных РС, чем в контрольной группе. По данным Ross C. et al (2000) и Hegen H. et al. (2014) VAbs могут быть обнаружены у здоровых людей, а также у нелеченых пациентов в 0,1 и 1% случаев соответственно [173, p. 708; 179, p. 581]. Присутствие VAbs у здоровых людей или у нелеченных больных может быть результатом взаимодействия с человеческими антиживотными антителами (НААА – human anti-animal antibodies), используемыми при проведении исследования. Было обнаружено, что человеческая сыворотка содержит антитела против белков, включая иммуноглобулины различных видов животных, таких как крысы, мыши, козы, овцы, лошади, кролики, морские свинки и коровы. Так, например, в исследовании, посвященном ревматоидному артриту, у 12% пациентов были обнаружены антиживотные антитела: во всех 12% случаев к овечьим белкам и в 6% – к бычьим [272]. У пациентов с нефротическим синдромом при гломерулонефрите, системной красной волчанке и неаутоиммунных заболеваниях определялись антиживотные антитела: кроличьи (от 9 до 71%),

лошадиные (от 10 до 73%), овечьи (от 18 до 100%), мышинные (от 0 до 50%) и морской свинки (от 0 до 67%) [273].

ИФА (иммуноферментный твердофазный анализ (ELISA)) является лабораторным тестом, на который может влиять НААА, особенно если это НААА против иммуноглобулинов животных, IgG которых используют в тесте (например, НАМА – человеческие антимышинные антитела) или антителосвязывающие вещества. НААА и НАМА относятся к гетерофильным антителам. Оба вмешивающихся фактора могут давать ложноположительные результаты. В исследовании Boscato (1986) около 40% анализируемых образцов выявили содержание связывающих антитела веществ [274].

Другим объяснением наличия VAbs в контрольной группе и у нелеченых больных может быть иммунная реакция против эндогенного интерферона. В двух исследованиях на сегодняшний день было предположено, что NAbs у пациентов РС оказывают биологическое воздействие на эндогенный интерферон [275, 276]. С другой стороны, нельзя исключить, что некоторые антитела также продуцируются против эндогенного ИНФ. Антитела против эндогенных белков, выявленные у пациентов РС, оказались органонеспецифичными. Основные регуляторные ферменты углеводного метаболизма являются мишенью для аутоиммунного ответа при РС. Например, были обнаружены антитела к транскетолазе – ферменту в пентозофосфатном цикле [277]. Кроме того, антитела против гликолитических ферментов – тризофосфат-изомеразы и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы – были выявлены в спинномозговой жидкости пациентов РС [278]. Таким образом, эндогенный ИНФ может также стать мишенью для аутоиммунного ответа при РС, и такая реакция может привести к обнаружению VAbs и NAbs при обследовании нелеченных пациентов РС.

Кроме того, было установлено, что процент VAbs-положительных пациентов зависит от единиц измерения, в которых выражаются уровень антител. У пациентов, получавших Ребиф, VAbs выявлялся в 24,4-55% случаев в зависимости от единиц их экспрессии [194, р. 2]. Обычно в исследованиях по выявлению VAbs результаты выражаются в оптической плотности (O.D.) или произвольных единицах (AU) [279]. В нашем исследовании, аналогично докладу Wencel-Warot (2016) [194, р. 6], мы обнаружили, что интерпретация анализов VAbs может зависеть от единиц измерения. При выражении VAbs в виде концентрации была выявлена достоверная разница между показателями в группе больных РС и контрольной группой, как в начале, так и в конце исследования. Таким образом, экспрессия VAbs в концентрации (ng/ml) предпочтительна для клинического применения, чем оптическая плотность (O.D.) и произвольные единицы (AU).

Процент выявленных пациентов с VAbs-положительным результатом в группе больных РС совпадает с результатами других исследований [154, с. 1803]. Однако, ряд исследователей отмечают более высокий процент больных с VAbs: в пределах 40-79% [13, р. 4; 263, р. 1097; 280].

Частота формирования NAbs на фоне ИНФ-терапии, согласно литературным данным, варьирует от 2 до 45% случаев [281]. Наше

исследование выявило NAbs в 30% случаев, что совпадает с данными, полученными в ряде исследований [12, p. 1494; 173, p. 708; 282]

На начальном этапе NAbs были обнаружены как у больных РС, так и у здоровых лиц, однако разница была значимой при выражении NAbs в единицах интенсивности света (LU/ml), но не в том случае, когда они были выражены качественно. Этот факт также указывает на значимость единиц экспрессии антител к ИНФ при интерпретации результатов. Через год от начала исследования определялось значимое повышение образования NAbs, при этом экспрессия в обеих единицах измерения выявила достоверное различие между группами больных РС и контролем.

Нами был проведен анализ различий в длительности заболевания и в возрасте пациентов в отношении иммунной реакции против ИНФ. При этом не обнаружено каких-либо различий между данными параметрами. Этот вывод согласуется с сообщениями, где также не было выявлено зависимости между продолжительностью РС, возрастом до начала лечения и формированием NAbs (The IFN- β Multiple Sclerosis Study Group, 1996) [16, p. 51; 283]. В недавно проведенном исследовании BAbs и NAbs у китайских пациентов РС не было выявлено связи между статусом BAbs и возрастом пациентов, продолжительностью заболевания и EDSS [13, p. 5]. Однако другие исследования показали, что пациенты, у которых диагноз РС выявлен в более старшем возрасте, более склонны к продукции антител в момент постановки диагноза [279, p. 1270; 284].

В нашем исследовании мы не выявили различий в частоте обострений, в количестве новых очагов на МРТ у больных с BAbs, NAbs и без них. Аналогичное наблюдение было сообщено другими исследователями [184, p. 39], однако процент положительных пациентов с NAbs был ниже в некоторых исследованиях [279, p. 1266], и результаты зависели от дизайна исследования (поперечного и продольного) [184, p. 39] или дозы ИНФ и течения болезни (Secondary Progressive Efficacy Clinical Trial of Recombinant Interferon-Beta-1a in MS (SPECTRIMS) Study Group, 2001) [285]. Вышеупомянутое исследование, проведенное в Китае, также показало отсутствие корреляции между статусом BAbs или NAbs и прогрессированием заболевания, которое оценивалось по количеству рецидивов и новых повреждений на МРТ [13, p. 5].

В докладе исследовательской группы по ИНФ-бета при РС (The IFN- β Multiple Sclerosis Study Group, 1996) частота рецидивов была выше у пациентов с положительным результатом NAbs, чем у NAbs-отрицательных в течение 3 лет наблюдения. Во время первой (кратковременной) фазы исследования PRISM связь между NAb и частотой рецидивов не была обнаружена, однако во второй фазе (долгосрочное наблюдение) у пациентов с положительным результатом NAbs было больше рецидивов (PRISMS Study Group, 2001) [286, 287]. Долгосрочное исследование среди больных РС Дании свидетельствовало о влиянии NAbs на показатель рецидивов [183, p. 1187]. Титр NAbs может влиять на клиническое течение РС, и было признано, что значение, превышающее 100 NU/ml, влияет на частоту обострений [10, p. 307]. Колебания

в статусе NAbs также могут влиять на течение РС [288]: в NAbs-положительные периоды увеличивалась частота рецидивов, в NAbs-отрицательные – снижалась. Также более высокие дозы ИНФ влияют на иммуногенность препарата [15, р. 42] и более высокие показатели рецидивов у пациентов с положительным результатом NAbs.

Авидность антител против интерферона может также влиять на клиническое течение РС. При краткосрочном наблюдении у NAbs-положительных пациентов РС может наблюдаться меньшая частота рецидивов, чем у NAbs-негативных пациентов, поскольку связывание антител с меньшей авидностью к молекулам интерферона может продлить период полураспада [289]. В нашем исследовании не было выявлено различий между числом рецидивов, числом поражений на МРТ во время исследования и VAbs- и NAbs-позитивностью. Тем не менее, мы выявили снижение показателя EDSS через год от начала исследования у VAbs-положительных пациентов, что также может быть обусловлено пролонгированием полужизни ИНФ. Не было выявлено различий в показателях EDSS через год от начала исследования среди NAbs-положительных и NAbs-отрицательных пациентов. В результатах двух других исследований было отмечено, что изменение EDSS было связано со статусом NAb [10, р. 308; 15, р. 43; 190, р. 321].

В нашем исследовании не было выявлено различий между появлением новых очагов заболевания на МРТ в зависимости от статуса VAbs и NAbs. Аналогичные результаты были опубликованы в других исследованиях [184, р. 39; 290]. В исследовании Hartung H. et al. (2011) NAbs-положительные пациенты имели большее количество очагов демиелинизации на МРТ, чем NAbs-положительные исследуемые: 12,2/8,6 [291].

В нашем исследовании мы также применили новые клинические шкалы, характеризующие течение заболевания - BREMS и NEDA. В ходе исследования среди пациентов с положительными результатами NAbs не было выявлено лиц с показателем BREMS, превышающим 2 балла, что указывает на отсутствие риска трансформации во вторично-прогрессирующее течение у NAbs-положительных пациентов. Как упоминалось выше, есть некоторые данные о том, что NAbs могут модифицировать фармакокинетику ИНФ и, таким образом, вызывать различные клинические эффекты, которые противоположны тем, что ожидалось. Более того, этот эффект может вызвать расхождения между исследованиями.

Мы не осведомлены об исследованиях, в которых анализируется VAbs и NAbs статус с показателями NEDA и BREMS у больных РС.

На следующем этапе мы проанализировали различия в концентрации IL-17F в зависимости от VAbs-, NAbs-позитивности. Как известно, IL-17F относится к семейству IL-17 вместе с другими интерлейкинами: IL17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D и IL-17E. IL-17 продуцируются клетками Th17 и участвуют в активации Т-клеток, фибробластов и мононуклеарных клеток периферической крови [292]. Ген, кодирующий IL-17F, расположен на хромосоме 6p12 [293]. Так, у больных РС в Китае rs763780 TT и T-аллель генотипа IL-17F встречался чаще, чем у здоровых людей [294]. Также у китайских пациентов с

оптикомиелитом rs763780 TT и T-аллель выявлялся чаще, чем у контролей [295].

В нашем исследовании, как в начале исследования, так и через год от начала исследования, не было различий между VAbs и NAbs статусом и концентрацией IL-17F. Первые сообщения о возможной значимости IL-17F в мониторинге ответа на лечение ИНФ были сделаны из Стэнфордского университета в США после проведения экспериментального исследования пациентов РС. Концентрация IL-17F была выше у больных, не «ответивших» на лечение, чем у пациентов с РС, которые хорошо реагировали на лечение ИНФ [201, p. 411]. Однако, в другом исследовании, проведенном в США, концентрация IL-17F не отличалась у пациентов, которые хорошо реагировали на лечение ИНФ по сравнению с пациентами, которые реагировали плохо [296]. При исследовании иранской популяции больных РС уровень IL-17F отражал активность болезни. Отмечалось более высокое содержание IL-17F у больных РС по сравнению со здоровыми людьми, также у больных, получавших лечение по сравнению с нелеченными пациентами и у мужчин по сравнению с женщинами. Снижение концентрации IL-17F наблюдалось у пациентов, получавших лечение ИНФ и/или метилпреднизолон [297]. Краткосрочное наблюдение при лечении ИНФ больных РС в Турции выявило изменение показателей IL-17. Однако, в данном исследовании оценивался уровень общего IL-17 без специфического анализа IL-17F [298]. Интересный факт был выявлен у пациентов РС в Египте: уровень IL-17F повышался во время ремиссии, тогда как во время обострений повышения уровня IL-17F не отмечалось [299].

Расхождения между результатами исследований по IL-17F могут быть связаны как с исследуемыми популяциями, так и с методологическими аспектами лабораторных анализов. Этнические различия и их отношение к полиморфизму гена IL-17F могут играть определенную роль среди изучаемых групп. С другой стороны, нельзя не учитывать вероятность вмешательства гетерофильных антител при определении IL-17F методом ELISA. Это было подтверждено у пациентов с такими аутоиммунными заболеваниями как ревматоидный артрит, болезнь Крона и неспецифический язвенный колит, когда гетерофильные антитела мешают оценке IL-17F с помощью метода ELISA. Связывание с гетерофильными антителами искажает результаты анализов на IL-17F [300]. Таким образом, такую вероятность следует учитывать при оценке показателей IL-17F у пациентов РС.

Мы также проанализировали содержание других маркеров, которые могут помочь в оценке активности РС у пациентов.

На начальном этапе мы не обнаружили различий в концентрации вилерина между больными РС и контрольной группой. При анализе статуса VAbs, NAbs с концентрацией вилерина также не было выявлено достоверной разницы между NAbs-позитивными и NAbs-негативными пациентами.

Концентрация вилерина через год от начала исследования была выше у больных РС, испытавших обострения за время исследования. Медиана в группе больных без обострений составила 0,155 ng/ml (0,102-0,212), у больных с обострениями за время наблюдения – 0,333 ng/ml (0,173-0,571). У пациентов с

новыми очагами поражения на МРТ отмечались более низкие концентрации вилперина, чем у лиц без новых очагов. Концентрация вилперина через год прямопропорционально коррелировала с частотой обострений ($r=0,487$, $p=0,0184$) и не коррелирует с показателем EDSS.

В исследовании INSIGHT было обнаружено, что снижение вилперина ассоциируется с одновременным VAbs-/NAbs-положительным статусом. Однако, у пациентов, которые были лишь VAbs-положительными без NAbs, концентрация вилперина не отличалась от уровня вилперина у VAbs-/NAbs-отрицательных пациентов [12, p. 1495]. Пациенты в исследовании INSIGHT наблюдались только в течение первых 6-ти месяцев терапии, поэтому в нашем 1-летнем наблюдении больных, получающих ИНФ-терапию более 1 года, эффект терапии ИНФ-ми на концентрацию вилперина может быть уже иным.

В исследовании Feng X (2012) вилперин был использован для мониторинга биологического действия ИНФ в двух группах: 21 пациент, получавших ИНФ-терапию, и 14 пациентов, получавших комбинированную терапию ИНФ с аторвостатином. В результате исследования было выявлено, что концентрации вилперина были снижены у пациентов, получавших ИНФ с аторвостатином, что указывает на ингибирование интерферонов статинами [301]. Других данных об ассоциации между клиническими эффектами ИНФ и вилперина в доступных источниках найдено не было.

Экспериментальное исследование показало, что ИНФ-бета повышает экспрессию мРНК вилперина в клетках-предшественниках нейронов уже через 6 ч после введения ИНФ-бета [302].

Наше исследование показывает, что вилперин как маркер активности заболевания и эффективности лечения ИНФ-бета лучше коррелирует с результатами методов нейровизуализации, чем с показателем EDSS. Сообщений о подобных результатах нами не найдены.

Еще одно интересное наблюдение заключается в том, что концентрация вилперина положительно коррелировала с числом обострений в период наблюдения и была выше у пациентов с рецидивами во время исследования. Чтобы объяснить это наблюдение, которое не согласуется с конкретным эффектом ИНФ-бета, мы можем предположить, что факторы окружающей среды, например, вирусная инфекция, могут вызвать повышение уровня вилперина, и этот эффект может накладываться на течение РС. Исследование, проведенное в азиатской когорте, показало, что заражение вирусом Чикунгунья вызывает экспрессию вилперина в моноцитах инфицированных лиц [303]. Очевидно, что другие вирусные инфекции также могут вызывать подобный эффект и уже имеются данные об участии в индуцировании вилперина вируса иммунодефицита человека [304], вируса гепатита С [305], вируса Западного Нила, вируса лихорадки Денге [306], вируса гриппа А [307] и цитомегаловируса человека [308]. Таким образом, экспрессия вилперина может быть вызвана другими факторами, чем ИНФ-бета.

Недавно в экспериментальном исследовании было показано, что сверхэкспрессия вилперина ингибирует продукцию ИНФ и этот эффект модифицируется митохондриальным противовирусным сигнальным белком.

Взаимодействие вилерина с рецептором на поверхности митохондрий приводит к усилению биосинтеза жирных кислот, формирующих вирусную оболочку. [216, р. 6]. Результаты данного исследования могут частично объяснить полученные в ходе нашей работы результаты.

Из литературных источников известен один из противовоспалительных механизмов действия вилерина: он контролирует продуцирование T2 цитокинов Т-клетками [215, р. 3523] и индуцирует продукцию ИНФ дендритными клетками [309].

Модификация продуцирования вилерина в иммунных клетках вирусными агентами и его участие в регуляции процессов в иммунных клетках может объяснить сложную роль данного белка в патогенезе РС и трудности в интерпретации его клинического значения.

Следующим биомаркером, проанализированным в нашем исследовании, была USP18. На исходном уровне больные РС имели более низкую концентрацию USP18, чем в контрольной группе. Через год от начала исследования отмечалось повышение содержания концентрации USP18 в группе больных, а также была выше у больных РС, чем у контролей.

Мы проанализировали различия в содержании USP18 у VAbs-, Nabs-положительных и VAbs-, Nabs-негативных больных РС. При этом, как на исходном уровне, так и через год от начала исследования не было выявлено различий в отношении USP18 между VAbs-, Nabs-положительными и VAbs-, Nabs-отрицательными пациентами. Не было выявлено различий в концентрациях USP18 у больных РС с новыми очагами поражений на МРТ и без них.

Выявлена отрицательная корреляция между уровнем USP18 в начале исследования со степенью инвалидизации по шкале EDSS в начале исследования. Кроме того, концентрация USP18 в начале исследования отрицательно коррелировала с длительностью заболевания.

Наши наблюдения согласовываются с результатами исследования генотипов USP18 и его экспрессии в мононуклеарных клетках периферической крови у испанских пациентов РС. В этом исследовании Malhorta et al. (2013) два полиморфизма гена USP18 были генотипированы: rs2542109 и rs9618216. Анализ одиночного нуклеотидного полиморфизма (SNP) показал, что аллель rs9618216 Т чаще определялся у больных РС, а генотип СС встречался реже у больных РС, чем у контрольной группы. В анализах частоты аллелей SNP rs2542109 не было различий между пациентами РС и контрольной группой. У лиц с гаплотипом USP18 CACG экспрессия USP18 в мононуклеарных клетках периферической крови была ниже, чем у пациентов, гомозиготных по эталонному гаплотипу CACA [213, р. 3]. Гаплотип CACG и снижение экспрессии USP18 в мононуклеарных клетках периферической крови коррелировали с клиническими показателями. Число рецидивов и показатели EDSS были выше в этой подгруппе пациентов РС, что было схоже с нашими результатами. В этом исследовании также сообщается о взаимосвязи между генотипом и ответом на лечение ИНФ. Носители гомозигот AA для rs2542109 хорошо реагировали на введение ИНФ. При анализе SNP rs9618216 различий в

частоте аллелей и генотипов между ответчиками и неответчиками не наблюдалось [213, р. 5].

В экспериментальной части Malhorta et al. исследовали влияние ИНФ *in vitro* на USP18 в мононуклеарных клетках периферической крови. ИНФ-бета повышал экспрессию гена USP18, но различий в данном эффекте между гомозиготами AA и гетерозиготами AG не было выявлено [213, р. 6].

В другом исследовании сообщалось о снижении экспрессии USP18 в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов РС, по сравнению с группой контроля. Более того, экспрессия USP18 индуцировалась INF-бета и снижалась в присутствии NAbs. Однако не было корреляции между экспрессией USP18 в периферической крови и полом, возрастом в дебюте заболевания, баллом EDSS на исходном уровне, количеством рецидивов и продолжительностью болезни [212, р. 3].

В нашем исследовании ИНФ-терапия индуцировала выработку USP18, приводя к незначительному повышению концентрации через год от начала исследования, и мы наблюдали корреляции между концентрациями USP18 и клиническими показателями активности болезни.

Следующий биомаркером, который мы изучали в нашем исследовании, был SOCS3. На начальном этапе мы не наблюдали различий между группами. Через год уровень SOCS3 увеличился у больных РС по сравнению с контролем. При анализе ассоциации между VAbs и NAbs и концентрациями SOCS3 различий не было.

У больных РС с рецидивами за время исследования концентрация SOCS3 через год была выше, чем у больных без обострений. Связи между новыми очагами поражения на MPT и концентрацией SOCS3 не наблюдалось.

При оценке концентрации SOCS3 через год отмечалась отрицательная корреляционная связь с показателем тяжести заболевания по шкале EDSS через год от начала исследования.

О клиническом значении SOCS3 у пациентов РС имеется лишь небольшое количество сообщений. В исследовании итальянских больных РС экспрессия SOCS3 в мононуклеарных клетках периферической крови была выше во время ремиссии, чем в период обострений, и была выше по сравнению со здоровым контролем [222, р. 180]. В экспериментальной части этого исследования *in vitro* было испытано влияние противовоспалительного интерлейкина-10 (IL-10), провоспалительного интерлейкина-6 (IL-6) и лептина на мононуклеарные периферические клетки. IL-10 вызывал повышение экспрессии SOCS3 во время рецидива и ремиссии у пациентов РС и в контрольной группе. Лептин самостоятельно стимулировал экспрессию IL-6 в периферической крови, но сочетание лептина с IL-10 снижало экспрессию IL-6 в крови. Это означает, что SOCS3, стимулируемый IL-10, уменьшает продукцию IL-6 в мононуклеарных клетках периферической крови. Таким образом, SOCS3 может модулировать воспалительный ответ в иммунных клетках [222, р. 181].

В исследовании, проведенном у мексиканских пациентов с РС [310], экспрессия SOCS3 была выше у пациентов РС, чем в контроле. Однако

корреляции экспрессии SOCS3 и EDSS не обнаружены. В этом исследовании не было проанализировано никаких других показателей активности болезни.

Недавно были опубликованы результаты исследования концентрации SOCS3 у пациентов РС в Турции [311], в котором не было выявлено различий в концентрациях SOCS3 между пациентами РС и здоровым контролем. Упражнения и физическая активность не влияли на концентрацию SOCS3 у пациентов РС. В этом исследовании не сообщается об ассоциациях между клиническими или нейровизуализационными показателями и концентрациями SOCS3. Нам неизвестны другие клинические исследования по клиническому значению SOCS3 у пациентов РС.

В экспериментальном исследовании интерлейкин-23 (IL-23) и в меньшей степени интерлейкин-12 (IL-12) повышали экспрессию SOCS3 в дендритных клетках [312]. Дендритные клетки с трансдуцированным SOCS-3 продуцировали меньше ИНФ-гамма и IL-12 и больше IL-10 по сравнению с клетками без трансдукции SOCS3. SOCS-3-трансдуцированные дендритные клетки показали слабый МОГ (миелиновый гликопротеин олигодендроцитов) - индуцированный пролиферативный ответ, чем клетки, без трансдукции SOCS3. В этом исследовании был также проанализирован эффект SOCS3 *in vivo*. У экспериментальных животных, обработанных SOCS3-трансдуцированными дендритными клетками на начальной фазе экспериментального аутоиммунного энцефалита (ЕАЕ) отмечалась доброкачественное течение заболевания. Таким образом, в экспериментальных условиях было доказано положительное влияние SOCS3 на симптомы модели РС, но все еще требуется проведение дальнейших клинических исследований [312, p. 1683].

В нашем исследовании мы оценили влияние параметров NEDA и BREMS на активность заболевания у больных РС.

Основным предназначением шкалы NEDA является оценка активности заболевания в клинических испытаниях [20, p. 329; 261, p. 254]. Ученые предлагают использовать NEDA в качестве основной цели при лечении больных РС, но обсуждение этого вопроса все еще остается открытым [313]. Важным является вопрос о том, когда проводить повторное обследование больных, получающих лечение для оценки NEDA. Giovannoni et al. (2015) рекомендуют повторно обследовать больных, получающих интерферон-бета, терафлуномид, диметилфумарат и натализумаб через 3-6 месяцев, глатирамера ацетат через 9-12 месяцев, алемтузумаб через 12 месяцев после последнего курса инфузии или через 24 месяца после первоначальной дозы. В нашем исследовании мы оценивали NEDA через год наблюдения, а средняя длительность лечения интерферонами составила 4,2 года [314].

Согласно литературным данным критерии NEDA выполнялись у 46% больных, не получавших лечение при наблюдении в течение 1 года. При более длительном наблюдении, в течение 7-10 лет, менее 10% нелеченных больных оставались в статусе NEDA [315-317]. Пациенты, длительно получавшие препараты второй линии (натализумаб, финголимод или алемтузумаб), соответствовали показателю NEDA в 31-47% случаев [261, p. 257; 318].

Giovannoni et al. (2015) высказали предположение о необходимости изучения связи между NEDA и определенными биомаркерами, такими как концентрация нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости. Более того, недавно было опубликовано предложение о необходимости включения биомаркеров цереброспинальной жидкости в критерии NEDA [314, p. 331]. В нашем исследовании, которое было начато до публикации работы Bonnan et al. [313, p. 53], была проведена корреляция биомаркеров крови с NEDA в некоторой степени как отклик на этот призыв, продемонстрировав, что в краткосрочных наблюдениях биомаркеры сыворотки не коррелируют с NEDA.

Недавно были опубликованы две работы, анализирующие корреляцию между клеточными маркерами и NEDA. В одной из них сообщалось об эффекте диметилфумарата на клетки памяти [319]. Оценка NEDA использовалась для корреляции с субпопуляцией клеток памяти. Пациенты с NEDA имели низкий уровень CD4⁺ и CD8⁺ центральных Т-клеток памяти, В-клеток памяти, CD4⁺ Т-клеток, продуцирующих интерферон-гамма, CD8⁺ Т-клеток, продуцирующих TNF-альфа, ИНФ-гамма и В-клеток, продуцирующих TNF и более высокие уровни регуляторных CD56 клеток.

В более позднем исследовании проанализирована субпопуляция иммунных клеток у пациентов, получавших ИНФ, в отношении активности заболевания. Процентное содержание CD19⁺CD5⁺ клеток ниже 3% или CD8⁺ перфорина + Т-клеток выше 2,6% повышает вероятность достижения критерия NEDA при лечении больных РС [320].

Нам не известны другие исследования, посвященные изучению связи NEDA с результатами исследования биохимических маркеров. В нашем исследовании мы не выявили взаимосвязи между шкалой NEDA и уровнем изученных нами биомаркеров.

На сегодняшний день существует лишь несколько исследований, в которых шкала BREMS использовалась в качестве инструмента для оценки значимости биомаркеров. В нашем исследовании средний уровень BREMS у больных РС составил 1,37.

Первоначально шкала BREMS была применена у итальянских пациентов РС, при этом среднее время наблюдения превышало 17 лет [262, p. 757]. Этот ретроспективный анализ показал, что средний показатель BREMS был значительно выше у пациентов со вторичным прогрессированием в течение 10 лет (0,69), чем у лиц без вторичной прогрессии (0,30). При наблюдении нелеченных пациентов РС средний показатель BREMS был выше у пациентов со вторичной прогрессией (0,82), чем у пациентов без вторичной прогрессии (0,28) [262, p. 758].

В исследовании по полиморфизму гена CNRI каннабиноидного рецептора BREMS оценивалась в разных генотипах [321]. Процент пациентов с показателем BREMS > 2 был выше у пациентов РС с длинными повторами ААТ в гене CNRI, чем у пациентов с короткими повторами ААТ в гене CNRI, но не было различий в процентном соотношении среди пациентов с оценкой BREMS ≤ (- 0,63) в обоих генотипах. Более того, баллы BREMS не отличались между пациентами с длинными (0,55±0,99) и короткими (0,37±0,92) повторами ААТ в

гене CNRI. Результаты оценки BREMS в этом исследовании в некоторой степени похожи на наши.

В другом исследовании Albanese et al. (2016) сообщалось о корреляции биомаркера с показателем BREMS. Было выявлено, что у пациентов РС с повышенной концентрацией лактата в цереброспинальной жидкости уровень BREMS был выше. Однако эта корреляция была очень слабой ($rS=0,152$, $p=0,048$) [322], и авторы не сообщили о показателях BREMS изученной когорты. Таким образом, мы не можем сравнивать наши результаты с результатами данного исследования.

Таким образом, мы продемонстрировали значимость единиц экспрессии VAbs для клинической интерпретации, значимость содержания вилперина, USP18 и SOCS3 для клинического течения РС. С помощью ROC-анализа была выявлена значимость соотношения концентрации вилперина для ассоциации с обострениями во время наблюдения.

Ограничение нашего исследования заключается в том, что больные РС на момент включения в исследование уже принимали интерферонотерапию, что предположительно могло оказать влияние на результаты исследования. Тем не менее, содержание биомаркеров показало значимые ассоциации с клиническими данными, и подчеркивает значимость данного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

РС является одним из наиболее социально значимых аутоиммунных заболеваний нервной системы. Большинство пациентов – молодые люди, ведущие активную трудовую и социальную деятельность. РС характеризуется прогрессирующим течением, приводящим к стойкой инвалидизации. По данным статистики, в мире более 3 млн. человек страдают РС, а ежегодное число новых случаев неуклонно растет. Несмотря на то, что во всем мире проведены многочисленные исследования по изучению данного заболевания, многие вопросы, касающиеся этиологии, лечения РС остаются до конца не выясненными. Достаточно высокая распространенность РС в мире, преобладание среди заболевших лиц молодого и трудоспособного возраста, большие экономические затраты на диагностику, лечение, реабилитацию, а также отсутствие однозначно эффективного лечения данного заболевания, выводят РС в ряд важнейших медико-социальных задач [323].

В последние десятилетия во всем мире внедряется и уже накоплен опыт лечения рассеянного склероза иммуномодулирующими препаратами, являющихся препаратами первой линии в патогенетической терапии РС. Механизм действия ИНФ-бета направлен на снижение количества обострений и способствует стабилизации течения заболевания [324]. Несмотря на доказанную эффективность препаратов ИНФ-бета, около 30-40% пациентов РС, получающих ИНФ-терапию продолжают испытывать как клиническую активность заболевания в виде обострений и прогрессирования степени инвалидизации, так и радиологическую активность в виде появления новых очагов поражения на МРТ головного и спинного мозга. Снижение или отсутствие эффективности ИНФ-терапии частично может быть объяснено формированием нейтрализующих антител к ИНФ-бета. При этом уровни экспрессии ИНФ-индуцируемых генов в периферической крови пациентов РС могут служить биомаркером активности и прогрессирования заболевания, а также показателем клинической эффективности ИНФ-терапии. Выявление нейтрализующих антител и биомаркеров активности и прогрессирования РС поможет выявлению пациентов с хорошим, сниженным ответом на ИНФ-терапию или отсутствием эффекта проводимой терапии, что способствует своевременному пересмотру тактики лечения с подбором оптимального препарата для каждого больного.

С учетом вышеперечисленного, целью данного исследования явилась изучение влияния интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител и биомаркеров активности РС на клиническое течение заболевания.

Для решения цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Оценить влияние интерферонотерапии на течение заболевания у больных рассеянным склерозом.
2. Определить содержание интерферон-связывающих (BAbs), интерферон-нейтрализующих антител (NAbs) и биомаркеров активности РС – вилперина, USP-18, SOCS3 и IL17F у исследуемых больных.

3. Оценить влияние интерферон-связывающих, интерферон-нейтрализующих антител и биомаркеров активности рассеянного склероза на течение заболевания.

4. Определить прогностические уровни биомаркеров активности рассеянного склероза для мониторинга эффективности проводимой терапии.

В данном исследовании, в период с 2016 по 2018 гг., участвовали больные с установленным диагнозом РС, а также здоровые лица, составившие контрольную группу. Средний возраст обследованных больных РС составил 36,0 (35,0-41,3) лет. В основной группе женщины составили 65% (22 человек), мужчины - 35% (12 человек). Средний бал EDSS был равен $3,6 \pm 1,5$ баллам. Возраст исследуемых в контрольной группе составил 37,0 (34,8-41,2) лет ($p=0,899$) лет. В контрольной группе женщины составили 75% (15 человек), мужчины 15% (5 человек).

Результаты клинического исследования выявили следующие данные. Число рецидивов через год от начала исследования было ниже по сравнению с исходным. Средний бал EDSS через год от начала исследования проявляет тенденцию к снижению, но общее количество очагов повреждения на МРТ головного и спинного мозга увеличилось.

По функциональной шкале Куртцке количество пораженных систем ЦНС у больных было от 1 до 5. Степень инвалидизации по EDSS у 35,3% больных была легкой, у 64,7% больных – средней. При этом средний бал EDSS составил $3,6 \pm 1,5$ баллов. При оценке степени инвалидизации отмечалось снижение уровня EDSS через год от начала исследования ($3,5 \pm 1,8$) по сравнению с начальным уровнем ($3,6 \pm 1,5$) ($p=0,0156$). За период наблюдения у 43,4% больных отмечались обострения.

При анализе неврологического статуса больных РС были получены следующие данные: наиболее часто встречался синдром двигательных нарушений в 91,2% случаев, синдром мозжечковых расстройств был выявлен в 85,3%, синдром когнитивных нарушений составил 52%, нарушения тазовых функций были выявлены у 47% исследованных больных. По шкале инвалидизации EDSS у 35,3% больных была выявлена легкая степень инвалидизации, у 64,7% больных – средняя степень.

Результаты исследования содержания антител к интерферону на исходном уровне и через год от начала исследования указывают на то, что ИНФ-терапия может стимулировать выработку VAbs и NAbs. Кроме того выявлено, что VAbs могут присутствовать в крови как у больных, получающих ИНФ-бета, так и у здоровых лиц. Процент пациентов с VAbs-положительным результатом составил 13 и 5% случаев основной и в контрольной группах соответственно. Через год процент VAbs-положительных больных РС повысился до 35%. Присутствие VAbs у здоровых людей или у нелеченных больных может быть результатом взаимодействия иммуноглобулинов с человеческими антиживотными антителами (НААА – human anti-animal antibodies) при проведении исследования. Другим объяснением наличия VAbs в контрольной группе может быть иммунная реакция против эндогенного интерферона, когда эндогенный интерферон выступает в качестве мишени для

аутоиммунного процесса, это, в свою очередь, приведет к формированию VAbs и NAbs у нелеченных пациентов РС или у здоровых лиц.

Кроме того, мы обнаружили, что интерпретация анализов VAbs может зависеть от единиц измерения. При выражении VAbs в виде концентрации была выявлена достоверная разница между пациентами РС и контролем, как в начале, так и в конце исследования.

Частота формирования NAbs у пациентов РС в нашем исследовании составила 13% случаев, через год – 30%. На начальном этапе NAbs были обнаружены как у больных РС, так и у здоровых лиц, однако разница была значимой при выражении NAbs в единицах интенсивности света (LU/мл), но не в том случае, когда они были выражены качественно. Этот факт также указывает на значимость экспрессии антител к ИНФ при интерпретации результатов. Через год от начала исследования определялось формирование NAbs, при этом экспрессия в обеих единицах измерения выявила достоверное различие между группами больных РС и контрольными исследуемыми.

При анализе различий в содержании интерферон-связывающих и интерферон-нейтрализующих антител в отношении клинических показателей не было выявлено различия между количеством обострений, числом поражений на МРТ за время исследования у VAbs-, NAbs-положительных и VAbs- и Nabs-отрицательных больных. Тем не менее, мы выявили снижение показателя EDSS через год от начала исследования у VAbs-положительных пациентов, что может быть обусловлено пролонгированием полужизни интерферонов. Не было выявлено различий в показателях EDSS через год от начала исследования среди NAbs-положительных и NAbs-отрицательных пациентов.

Не было выявлено различий между концентрацией вилперина, IL17F у больных РС и контролем, как на исходном уровне, так и через год от начала исследования. В начале исследования не было выявлено различий в содержании USP18 у больных РС и контрольных образцов. Через год данный показатель в основной группе значимо повысился и был выше, чем в контрольной группе. Концентрации SOCS3 на исходном уровне были чрезвычайно низки в обеих группах. Спустя год от начала исследования концентрация SOCS была выше у больных РС, чем в контрольной группе. При анализе отношения между присутствием VAbs, NAbs и уровнями биомаркеров активности рассеянного склероза не было выявлено значимых различий между концентрацией исследуемых маркеров у VAbs-, NAbs-положительных и у VAbs-, NAbs-отрицательных пациентов, как в начале исследования, так и через год от начала исследования.

При проведении анализа показателей NEDA и BREMS у больных РС мы выявили, что в группе NAbs-положительных пациентов не было лиц с баллом BREMS, превышающим 2 балла, что означает отсутствие риска трансформации во вторично-прогрессирующее течение у NAbs-положительных пациентов. Как упоминалось выше, вероятно, NAbs могут модифицировать фармакокинетику ИНФ и, таким образом, вызывать различные клинические эффекты, противоположные тем, что ожидалось.

По окончании годового исследования, с учетом полученных результатов, для анализа влияния биомаркеров активности РС (виперина, USP18, SOCS3, IL17F) на клиническое течение заболевания исследуемые больные были разделены на 2 группы: 1-я группа (10 человек) – больные РС, перенесшие обострения во время наблюдения и 2-я группа (13 человек) – больные без обострений за время наблюдения.

В нашем исследовании при анализе взаимосвязи уровня виперина с клиническими показателями было выявлено, что через год от начала исследования концентрация данного маркера была ниже у пациентов без обострения за время исследования, чем у пациентов, испытавших обострения в указанный период. Для объяснения данного наблюдения, которое не согласуется с конкретным эффектом ИНФ-бета, мы предположили, что факторы окружающей среды, например, вирусная инфекция, могут вызвать повышение уровня виперина, и этот эффект может накладываться на течение РС. Также полученный эффект можно объяснить другим механизмом действия виперина, который заключается в том, что сверхэкспрессия виперина ингибирует продукцию ИНФ и этот эффект модифицируется митохондриальным противовирусным сигнальным белком. Взаимодействие виперина с рецептором на поверхности митохондрий приводит к усилению биосинтеза жирных кислот, формирующих вирусную оболочку. Кроме того, к одним из противовоспалительных эффектов виперина относится механизм контроля продуцирования T2 цитокинов Т-клетками и индуцирования продукции ИНФ дендритными клетками.

Для выявления связи между биохимическими маркерами активности рассеянного склероза с радиологическими параметрами исследуемые были разделены на 2 группы: пациенты без новых очагов на МРТ (4 человека) и пациенты с новыми очагами на МРТ за время наблюдения (7 человек). Виперин был единственным биомаркером, который был значительно ниже у пациентов с новыми очагами поражениями на МРТ за время исследования. Корреляции уровня виперина с показателем EDSS не было выявлено.

Таким образом, виперин как маркер активности заболевания и эффективности лечения ИНФ коррелирует с результатами методов нейровизуализации. В то же время уровень виперина был ниже в группе больных без обострений, чем у больных, перенесших обострения за время исследования.

Следующим биомаркером, проанализированным в нашем исследовании, была USP18. Мы проанализировали связь между показателями USP18 с количеством обострений за время исследования и выявили, через год USP18 была повышена как у больных без обострений, так и у больных с обострениями. Не было различий в концентрациях USP18 у больных РС с новыми очагами поражений на МРТ и без них. Выявлена отрицательная корреляция между уровнем USP18 с уровнем инвалидизации по шкале EDSS в начале исследования. Таким образом, наше исследование показало, что ИНФ-терапия индуцирует выработку USP18, приводя к повышению концентрации данного маркера через год от начала исследования. Наряду с этим, была выявлена

отрицательная корреляционная связь между концентрацией USP18 и клиническими параметрами – показателем EDSS.

Поиск взаимосвязи уровня SOCS3 с клиническими параметрами выявил высокое содержание SOCS3 через год от начала исследования у больных РС с рецидивами за время исследования. Связи между новыми очагами поражения на МРТ и концентрацией SOCS3 не наблюдалось. При оценке концентрации SOCS3 через год отмечалась отрицательная корреляционная связь с результатом оценки по шкале EDSS в конце исследования.

Определение содержания IL17F не выявило различий между исследуемыми группами, а также в группе больных в динамике. Анализ взаимосвязи уровня IL17F с клиническими и радиологическими параметрами не показал различий.

По результатам проведенного ROC-анализа, вилерин связан с частотой обострений РС и с определенной долей вероятности позволяет прогнозировать течение заболевания. Уровень вилерина выше 0,2 ng/ml свидетельствует о наличии риска обострений РС. Ассоциации других биомаркеров (IL-17F, USP18 и SOCS3) с обострениями и новыми очагами на МРТ выявлено не было.

Полученные результаты послужили основанием для создания схемы оценки эффективности терапии рассеянного склероза, согласно которой, при соблюдении критериев NEDA у больных РС, получающих ИНФ-бета, рекомендуется определять содержание вилерина в крови. При уровне вилерина выше 0,2 ng/ml существует риск развития обострений РС. Предложенный анализ способствует раннему выявлению пациентов с недостаточной эффективностью проводимой интерферонотерапии на ранних этапах лечения при отсутствии объективных клинических и радиологических признаков активности заболевания.

Таким образом, проведенное исследование позволило сделать следующие **выводы:**

1. В динамике наблюдения на фоне интерферонотерапии отмечалось снижение среднего количества обострений и среднего балла инвалидизации по шкале EDSS.

2. В результате исследования у больных РС выявлены интерферон-связывающие антитела – Vabs в 35% случаев, интерферон-нейтрализующие антитела - NAbs в 30% случаев. Анализ содержания биомаркеров активности РС выявил повышение содержания SOCS3 и USP-18.

3. Анализ влияния выявленных антител к интерферонам и биомаркеров активности РС на течение заболевания показал: у больных РС со связывающими антителами средний балл инвалидизации по шкале EDSS был ниже (2,2 балла), чем у больных без связывающих антител (5,0 баллов); показатели вилерина положительно коррелировали с частотой обострений ($r=0.487$, $p=0,018$); уровень вилерина был выше у больных с обострениями (0,333 ng/ml) по сравнению с больными без обострений (0,155 ng/ml); показатели USP18, SOCS3 отрицательно коррелировали с уровнем EDSS

(USP18: $r=-0,460$, $p=0,003$, SOCS3: $r=-0,304$, $p=0,045$); нейтрализующие антитела и IL17F не оказали значимого влияния на течение заболевания.

4. Выявлена прогностическая значимость вилерина в отношении частоты обострений: концентрация вилерина выше $0,2 \text{ ng/ml}$ является фактором риска обострения РС, что позволяет применять его в качестве прогностического маркера при мониторинге терапии больных РС интерферонами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При ведении больных рассеянным склерозом необходимо учитывать вероятность отсутствия эффективности проводимого лечения. Выявленные биологические маркеры могут служить критериями активности процесса и эффективности лечения.

2. Определение уровня вилерина в крови больных рассеянным склерозом, получающих интерферонотерапию позволит оценить активность заболевания. Уровень показателя вилерина выше 0,2 нг/мл является фактором риска развития обострения у больных рассеянным склерозом.

3. Предложенная схема мониторинга терапии больных РС может быть использована в практической работе врача-невролога с целью назначения индивидуального лечения при ведении больных рассеянным склерозом.

4. Полученные результаты научного исследования могут быть использованы в образовательном процессе по дисциплине «Неврология».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Бойко А.Н., Гусев Е.И. Современные алгоритмы диагностики и лечения рассеянного склероза, основанные на индивидуальной оценке состояния пациента // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2017. – Т. 117, №2. – С. 92-106.
- 2 Compston A., Coles A. Multiple sclerosis // Lancet. – 2008. – Vol. 372(9648). – P. 1502-1517.
- 3 Ведение больных с рассеянным склерозом: метод. рекомендации / под ред. Н.Н. Спирина, А.Н. Бойко, И.О. Степанова, Т.Е. Шмидт. – М.: РООИ «Здоровье человека», 2015. – 68 с.
- 4 Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз в материалах 23-го конгресса европейских неврологических обществ // Неврологический журнал. – 2013. – №4. – С. 48-55.
- 5 Бисага Г.Н. Рассеянный склероз: диагностика и патогенетическая терапия: дис. ... док. мед. наук: 14.00.13. – СПб., 2004. – 248 с.
- 6 Ульянова О.В., Куташов В.А., Дутова Т.И. Рассеянный склероз – актуальная неврологическая проблема XXI века // Молодой ученый. – 2016. – №15. – С. 558-567.
- 7 Sorensen P.S. New management algorithms in multiple sclerosis // Curr Opin Neurol. – 2014. – Vol. 27. – 246-259.
- 8 Bertolotto A., Capobianco M., Amato M.P. et al. Guidelines on the clinical use for the detection of neutralizing antibodies (NAbs) to IFN beta in multiple sclerosis therapy: report from the Italian Multiple Sclerosis Study group // Neurol Sci. – 2014. – Vol. 35. – P. 307-316.
- 9 Polman C.H., Bertolotto A., Deisenhammer F. et al. Recommendations for clinical use of data on neutralizing antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis // Lancet Neurol. – 2010. – Vol. 9. – P. 740-750.
- 10 Perini P., Calabrese M., Biasi G. et al. The clinical impact of interferon beta antibodies in relapsing–remitting MS // J Neurol. – 2004. – Vol. 251. – P. 305–309.
- 11 Sorensen P.S., Koch-Henriksen N., Ross C. et al. Appearance and disappearance of neutralizing antibodies during interferon-beta therapy // Neurology. – 2005. – Vol. 65. – P. 33-39.
- 12 Pachner A.R., Warth J.D., Pace A. Effect of neutralizing antibodies on biomarker responses to interferon beta: the INSIGHT study // Neurology. – 2009. – Vol. 73. – P. 1493–1500.
- 13 Lau A.Y., Ip W.K, Au C. et al. Prevalence of neutralising antibodies to interferon-beta and clinical response in Chinese patients with relapsing multiple sclerosis // Mult Scler J Exp Transl Clin. – 2017. – Vol. 3(4). – P. 1-10.
- 14 Rudick R.A. Biologic impact of interferon antibodies, and complexities in assessing their clinical significance // Neurology. – 2003. – Vol. 61, Suppl. 5. – P. S31–S34.
- 15 Kappos L., Clanet M., Sandberg-Wollheim M. et al. Neutralizing antibodies and efficacy of interferon beta-1a: a 4-year controlled study // Neurology. – 2005. – Vol. 65. – P. 40-47.

16 Francis G.S., Rice G.P., Alsup J.C. Interferon beta-1a in MS: results following development of neutralizing antibodies in PRISMS // *Neurology*. – 2005. – Vol. 65. – P. 48-55.

17 Шмидт Т.Е., Яхно Н.Н. Рассеянный склероз. Воспаление. Дегенерация: руководство для врачей. – Изд. 3-е. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 271 с.

18 Myhr K.M., Ross C., Nyland H.I. et al. Neutralizing antibodies to interferon (IFN) alpha-2a and IFN beta-1a or IFN beta-1b in MS are not cross-reactive // *Neurology*. – 2000. – Vol. 55. – P. 1569-1572.

19 Deisenhammer F., Reindl M., Harvey J. et al. Bioavailability of interferon beta 1b in MS patients with and without neutralizing antibodies // *Neurology*. – 1999. – Vol. 52. – P. 1239-1243.

20 Giovannoni G., Munschauer F.E., Deisenhammer F. Neutralising antibodies to interferon beta during the treatment of multiple sclerosis // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2002. – Vol. 73. – P. 465-469.

21 Martire S., Navone N.D., Montarolo F., Perga S., Bertolotto A. A gene expression study denies the ability of 25 candidate biomarkers to predict the interferon-beta treatment response in multiple sclerosis patients // *Journal of Neuroimmunology*. – 2016. – Vol. 292. – P. 34-39.

22 Comabella M., Lünemann J.D., Río J. et al. A type I interferon signature in monocytes is associated with poor response to interferon-beta in multiple sclerosis. *Brain*. – 2009. – Vol. 132, №12. – P. 3353–3365.

23 Cucci A., Barbero P., Clerico M., Ferrero B. et al. 2010. Pro-inflammatory cytokine and chemokine mRNA blood level in multiple sclerosis is related to treatment response and interferon-beta dose // *J. Neuroimmunol.* – 2010. – Vol. 226, №1-2. – P. 150-157.

24 Lutterotti A., Berger T., Reindl M. Biological markers for multiple sclerosis // *Curr Med Chem*. – 2007. – Vol. 14. – P. 1956-1965.

25 Коляда Т.И., Зеленская А.Д., Тупотилов А.В. Современные методы исследования биомаркеров рассеянного склероза // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2016. – Vol. 4. – P. 27-33.

26 Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: клиническое руководство. – М.: Реал Тайм, 2011. – 528 с.

27 Макаров А.Ю., Помников В.Г., Сенькина А.Г. Доброкачественный рассеянный склероз, оценка трудоспособности больных // *Практическая медицина*. – 2013. – №1-1(68). – С. 98-100.

28 Cocco E., Sardu C., Lai M., Spinicci G., Marrosu M.G. Anticipation of age at onset in multiple sclerosis: a Sardinian cohort study // *Neurology*. – 2004. – Vol. 62(10). – P. 1794-1798.

29 Мирошникова В.В., Саранов А.А., Аракелян А.С., Рыбак В.А. Современная терапия рассеянного склероза // *Лекарственный Вестник*. – 2013. – Т. 7, №1(49). – С. 20-34.

30 Елисеев Ю.Ю., Верещагин А.И., Истомина А.В., Шоломов И.И., Белоусов М.И. Возможные причины роста заболеваемости населения рассеянным склерозом в городской среде обитания // *Здоровье населения и среда обитания*. – 2015. – №2(263). – С. 6-9.

- 31 Смагина И.В. и др. Модифицируемые факторы, влияющие на течение рассеянного склероза // Неврологический журнал. – 2013. – №4. – С. 35-40.
- 32 Healy D.C., Ali E.N., Guttmann C.R. et al. Cigarette smoking and disease progression in multiple sclerosis // Arch. Neurology. – 2009. – Vol. 66(7). – P. 858-864.
- 33 Karampampa K., Gustavsson A., Miltenburger C., Eckert B. Treatment experience, burden and unmet needs (TRIBUNE) in MS study: results from five European countries // Mult Scler. – 2012. – Vol. 18(2). – P. 7-15.
- 34 Carney P., O'Boyle D., Larkin A., Mc Guigan C., O'Rourke K. Societal costs of multiple sclerosis in Ireland // J Med Econ. – 2018. – №21(5). – P. 425-437.
- 35 Ivanova E.V., Bachtiyarova K.Z. Evaluation of economic damage from multiple sclerosis in the city of Ufa, Russia // Pharmacoeconomics. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology. – 2017. – Vol. 10(3). – P. 22-27.
- 36 Berg J., Lindgren P., Fredrikson S. et al. Costs and quality of life of multiple sclerosis in Sweden // Eur J Health Econ. – 2006. – Vol. 7, Suppl 2. – P. S75-85.
- 37 Burden of Illness of Multiple Sclerosis: Part I: Cost of Illness / The Canadian Burden of Illness Study Group // Can J Neurol Sci. – 1998. – Vol. 25, Issue 1. – P. 23-30.
- 38 Carlyle I.P. Multiple sclerosis: a geographical hypothesis // Medical Hypotheses. – 1997. – Vol. 49, №6. – P. 477-486.
- 39 Kurtzke J.F. Epidemiologic evidence for multiple sclerosis as an infection Clin Microbiol Rev. – 1993. – Vol.6(4). – P. 382-427.
- 40 Wade B.J. Spatial Analysis of Global Prevalence of Multiple Sclerosis Suggests Need for an Updated Prevalence Scale // Multiple sclerosis International. – 2014. – P. 1-7.
- 41 Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз (по материалам 22-го конгресса Европейских неврологических обществ – ENS) // Неврологический журнал. – 2012. – Т. 17, №4. – С. 56-61.
- 42 Alla S., Mason D.F. Multiple sclerosis in New Zealand // Journal of Clinical Neuroscience. – 2014. – Vol. 21, Issue. 8. – P. 1288-1291.
- 43 Browne P., Chandraratna D., Angood C. et al. Atlas of Multiple Sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity // Neurology. – 2014. – Vol. 83(11). – P. 1022-1024.
- 44 Cristiano E., Rojas J., Romano M., Frider N., Machnik G., Giunta D. et al. The epidemiology of multiple sclerosis in Latin America and the Caribbean: a systematic review // Mult Scler. – 2013. – Vol. 19. – P. 844-855.
- 45 Boyko A. et al. Epidemiology of MS in Russia, a historical review // Multiple Sclerosis and Demyelinating Disorders. – 2016. – Vol. 1(1). – P. 6.
- 46 Abad P., Pérez M., Castro E. et al. Prevalence of multiple sclerosis in Ecuador // Neurologia. – 2010. – Vol. 25(5). – P. 309-313.
- 47 Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update // Neurol Sci. – 2001. – Vol. 22(2). – P. 117-139.
- 48 Chong H.T., Tan C.T. A Review of Multiple Sclerosis with Asian Perspective // Med J Malaysia. – 2008. – Vol 63, №5. – P. 356-361.

- 49 Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз: эпидемиология, факторы риска, патогенез, клиника и прогрессирование (по материалам 29-го конгрессаECTRIMS) // Неврологический журнал. – 2014. – №1. – С. 49-54.
- 50 Yamasaki K. et al. Western versus asian types of multiple sclerosis: Immunogenetically and clinically distinct disorders // Annals of Neurology. – 1996. – Vol. 40, Issue 4. – P. 569-574.
- 51 Шмидт Т.Е. По материалам 26-й конференцииECTRIMS (Европейского комитета по лечению и изучению рассеянного склероза) // Неврологический журнал. – 2011. – №6. – С. 50-58.
- 52 Ziemsен T., Tintore M. Новая эра в изучении рассеянного склероза: взгляды на терапевтические подходы / пер. с англ. – М.: СвитГрупп-пресс, 2012. – 94 с.
- 53 Соколова Л.И., Сепиханова М.М. Сравнительный анализ дебюта, клинической картины и течения рассеянного склероза у пациентов разных возрастных групп // Практическая медицина. – 2013. – №1-1 (68). – С. 114-116.
- 54 O’Gorman C., Lin R., Stankovich J., Broadley S.A. Modelling Genetic Susceptibility to Multiple Sclerosis with Family Data // Neuroepidemiology. – 2013. – Vol. 40. – P. 1–12.
- 55 Ebers G.C. Environmental factors and multiple sclerosis // Lancet Neurol. – 2008. – Vol. 7. – P. 268-277.
- 56 Lincoln M.R. et al. A predominant role for the HLA class II region in the association of the MHC regions with multiple sclerosis // Nat Genet. – 2005. – Vol. 37(10). – P. 1108-1112.
- 57 Venkatesan A., Johnson R.T. Infections and multiple sclerosis // Handb Clin Neurol. – 2014. – Vol. 122. – P. 151-171.
- 58 Ascherio A., Munger K.L., Simon K.C. Vitamin D and multiple sclerosis // Lancet Neurol. – 2010. – Vol. 9. – P. 599-612.
- 59 Degelman M.L., Herman K.M. Smoking and multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis using the Bradford Hill criteria for causation // Mult Scler Relat Disord. – 2017. – Vol. 17. – P. 207-216.
- 60 Challoner P.B., Smith K.T., Parker J.D., MacLeod D.L., Coulter S.N. et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis // Proc Natl Acad Sci USA. – 1995. – Vol. 92. – P. 7440-7444.
- 61 Tselis A. Evidence for viral etiology of multiple sclerosis // Seminars in neurology. – 2011. – Vol. 31(3). – P. 307-316.
- 62 Laurence M., Benito-León J. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: updating Pender’s hypothesis // Mult Scler Relat Disord. – 2017. – Vol. 16. – P. 8-14.
- 63 Field E.J., Cowshall S., Narang H.K., Bell T.M. Viruses in multiple sclerosis? // Lancet. – 1972. – Vol. 2. – P. 280-281.
- 64 Perron H., Garson J.A., Bedin F., Beseme F., Paranhos-Baccala G. et al. Molecular identification of a novel retrovirus repeatedly isolated from patients with multiple sclerosis. The Collaborative Research Group on Multiple Sclerosis // Proc Natl Acad Sci USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 7583-7588.
- 65 Kurtzke J.F., Hyllested K. Multiple sclerosis in the Faroe Islands. I. Clinical and epidemiological features // Ann Neurol. – 1979. – Vol. 5. – P. 6-21.

66 Бойко А.Н., Фаворова О.О., Кулакова О.Г., Гусмев Е.И. Эпидемиология и этиология рассеянного склероза // В кн.: Рассеянный склероз. – М.: Реал Тайм, 2011. – С. 7-43.

67 Ascherio A., Munger K.L., Lunemann J.D. The initiation and prevention of multiple sclerosis // *Nat Rev Neurol.* – 2012. – Vol. 8. – P. 602-612.

68 Roudbari et al. Smoking as a risk factor for development of Secondary Progressive Multiple Sclerosis: a study in IRAN, Guilan // *J Neurol Sci.* – 2013. – Vol. 330(1-2). – P. 52-55.

69 Шарафутдинова Л., Рахматуллин А.Р. и др. Курение как фактор риска развития и прогрессирования рассеянного склероза (обзор и собственные данные) // *Журнал неврологии и психиатрии.* – 2013. – Т. 10. №2. – С. 18-22.

70 Jernas Ł., Piorunek T., Tokarz E., Wygladalska-Jernas H., Kozubski W., Michalak S. The effect of tobacco smoking on clinical effectiveness of immunomodulatory treatment in multiple sclerosis patients // *Przegl Lek.* – 2012. – Vol. 69(10). – P. 750-752.

71 Demady D.R., Lowe E.R., Everett A.C., Billecke S.S. et al. Metabolism-based inactivation of neuronal nitric-oxide synthase by components of cigarette and cigarette smoke // *Drug Metab Dispos.* – 2003. – Vol. 31, №7. – P. 932-937.

72 Rejdak K., Eikelenboom M.J., Petzold A. et al. CSF nitric oxide metabolites are associated with activity and progression of multiple sclerosis // *Neurology.* – 2004. – Vol. 63, №8. – P. 1439-1445.

73 Hedström A., Alfredsson L., Lundkvist Ryner M. et al. Smokers run increased risk of developing anti-natalizumab antibodies // *Mult Scler.* – 2013. – Vol. 20(8). – P. 1081-1085.

74 Zhang P., Wang R., Li Z., Wang Y. et al. The risk of smoking on multiple sclerosis: a meta-analysis based on 20,626 cases from case-control and cohort studies // *Peer J.* – 2016. – Vol. 4. – P. e1797.

75 *Inflammatory and Autoimmune Disorders of the Nervous System in Children* / ed. by R.C. Dale, A. Vincent. – London: Mac Keith Press, 2010. – 448 p.

76 Студенкин В.М., Пак Л.А., Шелковский В.И., Кузенкова Л.М. и др. Педиатрический рассеянный склероз: что нового? // *Лечащий врач.* – 2012. – №9. – С. 30-33.

77 Fitzgerald K.C. et al. Association of Vitamin D Levels With Multiple Sclerosis Activity and Progression in Patients Receiving Interferon Beta-1b // *JAMA Neurol.* – 2015. – Vol. 72(12). – P. 1458-1465.

78 Thouvenot E., Orsini M., Daures J-P., Camu W. Vitamin D is associated with degree of disability in patients with fully ambulatory relapsing-remitting multiple sclerosis // *Eur J Neurol.* – 2015. – Vol. 22(3). – P. 564-569.

79 Shaheen H.A., Sayed S.S., Daker L.I. et al. Does vitamin D deficiency predict early conversion of clinically isolated syndrome? A preliminary Egyptian study // *International Journal of Neuroscience.* – 2018. – Vol. 128(6). – P. 01-15.

80 Каронова Т.Л., Шмони́на И.А., Тотолян Н. А. Рассеянный склероз и уровень обеспеченности витамином D // *Артериальная гипертензия.* – 2015. – №21(2). – С. 121-129.

- 81 Елисеева Д.Д., Завалишин И.А., Быковская С.Н. и др. Регуляторные Т-клетки CD4+CD25+Foxp3+ у больных ремиттирующим рассеянным склерозом // *Анналы клин. и эксперим. неврологии.* – 2011. – Т. 5, №2. – С. 9-13.
- 82 Парахонский А.П. Патогенез и лечение рассеянного склероза // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2010. – №8. – С. 93-95.
- 83 Loma I., Heyman R. Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Treatment // *Current Neuropharmacology.* – 2011. – Vol. 9. – P. 409-416.
- 84 Claes N., Fraussen J., Stinissen P., Hupperts R., Somers V. B Cells Are Multifunctional Players in Multiple Sclerosis Pathogenesis: Insights from Therapeutic Interventions // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 642.
- 85 Завалишин И.А., Переседова А.В. Рассеянный склероз: современная концепция патогенеза и патогенетического лечения // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* – 2007. – Т. 1, №1. – С. 32-40.
- 86 Царева Е.Ю. Фармакогеномные исследования эффективности лечения рассеянного склероза иммуномодулирующими препаратами: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03. – М., 2012. – 140 с.
- 87 Бакулин И.С., Васильев А.В., Елисеева Д.Д. и др. Избранные вопросы этиологии и патогенеза рассеянного склероза // *Демиелизирующие заболевания: сб. ст.* – М.: МедиаМента, 2016. – С. 9-39.
- 88 Michel L., Touil H., Pikor N.B., Gommerman J.L., Prat A., Bar-Or A. B Cells in the Multiple Sclerosis Central Nervous System: Trafficking and Contribution to CNS Compartmentalized Inflammation // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 1-12.
- 89 Blauth K., Owens G.P., Bennett J.L. The Ins and Outs of B Cells in Multiple Sclerosis // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 565.
- 90 Sayre L.M, Perry G., Smith M.A. Oxidative stress and neurotoxicity // *Chem Res Toxicol.* – 2008. – Vol. 21. – P. 172-188.
- 91 Dhib-Jalbut S. Pathogenesis of myelin/oligodendrocyte damage in multiple sclerosis I // *Neurology.* – 2007. – Vol. 68, Suppl. 3. – P. SI3-21.
- 92 Ковтун О.Л., Невмержицкая К.С., Смолкин А.Д. и др. Иммунологическая диагностика рассеянного склероза // *Системная интеграция в здравоохранении.* – 2010. – №4. – С. 60-69.
- 93 Venken K., Hellings N., Liblau R., Stinissen P. Disturbed regulatory T cell homeostasis in multiple sclerosis // *Trends Mol. Med.* – 2010. – Vol. 16. – P. 58-68.
- 94 Хабилов Ф.А., Бабичева Н.Н., Хайбуллин Т.И. Клинико-эпидемиологические характеристики рассеянного склероза в Республике Татарстан // *Неврологический вестник.* – 2010. – Т. 43, вып. 1. – С. 9-13.
- 95 Шмидт Т.Е. Нейродегенерация при рассеянном склерозе и нейропротективное действие глатирамера ацетата (обзор литературы) // *Журнал неврологии и психиатрии.* – 2012. – №9. – С. 123-128.
- 96 Sospedra M., Martin R. Immunology of Multiple sclerosis // *Annual Review Immunology.* – 2005. – Vol. 23. – P. 683-747.

- 97 Rejdak R., Jakson S., Giovannoni G. Multiple sclerosis: a practical overview for clinicians // *British Medical Bulletin*. – 2010. – Vol. 95. – P. 79-104.
- 98 Pittock S.J., Rodriguez M. Benign multiple sclerosis: a distinct clinical entity with therapeutic implications // *Curr Top Microbiol Immunol*. – 2008. – Vol. 318. – P. 1-17.
- 99 Miller D.H., Leary S.M. Primary-progressive multiple sclerosis // *Lancet Neurol*. – 2007. – Vol. 6(10). – P. 903-912.
- 100 Sylvia K., Fred D. Lublin Clinical Course of Multiple Sclerosis // *Neurology*. – 2014. – Vol. 83(3). – P. 278-286.
- 101 Okuda D., Mowry E., Beheshtian A. et al. Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: The radiologically isolated syndrome // *Neurology*. – 2008. – Vol. 72(9). – P. 800-805.
- 102 Брюхов В.В., Попова Е.В., Кротенкова М.В., Бойко А.Н. Радиологически изолированный синдром (МРТ-критерии и тактика ведения больного) // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2016. – №116(10). – С. 47-52.
- 103 Zwibel H.L., Smrtka J. Improving quality of life in multiple sclerosis: an unmet need // *The American Journal of Managed Care*. – 2011. – Vol. 17, Supple. 5. – P. S139–S145.
- 104 Голубев В.Л., Вейн А.М. Неврологические синдромы: руководство для врачей. – Изд. 4-е. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 736 с.
- 105 Багинский Ф.В. и др. Рассеянный склероз: современное состояние проблемы (обзор литературы) // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2010. – №3. – С. 75-81.
- 106 Мументалер М., Маттле Х. Неврология: учебник / пер. с нем.; под ред. О.С. Левина. – Изд. 3-е. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 920 с.
- 107 Рочча М., Gatti R., Agosta F. et al. Influence of task complexity during coordinated hand and foot movements in MS patients with and without fatigue // *J. Neurol*. – 2009. – Vol. 256. – P. 470-482.
- 108 Унич П.П. Чувствительные нарушения и боль при рассеянном склерозе // <http://www.mif-ua.com/archive/article/17815>. 07.05.2011.
- 109 Пантелеева Е.А. и др. Спастический парез при рассеянном склерозе: клинические, нейрофизиологические и биохимические аспекты // *Неврологический журнал*. – 2009. – №5. – С. 18-21.
- 110 Гайтукаева Х.М., Шевченко П.П., Пажигова З.Б. Расстройства функций тазовых органов при рассеянном склерозе // *Успехи современного естествознания*. – 2014. – №6. – С. 28-29.
- 111 Головкин В.И., Фоминцева М.В., Камынин Ю.Ф., Пономарева Т.А. Терапия когнитивных нарушений при рассеянном склерозе // *Международный неврологический журнал*. – 2008. – №3. – С. 75-79.
- 112 Елагина И.А., Шмидт Т.Е. Утомляемость при рассеянном склерозе // *Неврологический журнал*. – 2008. – №1. – С. 37-45.
- 113 Евтушенко С.К., Дервянко И.Н. Современные критерии ранней диагностики достоверного рассеянного склероза (1-е сообщение) // *Международный неврологический журнал*. – 2005. – №1(1). – С. 70-85.

- 114 Одинак М.М., Мосевичкий М.И., Бисага Г.Н. Диагностические алгоритмы при рассеянном склерозе // Нейроиммунология. – 2009. – Т. 7. – С. 78-79.
- 115 Poser C.M., Paty D., Scheinberg L. et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis guidelines for reseatch protocols // Ann Neurol. – 1983. – Vol. 13(2). – P. 227-231.
- 116 Prosperini L., Gallo V., Petsas N. et al. One-year MRI scan predicts clinical response to interferon beta in multiple sclerosis // Eur J Neurol. – 2009. – Vol. 16. – P. 1202-1209.
- 117 Freedman M.S. «Time is brain» also in multiple sclerosis // Mult Scler. – 2009. – Vol. 15. – P. 1133-1134.
- 118 Fu Y. New imaging techniques in the diagnosis of multiple sclerosis // Expert Opin Med Diagn. – 2008. – Vol. 2, №9. – P. 1055-1065.
- 119 Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria // Annals of Neurology. – 2011. – Vol. 69 (2). – P. 292-302
- 120 Thompson A.J., Banwell B.L., Barkhof F. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria // The Lancet. Neurology. – 2018. – Vol. 17(2). – P. 162-173.
- 121 Шмидт Т.Е. Принципы лечения рассеянного склероза // Медицинский Совет. – 2012. – №4. – С. 72-76.
- 122 Бойко А.Н., Бойко О.В., Гусев Е.И. Выбор оптимального препарата для патогенетического лечения рассеянного склероза: современное состояние проблемы (обзор литературы) // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – №114(10). – С. 77-91.
- 123 Василевский В.В., Волошина Н.П., Негреба Т.В., Черненко М.Е. Эффективность митоксантрона у больных с прогрессирующими типами течения рассеянного склероза // Международный неврологический журнал. – 2015. – №7(77). – С. 17-27.
- 124 Jacobs L.D., Beck R.W., Simon J.H. et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis: CHAMPS Study Group // N Engl J Med. – 2000. – Vol. 343. – P. 898-904.
- 125 Jacobs L.D., Cookfair D.L., Rudick R.A. et al. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG): intramuscular interferon b-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis // Ann Neurol. – 1996. – Vol. 39. – P. 285-294.
- 126 Ebers G PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon β -1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group: Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis // Lancet. – 1998. – Vol. 352. – P. 1498-1504.
- 127 Interferon β -1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial / The IFNB Multiple Sclerosis Study Group // Neurology. – 1993. – Vol. 43. – P. 655-661.

- 128 Vidović M. et al. Betaferon in the treatment of multiple sclerosis // *Acta Clin Croat.* – 2009. – Vol. 48 (4). – P. 419–421.
- 129 Vosoughi R., Freedman M.S. Therapy of MS // *Clin Neurol Neurosurg.* – 2010. – Vol. 112(5). – P. 365–385.
- 130 Lou J., Gasche Y., Zheng L. et al. Interferon-beta inhibits activated leukocyte migration through human brain microvascular endothelial cell monolayer // *Lab Invest.* – 1999. – Vol. 79(8). – P. 1015-1025.
- 131 Biernacki K., Antel J.P., Blain M. et al. Interferon beta promotes nerve growth factor secretion early in the course of multiple sclerosis // *Arch. Neurol.* – 2005. – Vol. 62. – P. 563-568.
- 132 Boutros T., Croze E., Yong V.W. Interferon- β is a potent promoter of nerve growth factor production by astrocytes // *J. Neurochem.* – 1997. – Vol. 69. – P. 939-946.
- 133 Panitch H. Prophylactic therapy-glatiramer acetate (Copaxone) // In book: *Handbook of multiple sclerosis.* – Ed. 3d. – New York: Marcel Dekker Inc., 2001. – 688 p.
- 134 Tennakoon D.K., Mehta R.S., Ortega S.B. et al. Therapeutic induction of regulatory cytotoxic, CD8 T cells in multiple sclerosis // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176. – P. 7119-7129.
- 135 Anion R. Does glatiramer acetate induce neurogenesis in experimental autoimmune encephalomyelitis? // *HI. Neurol.* – 2007. – Vol. 254, Suppl. 1. – P. 41-46.
- 136 Cua D.J., Tato C.M. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system // *Nat Rev Immunol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 479-489.
- 137 Kent S.J., Karlik S.J., Cannon C. et al. A monoclonal antibody to $\alpha 4$ integrin suppresses and reverses active experimental allergic encephalomyelitis // *J Neuroimmunol.* – 1995. – Vol. 58, №1. – P. 10-15.
- 138 Rice G.P., Hartung H.P., Calabresi P.A. Antialpha4 integrin therapy for multiple sclerosis: mechanisms and rationale // *Neurology.* – 2005. – Vol. 64. – P. 1336–1342.
- 139 Котов С.В. и др. Длительное сравнительное исследование эффективности препаратов, изменяющих течение рассеянного склероза // *Альманах клинической медицины.* – 2011. – №25. – С. 37-40.
- 140 Marriott J.J., Miyasaki J.M., Gronseth G. et al. Evidence Report: The efficacy and safety of mitoxantrone (Novantrone) in the treatment of multiple sclerosis: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology // *Neurology.* – 2010. – Vol. 74. – P. 1463-1470.
- 141 Ильвес А.Г., Прахова Л.Н., Заволоков И.Г. Эффективность и безопасность применения митоксантрона при рассеянном склерозе. Краткий обзор литературы и описание клинического случая вторичной лейкемии // *Неврологический журнал.* – 2013. – Т. 18, №2. – С. 37-41.
- 142 Gold R., Wolinsky J.S. Pathophysiology of multiple sclerosis and the place of teriflunomide // *Acta Neurol Scand.* – 2011. – Vol. 124. – P. 75-84.

143 Bar-Or A., Pachner A., Menguy-Vacheron F. et al. Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis // *Drugs*. – 2013. – Vol. 74. – P. 659-674.

144 Scannevin R.H., Chollate S., Jung M.Y. et al. Fumarates promote cytoprotection of central nervous system cells against oxidative stress via the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 pathway // *J Pharmacol Exp Ther*. – 2012. – Vol. 341(1). – P. 274-284.

145 Ruggieri S. et al. Induction treatment strategy in multiple sclerosis: a review of past experiences and future perspectives // *Multiple Sclerosis and Demyelinating Disorders*. – 2018. – Vol. 3, №5. – P. 1-12.

146 Arnold D.L., Campagnolo D., Panitch H. et al. Glatiramer acetate after mitoxantrone induction improves MRI markers of lesion volume and permanent tissue injury in MS // *J Neurol*. – 2008. – Vol. 255, №10. – P. 1473-1478.

147 Edan G., Comi G., Le Page E., Leray E., Rocca M.A., Filippi M. Mitoxantrone prior to interferon beta-1b in aggressive relapsing multiple sclerosis: a 3-year randomised trial // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2011. – Vol. 82, №12. – P. 1344-1350.

148 Zaffaroni M., Rizzo A., Baldini S.M., Ghezzi A., Comi G. Induction and add-on therapy with mitoxantrone and interferon beta in multiple sclerosis // *Neurol Sci*. – 2008. – Vol. 29, Suppl 2. – P. 230-235.

149 Хамидулла А.А., Кабдрахманова Г.Б., Утепкалиева А.П., Дарин Д.Б., Урашева Ж.У. Современные подходы к лечению рассеянного склероза (обзор литературы и случай из практики) // *GEORGIAN MEDICAL NEWS*. – 2018. – №5(278). – С. 93-98.

150 Marrie R.A., Rudick R.A. Drug insight: interferon treatment in multiple sclerosis // *Nat. Clin. Pract. Neurol*. – 2006. – Vol. 2(1). – P. 34-44.

151 Río J., Nos C., Tintoré M., Téllez N. et. al. Defining the response to interferon-beta in relapsing–remitting multiple sclerosis patients // *Ann. Neurol*. – 2006. – Vol. 59(2). – P. 344-352.

152 Rudick R.A., Lee J.C., Simon J., Ransohoff R.M., Fisher E. Defining interferon beta response status in multiple sclerosis patients // *Ann. Neurol*. – 2004. – Vol. 56(4). – P. 548-555.

153 Farrell R.A. Neutralising Antibodies to Interferon Beta in Multiple Sclerosis: a thesis of doc. of philosophy (PhD). – London, 2010. – 260 p.

154 Zare N. et al. Antibodies to Interferon beta in Patients with Multiple Sclerosis Receiving CinnoVex, Rebif, and BetaferonAntibodies // *J Korean Med Sci*. – 2013. – Vol. 28. – P. 1801-1806.

155 Prosperini L., Capobianco M., Gianni C. Identifying responders and nonresponders to interferon therapy in multiple sclerosis // *Degenerative Neurological and Neuromuscular Disease*. – 2014. – Vol. 2014(4). – P. 75-84.

156 Cutter G.R., Baier M.L., Rudick R.A. et al. Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure // *Brain*. – 1999. – Vol. 122. – P. 871-882.

157 Kurtzke J.F. Rating neurological impairment in Multiple Sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) // *Neurology*. – 1983. – Vol. 33. – P. 1444–1452.

158 Dobson R., Rudick R.A., Turner B. et al. Assessing treatment response to interferon- β : is there a role for MRI? // *Neurology*. – 2014. – Vol. 82(3). – P. 248-254.

159 Yong V.W., Chabot S., Stuve O., Williams G. Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis: mechanisms of action // *Neurology*. – 1998. – Vol. 51. – P. 682-689.

160 Deisenhammer F., Reindel M., Harvey J., Gasse T., Dilitz E., Berger T. Bioavailability of interferon beta 1b in MS patients with and without neutralizing antibodies // *Neurology*. – 1999. – Vol. 52(6). – P. 1239-1243.

161 Bertolotto A., Gilli F., Sala A., Capobianco M., Malucchi S. et al. Persistent neutralizing antibodies abolish the interferon β bioavailability in MS patients // *Neurology*. – 2003. – Vol. 60(4). – P. 634-639.

162 Sorensen P.S., Tscherning T., Mathiesen H.K. et al. Neutralizing antibodies hamper IFNbeta bioactivity and treatment effect on MRI in patients with MS // *Neurology*. – 2006. – Vol. 67(9). – P. 1681-1683.

163 Bertolotto A., Gilli F. Interferon-beta responders and non-responders. A biological approach // *Neurol. Sci.* – 2008. – Vol. 29, Suppl. 2. – S216-S217.

164 Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals // *Nat Rev Drug Discov.* – 2002. – Vol. 1. – P. 457-462.

165 Buck D., Cepok S., Hoffmann S. et al. Influence of the HLA-DRB1 genotype on antibody development to interferon beta in multiple sclerosis // *Arch Neurol.* – 2011. – Vol. 68. – P. 480-487.

166 Weber F., Cepok S., Wolf C. et al. Single-nucleotide polymorphisms in HLA- and non-HLA genes associated with the development of antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis patients // *Pharmacogenomics J.* – 2012. – Vol. 12(3). – P. 238-245.

167 Steenholdt C., Svenson M., Bendtzen K. et al. Severe infusion reactions to infliximab: aetiology, immunogenicity and risk factors in patients with inflammatory bowel disease // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2011. – Vol. 34. – P. 51-58.

168 Rachel A.F., Monica M., Adriana J. et al. Development of resistance to biologic therapies with reference to IFN- β // *Rheumatology*. – 2012. – Vol. 51, Issue 4. – P. 590-599.

169 Bendtzen K., Geborek P., Svenson M. et al. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor infliximab // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol. 54. – P. 3782-3789.

170 Colombel J.F., Sandborn W.J., Reinisch W. et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease // *N Engl J Med.* – 2010. – Vol. 362. – P. 1383-1395.

171 Zarkou S., Carter J.L., Wellik K.E. et al. Are corticosteroids efficacious for preventing or treating neutralizing antibodies in multiple sclerosis patients treated with beta-interferons? A critically appraised topic // *Neurologist.* – 2010. – Vol. 16. – P. 212-214.

172 Farrell R.J., Alsaahli M., Jeen Y.T. et al. Intravenous hydrocortisone premedication reduces antibodies to infliximab in Crohn's disease: a randomized controlled trial // *Gastroenterology*. – 2003. – Vol. 124. – P. 917-924.

173 Ross C., Clemmesen K.M., Svenson M. et al. Immunogenicity of interferon-beta in multiple sclerosis patients: influence of preparation, dosage, dose frequency, and route of administration // *Ann Neurol*. – 2000. – Vol. 48(5). – P. 706-712.

174 Kinisakk P., Alm G., Fredrikson S. et al. Neutralizing and binding anti-interferon- β antibodies. A comparison between IFN- β -1a and IFN- β -1b treatment in multiple sclerosis // *Eur J Neurol*. – 2000. – Vol. 7. – P. 27-34.

175 Fernandez O., Mayorga C., Luque G. et al. Study of binding and neutralizing antibodies to interferon- β in two groups of relapsing-remitting multiple sclerosis patients // *J Neurol*. – 2001. – Vol. 248. – P. 383-388.

176 Scagnolari C., Bellomi F., Turrziani O. et al. Neutralizing and binding antibodies in IFN-b: relative frequency in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with different IFN-b products // *J Interferon Cytokine Res*. – 2002. – Vol. 22. – P. 207-213.

177 ШМИДТ Т.Е., ЯХНО Н.Н. Рассеянный склероз: руководство для врачей. – Изд. 2-е. – М.: МЕДпресс-информ, 2010. – 272 с.

178 Oger J., Gibbs E. Binding antibodies: Vancouver's perspective // *Mult Scler*. – 2007. – Vol. 13. – P. 36-43.

179 Hegen H., Millonig A., Bertolotto A. et al. Early detection of neutralizing antibodies to interferon-beta in multiple sclerosis patients: binding antibodies predict neutralizing antibody development // *Mult Scler J*. – 2014. – Vol. 20. – P. 577-587.

180 Khan O., Dhib-Jalbut S. Neutralizing antibodies to interferon b-1a and interferon b-1b in MS patients are cross reactive // *Neurology*. – 1998. – Vol. 51. – P. 1698-1702.

181 Wencel-Warot A., Michalak S., Warot M., Kalinowska-Lyszczarz A., Kazmierski R. The cross-reactivity of binding antibodies with different interferon beta formulations used as disease-modifying drugs in multiple sclerosis patients // *Medicine*. – 2016. – Vol. 95(45). – P. 1-6.

182 Pachner A.R., Dail D., Pak E., Narayan K. The importance of measuring IFNbeta bioactivity: monitoring in MS patients and the effect of anti-IFNbeta antibodies // *J Neuroimmunol*. – 2005. – Vol. 166. – P. 180-188.

183 Sorensen P.S., Ross C., Clemmesen K.M., Bendtzen K. et al. Danish Multiple Sclerosis Study Group: Clinical importance of neutralising antibodies against interferon beta in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis // *Lancet*. – 2003. – Vol. 362. – P. 1184-1191.

184 Polman C., Kappos L., White R., Dahlke F., Beckmann K. et al. European Study Group in Interferon Beta-1b in Secondary Progressive MS: Neutralizing antibodies during treatment of secondary progressive MS with interferon beta-1b // *Neurology*. 2003. – Vol. 60. – P. 37-43.

185 Panitch H., Goodin D.S., Francis G., Chang P. et al. EVIDENCE Study Group, Evidence of Interferon Dose-response: Randomized, comparative study of

interferon beta-1a treatment regimens in MS: the EVIDENCE trial // *Neurology*. – 2002. – Vol. 59. – P. 1496-1506.

186 Malucchi S., Sala A., Gilli F., Bottero R. et al. Neutralizing antibodies reduce the efficacy of betaIFN during treatment of multiple sclerosis // *Neurology*. – 2004. – Vol. 62. – P. 2031-2037.

187 Paul I.C., Rachel A. Farrell et al. Clinical testing for neutralizing antibodies to interferon- β in multiple sclerosis // *Ther Adv Neurol Disord*. – 2013. – Vol. 6(1). – P. 3-17.

188 Namaka M., Pollitt-Smith M., Gupta A., Klowak M., Vasconcelos M. et al. The clinical importance of neutralizing antibodies in relapsing-remitting multiple sclerosis // *Curr Med Res Opin*. – 2006. – Vol. 22. – P. 223-239.

189 Pachner A.R., Cadavid D., Wolansky L., Skurnick J. Effect of anti-IFN β antibodies on MRI lesions of MS patients in the BECOME study // *Neurology*. – 2009. – Vol. 73(18). – P. 1485-1492.

190 Лиждвой В.Ю., Оспельникова Т.П., Котов С.В. Влияние нейтрализующих антител к интерферону-бета на прогрессирование рассеянного склероза // *Альманах клинической медицины*. – 2016. – №44(3). – С. 318-323.

191 Patti F., Morra V.B., Amato M.P. et al. Subcutaneous interferon beta-1a may protect against cognitive impairment in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: 5-year follow-up of the COGIMUS study // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – P. e74111.

192 Rudick R.A., Kappos L. et al. Gender effects on intramuscular interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: analysis of 1406 patients // *MultScler*. – 2011. – Vol. 17. – P. 353-360.

193 Freedman M.S., Edan G., Hartung H.P. et al. The Betaferon in newly emerging multiple sclerosis For Initial Treatment (BENEFIT) studies: neutralizing antibodies did not affect clinical outcomes after 3 years // *Program and abstracts of theECTRIMS 2007: 23rd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis*. – Prague, 2007. – Poster 185.

194 Randomized controlled trial of interferon-beta-1a in secondary progressive MS: clinical results / SPECTRIMS Study Group // *Neurology*. – 2001. – Vol. 56. – P. 1496-1504.

195 Magyari M., Koch-Henriksen N., Laursen B., Sørensen P.S. Gender effects on treatment response to interferon-beta in multiple sclerosis // *Acta Neurol Scand*. – 2014. – Vol. 130. – P. 374-379.

196 Mcfarlin D.E., levy H.B. et al. A comparison of interferon responses to poly ICLC in males and females // *J Interferon Res*. – 1985. – Vol. 5. – P. 423-428.

197 Giovannoni G., Nath A. After the storm: Neurofilament levels as a surrogate endpoint for neuroaxonal damage // *Neurology*. – 2011. – Vol. 76. – P. 1200-1201.

198 Hecker M., Paap B.K., Goertsches R.H., Kandulski O. et al. Reassessment of blood gene expression markers for the prognosis of relapsing-remitting multiple sclerosis // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6 (12). – P. e29648.

199 Furlan R., Bergami A., Brambilla E., Butti E., De Simoni M.G. HSV-1-mediated IL-1 receptor antagonist gene therapy ameliorates MOG(35-55)-induced

experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice // *Gene Ther.* – 2007. – Vol. 14(1). – P. 93-98.

200 van Baarsen L.G.M., Vosslamber S., Tijssen M. et al. Pharmacogenomics of Interferon- β Therapy in Multiple Sclerosis: Baseline IFN Signature Determines Pharmacological Differences between Patients // *PLoS ONE.* – 2008. – Vol. 3(4). – P. e1927.

201 Axtell R.C., de Jong B.A., Boniface K. et al. T helper type 1 and 17 cells determine efficacy of interferon-beta in multiple sclerosis and experimental encephalomyelitis // *Nat Med.* – 2010. – Vol. 16(4). – P. 406-412.

202 Komiyama K.J., Nakae S., Matsuki T. et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 566-573.

203 Acosta-Rodriguez E.V., Rivino L., Geginat J. et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells // *Nat Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 639-646.

204 van de Veerdonk F.L., Gresnigt M.S., Kullberg B.J. et al. Th17 responses and host defense against microorganisms: an overview // *BMB Rep.* – 2009. – Vol. 42(12). – P. 776-787.

205 Haller O., Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity // *Traffic.* – 2002. – Vol. 3. – P. 710-717.

206 Pachner A., Narayan K., Price N., Hurd M., Dail D. MxA gene expression analysis as an interferon-beta bioactivity measurement in patients with multiple sclerosis and the identification of antibody-mediated decreased bioactivity // *Mol. Diagn.* – 2003. – Vol. 7. – P. 17-25.

207 Gilli F., Marnetto F., Caldano M., Sala A., Malucchi S. et al. Biological markers of interferon-beta therapy: comparison among interferon-stimulated genes MxA, TRAIL and XAF-1 // *Mult. Scler.* – 2006. – Vol. 12. – P. 47-57.

208 Pachner A.R., Bertolotto A., Deisenhammer F. Measurement of MxA mRNA or protein as a biomarker of IFN β bioactivity: detection of antibody-mediated decreased bioactivity (ADB) // *Neurology.* – 2003. – Vol. 61. – P. S24-26.

209 Hesse D., Sellebjerg F., Sorensen P.S. (2009) Absence of MxA induction by interferon beta in patients with MS reflects complete loss of bioactivity // *Neurology.* – 2009. – Vol. 73. – P. 372-377.

210 Kracke A., von W.P., Al-Masri A.N., Dalley G., Windhagen A. et al. Mx proteins in blood leukocytes for monitoring interferon beta-1b therapy in patients with MS // *Neurology.* – 2000. – Vol. 54. – P. 193-199.

211 Zhang D., Zhang D.E. Interferon-stimulated gene 15 and the protein ISGylation system // *J Interferon Cytokine Res.* – 2011. – Vol. 31. – P. 119-130.

212 Malhorta S., Bustamante M.F., Perez-Miralles F. et al. Search for specific biomarkers of IFN β bioactivity in patients with multiple sclerosis // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – P. e23634.

213 Malhotra S., Morcillo-Suárez C., Nurtdinov R. et al. Roles of the ubiquitin peptidase USP18 in multiple sclerosis and the response to interferon- β treatment // *Eur J Neurol.* – 2013. – Vol. 20(10). – P. 1390-1397.

214. Knobeloch K.P., Utermohlen O., Kisser A., Prinz M., Horak I. Reexamination of the role of ubiquitin-like modifier ISG15 in the phenotype of UBP43-deficient mice // *Mol Cell Biol.* – 2005. – Vol. 25(24). – P. 11030-11034.
- 215 Qiu L-Q, Cresswell P., Chin K-Ch. Viperin is required for optimal Th2 responses and T-cell receptor-mediated activation of NF-kB and AP-1 // *Blood.* – 2009. – Vol. 113. – P. 3520-3529.
- 216 Hee J.S., Cresswell P. Viperin interaction with mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS) limits viperin-mediated inhibition of the interferon response in macrophages // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12(2). – P. e0172236.
217. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Лим В.В. Роль SOCS-белков в негативной регуляции JAK-STAT сигнализации // *Цитокины и воспаление.* – 2012. – Т. 11, №2. – С. 14-22.
- 218 Солодухин К.А., Никифоров В.С., Громов М.С. и др. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // *Медицинская иммунология.* – 2012. – Т. 14, №6. – С. 541-544.
- 219 Yoshimura A., Suzuki M., Sakaguchi R., Hanada T., Yasukawa H. SOCS, inflammation, and autoimmunity // *Front. Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 20.
- 220 Терехов И.В., Гук О.В., Бондарь С.С., Парфенюк В.К. Взаимосвязь супрессора цитокиновой сигнализации SOCS4 с отдельными факторами, регулирующими пролиферацию и клеточную гибель у практически здоровых лиц // *Вестник новых медицинских технологий.* – 2017. – №3. – С. 140-147.
- 221 Lim V.V., Sorokina L.N., Mineev V.N., Nyoma M.A., Trofimov V.I. Expression of socs3 and socs5 mRNAs in peripheral blood mononuclears from the patients with bronchial asthma // *Medical Immunology.* – 2014. – Vol. 16, №2. – P. 149-154.
- 222 Frisullo G., Mirabella M., Angelucci F. et al. The effect of disease activity on leptin, leptin receptor and suppressor of cytokine signalling-3 expression in relapsing-remitting multiple sclerosis // *J Neuroimmunol.* – 2007. – Vol. 192(1-2). – P. 174-183.
- 223 Starr R., Willson T.A., Viney E.M., Murray L.J. et al. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling // *Nature.* – 1997. – Vol. 387(6636). – P. 917-921.
- 224 Balabanov R., Strand K., Goswami R. et al. Interferon-gamma-oligodendrocyte interactions in the regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis // *J Neurosci.* – 2007. – Vol. 27(8). – P. 2013-2024.
- 225 Bullen D.V., Darwiche R., Metcalf D. et al. Neutralization of interferon-gamma in neonatal SOCS1^{-/-} mice prevents fatty degeneration of the liver but not subsequent fatal inflammatory disease // *Immunology.* – 2001. – Vol. 104. – P. 92-98.
- 226 Li Y., Chu N., Rostami A., Zhang G.X. Dendritic Cells Transduced with SOCS-3 Exhibit a Tolerogenic/DC2 Phenotype That Directs Type 2 Th Cell Differentiation In Vitro and In Vivo // *J Immunol.* – 2006. – Vol. 177 (3). – P. 1679-1688.

227 Vandebroek K. Cytokine gene polymorphisms and human autoimmune disease in the era of genome-wide association studies // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2012. – Vol. 32(4). – P. 139-151.

228 Баулина Н.М., Кулакова О.Г., Фаворова О.О. МикроРНК: роль в развитии аутоиммунного воспаления // *Acta Naturae.* – 2016. – Т. 8, №1(28). – С. 23-36.

229 Делов Р.А., Ханох Е.В., Рождественский А.С. и др. Влияние полиморфных вариантов генов TNF α , KIF1B, CD40, TNFRSF1A, IL-18 на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом тендерной принадлежности в этнической группе русских // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2011. – №2. – С. 50-57.

230 Hafler D.A. et al. Risk alleles for multiple sclerosis indentified by a genomewide study // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357, №9. – P. 851-862.

231 R del Rio. et al. SNPs upstream of the minimal promoter control IL-2 expression and are candidates for the autoimmune disease-susceptibility locus Aod2/Idd3/Eae3 // *Genes and Immunity.* – 2008. – Vol. 9, №2. – P. 115-121.

232 Багинский Ф.В. Выявление мутаций rs2104286, rs12722489 и rs6897932 в IL2RA И IL7RA генах у пациентов с рассеянным склерозом, проживающих в Гомельской области // *Неврология и нейрохирургия.* – 2011. – Т. 10, №4. – С. 90-97.

233 Фаворова О.О., Кулакова О.Г., Бойко А.Н. Рассеянный склероз как полигенное заболевание: современное состояние проблемы // *Генетика.* – 2010. – Т. 46, №3. – С. 302-313.

234 Макарычева О.Ю., Царева Е.Ю., Судомоина М.А. и др. Семейный анализ сцепления и ассоциации полиморфизма генов DRB1, CTLA4, TGFB1, IL4, CCR5, RANTES, MMP9 и TIMP1 с рассеянным склерозом // *Acta Naturae.* – 2011. – Т. 3, №1(8). – С. 91-98.

235 Макарычева О.Ю. и др. Анализ сцепления и ассоциации аллелей генов провоспалительных цитокинов IL-6, IFNG и TNF α с рассеянным склерозом с помощью теста неравновесной передачи аллелей (TDT) // *Молек. биол.* – 2010. – №44 (5). – С. 824-830.

236 Николаева И.А., Бабенко С.А., Пузырев В.П. Структура наследственной компоненты подверженности к рассеянному склерозу у коренных и пришлых жителей республики Саха (Якутия), г. Якутск // *Сибирский медицинский журнал.* – 2008. – Т. 23, №1-2. – С. 77-82.

237 Бабенко С.А. Роль аллельных вариантов генов иммунного ответа в развитии рассеянного склероза: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.15. – Томск, 2008. – 131 с.

238 Mausner-Fainberg K., Regev K., Kolb H. et al. Increased neutralization capacity of TNF- α in sera of relapsing remitting multiple sclerosispatients is not related to soluble TNF- α receptors or anti-TNF- α autoantibody levels // *J Neuroimmunol.* – 2015. – Vol. 286. – P. 83-85.

239 Смагина И.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др. Генетические факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края // *Журн. неврол. и психиатрии.* – 2011. – Т. 111, №5. – С. 42-45.

- 240 Ханох Е.В. Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностей его течения в русской этнической группе // Бюл. СО РАМН. – 2011. – Т. 31, №1. – С. 113-118.
- 241 Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др. Влияние полиморфных локусов rs1800629 (TNFa), rs6074022 (CD40), rs187238 (IL-18), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A) на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом гендерной принадлежности в этнической группе русских // Бюл. сиб. мед. – 2011. – Т. 10, №2. – С. 50-56.
- 242 Андриевский Т.А., Спирин Н.Н., Качуро Д.В. и др. Генетика рассеянного склероза // В кн.: Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. – М., 2004. – С. 43-59.
- 243 Ельчанинова С.А., Смагина И.В., Ночевная О.М. и др. Связь факторов некроза опухоли α с развитием и особенностями течения рассеянного склероза // Клинические исследования и наблюдения. – 2012. – Т. 17, №6. – С. 25-27.
- 244 Sawcer S., Hellenthal G., Pirinen M. et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis // Nature. – 2011. – Vol. 476(7359). – P. 214–219.
- 245 Matesanz F., González-Pérez A., Lucas M. Genome-wide association study of multiple sclerosis confirms a novel locus at 5p13.1 // PLoS One. – 2012. – Vol. 7(5). – P. e36140.
- 246 Хусаинова А.Н. Молекулярно-генетическое исследование рассеянного склероза: полиморфизм генов цитокиновой сети: автореф. ... канд. биол. наук. 03.02.07. – Уфа, 2012. – 23 с.
- 247 Hafler D.A., Compston A., Sawcer S. et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study // N. Engl. J. Med. – 2007. – Vol. 357(9). – P. 851-862.
- 248 Kristjansdottir G., Sandling J.K., Bonetti A. et al. Interferon regulatory factor 5 (IRF5) gene variants are associated with multiple sclerosis in three distinct populations // J. Med. Genet. – 2008. – Vol. 45. – P. 362-369.
- 249 Айтхужина Н.А., Нигматова В.Г., Хансеитова А.К. и др. Полиморфные маркеры некоторых генов, ассоциированных с рассеянным склерозом, среди населения республики Казахстан // Генетика. – 2011. – Т. 47, №6. – С. 749-753.
- 250 Jensen J.C., Stankovich J., Van der Walt A. et al. Multiple sclerosis susceptibility-associated SNPs do not influence disease severity measures in a cohort of Australian MS patients // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – P. e10003.
- 251 Ramagopalan S.V., Ebers G.C. Genes for multiple sclerosis // Lancet Neurol. – 2008. – Vol. 371. – P. 283-285.
- 252 Коробко Д.С., Кудрявцева Е.А., Малкова Н.А. Связь полиморфизмов генов цитокинов со скоростью прогрессирования рассеянного склероза // Журн. неврол. психиатрии. – 2012. – №112 (2). – С. 9-15.
- 253 Гридина А.О. Связь полиморфизма генов иммунной системы с развитием и течением рассеянного склероза: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11. – СПб., 2015. – 101 с.

254 Kulakova O.G., Tsareva E.Y., Boyko A.N., Shchur S.G. et al. Allelic combinations of immune-response genes as possible composite markers of IFN- β efficacy in multiple sclerosis patients // *Pharmacogenomics*. – 2012. – Vol. 13, №15. – P. 1689-1700.

255 Mahurkar S., Suppiah V., O'Doherty C. Pharmacogenomics of interferon beta and glatiramer acetate response: a review of the literature // *Autoimmun. Rev.* – 2014. – Vol. 13, №2. – P. 178–186.

256 Смагина И.В. и др. Клинические и лабораторные предикторы высокой скорости прогрессирования рассеянного склероза // *Кремлевская медицина*. – 2010. – №4. – С. 16-18.

257 Hoffmann S., Cepok S., Grummel V. et al. HLA-DRB1*0401 and HLA-DRB1*0408 are strongly associated with the development of antibodies against interferon-beta therapy in multiple sclerosis // *Am. J. Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 83. – P. 219-227.

258. Хамидулла А.А., Кабдрахманова Г.Б., Утепкалиева А.П., Алиева М.Б. Современные представления о значении генетических факторов в развитии рассеянного склероза // *БатысКазакстан медицина журналы*. – 2018. – №57(1). – С. 37-42.

259 Kurtzke J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) // *Neurology*. – 1983. – Vol. 33(11). – P. 1444-1452.

260 Havrdová E., Arnold D.L., Bar-Or A. et al. No evidence of disease activity (NEDA) analysis by epochs in patients with relapsing multiple sclerosis treated with ocrelizumab vs interferon beta-1a // *Mult Scler J Exp Transl Clin*. – 2018. – Vol. 4(1). – P. 1-11.

261 Havrdova E., Galetta S., Hutchinson M. et al. Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis:are trospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study // *Lancet Neurol*. – 2009. – Vol. 8(3). – P. 254-260.

262 Bergamaschi R., Quaglini S., Trojano M. et al. Early prediction of the long term evolution of multiple sclerosis: the Bayesian Risk Estimate for Multiple Sclerosis (BREMS) score // *Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2007. – Vol. 78. – P. 757-759.

263 Хамидулла А.А., Кабдрахманова Г.Б., Утепкалиева А.П. Михалак С. Оценка влияния интерферон-связывающих и интерферон-нейтрализующих антител на течение рассеянного склероза // *Медицинский журнал Астана*. – 2019. – №1(99). – С. 255-259.

264 Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. – М: Изд.-во «Миклош», 2004. – 540 с.

265 Ханох Е.В., Рождественский А. Особенности клинического течения рассеянного склероза у пациентов, проживающих на территории г. Омска и Омской области // *Молодой ученый*. – 2011. – Т. 2, №3. – С. 173-176.

266 Молчанова Ж.И. Когнитивные и аффективные нарушения у больных рассеянным склерозом: автореф. ... канд. мед. наук: 14.01.11. – Иркутск, 2011. – 22 с.

267 Sadovnick A.D., Remick R.A., Allen J., Swartz E., Yee I.M. et al. Depression and multiple sclerosis // *Neurology*. – 1996. – Vol. 46(3). – P. 628-632.

268 Brissart H., Morele E., Baumann C., Debouverie M. Verbal episodic memory in 426 multiple sclerosis patients: impairment in encoding, retrieval or both? // *Neurol Sci*. – 2012. – Vol. 33(5). – P. 1117-1123.

269 Шварц П.Г. Влияние нарушений акта мочеиспускания на качество жизни больных рассеянным склерозом и больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения // *Неврологический журнал*. – 2006. – №2. – С. 12-15.

270 McClurg D., Ashe R.G., Lowe-Strong A.S. Neuromuscular electrical stimulation and the treatment of lower urinary tract dysfunction in multiple sclerosis – A double blind, placebo controlled randomised clinical trial // *Neurourol Urodyn*. – 2008. – Vol. 27. – P. 231-237.

271 Кабдрахманова Г.Б., Утепкалиева А.П., Хамидулла А.А. Особенности клиники неврологических проявлений у больных рассеянным склерозом г. Актобе // *Батыс Казакстан медицина журналы*. – 2017. – №1(53). – С. 37-41.

272 Nishimaki T., Kano K., Milgrom F. Studies on heterophile antibodies in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum*. – 1978. – Vol. 21. – P. 634-638.

273 Satoh P.S., Elberg A.J., Fleming W.E. et al. Heterophile antibodies in the serum of children with nephrotic syndrome // *Vox Sang*. – 1980. – Vol. 39. – P. 128-133.

274 Boscato L.M., Stuart M.C. Incidence and specificity of interference in two-site immunoassays // *Clin Chem*. – 1986. – Vol. 32. – P. 1491-1495.

275 Sominanda A., Lundkvist M., Fogdell-Hahn A., Hemmer B. et al. Inhibition of endogenous interferon beta by neutralizing antibodies against recombinant interferon beta // *Arch Neurol*. – 2010. – Vol. 67(9). – P. 1095-1101.

276 Fine D., Dattani A., Moreira I. et al. Do neutralising antibodies against exogenous interferon-beta inhibit endogenous signalling pathways? // *Mult. Scler. Relat. Disord*. – 2015. – Vol. 4. – P. 88-91.

277 Lovato L., Cianti R., Gini B. et al. Transketolase and 2',3'-cyclic-nucleotide 3'-phosphodiesterase type I isoforms are specifically recognized by IgG autoantibodies in multiple sclerosis patients // *Mol Cell Proteomics*. – 2008. – Vol. 7(12). – P. 2337-2349.

278 Kolln J., Ren H.M., Da R.R. et al. Triosephosphate isomerase- and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-reactive autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis // *J Immunol*. – 2006. – Vol. 177 (8). – P. 5652-5658.

279 Sorensen P.S., Deisenhammer F., Duda P. et al. Use of anti-interferon beta antibody measurements in multiple sclerosis: european handbook of neurological management. – Ed. 2nd. – Blackwell: Publishing Ltd, 2011. – Vol. 1. – P. 63-74.

280 Farrell R., Kapoor R., Leary S., Rudge P., Thompson A. et al. Neutralizing anti-interferon beta antibodies are associated with reduced side effects and delayed impact on efficacy of Interferon-beta // *Mult Scler*. – 2008. – Vol. 14(2). – P. 212-218.

281 Creeke P.I., Farrell R.A. Clinical testing for neutralizing antibodies to interferon- β in multiple sclerosis // *Ther Adv Neurol Disord.* – 2013. – Vol. 6(1). – P. 3-17.

282 Назаров В.Д., Лапин С.В., Мазинг А.В. и др. Проблема иммуногенности генно-инженерных лекарственных препаратов интерферона-бета // *Биохимия.* – 2016. – Т. 81, №11. – С. 1658-1664.

283 Neutralizing antibodies during treatment of multiple sclerosis with interferon beta-1b: experience during the first three years / The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group // *Neurology.* – 1996. – Vol. 47. – P. 889-894.

284 Sato D.K., Nakashima I., Fukazawa T. et al. Neutralizing antibodies are associated with a reduction of Interferon-b efficacy during the treatment of Japanese Multiple sclerosis patients // *Tohoku J Exp Med.* – 2012. – Vol. 228. – P. 85-92.

285 Secondary progressive Efficacy Clinical Trial of Recombinant Interferon-beta-1a in MS (SPECTRIMS) Study Group. Randomized controlled trial of interferon beta-1a in secondary progressive MS // *Clinical Results. Neurology.* – 2001. – Vol. 56. – P. 1496-1504.

286 Long-term efficacy of interferon-beta-1a in relapsing MS / The PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon-h- 1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group, and the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group PRISMS-4 // *Neurology.* – 2001. – Vol. 56. – P. 1628-1636.

287 Petkau A.J., White R.A., Ebers G.C. et al. Longitudinal analyses of the effects of neutralizing antibodies on interferon beta-1b in relapsing remitting multiple sclerosis // *Mult Scler.* – 2004. – Vol. 10. – P. 126-138.

288 Paolicelli D., D'Onghia M., Pellegrini F. et al. The impact of neutralizing antibodies on the risk of disease worsening in interferon β -treated relapsing multiple sclerosis: a 5 year post-marketing study // *J Neurol.* – 2013. – Vol. 260(6). – P. 1562-1568.

289 Clanet M., Radue E.W., Kappos L. et al. A randomized, double-blind, dose-comparison study of weekly interferon beta-1a in relapsing MS // *Neurology.* – 2002. – Vol. 59(10). – P. 1507-1517.

290 Rudick R.A., Simonian N.A., Alam J.A. et al. Incidence and significance of neutralizing antibodies to interferon beta 1a in multiple sclerosis // *Neurology.* – 1998. – Vol. 50. – P. 1266-1272.

291 Hartung H.P., Freedman M.S., Polman C.H. et al. Interferon β -1b-neutralizing antibodies 5 years after clinically isolated syndrome // *Neurology.* – 2011. – Vol. 77(9). – P. 835-843.

292 Kolls J.K., Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation // *Immunity.* – 2004. – Vol. 21. – P. 467-476.

293 Ramsey C.D., Lazarus R., Camargo C.A.Jr. Polymorphisms in the interleukin 17F gene (IL17F) and asthma // *Genes Immun.* – 2005. – Vol. 6(3). – P. 236-241.

294 Wang S., Zhai H., Su Y. et al. IL-17F but not IL-17A gene polymorphism confers risk to multiple sclerosis in a Chinese Han population // *J Neurol Sci.* – 2014. – Vol. 342(1-2). – P. 133-136.

295 Wang SH., Zhong X., Wang K. et al. Interleukin 17 gene polymorphism is associated with anti-aquaporin 4 antibody-positive neuromyelitis optica in the Southern Han Chinese-a case control study // *J Neurol Sci.* – 2012. – Vol. 314(1-2). – P. 26-28.

296 Bushnell S.E., Zhao Z., Stebbins C.C. et al. Serum IL-17F does not predict poor response to IM IFN β -1a in relapsing-remitting MS // *Neurology.* – 2012. – Vol. 79(6). – P. 531-537.

297 Ghaffari S.A., Nemati M., Hajghani H. et al. Circulating concentrations of interleukin (IL)-17 in patients with multiple sclerosis: evaluation of the effects of gender, treatment, disease patterns and IL-23 receptor gene polymorphisms // *Iran J Neurol.* – 2017. – Vol. 16(1). – P. 15-25.

298 Kürtüncü M., Tüzün E., Türkoğlu R. et al. Effect of short-term interferon- β treatment on cytokines in multiple sclerosis: significant modulation of IL-17 and IL-23 // *Cytokine.* – 2012. – Vol. 59(2). – P. 400-402.

299 Mahmoud F.M., ElSheshtawy N.M., Zaki W.K et al. MicroRNA 26a Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Correlation with Serum Interleukin-17 in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis Patients // *Egypt J Immunol.* – 2017. – Vol. 24(2). – P. 71-82.

300 DeForge L.E., Loyet K.M, Delarosa D. et al. Evaluation of heterophilic antibody blocking agents in reducing false positive interference in immunoassays for IL-17AA, IL-17FF, and IL-17AF // *J Immunol Methods.* – 2010. – Vol. 362(1-2). – P. 70-81.

301 Feng X., Han D., Kilaru B.K. et al. Inhibition of Interferon-beta Responses in Multiple Sclerosis Immune Cells Associated With High-Dose Statins // *Arch Neurol.* – 2012. – Vol. 69(10). – P. 1303-1309.

302 Wellen J., Walter J., Jangouk P. et al. Neural precursor cells as a novel target for interferon-beta // *Neuropharmacology.* – 2009. – Vol. 56. – P. 386-398.

303 Teng T-S., Simamarta D. et al. Viperin restricts chikungunya virus replication and pathology // *J Clin Invest.* – 2012. – Vol. 122(12). – P. 4447-4460.

304 Riviuccio M.A., Suh H.S., Zhao Y. et al. TLR3 ligation activates an antiviral response in human fetal astrocytes: a role for viperin/cig5 // *Journal of immunology.* – 2006. – Vol. 177(7). – P. 4735-4741.

305 Helbig K.J., Eyre N.S., Yip E. et al. The antiviral protein viperin inhibits hepatitis C virus replication via interaction with nonstructural protein 5A // *Hepatology.* – 2011. – Vol. 54(5). – P. 1506-1517.

306 Jiang D., Weidner J.M., Qing M. et al. Identification of five interferon-induced cellular proteins that inhibit west nile virus and dengue virus infections // *Journal of virology.* – 2010. – Vol. 84(16). – P. 8332-8341.

307 Wang X., Hinson E.R., Cresswell P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts // *Cell host & microbe.* – 2007. – Vol. 2(2). – P. 96-105.

308 Seo J.Y., Yaneva R., Hinson E.R. et al. Human cytomegalovirus directly induces the antiviral protein viperin to enhance infectivity // *Science.* – 2011. – Vol. 332(6033). – P. 1093-1097.

309 Saitoh T., Satoh T., Yamamoto N. et al. Antiviral protein Viperin promotes Toll-like receptor 7- and Toll-like receptor 9-mediated type I interferon production in plasmacytoid dendritic cells // *Immunity*. – 2011. – Vol. 34(3). – P. 352-363.

310 Sedeño-Monge V. et al. Quantitative analysis of the suppressors of cytokine signaling 1 and 3 in peripheral blood leukocytes of patients with multiple sclerosis // *J Neuroimmunol*. – 2014. – Vol. 273(1-2). – P. 117-119.

311 Ozkul C., Irkeç C. et al. Effect of combined exercise training on serum brain-derived neurotrophic factor, suppressors of cytokine signaling 1 and 3 in patients with multiple sclerosis // *J Neuroimmunol*. – 2018. – Vol. 316. – P. 121-129.

312 Li Y., Chu N., Rostami A., Zhang G.X. Dendritic cells transduced with SOCS-3 exhibit a tolerogenic/DC2 phenotype that directs type 2 Th cell differentiation in vitro and in vivo // *J Immunol*. – 2006. – Vol. 177. – P. 1679-1688.

313 Bonnan M., Marasescu R., Demasles S., Krim E., Barroso B. No evidence of disease activity (NEDA) in MS should include CSF biology – Towards a 'Disease-Free Status Score' // *Mult Scler Relat Disord*. – 2017. – Vol. 11. – P. 51-55.

314 Giovannoni G., Turner B., Gnanapavan S et al. Is it time to target no evident disease activity (NEDA) in multiple sclerosis? // *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. – 2015. – Vol. 4. – P. 329-333.

315 Rotstein D., Healy B., Malik M. et al. Evaluation of no evidence of disease activity in a 7-year longitudinal multiple sclerosis cohort // *JAMA Neurol*. – 2015. – Vol. 72. – P. 152-158.

316 Kappos L., De Stefano N., Freedman M. et al. Inclusion of brain volume loss in a revised measure of 'no evidence of disease activity' (NEDA-4) in relapsing-remitting multiple sclerosis // *Mult Scler*. – 2016. – Vol. 22(10). – P. 1297-1305.

317 Uher T., Havrdova E., Sobisek L. et al. Is no evidence of disease activity an achievable goal in MS patients on intramuscular interferon beta-1a treatment over long-term follow up? // *Mult. Scler*. – 2017. – Vol. 23(2). – P. 242-252.

318 Prosperini L., Fanelli F., Pozzilli C. Long-term assessment of no evidence of disease activity with natalizumab in relapsing multiple sclerosis // *J Neurol Sci*. – 2016. – №364. – P. 145-147.

319 Medina S., Villarrubia N., Sainz de la Maza S. et al. Optimal response to dimethyl fumarate associates in MS with a shift from an inflammatory to a tolerogenic blood cell profile // *Mult Scler*. – 2018. – Vol. 24(10). – P. 1317-1327.

320 Alenda R., Costa-Frossard L., Alvarez-Lafuente R. et al. Blood lymphocyte subsets identify optimal responders to IFN-beta in MS // *J. Neurol*. – 2018. – Vol. 265. – P. 24-31.

321 Rossi S., Buttari F., Studer V. et al. The (AAT) n repeat of the cannabinoid CB1 receptor gene influences disease progression in relapsing multiple sclerosis // *Mult Scler*. – 2011. – Vol. 17(3). – P. 281-288.

322 Albanese M., Zagaglia S., Landi D. et al. Cerebrospinal fluid lactate is associated with multiple sclerosis disease progression // *J Neuroinflammation*. – 2016. – Vol. 13(1). – P. 1-7.

323 Власов Я.В. и др. Импортзамещение препаратов, изменяющих течение рассеянного склероза (ПИТРС) биоаналогами как тенденция развития современного направления терапии больных рассеянным склерозом в

Российской Федерации // Практическая медицина. – 2013. – №1-1(68). – С. 114-116.

324 Ghezzi A., Amato M.P., Capobianco M. et al. Immunomodulatory Treatment of Early-onset MS (ITEMS) Group. Treatment of early-onset multiple sclerosis with intramuscular interferon-beta-1a: long-term results // *Neurol Sci.* – 2007. – Vol. 28(3). – P. 127-132.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Акт внедрения

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебно-воспитательной работе
ЗКГМУ им. Марата Оспанова
Абилов Т.С.
«29» _____ 2018 г.



АКТ внедрения результатов научных исследований в учебный процесс.

№ 294 «29» 12 2018 г.

Основание: протокол заседания кафедры № 4 «29» ноября 2018 г.

Место проведения: АО «Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им. М. Оспанова, кафедра неврологии

Наименование предложения: «Определение биомаркеров активности заболевания (виперин, USP-18, SOCS-3) в крови больных рассеянным склерозом» по результатам диссертационного исследования Хамидулла А.А. на тему «Клинико-иммунологическая характеристика течения рассеянного склероза».

Специальность: «Общая медицина»

Дисциплина: «Неврология»

Содержание внедрения: Включение блока «Определение биомаркеров активности заболевания (виперин, USP-18, SOCS-3) в крови больных рассеянным склерозом» в содержание практического занятия на тему «Рассеянный склероз» для интернов 6 курса по направлению «Внутренние болезни».

Исполнители: д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., м.м.н., и.о. доцента Хамидулла А.А.

Сроки внедрения: 2018-2019 учебный год.

Эффективность внедрения: Внедрение блока «Определение биомаркеров активности заболевания (виперин, USP-18, SOCS-3) в крови больных рассеянным склерозом» в содержание практического занятия на тему «Рассеянный склероз» для интернов 6 курса по направлению «Внутренние болезни» способствует углублению знаний интернов о современном состоянии проблемы диагностики рассеянного склероза, о достижениях в диагностике и лечении рассеянного склероза, выработке навыков ведения больных рассеянным склерозом.

Предложения: Предложение д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., м.м.н., и.о. доцента Хамидулла А.А. имеет практическую ценность, методически эффективно и может быть рекомендовано к внедрению на уровне кафедры.

Руководитель кафедры: _____ Утепкалиева А.П.

Председатель АК: _____ Шиканова С.Ю.

Руководитель ДАР: _____ Курмангалиева С.С.

Исполнители: _____ Кабдрахманова Г.Б.
_____ Утепкалиева А.П.
_____ Хамидулла А.А.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Актобинского
Областного управления
Здравоохранения
Калиев А.А.
«25» июня 2018 г.



УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научно-клинической
работе ЗКГМУ имени Марата Оспанова
Смагулова Г.А.
«25» июня 2018 г.



АКТ № 388

внедрения научно-исследовательской работы
Больница скорой медицинской помощи, г. Актобе
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: «Применение шкалы NEDA-3 для характеристики течения рассеянного склероза».

Работа включена из научно-исследовательской работы в рамках докторской диссертации Хамидулла А.А. на тему: «Клинико-иммунологические особенности течения рассеянного склероза». Внедрена в инициативном порядке.

Форма внедрения: обучающий семинар для врачей-неврологов.

Ответственный за внедрение и исполнитель: д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., PhD докторант Хамидулла А.А., Урашева Ж.У., Кумейко Л.А.

Эффективность внедрения: Критерий NEDA-3 дает возможность прогнозировать течение рассеянного склероза после 2-х лет заболевания. Отсутствие обострений и прогрессирования инвалидизации и отсутствие на МРТ новых или увеличивающихся очагов («no evidence of disease activity») указывает на благоприятный прогноз и эффективность проводимой терапии. Несоответствие критериям NEDA-3 (обострение, прогрессирование и/или новый очаг на МРТ) свидетельствует о неэффективности проводимого лечения и необходимости пересмотра тактики лечения.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Публикация статей.

Срок внедрения: сентябрь 2015 г. – декабрь 2018 г.

Председатель комиссии:

Жанкулов М.Х.

**Члены
(ответственные за внедрение):**

Кабдрахманова Г.Б.

Исполнители:

Утепкалиева А.П.
Хамидулла А.А.
Кумейко Л.А.
Урашева Ж.У.

Н ПРО БҚММУ 605-03-17. Ғылыми-зерттеу жұмысын ендіру акті. Бесінші басылым.
Ф ПРО ЗКГМУ 605-03-17. Акт внедрения научно-исследовательской работы. Издание пятое.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Актобинского
Областного управления
Здравоохранения
Калиев А.А.
«30» июня 2018 г.



УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научно-клинической
работе ЗКГМУ имени Марата Оспанова
Смагулова Г.А.
«30» июня 2018 г.



АКТ №389

внедрения научно-исследовательской работы
Больница скорой медицинской помощи, г. Актобе
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: «Оценка активности течения и прогрессирования рассеянного склероза с применением шкалы BREMS (Bayesian Risk Estimate for Multiple Sclerosis)».

Работа включена из научно-исследовательской работы в рамках докторской диссертации Хамидулла А.А. на тему: «Клинико-иммунологические особенности рассеянного склероза». Внедрена в инициативном порядке.

Форма внедрения: обучающий семинар для врачей-неврологов.

Ответственный за внедрение и исполнитель: д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., PhD докторант Хамидулла А.А., Дарин Д.Б., Уразамбетова А.Е.

Эффективность внедрения: оценка активности течения рассеянного склероза с помощью шкалы BREMS после первого года заболевания даст возможность вычислить степень риска перехода во вторично-прогрессирующий рассеянный склероз в течение следующих 10-и лет и определить дальнейшую тактику ведения пациентов: выявление низкого риска свидетельствует о доброкачественном течении, при котором рекомендуется продолжать лечение препаратами первой линии; выявление высокого риска указывает на необходимость проведения более ранней и агрессивной терапии препаратами второй линии.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Публикация статей.

Срок внедрения: сентябрь 2015 г. – декабрь 2018 г.

Председатель комиссии:  Жанкулов М.Х.

Члены (ответственные за внедрение):  Кабдрахманова Г.Б.

Исполнители:  Утепкалиева А.П.
Хамидулла А.А.
Дарин Д.Б.
Уразамбетова А.Е.

Н ПРО БКММУ 605-03-17. Ғылыми-зерттеу жұмысын ендіру акті. Бесінші басылым.
Ф ПРО ЗКГМУ 605-03-17. Акт внедрения научно-исследовательской работы. Издание пятое.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Актюбинского
Областного управления
Здравоохранения
Калиев А.А.
«___» июня 2018 г.



УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научно-клинической
работе ЗКГМУ имени Марата Оспанова
Смагулова Г.А.
«26» июня 2018 г.



АКТ № 413

внедрения научно-исследовательской работы
Больница скорой медицинской помощи, г. Актобе
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: «Определение биомаркеров активности заболевания (виперин, USP-18, SOCS-3) в крови больных рассеянным склерозом».

Работа включена из научно-исследовательской работы в рамках докторской диссертации Хамидулла А.А. на тему: «Клинико-иммунологические особенности рассеянного склероза». Внедрена в инициативном порядке.

Форма внедрения: обучающий семинар для врачей-неврологов.

Ответственный за внедрение и исполнитель: д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., м.м.н., и.о.доцента Хамидулла А.А., Дарин Д.Б., Урашева Ж.У., Кумейко Л.А.

Эффективность внедрения: Выявление изменения показателей биомаркеров активности заболевания (виперин, USP-18, SOCS-3) у больных рассеянным склерозом будет способствовать выявлению пациентов со сниженным ответом на ИНФ-терапию, что может явиться основанием для пересмотра проводимой терапии с подбором препарата из другой линии.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Публикация статей.

Срок внедрения: сентябрь 2015 г. – декабрь 2018 г.

Председатель комиссии:



Жанкулов М.Х.

**Члены
(ответственные за внедрение):**

Кабдрахманова Г.Б.

Исполнители:

Утепкалиева А.П.
Хамидулла А.А.
Дарин Д.Б.
Урашева Ж.У.
Кумейко Л.А.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Актобинского
Областного управления
Здравоохранения
Калиев А.А.
«26» июня 2018 г.



УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научно-клинической
работе ЗКГМУ имени Марата Оспанова
Смагулова Г.А.
«26» июня 2018 г.



АКТ № 414

внедрения научно-исследовательской работы
Больница скорой медицинской помощи, г. Актобе
(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения: «Определение интерферон-связывающих и интерферон-нейтрализующих антител в крови больных рассеянным склерозом».

Работа включена из научно-исследовательской работы в рамках докторской диссертации Хамидулла А.А. на тему: «Клинико-иммунологические особенности рассеянного склероза». Внедрена в инициативном порядке.

Форма внедрения: обучающий семинар для врачей-неврологов.

Ответственный за внедрение и исполнитель: д.м.н., профессор Кабдрахманова Г.Б., к.м.н., доцент Утепкалиева А.П., м.м.н., и.о.доцента Хамидулла А.А., Дарин Д.Б., Урашева Ж.У., Кумейко Л.А.

Эффективность внедрения: Выявление связывающих и нейтрализующих антител к интерферону-бета у больных рассеянным склерозом будет способствовать выявлению пациентов со сниженным ответом на интерферонотерапию, что может явиться основанием для пересмотра проводимой терапии с подбором препарата из второй линии.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Публикация статей.

Срок внедрения: сентябрь 2015 г. – декабрь 2018 г.

Председатель комиссии:



Жанкулов М.Х.

**Члены
(ответственные за внедрение):**

Кабдрахманова Г.Б.

Исполнители:

Утепкалиева А.П.
Хамидулла А.А.
Дарин Д.Б.
Урашева Ж.У.
Кумейко Л.А.

Н ПРО БҚММУ 605-03-17. Ғылыми-зерттеу жұмысын ендіру акті. Бесінші басылым.
Ф ПРО ЗКГМУ 605-03-17. Акт внедрения научно-исследовательской работы. Издание пятое.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Таблица Б.1 – Шкала состояния функциональных систем Куртцке

Группа симптомов	Классификация в зависимости от степени нарушения функций (баллы)
1	2
Поражения зрительного нерва	<ul style="list-style-type: none"> – скотома, острота зрения лучше, чем 0,6; – худший глаз со скотомой с максимальной остротой зрения от 0,6 до 0,4; – худший глаз с большой скотомой или умеренное сужение полей зрения, но при максимальной остроте зрения от 0,4 до 0,2; – худший глаз со значительным сужением полей зрения и максимальной остротой зрения от 0,2 до 0,1 или симптомы из раздела 3 плюс максимальная острота зрения лучшего глаза 0,4 или меньше; – худший глаз с максимальной остротой зрения ниже 0,1, или симптомы из раздела 4 плюс острота зрения лучшего глаза 0,4 и меньше; – симптомы из раздела 5 плюс острота зрения лучшего глаза 0,4 и меньше
Нарушения черепных нервов (кроме II пары)	<ul style="list-style-type: none"> – симптомы без нарушения функций; – умеренно выраженный нистагм или другие незначительные нарушения; – выраженный нистагм, отчетливые симптомы вовлечения глазодвигательных или лицевого нервов, умеренные симптомы поражения других черепных нервов; – выраженная дизартрия или другие выраженные нарушения; – невозможность глотать или говорить
Симптомы поражения пирамидного пути	<ul style="list-style-type: none"> – патологические пирамидные рефлексy без снижения силы; – незначительное снижение мышечной силы; – незначительный или умеренный геми- или парапарез (слабость, но расцениваемая как повышенная утомляемость при сохранении основных функций после небольшого отдыха), тяжелый монопарез (значительная утрата функции); – отчетливый геми- или парапарез (с нарушением функции), умеренный тетрапарез (функция значительно восстанавливается после короткого отдыха); – параплегия, гемиплегия или отчетливый тетрапарез; – тетраплегия
Нарушения координации	<ul style="list-style-type: none"> – неврологические симптомы без нарушения функции; – незначительная атаксия (функции практически не страдают, но интенционный тремор или мимопопадание отчетливо выявляются в пробах); – умеренная атаксия туловища или конечностей (тремор и дисметрия затрудняют движения); – выраженная атаксия во всех конечностях (выполнение направленных движений сильно затруднено); – невозможность выполнения направленных движений из-за атаксии

Продолжение таблицы Б.1

1	2
Нарушения чувствительности	<ul style="list-style-type: none"> – снижение вибрационной и мышечно-суставной чувствительности на одной-двух конечностях; – некоторое снижение тактильной, болевой чувствительности или чувства давления и/или умеренное снижение вибрационной чувствительности на одной или двух конечностях, или только снижение мышечно-суставного чувства на трех или четырех конечностях; – отчетливое снижение тактильной, болевой чувствительности или чувства давления и/или потеря вибрационной чувствительности на одной или двух конечностях или незначительное снижение тактильной, болевой и/или умеренное снижение всей проприоцептивной чувствительности на трех или четырех конечностях; – значительное снижение тактильной, болевой чувствительности или потеря проприоцептивной (или в комбинации) на одной или двух конечностях, или умеренное снижение тактильной, болевой чувствительности и/или выраженные нарушения проприоцепции на более чем на двух конечностях; – потеря чувствительности на одной или двух конечностях или умеренное снижение тактильной или болевой и/или потеря проприоцепции на всем теле ниже головы; – потеря всех видов чувствительности ниже головы
Нарушения функций тазовых органов	<ul style="list-style-type: none"> – незначительные нарушения мочеиспускания (императивные позывы или задержки); – умеренно выраженные задержки, императивные позывы, запоры или редкие эпизоды недержания; – частые эпизоды недержания мочи; – необходимость в постоянной катетеризации и постоянных дополнительных мероприятиях для эвакуации кишечника; – полное недержание мочи; – полное недержание мочи и кала
Изменения интеллекта	<ul style="list-style-type: none"> – снижение памяти (не влияет на работоспособность); – незначительное снижение интеллекта; – умеренное снижение интеллекта; – заметное снижение интеллекта; – деменция

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Шкала оценки степени инвалидизации Disability Status Scale (DSS) и Expanded Disability Status Scale (EDSS)

Баллы	DSS	EDSS(баллы)
0	Симптомов нет	
1	Только микросимптомы (пирамидные знаки или снижение вибрационной чувствительности)	1.0 – нет нарушений
		1.5 – нет нарушений
2	Небольшая слабость, слабо выраженные нарушения походки, сенсорные или глазодвигательные нарушения	2.0 – амбулаторный больной
		2.5 - амбулаторный больной
3	Умеренно выраженная слабость или монопарез, атаксия, либо их комбинация	3.0 – умеренные нарушения
		3.5 - умеренные нарушения, амбулаторный больной
4	Относительно выраженная слабость, до 12 часов в день может находиться в вертикальном положении, себя обслуживает полностью	4.0 – как в DSS, больной себя обслуживает, может пройти без помощи и отдыха 500 м
		4.5 – требуется минимальная помощь, может работать полный день, пройти без помощи и отдыха 300 м
5	Самостоятельная ходьба на небольшие расстояния, неполный рабочий день	5.0 - может пройти без помощи и отдыха 200 м, неполный рабочий день
		5.5 - может пройти без помощи и отдыха 100 м, неполный рабочий день
6	Ходьба только при поддержке	6.0 – односторонняя поддержка при ходьбе на расстояние 100 м
		6.5 – постоянная поддержка с 2-х сторон для ходьбы на 20 м без отдыха
7	Активность в пределах кресла-коляски, сам в ней передвигается, садится	7.0 – может передвигаться в кресле-коляске весь день
		7.5 – необходима помощь при передвижении в кресле-коляске, не может быть в ней весь день
8	Ограничен кроватью или креслом, себя обслуживает с помощью рук	8.0 - как в DSS
		8.5 – эффективно использует руки, но трудности в самообслуживании
9	Полностью прикован к постели и беспомощен	9.0 – прикован к постели, возможно, общение и еда
		9.5 – беспомощен, не может говорить, есть, глотать