

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Пермский государственный
медицинский университет имени академика Е.А.Вагнера» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Медведева Елена Львовна

**Нейротрофические факторы в сыворотке крови больных
рассеянным склерозом при различных вариантах лечения
препаратами, изменяющими течение рассеянного склероза**

14.01.11 – нервные болезни

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук, профессор Байдина Т.В.

Пермь – 2015

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	12
1.1. Нейротрофические факторы - биологическая роль	12
1.2. Мозговой и цилиарный нейротрофические факторы у больных рассеянным склерозом.....	23
1.3. Влияние ПИТРС на нейротрофические факторы.....	29
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	33
2.1. Общая характеристика собственных наблюдений.....	33
2.2. Методы исследования	37
2.2.1. Оценка аффективных расстройств	37
2.2.2. Оценка качества жизни	38
2.2.3. Оценка усталости	38
2.2.4. Оценка неврологического дефицита и когнитивных функций с помощью теста MSFC и EDSS	39
2.2.5. Количественное определение содержания нейротрофических факторов в сыворотке крови.....	42
2.2.6. Оценка нейровизуализационных данных	47
2.3. Статистическая обработка полученных результатов.....	48
ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО, ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА, КАЧЕСТВА ЖИЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ	49
3.1. Неврологический статус у больных рассеянным склерозом	49
3.2. Эмоциональный статус, синдром усталости и качество жизни у больных рассеянным склерозом.....	53

ГЛАВА 4 СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ.....	61
4.1. Содержание BDNF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом	61
4.2. Содержание BDNF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом при различных вариантах лечения ПИТРС	64
4.3. Содержание CNTF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом	82
4.4. Содержание CNTF в сыворотке крови пациентов с РС при различных вариантах ПИТРС	85
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЗАКЛЮЧЕНИЕ).....	87
ВЫВОДЫ.....	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	96

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

9-НРТ	9-Hole Peg test, 9-ти луночный тест
BDNF	brain-derived neurotrophic factor, мозговой нейротрофический фактор
CNTF	ciliary neurotrophic factor, цилиарный нейротрофический фактор
EDSS	Expanded Disability Status Scale, расширенная шкала ивальдности J. Kurtzke
FS	Functional System, функциональная система
HADS	Hospital Anxiety and Depression Scale, госпитальная шкала тревоги и депрессии
MFI - 20	Multidimensional Fatigue Inventory, шкала субъективной оценки астении
MSIS- 29	Multiple Sclerosis Impact Scale, шкала влияния рассеянного склероза
MSFC	Multiple Sclerosis Functional Composite, шкала функционального состояния при рассеянном склерозе
NGF	Nerve Growth Factor, фактор роста нервов
PASAT-3	Paced Auditory Serial Addition Test, слуховой тест на сложение в заданном темпе
ГКС	глюкокортикостероиды
ИМТ	иммуномодулирующая терапия
ИФА	иммуноферментный анализ
ИНФ-бета	интерфероны-бета
мРНК	матричная рибонуклеиновая кислота
МРТ	магнитно-резонансная томография
НТФ	нейротрофические факторы
ПИТРС	препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
РРС	ремиттирующий рассеянный склероз
РС	рассеянный склероз
ЦНС	центральная нервная система

СТАТИСТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ

Me	медиана
p^{M-W}	критерий Mann-Whitney
p^w	критерий Wilcoxon
p	достоверность различий

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Рассеянный склероз (РС) - одна из наиболее актуальных проблем современной неврологии, актуальность которой обусловлена тем, что заболевание поражает молодых людей, ведущих активную трудовую деятельность и социальную жизнь, и при отсутствии адекватного лечения неизбежно приводит к инвалидности [1,30,35,51].

Значительная распространённость РС, сложность многих сторон патогенеза, многообразие клинических проявлений болезни, быстро наступающая инвалидизация, необходимость дорогостоящих восстановительных мероприятий усиливают медико - социальную значимость проблемы.

Как известно, параллельно с процессами демиелинизации при РС наблюдаются и процессы регенерации, в частности, восстановление миелина и ветвление аксонов с образованием новых синапсов [33] . Несмотря на большие и очевидные успехи и достижения в изучении патогенеза РС, репаративные и защитные механизмы при этом заболевании изучены недостаточно. Поскольку нейропластичность обеспечивается регуляторными влияниями естественных нейротрофических факторов, в том числе мозговым нейротрофическим фактором (BDNF) и цилиарным нейротрофическим фактором (CNTF), изучение их реакции на болезнь как одного из звеньев патогенеза РС представляет большой интерес.

Не менее актуально исследование нейротрофинов с позиций их возможного использования как новой терапевтической мишени, так как малая курабельность РС, безусловно, требует поиска альтернативных стратегий его лечения. К РС, по-видимому, можно применить предположение Р.Л.Монтальчини: «...поскольку гибель клеток специфической нейрональной популяции связана со сниженным уровнем нейротрофических факторов, их экзогенная поддержка или стимуляция эндогенного продуцирования фармакологическими средствами может открыть обещающие подходы терапии

некурабельных заболеваний» [100]. Частота использования и базовое значение иммуномодуляторов для ведения пациентов с РС вызывает вопрос относительно наличия и выраженности у этих препаратов нейротрофических свойств, в том числе с целью выбора оптимальных вариантов терапии среди всего многообразия препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС).

Цель исследования.

Изучить концентрацию нейротрофических факторов (BDNF, CNTF) в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом и влияние на неё различных характеристик заболевания, а также терапии, изменяющей течение рассеянного склероза.

Задачи исследования.

1. Определить концентрацию мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом и сопоставить ее с клиническими проявлениями заболевания.

2. Определить концентрацию цилиарного нейротрофического фактора в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом и сопоставить ее с различными характеристиками заболевания.

3. Изучить уровень мозгового и цилиарного нейротрофических факторов у больных рассеянным склерозом при различных вариантах иммуномодулирующей терапии.

4. Изучить динамику клинической картины заболевания, астении, эмоциональных и когнитивных функций, качества жизни и течения рассеянного склероза при лечении ПИТРС в сопоставлении с динамикой нейротрофических факторов.

Научная новизна исследования.

Впервые показано, что у больных рассеянным склерозом имеется исходная недостаточность BDNF, возможно, обуславливающая особую чувствительность их нервной системы к повреждению, и низкую способность нервных структур к восстановлению. Определена ассоциация BDNF со стволовыми нарушениями, а также с одной из основных характеристик

выраженности повреждения при рассеянном склерозе - амбулаторным индексом, что указывает на отрицательную роль первичной недостаточности BDNF в развитии РС. Установлено, цилиарный нейротрофический фактор у больных рассеянным склерозом обеспечивает поддержку нейронов после повреждения, о чем свидетельствует положительная корреляция между когнитивными функциями и его концентрацией в сыворотке крови. Впервые проведено сопоставительное исследование нейротрофических влияний интерферона-бета, финголимода и натализумаба, показавшее отсутствие преимуществ какого-либо из них в этом отношении. Установлено, что положительное влияние на течение заболевания изученных ПИТРС не обусловлено нейротрофическим воздействием. Впервые показана особая чувствительность второго компонента MSFC - 9-Hole Peg Test, к динамике клинических симптомов при лечении ПИТРС.

Практическая значимость.

Низкое содержание BDNF у больных ремиттирующим рассеянным склерозом указывает на необходимость включения в комплекс лечения препаратов, обладающих нейротрофическими свойствами. Показано, что исследованные ПИТРС не обладают свойством стимуляции нейропластичности и положительное воздействие этих препаратов на течение заболевания, неврологический статус и качество жизни пациентов с рассеянным склерозом обусловлено их традиционными свойствами без участия нейротрофических механизмов. Ни один из исследованных препаратов: интерфероны-бета, финголимод и натализумаб, не имеют преимуществ в отношении способности стимулировать нейропластичность.

С целью определения индивидуальной чувствительности к тому или иному ПИТРС на ранних этапах терапии может быть использован 9-Hole Peg Test, как наиболее чувствительный к положительным сдвигам неврологического статуса.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. У больных рассеянным склерозом имеет место исходная недостаточность мозгового нейротрофического фактора, что проявляется низкой по сравнению с популяционным уровнем его концентрацией в сыворотке крови, не сопряженной с длительностью заболевания. Нейротрофическая недостаточность играет отрицательную роль в течение заболевания, поскольку коррелирует со стволовыми нарушениями, а также с одной из основных характеристик выраженности мозгового и спинального повреждения при рассеянном склерозе - амбулаторным индексом.

2. Цилиарный нейротрофический фактор, отсутствующий в свободных средах в норме, экспрессируется у больных рассеянным склерозом, высвобождаясь из поврежденных аксонов и обеспечивая трофику и поддержку нейронов после повреждения, о чем свидетельствует положительная корреляция между когнитивными функциями и его концентрацией в сыворотке крови.

3. Терапия в течение 6 месяцев интерферонами-бета, натализумабом и финголимодом оказывает положительное действие на течение рассеянного склероза, уменьшая неврологический дефицит, астению, улучшая качество жизни и препятствуя развитию обострений, но в механизмах их терапевтического воздействия нейротрофические механизмы участия не принимают.

Личный вклад диссертанта в исследование.

Материал, представленный в диссертации и автореферате, получен, обработан, проанализирован и оформлен лично автором.

Лично автором проводилось обследование пациентов на базе кафедры неврологии имени профессора В.П. Первушина ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.В. Вагнера Минздрава России и в Пермском краевом центре рассеянного склероза на базе ГБУЗ ПК «Ордена "Знак Почета" Пермской краевой клинической больницы».

Исследование концентрации BDNF, CNTF в сыворотке проводилось

самостоятельно на базе микробиологической лаборатории ЦНИЛ ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера под руководством и контролем д.м.н. Д.Ю. Соснина.

Публикации.

По материалам диссертационной работы опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 - в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Апробация работы.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на сессии молодых ученых ГБОУ ВПО «ПГМА им. академика Е.А.Вагнера» Минздрава России (Пермь, 2014 г.), научной сессии ГБОУ ВПО ПГМУ «Навстречу 100-летию высшего медицинского образования на Урале» (Пермь, 2015 г.), научно-практической конференции "Новое в науке: Современные проблемы и тенденции" (Нефтекамск, 2015 г.), на II Конгрессе российского комитета исследователей рассеянного склероза (г. Ярославль 2015 г.).

Внедрение в практику.

Полученные результаты диссертационного исследования внедрены в лечебно-диагностический процесс ГБУЗ ПК "Ордена "Знак Почета" Пермской краевой клинической больницы" и ГБУЗ ПК "Чусовской городской больницы им. В.Г. Любимова".

Основные положения внедрены в учебный процесс на кафедре неврологии имени профессора В.П. Первушина (заведующий – доктор медицинских наук, профессор Ю.И.Кравцов) ГБОУ ВПО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 112 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов исследования, 2 глав результатов исследования, раздела обсуждения полученных данных, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Список литературы включает 51 отечественных и 91 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 22 таблицами, 14 рисунками и 2 клиническими примерами.

Диссертация входит в план НИР ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А.Вагнера» (регистрационный № 115030310058).

ГЛАВА 1. НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Нейротрофические факторы - биологическая роль

В настоящее время в зарубежной и отечественной литературе все больше появляется данных о значении нейротрофических факторов (НТФ) для физиологии и патологии нервной системы. Многие процессы нейрогенеза и функционирования нейронов находятся под их влиянием и контролем [2].

Все многообразие нейротрофических факторов в настоящее время делится на подсемейства: «нейротрофинов» или подсемейство фактора роста нервов; подсемейство глиального фактора, в которое входят собственно GDNF, Neurturin (NTR), Artemin (ART), Persephin (PSP); «нейропозитины» или подсемейство цилиарного (реснитчатого) фактора, включающее CNTF, ингибирующий фактор лейкемии (LIF) и интерлейкин-6 (IL-6) [16].

Подсемейство нейротрофинов играет особо важную роль в регуляции развития и функционирования центральной и периферической нервной системы [37]. Хорошо изучены представители данного подсемейства, такие как фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3), нейротрофин-4/5 (NT-4/5), нейротрофин-6 (NT-6).

НТФ играют значимую роль на всех этапах пре- и постнатального нейрогенеза [14]. Во время эмбрионального генеза нейротрофины участвуют в формировании фенотипа клеток, оказывают влияние на цитоархитектонику коры, также в процессе онтогенеза контролируют рост и дифференцировку нейронов, а в постнатальном периоде способствуют формированию новых синаптических связей [23, 57].

Известно, что трофические факторы синтезируются в определенных количествах и активно выделяются соответственно с функциональной потребностью [14,16].

НТФ воздействуют на механизмы нейропластичности, регулируя формирование новых синапсов, [15], стимулируют выживание, миграцию,

пролиферацию, регенерацию нейронов, арборизацию (ветвление дендритов) и спрутинг (рост аксонов) в направлении клеток мишеней, обеспечивают пластичность синапсов, активность ионных каналов и рецепторов нейромедиаторов [92].

Кроме того, НТФ служат важными регуляторами нейрогенеза, образования новых клеток из (прогениторных) стволовых нейрональных предшественников [14,15,38].

Свойства нейротрофинов связаны со способностями препятствовать окислительному стрессу, предотвращать образования свободных радикалов и оказывать влияние на процессы апоптоза, а также принимать участие в контроле процессов физиологического развития нейронов и сохранения структурной и функциональной целостности [104]

Известно, что НТФ оказывают влияние на процессы миелинизации и ремиелинизации, регулируют выраженность и скорость апоптоза [5,33].

История изучения и развитие знаний о НТФ связана с именем выдающийся личности, американской итальянки Риты Леви - Монтальчини, которая совместно со Стэнли Козном в 1951 году открыла и выделила фактор роста нервов - Nerve Growth Factor (NGF). В результате проведения серии исследований авторами было обнаружено, что пересадка опухоли в куриный зародыш стимулирует деление симпатических нервных клеток и активное ветвление их аксонов. Эти наблюдения подсказали Леви-Монтальчини, что на рост нервной ткани оказало воздействие стимулирующее вещество, содержащееся в культуре опухолевых клеток, которое было названо фактором роста нервов (Nerve Growth Factor - NGF). За это открытие в 1986 году авторам была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине [100].

В дальнейшем авторы показали, что введение антител к фактору роста нервов существенно тормозит развитие культуры клеток. NGF был первым из большого семейства нейротрофическим факторов, открытых в дальнейшем [15].

Структурно нейротрофины представляют собой гомологичные первому из открытых представителей NGF плеiotропные высокомолекулярные полипептиды, которые влияют на широкий спектр процессов, способствующих функциональному сохранению структур мозга [17,112].

Эффекты нейротрофинов или их предшественников реализуются через взаимосвязи с различными видами рецепторов семейства тирокиназы (Trk-рецепторы) и рецепторами p75NTR из семейства рецепторов фактора некроза опухоли - самыми универсальными, но при этом низкоаффинными.

Trk-рецепторы взаимодействуют только со зрелыми нейротрофинами, а рецептор p75 связывает как зрелые, так и проформы нейротрофинов.

Среди рецепторов семейства тирокиназы выделяют три типа: Trk-рецепторов: TrkA, TrkB и TrkC [38].

При этом TrkA - активируется фактором роста нервов, с TrkB-рецепторы связываются BDNF и NT-4/5, а агонистом TrkC-рецептора является NT-3. Взаимодействие BDNF с высокоаффинными TrkB рецепторами приводит к усилению трофического влияния.

P75NTR рецепторы способны как потенцировать, так и угнетать нейротрофическое действие Trk-B рецепторов или независимо от них запускать апоптотический сигнальный каскад.

Одним из представителей подсемейства нейротрофинов является мозговой нейротрофический фактор - BDNF (brain-derived neurotrophic factor).

Первоначально BDNF был выделен в 1982 году из мозга свиньи и на культуре клеток была раскрыта его способность поддерживать выживание нейронов зрелого мозга.

В 1989 г. BDNF был клонирован, после чего была доказана его значимая роль в регуляции жизнеспособности и дифференцировки различных популяций нейронов, включая сенсорные нейроны, нейроны мозжечка и двигательные нейроны спинного мозга [141].

По химической структуре BDNF представляет собой гомодимер с общим молекулярным весом 27,2 кДа. Каждый мономер состоит из 120 аминокислот и проявляет свою биологическую активность при димеризации [36, 118].

Из ЦНС выделены зрелые формы BDNF и его предшественники, так называемые proBDNF [9,75]

В большом количестве этот полипептид локализован в ряде отделов головного мозга. BDNF и его мРНК выделены в таламусе, пирамидных клетках неокортекса, в мозжечке. Высокий уровень экспрессии BDNF во взрослом мозге был обнаружен в области гиппокампа и коры головного мозга [61].

Кроме того, BDNF и мРНК BDNF экспрессируются в плаценте и периферических ганглиях [16].

Основным источником BDNF в нервной системе являются нейроны [101], а при нейровоспалительных заболеваниях мощным ресурсом для BDNF служат иммунные клетки [89].

Установлено, что BDNF экспрессируется различными типами глиальных клеток: астроцитами, шванновскими клетками, олигодендроцитами, микроглией, а также фибробластами, тромбоцитами. Макрофаги, лимфоциты - как CD4+, так и CD8+ Т-клетки, В-клетки, синтезируют BDNF и экспрессируют соответствующие рецепторы. Т-клетки всех фенотипов (Th1, Th2, Th3) способны продуцировать нейротрофины, в частности BDNF, NT-3, NT-4 [43].

Доказано, что BDNF в сыворотке периферической крови можно рассматривать в качестве показателя, отражающего уровень синтеза BDNF в ЦНС [23,99].

Источником молекул BDNF в сыворотке являются тромбоциты, которые связывают, депонируют и в ответ на внешние стимулы высвобождают BDNF [23,77].

Известно, что повышение продукции нейротрофических факторов является одним из способов повышения устойчивости аксонов и нейронов к повреждению [19], а формирование олигодендроцитов и миелина регулируется различными нейротрофическими факторами. Согласно современным данным

BDNF участвует в обеспечении многих физиологических, адаптивных и когнитивных процессов [13].

Установлено, что одним из активаторов продукции BDNF является выброс глутамата, неизменно присутствующий в качестве одного из начальных звеньев любого повреждения мозга [15].

Известно, что активность НТФ повышается в период развития нервной системы, и особенно в периоды структурного и функционального созревания лобной коры [137].

Экспериментально было показано, что дефицит активности одного из НТФ - мозгового нейротрофического фактора приводил к значительным дефектам развития мозга новорожденных животных и был не совместим с жизнью [74]. Нейропротективную функцию BDNF продолжает выполнять и у взрослых [42].

Пик концентрации BDNF в мозге определяется у молодых, а в зрелом и старческом возрасте уровень BDNF относительно стабилен [137]. Однако имеются сведения, что при возрастном снижении памяти и когнитивных функций, для сохранения которых необходим должный постоянный уровень нейротрофинов, отмечается снижение содержания BDNF [15].

BDNF экспрессируется в эмбриональном головном мозге на 5-9 неделе нейроонтогенеза, при этом - с большей активностью по сравнению с другими, тем самым подтверждается его участие в дифференцировке нервной ткани [46].

Исследования показывают вовлечение BDNF в патогенез любого органического поражения ЦНС - нейродегенеративного, ишемического, [132,133] травматического, а также в механизмы развития психических заболеваний - шизофрении, аффективных расстройств, таких как тревога и депрессия [29,48].

Ряд работ посвящен изучению BDNF при нейродегенеративных заболеваниях, в частности, при болезни Альцгеймера. Определение уровня BDNF мРНК на экспериментальных моделях болезни Альцгеймера выявило его взаимосвязь с образованием больших амилоидных бляшек в коре головного

мозга и тяжестью заболевания, а также сниженный уровень экспрессии данного нейротрофина [115].

Уставлено, что у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера, в развернутой стадии заболевания уровень BDNF и его мРНК снижен в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости без значимых различий концентрации в этих биоматериалах. Степень снижения BDNF коррелировала с тяжестью клинических проявлений заболевания. Однако на ранних стадиях болезни Альцгеймера показано повышение этого НТФ в ликворе и сыворотке крови, которое, по мнению авторов, может носить компенсаторный характер [58].

Также известно, что BDNF действует на дофаминергические нейроны черной субстанции. Исследование уровня BDNF у пациентов с болезнью Паркинсона выявило связь этого НТФ с продолжительностью заболевания и тяжестью его моторных проявлений [98].

Активно ведутся работы по изучению участия нейротрофических факторов в патогенезе тревоги, депрессии и нарушений когнитивных и поведенческих процессов у человека [50,94].

Считается, что BDNF тесно ассоциирован с депрессией и стрессом [7]. Клинические наблюдения демонстрируют снижение BDNF у больных с депрессивными расстройствами [18, 138]. Снижение его экспрессии преимущественно в гиппокампе после стресса и ее восстановление длительным введением антидепрессантов привело к созданию нейротрофической теории депрессии [72], согласно которой изменение уровня BDNF является одним из механизмов формирования и терапии данной психопатологии [7]. К примеру, в исследовании F. Karege выявлено снижение содержания BDNF в сыворотке крови у пациентов с депрессией. По данным литературы, терапия антидепрессантами чаще всего способствует нормализации уровня BDNF [93]. Таким образом, BDNF участвует в механизмах действия антидепрессантов и других препаратов, оказывающих влияние на эмоциональную сферу человека.

В исследовании Живолупова С.А. [23] оценивался уровень BDNF в сыворотке крови у пациентов с соматоформными расстройствами и последствиями черепно-мозговой травмы. Низкий уровень BDNF в сыворотке крови оказался у всех обследованных больных. Использование адаптола уменьшало выраженность вегетативных расстройств и тревоги, увеличивало интеллектуальную продуктивность и достоверно повышало концентрацию BDNF в сыворотке крови у пациентов. Авторы предположили, что снижение экспрессии BDNF может служить объективным маркером нейрональной дисфункции, связанной с эмоциональными и когнитивными расстройствами [23].

На сегодняшний день доказано участие BDNF в регуляции программированной гибели нейронов [15,56, 113,128].

В эксперименте Шебитц В.Р. с соавт. [47] показали, что BDNF индуцирует антиапоптотические механизмы после инсульта, уменьшает размер инфаркта и вторичную гибель нервных клеток. При внутрижелудочковом введении BDNF, наряду с уменьшением зоны поражения мозга, вызывал уменьшение в этой зоне числа апоптотирующих клеток [129].

Проведены исследования в области неонатологии и педиатрии [40] по изучению содержания BDNF в сыворотке крови новорожденных с тяжелыми гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС. В ходе исследования установлено, что показатель продукции BDNF у детей имеет значение для наличия и объема структурных изменений головного мозга. В частности, низкий уровень BDNF в сыворотке крови новорожденных с крайне тяжелыми гипоксически-ишемическими поражениями имеет прогностическое значение и влияет на выживаемость новорожденных [10,11].

Изучение динамики уровня BDNF проводилось у детей с перинатальным поражением головного мозга и его отдаленных последствий. В результате исследования было установлено, что содержание BDNF у подростков, перенесших перинатальное поражение головного мозга, было ниже по сравнению с детьми подросткового возраста с неотягощенным перинатальным

анамнезом. У детей в трехмесячном возрасте с перинатальным гипоксическим поражением головного мозга при отсутствии положительной динамики на фоне проводимой терапии отмечается снижение продукции BDNF. На основании всех полученных данных авторы высказали предположение, что одной из причин замедленного темпа восстановления процессов, происходящих в нервной системе ребенка после перенесенной гипоксии, является снижение уровня BDNF, а также, что снижение продукции BDNF отражает особенности перестройки нейрогуморальной регуляции в подростковом возрасте после перенесенного перинатального поражения головного мозга.

Многие из исследователей занимаются работами по изучению участия BDNF в патогенезе повреждения и в процессах регенерации при травмах головного и спинного мозга. Предполагают, что глиальный апоптоз может быть причиной дегенерации миелина, а нейрональный апоптоз увеличивает потерю активных нейронов [52].

Известно, что при травме спинного мозга BDNF оказывает стимулирующее влияние на нейрогенез в области повреждения, [96] и угнетает апоптоз нейронов и олигодендроцитов [78].

К примеру, исследование, проведенное Tobias C.A., показало стимуляцию аксонального роста после имплантации экспериментальным животным в пострадавшие участки спинного мозга секретирующие BDNF фибробласты. [132].

Влияние нейротрофических факторов периферической крови на формирование неврологических, эмоциональных, когнитивных нарушений в остром и отдаленном периодах черепно-мозговой травмы легкой и средней степени тяжести в процессе нейропротекторной терапии описаны в работе Селяниной Н.В. 2015. Автором установлено, что в целях прогнозирования развития когнитивных нарушений и депрессии в отдаленном периоде черепно-мозговой травмы следует использовать определение количественного содержания мозгового нейротрофического фактора сыворотки крови [41].

Одним из представителей нейротрофинов является цилиарный нейротрофический фактор (CNTF).

Цилиарный нейротрофический фактор (CNTF) относится к ограниченному семейству нейропозитических цитокинов [86], молекулярный вес которого 22,7 кДа [28].

По химической структуре CNTF является полипептидом из 200 аминокислотных остатков. Первоначально он был идентифицирован как трофический фактор парасимпатических нейронов 8-дневного куриного эмбриона. Исследования, проводимые *in vitro*, показали стимулирующую активность CNTF по отношению к нейронам сенсорных ганглиев, мотонейронам и симпатическим нейронам.

Известно, что CNTF экспрессируется глиальными клетками центральной и периферической нервной системы [125].

Он проявляет свойства ростового фактора и способствует дифференцировке развивающихся нейронов и глиальных клеток, обеспечивает трофику и принимает участие в защите аксонотомированных либо поврежденных нейронов [28].

Молекулы CNTF локализованы внутри клетки и при её разрушении оказываются во внеклеточной среде, в результате чего концентрация CNTF может играть роль маркера степени деструкции нервной ткани [21].

С другой стороны, CNTF при повреждении способен влиять на выживаемость нейронов сетчатки, гиппокампа, спинальных ганглиев и может быть маркером репаративных процессов в ЦНС. CNTF участвует в патогенезе ряда неврологических заболеваний.

Среди новых подходов коррекции болезни Альцгеймера исследователи предлагают использовать экспериментальные модельные опыты, которые демонстрируют влияние различных веществ на нейрогенез. В частности, при воспроизведении амилоидной формы болезни на мышцах испытывали влияние фрагментов CNTF. Вещества, обозначенные как пептиды, стимулировали рост

новых нейронов и их выживание в специфических локусах субвентрикулярной зоны и гиппокампе [119].

Клиническое значение CNTF показано в работе Зиньковского А.К., Мусиной Л.О. (2012), исследовавших значение CNTF для выживания нейронов в условиях эпилептизации мозга [24,25,32].

Установлено увеличение данного фактора по мере прогрессирования эпилепсии, а также его изменения на фоне нейрометаболической терапии [25,32].

Изучение количественного содержания CNTF в сыворотке и спинномозговой жидкости больных с черепно-мозговой травмой проведено в работе Дуйсебекова М.М. (2009). Исследование показало, что в первые сутки у пациентов с тяжелой степенью тяжести ушиба головного мозга содержание CNTF существенно ниже, чем у больных с ушибом средней степени тяжести и у здоровых лиц. У пациентов с травмой средней степени тяжести максимальный подъем концентрации данного фактора выявляется на седьмые сутки болезни, а при тяжелой – на 14-е сутки с возможным последующим нарастанием в восстановительном периоде. Авторами рекомендовано для оценки степени повреждения нервной ткани после ушиба головного мозга определять содержание нейротрофического фактора в сыворотке крови и в спинномозговой жидкости больных [21,22,108].

Изучение сывороточной концентрации CNTF представлено в работе Голосной Г.С. и соавт. [10,11] у новорожденных детей с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС. Авторами, установлено, что у новорожденных с геморрагическим типом поражения ЦНС с первых суток жизни в сыворотке крови фиксируется высокий уровень CNTF, вследствие чего этот нейротрофин можно считать ранним маркером внутрижелудочкового кровоизлияния. При обширном поражении головного мозга экспрессия CNTF в сыворотке крови и в мозге угнетается, уменьшая функциональные возможности новорожденных.

Таким образом, актуальность изучения нейротрофинов обусловлена их способностью участвовать в патогенезе различных заболеваний нервной системы, усиливая репаративные и нейропротективные процессы, оказывая влияние на нейрогенез и стимулируя нейрональную пластичность [14].

1.2. Мозговой и цилиарный нейротрофические факторы у больных рассеянным склерозом

Рассеянный склероз (РС) - это хроническое воспалительное заболевание ЦНС, вовлекающее аутоиммунные механизмы и поражающее более 2,5 миллионов человек по всему миру. Показатели распространенности заболевания в мире в последнее время имеют тенденцию к увеличению [20,31,49]. Это связано не только с лучшей диагностикой, но и с реальным ростом заболеваемости, особенно у лиц молодого возраста [107].

История развития знаний о РС насчитывает около двух столетий, однако изучение его различных аспектов остается актуальной проблемой, значимость которой обусловлена тяжестью и недостаточной управляемостью заболевания.

Широкие перспективы для восстановления структуры и функций поврежденных тканей, в том числе при РС, раскрывает возможность использования нейротрофических факторов [8].

Современные исследования при РС также сосредоточены на поиске новых биомаркеров для изучения процессов нейродегенерации [69].

Известно, что восстановительные процессы при демиелинизации могут происходить за счет пролиферации олигодендроцитов и развития ремиелинизации под влиянием эндогенных нейротрофических факторов [5].

В ряде работ установлено, что введение белка BDNF или гена BDNF может повлиять на поврежденные и подвергшиеся деградации нейроны и вызвать рост аксонов и регенерации [84,110].

Увеличение синтеза нейротрофических факторов при РС рассматривают в качестве механизма, который способствует повышению устойчивости нейронов и аксонов к повреждению и оказывает влияние на регенерацию ткани [19,136], воздействуя на процессы роста аксонов и пластичности синапсов ЦНС.

Важно отметить, что при РС BDNF синтезируется не только нейронами, но и Т- и В-лимфоцитами [6].

Обнаружение этих факторов в иммунных клетках легло в основу теории

«защитной аутоиммунности» [51]. BDNF обнаружен на ранних этапах формирования бляшек в макрофагах, Т-лимфоцитах. В хронической фазе болезни число клеток, которые содержат BDNF, резко снижено.

В ряде работ выявлена способность активированных антиген-специфичных Т-клеток и других клеток иммунной системы продуцировать биоактивные нейротрофические факторы [33, 95].

Экспрессия BDNF была отмечена при РС в инфильтрирующих иммунных клетках: Т-лимфоцитах, макрофагах, а также в нейронах и реактивных астроцитах [89].

Иммунные клетки экспрессируют BDNF в зонах демиелинизации непосредственно в очагах РС. Известно, что BDNF может антероградно транспортироваться и выделяться нейронами, что особенно усиливается после аксонального повреждения. Выявление подобного феномена предполагает, что нейрональный BDNF может обеспечивать эндогенную нейротрофическую поддержку в очагах РС.

В хронических очагах РС выделяется меньшее количество эндогенных нейротрофинов, что может стать причиной аксональной дегенерации на этапе прогрессирования заболевания [33].

По результатам иммуногистохимического анализа обнаружено, что нейроны и астроциты в очагах РС имеют BDNF-рецепторы. Высвобождение BDNF из Т-клеток, инфильтрирующих ЦНС во время острых воспалительных эпизодов, может ограничивать аксональную дегенерацию и способствовать нейрональному восстановлению.

В эксперименте на животных было показано, что нейротрофины способны вызывать быстрое увеличение и ремиелинизацию демиелинизированных аксонов в спинном мозге при его повреждении [110, 126].

По данным эксперимента на спинном мозге крыс после повреждения при введении в спинномозговую жидкость BDNF восстанавливал сниженную экспрессию Cu/Zn супероксиддисмутазы и основного белка миелина [5,90].

Подробно роль BDNF в процессах регуляции активности нейродегенеративного процесса при РС изучалась в работе, выполненной Силуяновой В.А. (2007) под руководством профессора Гусева Е.И., посвященной атипичным формам РС. Автором обнаружено снижение уровня BDNF в сыворотке крови пациентов с первично-прогрессирующим РС в сравнении с вторично-прогрессирующим и достоверное повышение его у больных с мягким течением в сравнении с «типичным» РС, что дало основание автору сделать предположение о взаимосвязи уровня BDNF и тяжести заболевания [43].

По данным Gold S.M., Schulz K.H., Hartmann S., et al. [82,83] базальный уровень BDNF в сыворотке пациентов с РС достоверно не отличается от уровня здоровых лиц. Кроме этого, Gold S.M. et al. (2003) [83] установили, что умеренная физическая нагрузка, а именно занятия велоспортом в течение восьми недель, увеличивает содержание BDNF в сыворотке крови пациентов с РС. По мнению авторов, именно этот механизм лежит в основе положительного влияния кинезиотерапии и физической нагрузки на пациентов с РС [83].

Azoulay D. et al, напротив, установили снижение уровня BDNF в цереброспинальной жидкости пациентов с ремитирующей формой РС по сравнению с его уровнем при других неврологических заболеваниях. Различий концентрации BDNF в сыворотке пациентов в периоды обострения и ремиссии не были выявлены [60]. Azoulay D. также не обнаружил различий при сравнении концентрации BDNF в сыворотке крови в разные фазы РС [60].

Сходные данные о снижении уровня BDNF в группе пациентов с РС по сравнению со здоровыми лицами содержатся в ряде других источников [76, 121, 134,70].

По данным Sarchielli P. et al. [122] содержание BDNF в цереброспинальной жидкости в фазе клинической стабильности выше при ремиттирующем типе течения, чем при вторично-прогредиентном и достоверно выше, чем в контрольной группе. Также авторами получены данные о концентрации BDNF в супернатантах активированных коротко-живущих

клеточных культур из крови больных ремитирующей и прогрессирующими формами РС. Содержание BDNF было выше у больных с ремитирующим РС и в группе контроля по сравнению с пациентами с прогрессирующим течением РС.

Yoshimura S. et al. получили данные о значительном увеличении продукции BDNF в сыворотке крови пациентов с РС по сравнению со здоровыми и пациентами, страдающими другими неврологическими заболеваниями. Наиболее высокие показатели BDNF имели больные РС молодого возраста. Обнаружена тенденция к увеличению BDNF с возрастом у здоровых лиц, у пациентов, страдающих РС, такой закономерности не выявлено. Также авторами высказано предположение о взаимосвязи данного параметра с тяжестью заболевания, поскольку получены данные о высокой концентрации BDNF у пациентов с большим количеством обострений [140].

Comini-Frota E.R. et al. [67] исследовали связь BDNF с нейровизуализационными данными и выявили отрицательную корреляцию между сывороточной концентрацией BDNF у пациентов с рецидивирующе-ремитирующим течением и количеством очагов в режиме T2/ FLAIR. На основании этих данных авторы полагают, что концентрация BDNF в сыворотке крови может рассматриваться как перспективный биомаркер у пациентов рассеянным склерозом, отражающий тяжесть поражения ЦНС.

Таким образом, данные о содержании BDNF в сыворотке крови больных РС немногочисленны и противоречивы.

Еще менее исследован вопрос о патогенетической роли CNTF при РС и о его содержании в сыворотке крови больных. Поскольку CNTF экспрессируется астроцитами для защиты олигодендроглии [33], то предположение о его участии в механизмах нейропротекции при РС представляется вполне обоснованным.

Это предположение было подтверждено исследованиями [80], которые доказали, что РС начинается раньше и течет тяжелее у пациентов с нулевой мутацией CNTF-гена. Исследования на животных моделях подтвердили, что

модель экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита с «выключенным» CNTF особенно неблагоприятна по течению [63].

Однако, Hoffman V. et al. [87] не подтвердили эту закономерность. Они предположили, что в случае нулевой мутации CNTF-гена другие нейротрофические факторы могут заместить потерю CNTF.

Дизрегуляцию CNTF при РС отметили Schonrock L.M. et al [124], а при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите - Butzkueven H. et al [63].

Участие CNTF в патогенезе РС подтверждено данными об исследовании этого нейротрофина иммуноферментным методом в цереброспинальной жидкости 14 здоровых, 22 больных с опухолями головного мозга, 26 пациентов с рассеянным склерозом и 17 больных с синдромом Гийена-Барре. У здоровых и больных с опухолями CNTF в ликворе не определялся, у пациентов с РС его концентрация составила 240 pg/ml, а при синдроме Гийена-Барре - 430 pg/ml [109]. В дальнейшем авторы показали, что у пациентов с РС CNTF повышается, особенно в фазу выздоровления после обострения [109,122].

Lindquist S. et al. [102] получили сходные данные о том, что экспрессия CNTF лейкоцитами крови значительно возрастает во время обострения болезни и после лечения ГКС.

На основании цитохимического анализа экспрессии CNTF корковыми нейронами у больных РС Dutta R. et al. , 2007 [73] подтверждают участие этого нейротрофина в процессах репарации и высказывают мнение о том, что повышение активности CNTF может стать терапевтической мишенью при этом заболевании .

Механизмы влияния CNTF на восстановительные процессы при РС многообразны. Salehi Z. et al. на животных моделях показали, что CNTF увеличивает выработку гликопротеина олигодендроцитами и таким образом может стимулировать процессы ремиелинизации [120,127]. Стволовые клетки при экспериментальном энцефаломиелите, инициируя увеличение секреции CNTF, способны уменьшать демиелинизацию через иммунорегуляторные и противовоспалительные реакции и стимуляцию олигодендрогенеза [105,116].

Таким образом, нейротрофические факторы в частности BDNF и CNTF, безусловно, участвуют в патогенезе РС, однако, сведения об этом немногочисленны и противоречивы.

1.3. Влияние ПИТРС на нейротрофические факторы

Одним из перспективных направлений в разработке новых методов лечения РС является нейропротекция – мероприятия, направленные на замедление и остановку прогрессирования заболевания путем восстановления и предотвращения дегенерации нервных клеток и аксонов [44].

В связи с этим ведется активный поиск путей защиты аксонов и нейронов от повреждения [5,59,71,89]

Возможным вариантом нейропротекции с точки зрения терапевтического воздействия на основные механизмы клеточной гибели является использование действия НТФ. Поэтому изучаются различные лекарственные препараты, в том числе традиционные ПИТРС, с позиций их возможного влияния на НТФ.

Необходимость нейропротективной терапии при РС не вызывает сомнений [82] и не нуждается в дополнительном обосновании, хотя некоторые спорные вопросы все-таки существуют. Например, есть мнение о том, что повышение нейротрофинов выгодно на ранних стадиях РС, тогда как на поздних этапах болезни через активацию нейроглии нейротрофины могут стимулировать воспаление.

Однако большинство исследователей сходятся на том, что стратегия лечения РС должна быть направлена на усиление нейротрофической защиты [53]. Показано, что эффективность стволовых клеток при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите обусловлена именно стимуляцией нейротрофических факторов [68,79,142]. Разрабатываются способы доставки нейротрофинов в ЦНС, однако этот вопрос далек от решения [106]. В связи с этим актуальным является изучение влияния современных ПИТРС на нейротрофический потенциал мозга.

Сложилось определенное мнение о том, что глатирамера ацетат обладает нейротрофическими свойствами. Так, установлено, что исходно сниженное содержание BDNF в сыворотке крови при лечении глатирамера ацетатом (копаксоном) повышается [4,60, 65]. Это свойство препарата доказано в эксперименте [55,66]. Известно, что копаксон-специфичные Th2-лимфоциты

синтезируют НТФ, одним из которых является BDNF [49,65,103]. В экспериментах, проводимых на мышах, через неделю после введения копаксона при экспериментальном аутоиммунном энцефалите копаксон-специфичные Т2-лимфоциты экспрессируют BDNF, накапливаясь вокруг желудочков мозга и периваскулярно в коре. Доказано, что копаксон-специфичные Т2-клетки, проникают в мозг и реактивируются при встрече с аутоантигенами, выделяют противовоспалительные и нейротрофические факторы, осуществляя двойное действие - подавление воспалительного процесса и нейропротекцию [49,54].

Показано нормализующее влияние Копаксона на сниженное содержание BDNF в сыворотке крови у больных РС, что, по мнению авторов, обеспечивает выраженное нейропротективное действие [20, 65, 103, 141]. Но есть и противоположные данные об отсутствии динамики BDNF в сыворотке крови больных РС при лечении копаксоном [135].

Azoulay D. et al. [60] сравнили влияние копаксона и интерферонов на концентрацию BDNF в сыворотке крови у 74 пациентов с РС. Концентрация BDNF у пациентов, получающих лечение копаксоном, была выше по сравнению с пациентами, получающими терапию интерферонами и пациентами, не получающими иммуномодуляторы. По мнению авторов, препараты интерферонов не оказывают влияния на содержания мозгового нейротрофического фактора у пациентов с РС.

Аналогичные результаты были получены Sarchielli P., Zaffaroni M., Floridi A., [121], которые выявили значительное увеличение BDNF на фоне лечения копаксоном через три месяца терапии по сравнению с исходными значениями и отсутствие влияния интерферона бета-1-альфа на продукцию этого НТФ.

Сведения о влиянии на нейротрофические факторы интерферона-бета неоднозначны, в единичных работах, посвященных исследованию этого вопроса, показано, что интерферон-бета повышает BDNF в мононуклеарах периферической крови, но не в сыворотке крови [64, 97, 102]. Lindquist S., Hassinger S., Lindquist J.A., Sailer M. [53,102] изучили влияние ГКС на НТФ у больных РС. В частности, они определяли BDNF и CNTF в свежесыворотке

моноклассических клетках периферической крови во время обострения на фоне терапии ГКС и иммуномодуляторами и показали, что ГКС не влияют на концентрацию BDNF, а уровень CNTF увеличивают. Интерфероны, по результатам этого исследования, повышают уровень BDNF.

В работе Namancioğlu K., Reder A.T. [85] имеются сведения о пациентах с РС, получающих терапию интерферонами и антидепрессантами. Уровень BDNF выше у пациентов, получающих терапию интерферонами, но наивных по терапии антидепрессантами и ниже среди пациентов, получающих параллельно интерфероны и антидепрессанты.

Активно ведутся работы по изучению влияния других ПИТРС на BDNF. Одним из таких препаратов является таблетированный иммуномодулирующий препарат - лаквинимод [3].

Есть данные о нейропротективных свойствах лаквинимода [81], что возможно, связано с его способностью стимулировать выработку BDNF [130,131]. Предположение о таком свойстве препарата высказано на основании уменьшения тревожных и поведенческих расстройств у животных при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите при лечении лаквинимодом [81]. В настоящее время показано, что кроме иммуномодулирующего действия, лаквинимод обладает нейропротективными свойствами. Изучение подобных свойств препарата проводилось на моделях экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. У мышей лаквинимод стимулировал выработку НТФ, в частности BDNF [3,55, 139].

Thöne J. et al. [130,131] исследовали образцы крови 203 пациентов с РС, получавших лечение лаквинимодом в дозе 0,6 мг в сутки. Авторы обнаружили значительное увеличение BDNF в сыворотке больных, получавших терапию данным препаратом, по сравнению с плацебо и исходными показателями. В некоторых образцах увеличение показателей достигало 11-кратного увеличения.

Предполагается, что именно это свойство препарата обеспечивает его доказанную способность замедлять прогрессирование заболевания, препятствуя нарастанию атрофических процессов в мозге.

Имеются единичные исследования нейротрофических эффектов финголимода - нового препарата из группы модуляторов сфингозин-1-фосфат-рецепторов [62], свидетельствующие о его способности регулировать синтез BDNF глиальными клетками и микроглией, обеспечивая нейрозащитные эффекты [114].

Немногочисленные работы посвящены изучению влияния моноклональных антител (алемтузумаба) на нейротрофины. Имеются сведения о том, что после применения алемтузумаба периферические мононуклеарные клетки крови продуцируют повышенное количество BDNF и CNTF. Новые Т-лимфоциты являются основным источником CNTF, обеспечивающего рост клеток после применения алемтузумаба. *In vitro* было показано, что эти клетки крови способствуют выживаемости нейронов крыс и увеличивают длину аксонов [45,91].

Работ, посвященных оценке влияния других моноклональных антител на НТФ мозга, нет.

Таким образом, работы, посвященные изучению нейротрофических эффектов ПИТРС, немногочисленны, а их данные нуждаются в обсуждении и дальнейшей разработке. Не смотря на общее мнение о необходимости стимуляции факторов нейротрофической защиты при РС, эта задача в настоящее время не решена, и до конца не ясно, в какой мере ПИТРС способствуют ее решению.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика собственных наблюдений

В диссертации представлены результаты обследования 82 пациентов с РС. Работа выполнена на кафедре неврологии им. В.П. Первушина (зав. – заслуженный деятель науки РФ проф. Ю.И.Кравцов) ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера и в Пермском краевом центре рассеянного склероза (зав. – к.м.н. Т.Н.Трушникова) на базе ГБУЗ ПК «Ордена "Знак Почета" Пермской краевой клинической больницы».

На проведение исследование получено разрешение Локального Этического комитета при ГБОУ ВПО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России.

Критериями включения в исследование являлись достоверный диагноз РС и стабильное состояние пациента в течение последних 30 дней с отсутствием курса гормональной терапии в этот период.

Критериями исключения были тяжелые соматические заболевания, отсутствие которых подтверждалось опросом, исследованием соматического статуса и анализом данных медицинской документации.

Комплекс обследования пациентов состоял из анализа жалоб пациентов, сбора анамнестических данных, оценки неврологических симптомов заболевания с использованием нейропсихологических и лабораторно - инструментальных методов.

Диагноз РС был установлен на основании диагностических критериев МакДональда 2005 г., учитывающих наличие клинических обострений, объективных симптомов заболевания, а также результатов дополнительных методов исследования.

В исследование вошли пациенты с ремиттирующим типом течения заболевания. Пациенты распределились по полу следующим образом: 45 женщин (54,9%) и 37 мужчин (45,1%).



Рис. 2.1. Распределение больных по полу

Возраст обследованных больных колебался от 19 до 57 лет, среднее значение составило 34 (25 - 41) года. Медиана возраста начала заболевания составила 25 (29- 32) лет.

Дебют РС был представлен разнообразными клиническими проявлениями. Чаще всего заболевание начиналось со зрительных симптомов (17 пациентов, 20,7%), чувствительных расстройств (16 пациентов, 19,5%) и координаторных нарушений (15 пациентов, 18,3%). Несколько реже заболевание дебютировало двигательными нарушениями (13 человек, 15,8%), полисимптомными проявлениями (10 человек, 12,2%), либо нарушениями черепных нервов (9 человек, 11%). Начало РС с нарушений функции тазовых органов встретилось лишь у двух человек.

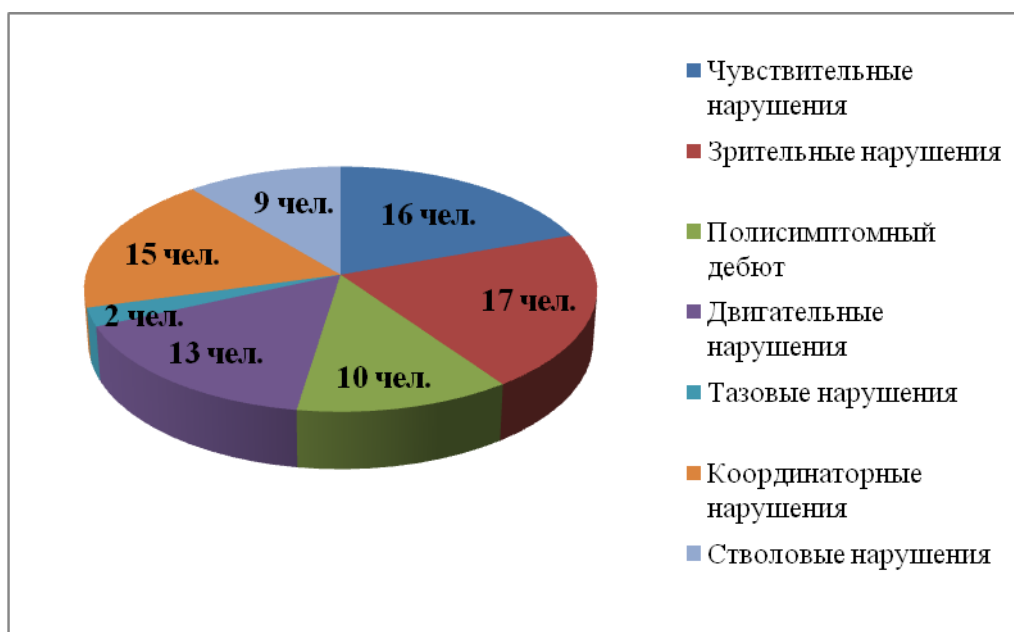


Рис 2.2. Распределение пациентов по симптомам дебюта заболевания

Длительность заболевания равнялась 6,0 (3; 11) годам. Минимальное значение длительности заболевания составило менее года, а максимальное 23 года.

Среди обследованных пациентов 45 имели группу инвалидности: 24 (29,3%) чел.– третью, 21 (25,6%) - вторую.

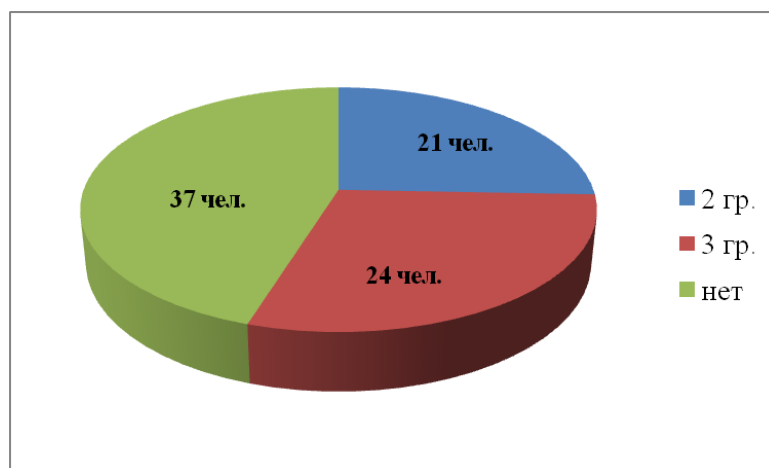


Рис 2.3. Структура больных в зависимости от наличия группы инвалидности

В исследование были включены «наивные» (то есть ранее не получавшие ПИТРС) пациенты и пациенты, получающие различные варианты ПИТРС с длительностью лечения не менее 6 месяцев.

Обследование проводилось на различных этапах лечения пациента, таким образом, в случае смены препарата врачом центра рассеянного склероза один пациент при анализе результатов мог попасть в группы с лечением различными препаратами. Важно, что в этом случае все клинические и лабораторные показатели исследовались и оценивались одновременно.

Обследовано 44 наивных пациента, ранее не получавших ПИТРС: 23 женщины и 21 мужчина, их средний возраст был равен 27, 5 (24,5-45,5) лет. Уровень инвалидизации по шкале EDSS варьировал от 1,5 до 4,5 баллов, медиана составила 3 (2-4) балла.

27 пациентов (19 мужчин и 8 женщин в возрасте от 22 лет до 51 года) получали терапию интерферонами-бета не менее 6 месяцев. Их средний возраст составил 33(26,0-42,0) года, $p=0,433$ с группой наивных пациентов. Уровень инвалидизации по шкале EDSS у пациентов данной группы варьировал в таком же диапазоне, что и у наивных пациентов (1,5 - 4,5 балла),

среднее значение EDSS составило 4,0 (2,0-4,5) балла ($p=0,099$ с группой наивных пациентов).

В исследование были включены 15 пациентов, которые получали терапию не менее полугода препаратом финголимод (гилений) - модулятором сфингозин 1-фосфатных рецепторов. Финголимод - таблетированный препарат, назначался *per os* в дозе 1 капсула (0,5 мг) внутрь 1 раз в сутки. Длительность приема препарата составила 6 месяцев и больше. В число обследованных пациентов этой группы вошли 12 женщин и 3 мужчин. Возраст пациентов колебался от 22 до 43 лет, средний возраст составил 34 (26-37) года, $p=0,607$ с группой наивных пациентов. Уровень инвалидизации по шкале EDSS пациентов данной группы варьировал в диапазоне 2,0 - 4,0 балла, среднее значение составило 3,5 (2,5-4,0) балла ($p=0,571$ с группой наивных пациентов).

Препарат натализумаб (тизабри) - селективный ингибитор молекул адгезии. Тизабри связывается с $\alpha 4$ -субъединицей человеческого интегрина, в большом количестве экспрессирующегося на поверхности всех лейкоцитов, за исключением нейтрофилов. Натализумаб специфически связывается с $\alpha 4\beta 1$ -интегрином, блокируя при этом взаимодействие с соответствующим рецептором, адгезивной молекулой клеток сосудов (VCAM-1) и лигандом остеопонтина, доменом фибронектина, образовавшимся в результате альтернативного сплайсинга, соединительным сегментом-1 (CS-1). Натализумаб в дозе 300 мг вводится внутривенно в виде инфузии один раз в 4 недели.

В группу пациентов, получавших терапию моноклональными антителами (натализумаб), вошли 25 пациентов (11 женщин и 14 мужчин). Средний возраст пациентов был равен 37 (29-42) годам ($p=0,064$ с группой наивных пациентов), индивидуальные значения колебались от 23 до 49 лет. Степень инвалидизации по шкале EDSS в этой группе варьировала в диапазоне от 1,5 до 5,5 баллов, при этом среднее значение составило 4,0 (3,5-5,0) балла ($p=0,00$ с группой наивных пациентов).

2.2. Методы исследования

2.2.1. Оценка аффективных расстройств

Для оценки аффективных расстройств в работе использована госпитальная шкала тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale, HADS), которая была разработана в 1983 году Zigmond A.S. и Snaith R.P. для первичного выявления, а также оценки тяжести депрессии и тревоги в условиях общемедицинской практики.

Преимущества шкалы HADS заключаются в простоте применения (заполнение шкалы не требует продолжительного времени и не вызывает затруднений у пациента) и обработки полученных результатов.

Шкала обладает высокой достоверностью в отношении двух расстройств: тревоги («anxiety») и депрессии («depression»). При формировании данной шкалы авторы исключили симптомы тревоги и депрессии, которые могут быть обусловлены проявлениями соматических болезней и симптомов, таких как головокружение, головная боль и прочие состояния.

Утверждения субшкалы депрессии включены из списка наиболее часто встречающихся жалоб и симптомов, а также отражают ангедонический компонент депрессивного расстройства. Пункты субшкалы тревоги составлены на основе соответствующей секции стандартизованного клинического интервью Present State Examination и личном клиническом опыте авторов и отражают преимущественно психологические проявления тревоги.

В шкалу включены 14 утверждений, для каждого из которых предложены 4 варианта ответа. Варианты ответов отражают градации выраженности признака и кодируются по нарастанию тяжести симптома от 0 баллов (отсутствие) до 4-х (максимальная выраженность). Шкала HADS состоит из двух подшкал: подшкала «тревога» («anxiety»), которая обозначена нечетными пунктами - 1, 3, 5, 7, 9,11,13. Подшкала «депрессия» («depression»), которой соответствуют четные пункты 2, 4, 6, 8,10,12,14.

При интерпретации результатов учитывается суммарный показатель по каждой подшкале, при этом выделяют 3 области его значений:

- 0-7 баллов - норма
- 8-10 баллов - субклинически выраженная тревога/депрессия
- 11 баллов и выше - клинически выраженная тревога/депрессия

Для субклинической депрессии / тревоги характерно два депрессивных/тревожных симптома и более, присутствующих одновременно у пациента в течение как минимум 2 недель и приводящих к социальной дезадаптации.

2.2.2. Оценка качества жизни

Качество жизни пациентов изучено при помощи Шкалы MSIS-29 Multiple Sclerosis Impact Scale, которая позволяет достоверно оценить влияние РС на физическое и психическое благополучие (Hobart et al., 2001).

Шкала MSIS-29 состоит из 29-и пунктов и включает показатели, наблюдавшиеся на протяжении предшествующих двух недель, в том числе 20 из которых характеризуют физическое состояние, координацию и подвижность, а 9 вопросов отражают психическое состояние пациента. Ответы ранжируются по 5-балльной шкале Лайкерта от 1 до 5 (1=отсутствует; 2= немного; 3=умеренно; 4=значительно; 5=очень выражено) в одном направлении.

Общий балл представляет собой сумму всех 29 ответов, и может варьировать от 29 до 145. Более высокий балл означает более высокую степень недееспособности. Результат оценивается по шкале от 0 до 100, где более высокий результат означает худшее состояние здоровья.

2.2.3. Оценка усталости

Для оценки одного из частых и выраженных симптомов РС – усталости, использована Субъективная шкала оценки астении MFI-20 (Multidimensional Fatigue Inventory) (Smets EM, Garssen B, Bonke B, et al. 1995), которая состоит из 20 утверждений, отражающих разные аспекты астении.

Шкала подразделяется на пять подшкал: общая астения (General Fatigue-вопросы № 1, 5, 12, 16), физическая астения (Physical Fatigue вопросы № 2, 8, 14, 20), пониженная активность (Reduced Activity(вопросы № 3, 6, 10, 17), снижение мотивации (Reduced Motivation вопросы № 4, 9, 15, 18), психическая

астения (Mental Fatigue вопросы № 7, 11, 13, 19). Каждое утверждение оценивается от 0 до 5 баллов.

Сумма баллов больше 12 хотя бы по одной из подшкал является основанием для установления диагноза усталости. Выраженная астения оценивается по суммарному значению, превышающему 60 баллов.

2.2.4. Оценка неврологического дефицита и когнитивных функций с помощью теста MSFC и EDSS

Для оценки неврологического дефицита у пациентов с РС в последнее время используется шкала MSFC (Multiple Sclerosis Functional Composite), которая включает в себя три компонента:

1. Оценку ходьбы - Timed 25-Foot walk
2. Оценку функций верхних конечностей - 9-Hole Peg Test (9-НРТ)
3. Оценку мыслительных способностей - Paced Auditory Serial Addition Test PASAT-3.

Измерение времени ходьбы на 25 футов является способом количественного измерения функции нижних конечностей. Это первый компонент MSFC. Пациент встает с одного конца четко размеченного отрезка длиной 25 футов (7, 5 метров) и его просят пройти это расстояние настолько быстро, насколько он может это сделать без какой-либо опасности для себя. После выполнения первой попытки пациента просят пройти то же самое расстояние еще раз. Фиксируются результаты обеих попыток.

При выполнении данного задания пациенты могут использовать вспомогательные средства. После того, как больной поднимет ведущую ногу и пересечет стартовую черту, начинается отсчет времени. Проводящий обследование специалист идет вместе с проходящим тест пациентом. После того, как ведущая нога пациента пересечет финишную черту, отсчет времени следует прекратить. После завершения первого этапа ходьбы на время следует поставить пациента сразу за линию, около которой он/она стоит, повторить те же инструкции, и попросить пациента снова пройти это расстояние. После

выполнения теста регистрируется время двух успешно завершённых попыток с ходьбой на расстояние 25 футов или (7,5 метров) на время.

Вторым компонентом теста MSFC является оценка функций моторики кисти с использованием 9 луночного теста. Для выполнения этого теста перед пациентом размещают планшет с колышками и 9-ю лунками. Пациенту дается четкая инструкция по выполнению теста, после чего он переходит к выполнению задания.

Пациент начинает с доминантой руки и берет по одному колышку как можно быстрее в любом порядке, вставляет их в отверстия планшета, пока все отверстия не будут заполнены, затем также быстро, не останавливаясь, удаляет колышки из отверстий обратно в контейнер.

На каждую руку дается по две попытки и фиксируется время в секундах, затраченное на выполнение теста, и все обстоятельства, повлиявшие на выполнение задания.

Интеллектуально-мнестические расстройства при РС встречаются часто - в 43-65% случаев на разных стадиях заболевания [88].

Для оценки когнитивных функций у обследованных больных использовался третий компонент теста MSFC. Слуховой тест на сложение с ритмическим устным предъявлением числового ряда цифр (Paced Auditory Serial Addition Test — PASAT), предназначен для оценки параметров когнитивной функции, а именно переключения внимания, скорости восприятия информации на слух и ее обработки, а также способности к устному счету. Тест разработан D.M. Gronwall (1977) для оценки состояния пациентов, перенесших легкую черепно-мозговую травму. В 1989 г. тест адаптирован для обследования больных РС с использованием нового ритма предъявления стимулов.

С целью соблюдения необходимой скорости предъявления цифр тест записывают на компакт-диск. Каждые 3 секунды предъявляют однозначное число, которое следует суммировать с предыдущим. В задачу входит вычисление суммы двух последних цифр, прозвучавших на пленке, а не общей суммы всех прозвучавших чисел. Общий балл, полученный при каждом

обследовании, представляет собой количество правильных ответов (из 60 возможных). Для снижения фактора привыкания к последовательности предъявляемых стимулов при проведении повторных исследований разработаны два варианта теста (форма А и В), которые равномерно чередуют на протяжении курса тестирования. Перед проведением теста проводится тренировочный тест, состоящий из 10 чисел. При двух и более правильных ответах переходят к выполнению основного задания. В нашем исследовании всем пациентам была предложена форма А.

Для оценки клинических данных у больных рассеянным склерозом, тяжести заболевания и степени инвалидизации, в повседневную практику неврологов внедрены две оценочные шкалы Kurtzke: шкала неврологического дефицита (FS) и расширенная шкала инвалидизации Expanded Disability Status Scale - EDSS.

Шкала неврологического дефицита разработана американским неврологом Джоном Куртцке и используется для клинической оценки функционального состояния проводящих систем при РС. Она содержит семь разделов (функция зрения, ствольные функции, пирамидная, мозжечковая системы, сенсорные функции, функции мочевого пузыря и кишечника, функции мышления).

В каждом из разделов отражена условная классификация нарушений функции каждой системы в баллах, от менее до более выраженных.

Количество баллов оценивают по каждой шкале в отдельности. Проведенный анализ по функциональным системам лежит в основе оценки инвалидизации больных. Далее на основании степени выявленных нарушений по основным проводящим системам (шкала FS) оценивается инвалидизация больных по расширенной шкале инвалидизации по Куртцке (Expanded Disability Status Scale, EDSS).

Основным показателем при подсчёте баллов по шкале EDSS является способность больного к самостоятельному передвижению (ambulation). Если больной способен пройти без поддержки более 500 метров, то суммируются все

остальные функциональные системы. Значения EDSS менее 4-х баллов характеризуют состояние пациентов, полностью сохраняющих подвижность (могут пройти более 500 м). Если без поддержки больной может пройти меньше 500 метров, на первый план выходит функция ходьбы (оценка по шкале EDSS составляет 4,5 балла и выше). Значения EDSS от 4.0 до 5.0 определяются как баллами FS, так и пройденным расстоянием.

Баллы 5.5 – 8.0 определяются исключительно тем, способен ли больной передвигаться сам или только на кресле-коляске. Более высокие баллы не указываются ввиду отсутствия тяжелых больных.

2.2.5. Количественное определение содержания нейротрофических факторов в сыворотке крови

Концентрацию человеческого мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в сыворотке крови пациентов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора «Human BDNF Immunoassay» фирмы R&D Systems (USA) согласно методике производителя [26].

Метод определения BDNF основан на твердофазном «сэндвич» типе иммуноферментного анализа.

Для определения нейротрофических факторов в сыворотке использовали периферическую кровь, взятую натошак из локтевой вены в стерильных условиях в количестве 7 мл. Для получения сыворотки образцы центрифугировали со скоростью 3000 об/мин в течение 15 минут, а затем сыворотку алиquotировали и замораживали при температуре ниже -20 градусов С и хранили от 6 до 12 месяцев без повторных циклов размораживания и оттаивания.

Непосредственно перед исследованием все исследуемые сыворотки и компоненты тест – системы прогревали при комнатной температуре.

Образцы сыворотки по условиям методики разводили в 20 раз раствором для разведения сыворотки, входящим в тест-систему. Чувствительность метода (минимальная определяемая концентрация BDNF) по данным фирмы-

производителя составляет 20 пг/мл. Расчет концентрации BDNF в сыворотке крови осуществляли по калибровочному графику, где по оси абсцисс (OX) откладывали концентрацию BDNF (пг/мл) в стандартных пробах, а по оси ординат (OY) – значение оптической плотности (ед. опт. плотности).

Для подготовки стандартных проб содержимое флакона со стандартным образцом BDNF растворяли в 2 мл разбавителя стандарта. После перемешивания в течение 15 минут получали основной стандартный раствор с концентрацией BDNF 4000 пг/мл. Из основного стандартного раствора готовили рабочие разведения, согласно инструкции к набору. Путем последовательного разбавления основного стандартного раствора, готовили серию из шести пробирок с рабочими растворами калибраторов с концентрациями: 2000 пг/мл, 1000 пг/мл, 500 пг/мл, 250 пг/мл, 125 пг/ мл, 62,5 пг/мл.

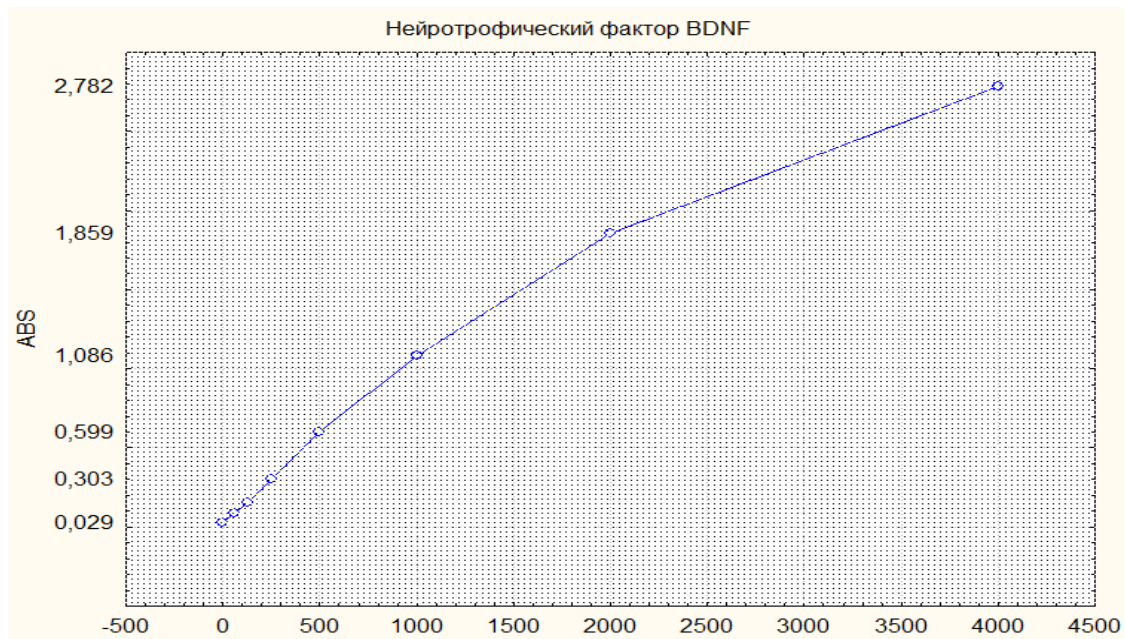


Рис. 2.4. Калибровочный график для определения концентрации BDNF пг/ мл по значениям оптической плотности стандартных образцов

Исследование выполняли согласно протоколу производителя. В лунки микропланшета вносили по 100 мкл разбавителя RD1S в каждую лунку и по 50 мкл стандартных растворов или предварительно разведенных образцов сыворотки крови пациентов. Лунки микропланшета заклевали клейкой лентой,

после чего образцы инкубировали в течение двух часов при комнатной температуре.

Далее, не промывая лунки микропланшета, в каждую лунку добавляли по 100 мкл – BDNF-конъюгата, заклеивали и образцы инкубировали еще в течение часа при комнатной температуре.

После этого содержимое лунок удаляли и трижды промывали буферным раствором. После каждой аспирации промывающего буфера его остатки удаляли путем постукивания по фильтровальной бумаге.

Затем в каждую лунку вносили по 200 мкл готового субстрата (его готовили *ex tempore* за 10 минут до внесения) и в течение 30 минут микропланшет инкубировали в темном месте при комнатной температуре.

Реакцию останавливали, добавляя в каждую лунку по 50 мкл стоп - раствора. При этом голубой цвет раствора изменялся на желтый. Оптическую плотность проб регистрировали на вертикальном фотометре StatFax 3200 (Awareness, USA) и оценивали по калибровочному графику (рис.2.4).

Полученные результаты дополнительно умножали на 20, учитывая предварительное разведение образцов сыворотки крови. Полученные результаты укладывались в диапазон значений концентрации BDNF, приведенной в инструкции к тест-системе для сыворотки крови, где диапазон концентрации для 33 образцов сыворотки – 6186-42580 пг/мл (или 6,2-43,6 нг/мл), медиана 27793 пг/мл (или 27, 79нг/мл).

Концентрацию цилиарного нейротрофического фактора (CNTF) в сыворотке крови пациентов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора «Human CNTF Immunoassay» фирмы R&D Systems (USA) [27].

Метод определения CNTF основан на твердофазном «сэндвич – варианте» иммуноферментного анализа.

Чувствительность метода (минимальная определяемая концентрация CNTF) по данным производителя составляет 8 пг/мл.

Расчет концентрации CNTF в сыворотке крови проводили по калибровочному графику, где по оси абсцисс (OX) откладывали концентрацию CNTF (пг/мл) в стандартных пробах, а по оси ординат (OY) – значение оптической плотности (ед.опт. плотности).

Для подготовки стандартных проб содержимое флакона со стандартным образцом CNTF разбавляли в 1 мл разбавителя стандарта. После перемешивания в течение 15 минут получали основной стандартный раствор с концентрацией CNTF 2000 пг/мл. Из основного стандартного раствора готовили рабочие разведения согласно инструкции к набору. Путем последовательного разбавления основного стандартного раствора готовили серию из шести пробирок с рабочими растворами калибраторов с концентрациями: 1000 пг/мл, 500 пг/мл, 250 пг/мл, 125 пг/мл, 62.5 пг/ мл, 31,2 пг/мл.

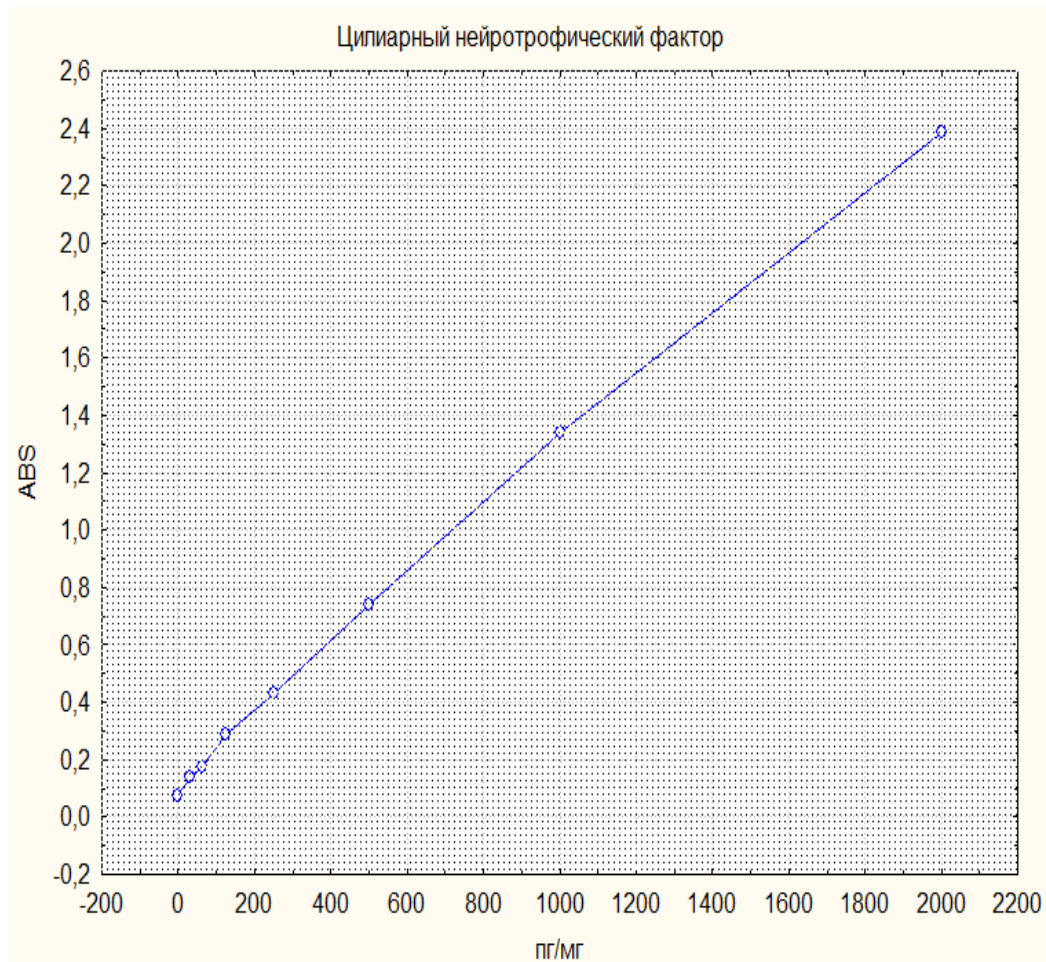


Рис. 2.5. Калибровочный график для определения концентрации CNTF пг/ мл по значениям оптической плотности стандартных образцов

Исследование выполняли согласно протоколу производителя. Согласно методике в лунки микропланшета вносили по 50 мкл разбавителя RD1-9 и по 200 мкл стандартных растворов или предварительно разведенных образцов сыворотки крови пациентов. Лунки микропланшета заклевали клейкой лентой, после чего образцы инкубировали в течение двух часов при комнатной температуре.

После этого содержимое лунок удаляли и трижды промывали буферным раствором. После каждой аспирации промывающего буфера его остатки удаляли путем постукивания по фильтровальной бумаге. 200 мкл CNTF-конъюгата вносили в каждую лунку и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре. После этого содержимое лунок удаляли и трижды промывали буферным раствором. Затем в каждую лунку вносили 200 мкл готового субстрата (его готовили *ex tempore* за 10 минут до внесения) и в течение 20 минут микропланшет инкубировали в темном месте при комнатной температуре. Реакцию останавливали, добавляя в каждую лунку по 50 мкл стоп-раствора.

При образовании цветной реакции при длине волны (λ) 450 нм измеряли оптическую плотность растворов на вертикальном фотометре StatFax 3200 (Awareness, USA). Полученные результаты оценивали по калибровочному графику (рис.2.5).

Исследование проводилось одномоментно во всех образцах. До исследования сыворотки хранились при температуре ниже - 20 градусов по Цельсию. Температурный режим во время хранения и транспортировки не нарушался. Отклонений от методики проведения лабораторной части исследования не было.

Данный раздел работы выполнялся на базе микробиологической лаборатории ЦНИЛ ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера под руководством и контролем д.м.н. Д.Ю. Соснина. Мы выражаем искреннюю благодарность Дмитрию Юрьевичу Соснину за возможность выполнения и помощь в проведении исследования.

2.2.6. Оценка нейровизуализационных данных

В процессе исследования всем пациентам для подтверждения диагноза была выполнена магнитно-резонансная томография, 17 пациентам проведен подсчет очагов в режиме T1, T2 и при введении контрастного вещества.

2.3. Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием статистического пакета Statistica 6.0 [39]. Поскольку у большинства признаков отсутствовало соответствие закону нормального распределения использовали непараметрические методы сравнительного и корреляционного анализа. Центральная тенденция количественных признаков представлена медианой (Me), меры рассеяния - интерквартильным размахом со значениями Q_1, Q_2 (верхний и нижний квартили). Анализ зависимостей осуществлялся с помощью рангового коэффициента корреляции (r) Спирмена. Для сравнения независимых групп по количественному признаку использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (MW), для сравнения связанных групп – критерий Вилкоксона. При сравнении признака с «нормой», заданной фирмой-производителем лабораторного набора, достоверность различий оценена по правилам «сравнения одной группы с популяцией» для случая любого распределения признака способом вычисления 95% доверительного интервала для медианы. Различия показателей считались достоверными при проверке статистических гипотез в случае значения $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО, ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА, КАЧЕСТВА ЖИЗНИ У ПАЦИЕТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

3.1. Неврологический статус у больных рассеянным склерозом

Основными жалобами, которые предъявляли пациенты с РС, были неуверенность и шаткость при ходьбе, общая немотивированная утомляемость, слабость в конечностях, эпизоды двоения, преходящие парестезии, а также нарушение функции тазовых органов.

Эти жалобы соответствовали объективным симптомам. Средние значения выраженности очаговых неврологических проявлений продемонстрированы в табл. 3.1.

Таблица 3.1.

Выраженность нарушений неврологических функций по шкале EDSS у больных рассеянным склерозом (в баллах)

Функции	Медиана (квартили)	Min и Max значения
Зрительная функция	0 (0-1)	0-4
Стволовые функции	1 (1-2)	0-3
Пирамидные функции	3 (2-3)	1-4
Мозжечковые функции	2 (2-3)	0-3
Сенсорные функции	0 (0-2)	0-3
Тазовые функции	1 (0-2)	0-2
Функция мышления	1 (1-2)	0-2
Ambulation	1 (0-2)	0-4
Общий балл EDSS	3,5 (2,5 -4,5)	1,5-5,5

Из приведенной таблицы видно, что на момент обследования у пациентов превалировали нарушения в двигательной и в мозжечковой системах.

Методом корреляционного анализа установлена связь уровня неврологического дефицита (общего балла по шкале EDSS) с возрастом

пациентов ($R=0,48$, $p=0,00$) и длительностью заболевания ($R=0,59$, $p=0,00$), что является закономерным для хронического прогрессирующего заболевания, каковым является РС.

Достоверных отличий по уровню инвалидизации мужчин и женщин не было ($p=0,16$).

Все пациенты по степени тяжести болезни, в зависимости от выраженности неврологического дефицита, были разделены на 2 следующие группы:

1. $< 4,0$ баллов по шкале EDSS - 42 пациента с минимальными и умеренными нарушениями

2. $\geq 4,0$ баллов по шкале EDSS - выраженные нарушения - 40 пациентов. Разделение обследованных больных на группы по тяжести заболевания проиллюстрировано на рис.3.1.



Рис. 3.1. Структура больных РС в зависимости от выраженности неврологического дефицита

Также мы рассмотрели скорость (индекс) прогрессирования заболевания и выделили три варианта согласно общепринятому подходу [30]:

- медленный вариант - скорость прогрессирования $\leq 0,25$ баллов/год
- умеренный - скорость прогрессирования $> 0,25$ и $\leq 0,75$ баллов/год
- быстрый вариант - скорость прогрессирования $> 0,75$ баллов/год

При подсчете данного показателя были исключены больные с длительностью заболевания год и менее [117]. Пациентов в стадии обострения,

которых также принято исключать из подсчета скорости прогрессирования, не было.

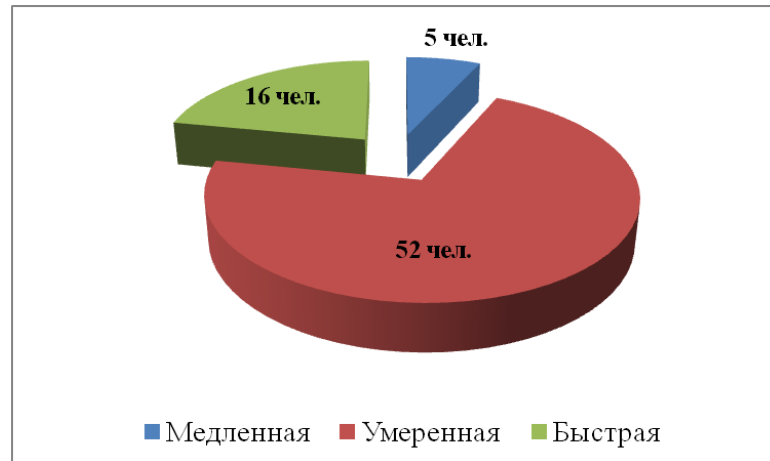


Рис. 3.2. Скорость прогрессирования РС у обследованных больных

Среднее значение скорости прогрессирования заболевания составило 0,5 (0,36-0,75) баллов/год с диапазоном значений от 0,1 до 4,0.

У мужчин скорость прогрессирования заболевания равнялась 0,50 (0,37-0,75) баллов/год, у женщин она составила 0,47 (0,33-0,70) баллов/год, без статистически значимых различий.

Произведена оценка компонентов теста MSFC. Среднее значение показателя первого компонента (оценка функции ходьбы на дистанцию 7,5 метров) равнялось 4,80 (4,20-5,60) секунды.

Среднее значение второго компонента теста MSFC (оценка функций моторики кисти с использованием 9 луночного теста) составило 33,62 (30,77-37,13) секунды.

Третий компонент теста MSFC для оценки когнитивных функций PASAT характеризовался средним значением 40 (33-49) баллов, при 60 возможных правильных ответах.

Диагноз РС у всех обследуемых пациентов подтвержден магнитно-резонансной томографией головного и спинного мозга. Результаты нейровизуализации соответствовали пересмотренным критериям Макдональда 2005 для установления диагноза РС: у всех больных выявлены очаги демиелинизации, диссеминированные во времени и в пространстве.

При анализе заключений МРТ - исследований, как правило, очаги демиелинизации в головном мозге имели следующие характеристики: давали гиперинтенсивный сигнал на T2 взвешенных изображениях, имели изо- или гипоинтенсивный сигнал на T1 взвешенных изображениях; были округлой или овальной формы; имели типичное расположение: юкстакортикальное, перивентрикулярное, инфратенториальное. Также на некоторых томограммах имелись очаги в мозолистом теле (с характерным по форме распространением очагов из него в белое вещество - «пальцы Доусона»). Наличие очагов в спинном мозге было не обязательным. Однако если они выявлялись, то должны были соответствовать следующим критериям: занимать не более двух сегментов спинного мозга; занимать часть сечения спинного мозга; могли быть с умеренным отеком или без него.

Кроме описательной характеристики МРТ у 17 пациентов произведен подсчет количества очагов в режимах T1 и T2, а также количества очагов, накапливающих контрастное вещество (гадолиний). Среднее значение количества очагов в режиме T1 составило 34 (14-43), в режиме T2 - 58 (43-72). Среднее количество очагов, накапливающих контрастное вещество, равнялось 0 (0-0).

Нейрорадиологические данные соответствовали клиническим: при проведении корреляционного анализа выявлена связь количества очагов в режиме T1 со степенью неврологического дефицита по шкале EDSS ($R=0,54$, $p=0,03$), с поражением пирамидной системы ($R=0,59$, $p=0,01$), с мозжечковыми нарушениями ($R=0,5$, $p=0,04$).

3.2. Эмоциональный статус, синдром усталости и качество жизни у больных рассеянным склерозом

Среди обследуемых пациентов наличие клинической тревоги выявлено у 11 человек (13,4%), среди них 2 женщины; субклинической тревоги - у 26 человек (31,7%), среди них 10 мужчин и 16 женщин. У 45 (58,7%) пациентов не выявлено тревоги по шкале HADS.

Не смотря на большое количество пациентов с тревогой, средний балл этого показателя по шкале HADS у больных исследуемой группы не был повышен (6; 4-10). Среднее значение тревоги составило у женщин - 6 (4-10), у мужчин - 7 (4-11) баллов. По уровню тревоги мужчины и женщины не различались ($p=0,41$).

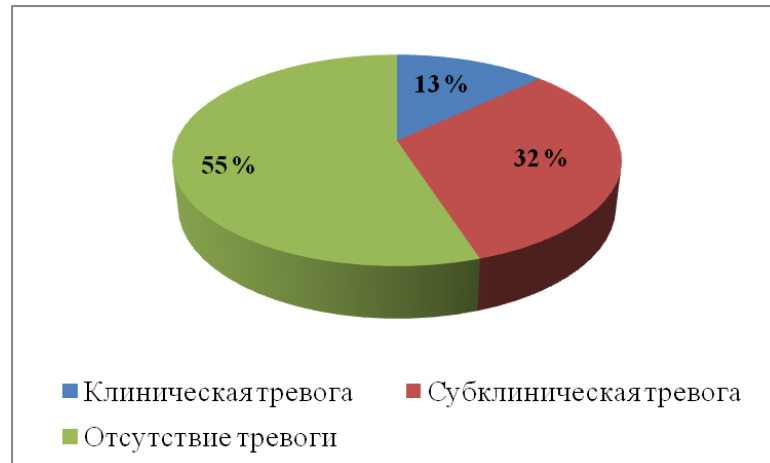


Рис. 3.3. Структура тревожных расстройств у больных РС по шкале HADS

Отсутствие депрессии по шкале HADS выявлено у большей части пациентов (61 человека, 74,4%), субклиническая депрессия обнаружена у 10 человек (12,2%), среди них - у 6 женщин и 4-х мужчин; наличие клинической депрессии выявлено у 11 человек (13,4%), из них - у 7 женщин и у 4-х мужчин. Среднее значение баллов, характеризующих депрессию, составило у женщин - 5 (2-8), у мужчин - 4 (2-6). По уровню депрессии мужчины и женщины не различались ($p=0,62$).



Рис. 3.4. Структура депрессивных расстройств у больных РС по шкале HADS

Наличие больных с депрессией в группе не привело к превышению нормальных значений показателя в целом: средний балл уровня депрессии по шкале HADS составил 4 (2-7).

Проведен анализ связи выраженности эмоциональных нарушений с различными особенностями заболевания. Уровень тревоги не коррелировал с возрастом начала болезни ($R=0,05$, $p=0,64$), скоростью прогрессирования заболевания ($R=-0,00$, $p=0,98$) и его длительностью ($R=0,14$, $p=0,21$).

Выраженность депрессии была связана с возрастом пациентов ($R=0,35$, $p=0,00$), а также с возрастом пациента в дебюте заболевания ($R=0,24$, $p=0,03$), что совпадает с данными литературы [111].

Не выявлено связи депрессии со скоростью прогрессирования ($R=-0,07$, $p=0,52$) и длительностью болезни ($R=0,19$, $p=0,09$), что совпадает с данными Sanches –Lopes, M.R. et. al. [123].

Анализ связи аффективных расстройств с выраженностью нарушений различных функций нервной системы и общим баллом по шкале EDSS показал, что тревожно-депрессивные расстройства ассоциируются с пирамидными, координаторными, тазовыми нарушениями, когнитивными расстройствами, способностью передвигаться и общим баллом по шкале EDSS. Эти закономерности продемонстрированы в таблице 3.2.

Данные нижеприведенной таблицы отражают отрицательное влияние двигательных, мозжечковых, тазовых нарушений, изменения функции

мышления, снижения способности передвигаться и в целом степени инвалидизации не только на физическое благополучие и качество жизни пациентов, но и на эмоциональное состояние.

Таблица 3.2.

Зависимость уровня тревоги и депрессии у больных рассеянным склерозом от выраженности нарушений в различных подсистемах и общего балла EDSS

Показатели	R	p
HADS депрессия и зрительная система	-0,09	0,440
HADS тревога и зрительная система	0,04	0,725
HADS депрессия и ствольные функции	0,09	0,431
HADS тревога и ствольные функции	0,21	0,057
HADS депрессия и пирамидная система	0,30	0,006
HADS тревога и пирамидная система	0,39	0,000
HADS депрессия и мозжечковая система	0,29	0,007
HADS тревога и мозжечковая система	0,26	0,017
HADS депрессия и чувствительная функция	0,10	0,383
HADS тревога и чувствительная функция	0,13	0,254
HADS депрессия и тазовые функции	0,25	0,024
HADS тревога и тазовые функции	0,43	0,000
HADS депрессия и функция мышления	0,29	0,008
HADS тревога и функция мышления	0,27	0,015
HADS депрессия и ambulation	0,25	0,023
HADS тревога и ambulation	0,23	0,041
HADS депрессия и общий балл EDSS	0,25	0,022
HADS тревога и общий балл EDSS	0,31	0,005

Утомляемость - достаточно распространенная жалоба среди пациентов с РС, при этом чаще усталость возникает в начале заболевания и постепенно становится хронической. Многими пациентами усталость называется в числе симптомов, причиняющих наибольшие проблемы, наряду с координаторными,

тазовыми и двигательными нарушениями, у некоторых пациентов данный симптом является основным и значительно снижает качество жизни.

Для оценки синдрома усталости у обследуемых пациентов использовалась шкала MFI -20.

Таблица 3.3.

Выраженность различных компонентов синдрома усталости у больных рассеянным склерозом по шкале MFI-20

Показатели	Медиана (квартили) (баллы)	Min и Max значения (баллы)
Общая астения	11 (9-15)	4-20
Физическая астения	11 (8-14)	4-20
Пониженная активность	10 (8-13)	4-20
Снижение мотивации	10 (8-11)	4-16
Психическая астения	10 (7-12)	4-19
Общий балл астении	53 (42-64)	25-90

Несмотря на невысокие средние значения суммарного общего балла по шкале MFI-20 и ее компонентов, наличие пониженной активности выявлено у 22 человек, физической астении - у 33 человек, снижение мотивации - у 13 пациентов. Психическая астения присутствовала у 18 пациентов, общая астения - у 37. В целом синдром усталости присутствовал у 26 пациентов.

Половые особенности, тип течения не влияли на выраженность синдрома усталости за исключением такого компонента, как снижение мотивации среди женщин и мужчин. Среднее значение у женщин составило 9 (7-10) и было достоверно ниже, чем у мужчин 10 (9-12), ($p=0,002$).

Длительность заболевания ($R=0,16$, $p=0,14$), скорость прогрессирования ($R=0,03$, $p=0,76$) также не оказали влияния на синдром усталости.

Проведено сравнение выраженности синдрома усталости у пациентов с различной выраженностью неврологического дефицита (с баллом EDSS ≥ 4 - 40 пациентов и с баллом от 0 до 3,5 - 42 пациента).

В группе с более выраженными очаговыми симптомами выраженность астении по опроснику MFI-20, как и ожидалось, была достоверно выше. Результаты представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4.

Неврологический статус пациентов с рассеянным склерозом и связь его с проявлениями синдрома усталости аффективными расстройствами

Шкалы (в баллах)	EDSS < 4 (n=42)	EDSS ≥ 4 (n=40)	p^{M-W}
Физическая астения	9 (6-12)	13 (11-16)	0,000
Психическая астения	9 (6-11)	10,5 (7,5-13)	0,080
Пониженная активность	10 (6-12)	10 (10-14)	0,010
Снижение мотивации	9 (7-10)	10 (9-13,5)	0,000
Общая астения	10 (7-13)	14 (10-16)	0,000
Общий балл по шкале	47 (32-56)	60,5 (52-67,5)	0,000

Методом корреляционного анализа установлена достоверная связь между суммарным баллом астении и общим баллом EDSS, и почти всеми функциональными системами (FS), за исключением FS1 (зрительная функция) - $R=-0,00$, $p=0,97$ и FS2 (стволовые функции) - $R=0,10$, $p=0,39$. Показатель был связан с FS: FS3 (пирамидная система) - $R=0,39$, $p=0,000$; FS4 (мозжечковые функции) - $R=0,36$, $p=0,000$; FS5 (сенсорные функции) - $R=0,32$, $p=0,000$; FS6 (функции кишечника и мочевого пузыря) - $R=0,36$, $p=0,000$; FS7 (мозговые функции) - $R=0,37$, $p=0,000$; а также с амбулаторным индексом ($R=0,32$, $p=0,000$) и общим баллом EDSS ($R=0,38$, $p=0,000$).

Полученные результаты демонстрируют связь синдрома усталости со степенью нарастания неврологического дефицита, оцениваемого как по отдельным функциональным системам, так и в целом по расширенной шкале недееспособности (EDSS, Kurtzke).

Проанализирована взаимосвязь аффективных нарушений и синдрома усталости. Выявлена прямая корреляционная связь между депрессией и суммарным баллом астении ($R=0,55$, $p=0,000$), а также со всеми подшкалами MFI-20: общей астенией ($R=0,60$, $p=0,000$), пониженной активностью ($R=0,50$, $p=0,000$), физической астенией ($R=0,49$, $p=0,000$), снижением мотивации ($R=0,32$, $p=0,000$) и психической астенией ($R=0,24$, $p=0,03$).

Аналогичная связь обнаружена между показателем тревоги и всеми подшкалами MFI-20: общей астенией ($R=0,50$, $p=0,000$), пониженной активностью ($R=0,43$, $p=0,000$), физической астенией ($R=0,44$, $p=0,000$), снижением мотивации ($R=0,37$, $p=0,000$), психической астенией ($R=0,28$, $p=0,009$) и общим баллом по шкале MFI-20 ($R=0,50$, $p=0,000$).

Известно, что качество жизни является интегральной характеристикой физического, психического, социального состояния пациента, основанной на его субъективном восприятии.

Физический аспект функционирования заключается в понимании функционального дефицита, наличии признаков нетрудоспособности и инвалидизации. Психологический компонент включает эмоциональное благополучие пациента. В нашей работе для оценки качества жизни использовалась шкала MSIS-29.

По результатам данного опросника среднее значение физического компонента составило 33 (25-44) балла, а психического компонента - 15,5 (11-22) баллов. Качество жизни ухудшалось с возрастом (для психического компонента связь с возрастом - $R=0,29$, $p=0,00$, для физического - $R=0,36$, $p=0,00$), длительность заболевания отрицательно влияла на физический компонент качества жизни ($R=0,33$, $p=0,00$).

Корреляционный анализ показал связь психического и физического компонентов качества жизни с аффективными нарушениями и синдромом усталости. Все полученные результаты представлены в таблице.

Таблица 3.5.

Связь качества жизни больных рассеянным склерозом с тревогой, депрессий, астенией

Показатели MFI-20 и HADS	MSIS -29, психический компонент	MSIS -29, физический компонент
Физическая астения	R=0,58 p=0,000	R=0,51 p=0,000
Психическая астения	R=0,31 p=0,004	R=0,24 p=0,031
Пониженная активность	R=0,57 p=0,000	R=0,40 p=0,000
Снижение мотивации	R=0,36 p=0,001	R=0,34 p=0,002
Общая астения	R=0,62 p=0,000	R=0,48 p=0,000
Общий балл по шкале	R=0,63 p=0,000	R=0,49 p=0,000
HADS депрессия	R=0,44 p=0,000	R=0,44 p=0,000
HADS тревога	R=0,55 p=0,000	R=0,46 p=0,000

Произведен анализ влияния степени неврологического дефицита на отдельные компоненты качества жизни (табл.3.6).

Связь качества жизни пациентов с рассеянным склерозом с неврологическими симптомами

EDSS и FS	MSIS -29, психический компонент	MSIS -29, физический компонент
Зрительная функция	R=0,183 p=0,099	R=0,268 p=0,015
Стволовые функции	R=0,252 p=0,022	R=0,289 p=0,008
Пирамидные функции	R=0,449 p=0,000	R=0,530 p=0,000
Мозжечковые функции	R=0,440 p=0,000	R=0,601 p=0,000
Сенсорные функции	R=0,272 p=0,014	R=0,386 p=0,000
Тазовые функции	R=0,475 p=0,000	R=0,553 p=0,000
Функция мышления	R=0,496 p=0,000	R=0,533 p=0,000
Ambulation	R=0,333 p=0,002	R=0,446 p=0,000
Общий балл EDSS	R=0,397 p=0,000	R=0,537 p=0,000

Таким образом, у обследованных пациентов снижается качество жизни за счет психического и физического компонентов. Это снижение обусловлено очаговыми неврологическими симптомами, а также такими проявлениями заболевания, как синдром усталости и эмоциональные расстройства

ГЛАВА 4 СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

4.1. Содержание BDNF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом

Концентрация BDNF в сыворотке крови определена у 82 пациентов с РС. Индивидуальные значения этого показателя колебались в диапазоне от 0,64 до 34,88 нг/мл, его среднее значение составило 14,68 нг/мл (7,14-21,95) нг/мл при контрольном - 27,79 нг/мл. За контрольное значение показателя была принята концентрация, определенная в сыворотке 33 здоровых доноров фирмой-производителем лабораторного набора (R&D Systems, Inc). Достоверность различий оценена по правилам «сравнения одной группы с популяцией» для случая любого распределения признака способом вычисления 95% доверительного интервала для медианы. Произведено ранжирование значений BDNF у пациентов РС и определение рангов (32 и 51) с учетом объема выборки ($n=82$) и необходимой доверительной вероятности (95%). Границами доверительного интервала для медианы 14,68 нг/мл стали значения 9,20 и 18,09 нг/мл, что иллюстрирует достоверность различий ($p < 0,005$) концентрации BDNF у пациентов с РС с популяционным значением показателя.

Средняя концентрация данного нейротрофина в сыворотке крови женщин равнялась 15,94(7,13-24,09) нг/мл, мужчин - 14,41 (7,58-19,35), без достоверных различий ($p=0,38$).

Исследуемый параметр не зависел от возраста пациентов ($R=0,05$, $p=0,64$) и их возраста в начале заболевания ($R=0,13$, $p=0,25$).

Не выявлено взаимосвязи содержания BDNF и таких характеристик болезни, как скорость прогрессирования ($R=-0,08$, $p=0,48$) и длительность РС ($R=-0,08$, $p=0,47$).

Выполнен корреляционный анализ зависимости уровня BDNF от выраженности аффективных расстройств, синдрома усталости и его

компонентов, качества жизни и состояния когнитивных функций. Данные корреляционного анализа представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1.

Результаты корреляционного анализа зависимости BDNF от выраженности аффективных расстройств, астении и ее компонентов, качества жизни и состояния когнитивных функций

Корреляционные пары	R	p
HADS, тревога и BDNF	0,07	0,541
HADS, депрессия и BDNF	-0,09	0,410
MFI-20 общий балл и BDNF	-0,02	0,843
Пониженная активность и BDNF	0,02	0,860
Снижение мотивации и BDNF	-0,03	0,801
Физическая астения и BDNF	-0,04	0,711
Психическая астения и BDNF	0,09	0,402
Общая астения и BDNF	-0,07	0,520
MSIS-29 физ. и BDNF	0,01	0,891
MSIS-29 псих. и BDNF	0,04	0,695
PASAT и BDNF	0,13	0,253

Корреляционный анализ показал отсутствие сопряженности анализируемых показателей с количеством BDNF в сыворотке крови пациентов.

Исследована связь содержания BDNF с выраженностью неврологического дефицита по шкале EDSS, ее подсистемами, а также с двумя компонентами теста MSFC (табл.4.2).

Корреляционная связь BDNF и степени выраженности неврологического дефицита

Корреляционные пары	R	p
BDNF и зрительная функция	-0,12	0,269
BDNF и стволочные функции	-0,23	0,039
BDNF и пирамидные функции	-0,14	0,196
BDNF и мозжечковые функции	-0,17	0,137
BDNF и сенсорные функции	-0,17	0,135
BDNF и тазовые функции	-0,13	0,262
BDNF и функция мышления	-0,03	0,788
BDNF и ambulation	-0,26	0,016
BDNF и общий балл EDSS	-0,19	0,082
BDNF и ср. показатель оценки функции верхних конечностей MSFC	-0,05	0,678
BDNF и ср. показатель оценки функции нижних конечностей	-0,14	0,217

Проведенный корреляционный анализ выявил обратную связь стволочных функций и амбулаторного индекса с содержанием BDNF в сыворотке крови: чем хуже были стволочные функции и ходьба (выше балл), тем ниже BDNF.

Не было выявлено достоверной связи BDNF с количеством очагов на МРТ в режиме T1 (R=-0,03, p=0,89), в режиме T2 (R=0,16, p=0,55), а также с количеством очагов, накапливающих контрастное вещество (R=0,13, p=0,60).

4.2. Содержание BDNF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом при различных вариантах лечения ПИТРС

Из 82-х пациентов, вошедших в исследование, 44 никогда ранее не получали ПИТРС, 38 находились на различных вариантах иммуномодулирующей терапии. Некоторым пациентам по объективным причинам за время, которое он находился под наблюдением, была проведена смена препарата лечащим врачом центра рассеянного склероза, никогда – в целях исследования. В этом случае забор биообразцов мог осуществляться несколько раз и при анализе результатов пациент мог входить в группы больных с разным лечением. В этом случае все клинические и психометрические исследования проводились повторно в дни забора крови, и таким образом, лабораторные и клинические показатели оценивались одномоментно.

Концентрация BDNF в сыворотке у пациентов в группе ранее не лечившихся иммуномодулирующими препаратами, варьировала от 2,72 до 34,89 нг/мл, ее медиана составила 15,43 (9,23-24,35) нг/мл, что было ниже контрольного значения (27,79 нг/мл). Метод «сравнения одной группы с популяцией», использованный в гл.4.1, показал, что 95% доверительным интервалом для медианы BDNF у наивных пациентов при $n=44$ являются значения рангов 16 и 29: 9,20 нг/мл и 21,39 нг/мл, то есть различия с контролем являются достоверными ($p<0,05$).

Концентрация BDNF в сыворотке пациентов, лечившихся интерферонами, колебалась в диапазоне 0,64 - 29,93 нг/мл, медиана составила 8,27 (5,28-19,40) нг/мл, 95% доверительный интервал при $n=27$ – 2,88 и 19,39 нг/мл (ранги 8 и 20), таким образом, показатель был ниже контрольного значения (27,79 нг/мл) и ниже, чем у наивных пациентов ($p^{M-W}=0,042$).

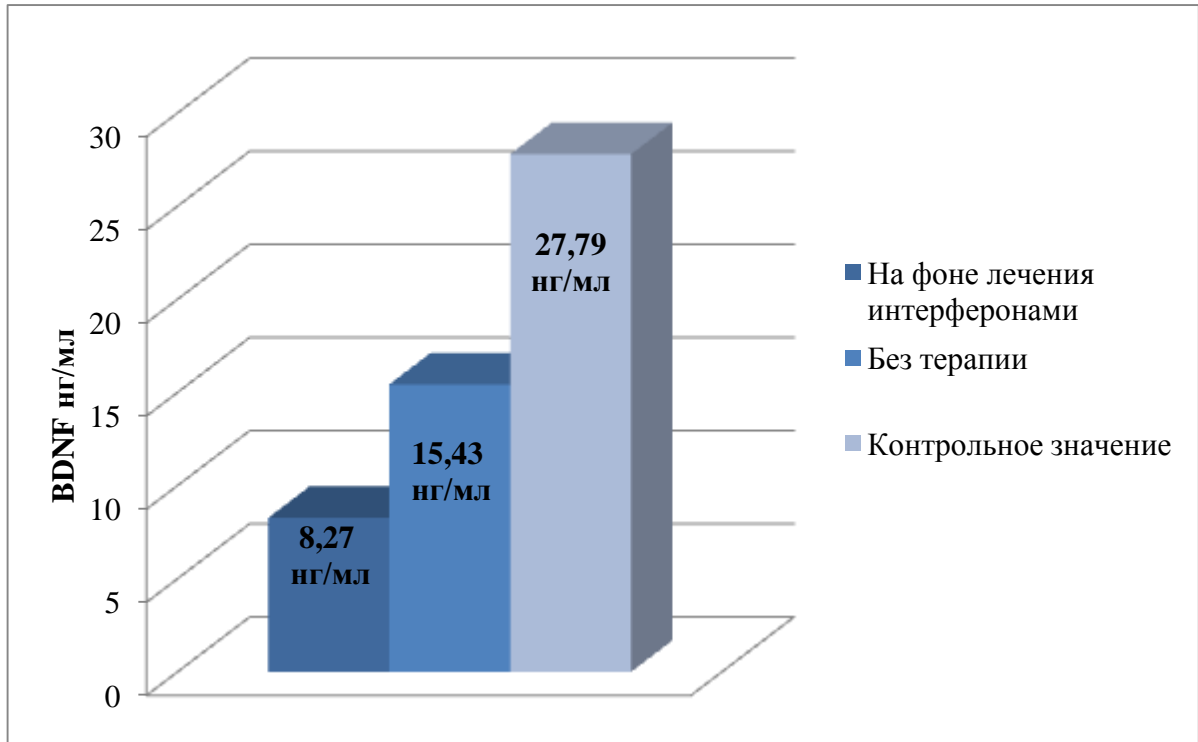


Рис.4.1. Значения концентраций BDNF на фоне лечения интерферонами, у пациентов без терапии и контрольное значение

Сравнение значения BDNF до и после лечения интерферонами достоверной динамики показателя не выявило (табл.4.3).

Таблица 4.3.

Концентрация BDNF в сыворотке до и через 6 месяцев терапии интерферонами

Статистический метод	BDNF сыворотки крови нг/мл		Значимость различий p
	До лечения	После лечения	
Метод парных сравнений	10,45 (7,80-18,09) (n=9)	16,12 (5,37-20,50) (n=9)	$p^w = 0,504$
Сравнение независимых переменных	10,45 (7,80-18,09) (n=9)	8,27 (5,28-19,40) (n=27)	$p^{M-W} = 0,930$

При малых размерах анализируемой выборки более корректно представлять индивидуальные результаты (табл.4.4). Таблица иллюстрирует отрицательную индивидуальную динамику BDNF у 6-ти пациентов из 9. Используя значения доверительного интервала, который также более адекватен

для анализа малых выборок, можно утверждать с большой долей вероятности, что терапия интерферонами имеет тенденцию снижать BDNF. Так, для отрицательной направленности (6/9) доверительный интервал 0,299 - 0,925, для положительной (3/9) - 0,075 - 0,701.

Таблица 4.4.

Динамика индивидуальных значений концентрации BDNF в сыворотке в процессе лечения интерферонами - бета

№ п/п (n=9)	BDNF сыворотки крови нг/мл		Направленность изменений
	До лечения	После лечения	
1	10,45	5,37	-
2	3,258	2,878	-
3	8,808	19,704	+
4	21,32	16,12	-
5	18,09	23,54	+
6	7,8	20,5	+
7	5,914	5,668	-
8	12,152	3,402	-
9	28,32	24,68	-

Таким образом, на фоне терапии интерферонами-бета содержание BDNF в сыворотке низкое, лечение интерферонами-бета не оказывает существенного влияния на данный нейротрофин.

Клинический пример № 1.

Больной К., 22 года. Обследован амбулаторно.

На момент обследования пациент предъявляет жалобы на общую слабость, пошатывание при ходьбе.

Первые симптомы заболевания появились 25.07.2011 года: слабость и онемение левой руки, установлен диагноз: Компрессионно-ишемическая нейропатия лучевого нерва слева. Лечился амбулаторно с регрессом симптоматики к 08.08.2011 г. Следующее ухудшение состояния с 21.04.2012 г. в виде диплопии, атактического синдрома. 25.04.2012 г. выполнена МРТ головного мозга, выявившая множественные очаги демиелинизации в головном мозге с явлениями выраженного перифокального отека, общее количество – более 30.

Находился на лечении в неврологическом отделении с 27.04 по 12.05.2012 г. с диагнозом: Острый рассеянный энцефалит. Регресс симптоматики в результате лечения дексаметазоном. Консультирован в центре РС, установлен диагноз: Рассеянный склероз, ремиссия.

Следующее обострение 29.06.2012 г. в виде двигательных и чувствительных расстройств. Лечение без глюкокортикоидов. Регресс обострения к 20.07.2012г. На момент обследования 26.09.2012 состояние пациента стабильное.

Объективно: зрение 1,0 на оба глаза; нистагм в крайних отведениях, сила во всех мышечных группах 5 баллов; сухожильные рефлексы оживлены, без отчетливой разницы сторон; брюшные рефлексы снижены, патологических знаков, клонусов нет; мышечный тонус не повышен; легкое интенционное дрожание и тремор при проведении пальце - носовой и пяточно- коленной проб, больше слева; легкая неустойчивость в позе Ромберга с закрытыми глазами, ходьба по прямой линии не нарушена; легкая шаткость при обычной ходьбе, чувствительных расстройств не выявлено, тазовых нарушений нет, проходит самостоятельно более 500 м. Общая усталость.

По FS: 0+1+1+2+0+0+1, Ambulation 1, балл по шкале EDSS – 2, 0 балла.

Диагноз: Рассеянный склероз. Цереброспинальная форма. Ремиттирующее течение. Стадия относительной ремиссии. Легкий спастический тетрапарез. Легкий атактический синдром. Легкие ствольные нарушения.

Во избежание дальнейшего прогрессирования принято решение о назначении иммуномодулирующей терапии препаратом интерферон бета -1 бета (Бетаферон) в дозе 0,25 через день.

Уровень BDNF в сыворотке крови до лечения – 21,32 нг/мл.

В процессе 6-месячной терапии эксацербаций зарегистрировано не было. Отмечает улучшение состояния в виде уменьшения общей усталости и шаткости.

В неврологическом статусе - положительная динамика: уменьшение EDSS на 0,5 балла. Общий балл EDSS 1,5 (FS: 0+1+1+1+0+0+0, Ambulation 0). Уровень BDNF после лечения составил 16,12 нг/мл.

Данный пример иллюстрирует уменьшение концентрации нейротрофина при лечении интерфероном - β , не смотря на положительную клиническую динамику.

Проанализирована динамика клинических симптомов в процессе 6-месячного лечения интерфероном - бета: значение EDSS не изменилось. У 9-ти пациентов, наблюдавшихся до лечения, оно составило 2 (1,5-3,0) балла, после лечения - 2 (1,5-3,5) балла. Не изменились показатели функциональных систем.

Выполнена оценка динамики показателей компонентов теста MSFC, которые представлены в таблице 4.5. Из таблицы видно, что 6-ти месячная терапия интерферонами – бета не оказала значимого влияния на показатель когнитивных функций по тесту PASAT-3 и на скорость ходьбы по компоненту Timed 25-Foot Walk. Однако отмечена положительная динамика показателя 9-Hole Peg Test ($p^W=0,008$).

Таблица 4.5.

Показатели MSFC больных в группе пациентов до и после лечения интерферонами – бета

Компоненты теста MSFC	Медиана (квартили) показателей теста MSFC		Значимость различий p^{M-W}
	До лечения (n=9)	После лечения (n=9)	
Timed 25-Foot walk (сек.)	4,72 (4,19-5,10)	4,49 (3,90-4,72)	0,068
9-Hole Peg Test (сек.)	34,32 (31,44-34,87)	23,47 (21,36-25,55)	0,007
PASAT-3 (баллы)	45 (40-50)	48 (44-53)	0,069

Оценена динамика астении, аффективных расстройств, показателей качества жизни, когнитивных функций на фоне получаемой терапии интерферонами - бета.

Таблица 4.6.

Показатели астении в группе пациентов до и после лечения интерферонами - бета (в баллах)

Подшкалы астении MFI-20	Медиана (квартили) показателей астении		Значимость различий p^W
	До лечения (n=9)	После лечения (n=9)	
Общая астения	9 (6-10)	8(8-9)	0,345
Физическая астения	8 (4-11)	6 (4-8)	0,068
Пониженная активность	10(4-11)	9 (6-10)	0,177
Психическая астения	10 (5-10)	8 (4-8)	0,043
Снижение мотивации	9 (9-10)	8(7-8)	0,028
Общий балл по шкале MFI-20	42 (34-53)	37 (28-43)	0,017

Представленные в таблице результаты указывают на значимые различия в показателях общего балла астении и некоторых ее компонентов (психическая астения и снижение мотивации) до и при лечении интерферонами-бета. Таким образом, анализ динамики астении у пациентов, получающих интерфероны-бета, показал, что назначение данной терапии не только не усугубляет усталость, но способствует улучшению некоторых ее показателей.

Проведено исследование эмоциональных нарушений в группе пациентов до и после лечения интерферонами-бета. В целом аффективные нарушения не были выражены как до лечения, так и после. Среднее значение уровня депрессии до начала терапии равнялось 4(1-6) баллам, тревоги – 4(2-8), после 6-месячного лечения интерферонами-бета среднее значение уровня депрессии составило 3(2-5) баллов, ($p^W=0,779$), а тревоги – 3(2-4), ($p^W=0,294$). Таким образом, аффективные нарушения в данной группе не были выражены и не имели тенденции к изменению на фоне лечения.

Результаты нашего исследования не выявили достоверных изменений показателей качества жизни в процессе лечения по шкале MSIS-29.

Согласно полученным результатам опросника MSIS-29, качество жизни осталось прежним через 6 месяцев после проведенной терапии. Среднее значение показателя физического компонента до лечения 23 (21-27), психического 11 (9-17), средние значения данных показателей после 6 месяцев терапии составили 23 (20-27) и 11 (9-14) соответственно.

Концентрация BDNF в сыворотке пациентов, получавших терапию моноклональными антителами (препаратом натализумаб в дозе 300 мг внутривенно в виде инфузии 1 раз в 4 недели), варьировала в диапазоне 1,66 - 29,53 нг/мл, медиана составила 8,31(5,86-22,91) нг/мл, 95% доверительный интервал 5,05 и 11,62 нг/мл (при $n=15$ значения рангов 4 и 12), что делает достоверным отличие показателя от популяционного значения (27,79 нг/мл, $p<0,05$). Он был также достоверно ниже, чем в группе наивных пациентов ($p=0,044$) (рис.4.2 и 4.3).

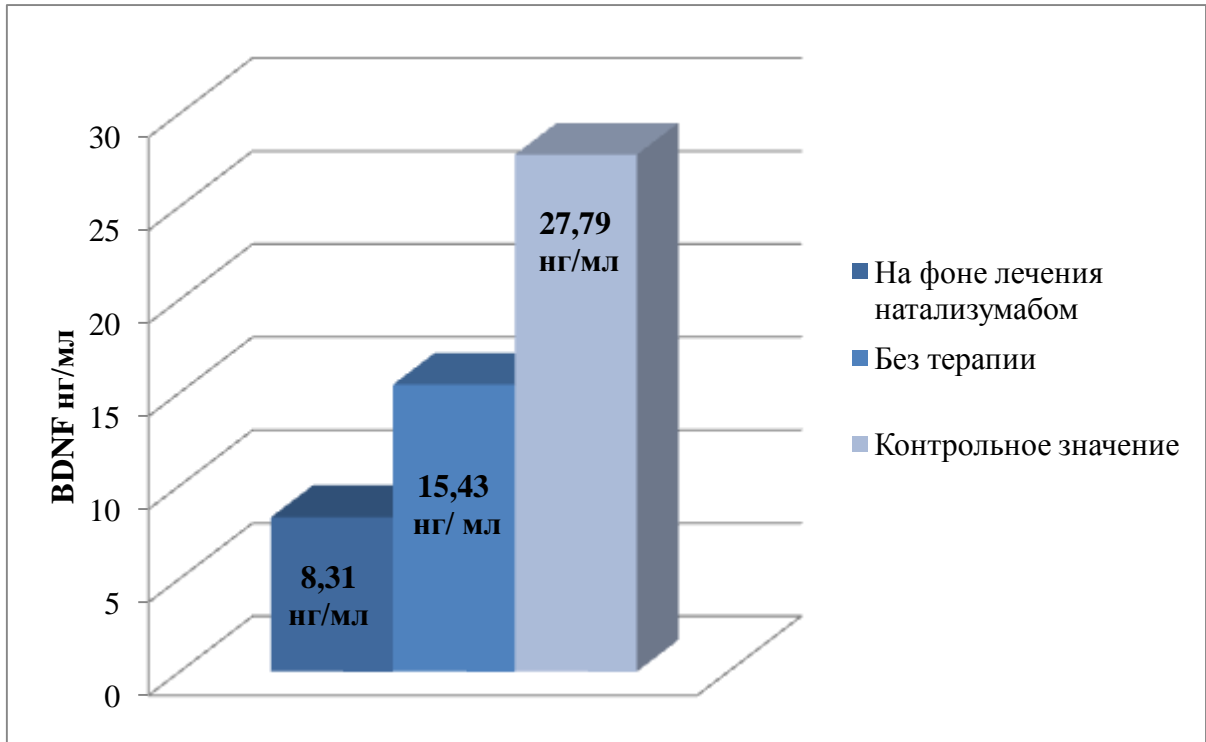


Рис. 4.2. Значения концентраций BDNF на фоне лечения натализумабом, у пациентов без терапии и контрольное значение

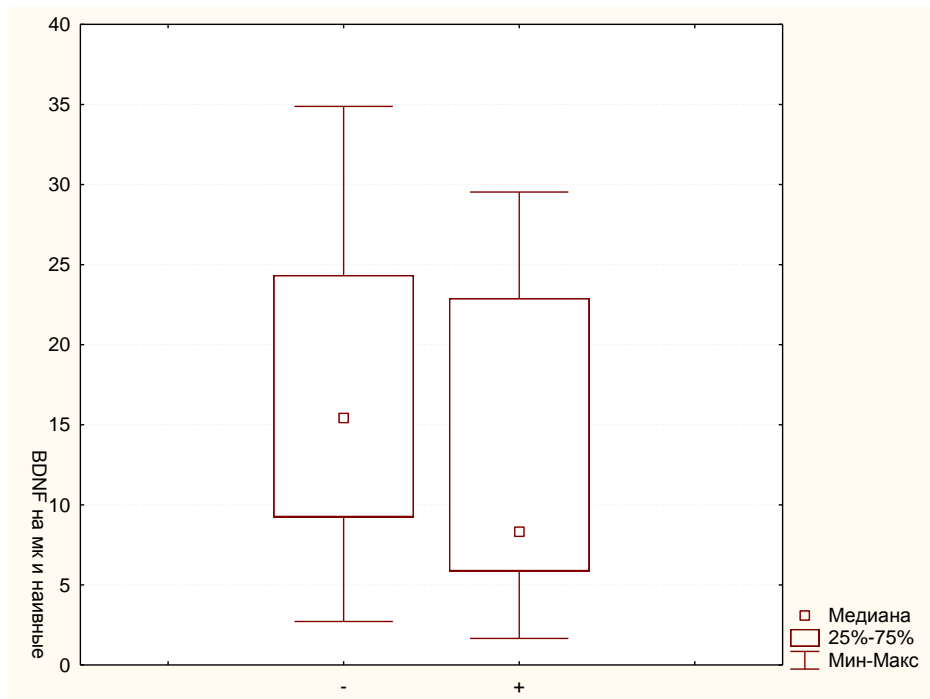


Рис. 4.3. Концентрация BDNF у наивных пациентов и на фоне терапии натализумабом

Клинический пример № 2.

Больной Н., обследован амбулаторно. 26.09.2012г.

Жалобы: общая слабость и усталость, шаткость при ходьбе, тремор рук, периодически - двоение в глазах, усталость при ходьбе.

Анамнез заболевания: Впервые онемение левой руки в течение полусуток в 2002 году, за медицинской помощью не обращался, затем зимой в 2009 г. эпизоды онемения и судорог пальцев левой руки. Госпитализирован, проведен курс ГКС.

С конца августа 2010 г. - онемение левой половины тела, левосторонний гемипарез, дизартрия, двоение, атаксия. Госпитализация по поводу обострения 02.09.2010г. - 23.09.2010г. с лечением кортикостероидами, регресс симптоматики.

С апреля 2011 г. по июль 2012 г. получал терапию глатирамера ацетатом 20 мг п/к. Вновь обострение с 31.05.2012г. по 06.08.2012г., лечение метилпреднизолоном. Впоследствии копаксон (глатирамера ацетат) был отменен ввиду неэффективности терапии и отрицательной динамики на МРТ.

МРТ головного мозга от 06.09.2010 г. выполнено с контрастированием (гадовист): множественные очаги демиелинизации, очаги накопления контрастного вещества.

В неврологическом статусе: легкий сходящийся страбизм, легкий установочный нистагм, легкая недостаточность VII пары черепных нервов справа, девиация языка влево. Сухожильные рефлексy оживлены, выше справа. Кистевые симптомы Россолимо, двусторонний симптом Бабинского. Мышечная сила в правых конечностях снижена до 4-х баллов. Также снижена сила в левой руке, преимущественно в дистальных отделах. Тремор рук. Легкая неустойчивость в позе Ромберга, легкое интенционное дрожание при пальценосовой пробе справа. Снижение вибрационной чувствительности в стопах, гипестезия поверхностной чувствительности слева. Задержка мочи и императивные позывы на мочеиспускание. Общая усталость.

Шкала инвалидизации EDSS: FS: 1+1+3+2+2+2+1. Ambulation =1.

Общий балл по шкале EDSS 4 балла.

Уровень BDNF в сыворотке крови до лечения составил 7,14 нг/мл.

Диагноз: Рассеянный склероз. Цереброспинальная форма. Ремиттирующее течение. Стадия относительной ремиссии. Стволовые нарушения. Легкий центральный тетрапарез. Атактический синдром. Нарушение функции тазовых органов.

В процессе 6-месячной терапии натализумабом обострений зарегистрировано не было. Отмечает улучшение состояния в виде уменьшения усталости в ногах, увеличение мышечной силы в ногах, нарушения функции тазовых органов не беспокоят.

В неврологическом статусе - положительная динамика: уменьшение EDSS на 1,0 балл. Шкала инвалидизации EDSS: FS: 1+1+2+2+2+0+0. Ambulation = 1. Общий балл EDSS 3 балла.

Уровень BDNF в сыворотке крови после лечения составил 6,64 нг/мл.

Данный пример иллюстрирует незначительное снижение концентрации нейротрофина при лечении натализумабом и положительную клиническую динамику.

При анализе динамики BDNF у группы пациентов, лечившихся моноклональными антителами, достоверного изменения этого нейротрофина не получено (табл.4.7).

Таблица 4.7.

Концентрация BDNF в сыворотке пациентов с РС до и через 6 месяцев терапии натализумабом

Статистический метод	BDNF сыворотки крови (нг/мл)		Значимость различий р
	До лечения	После лечения	
Метод парных сравнений	7,14 (5,05-11,62) (n=15)	9,02 (5,86-19,34) (n=15)	$p^W=0,302$
Сравнение независимых переменных	7,14 (5,05-11,62) (n=15)	8,31 (5,86-22,91) (n=25)	$p^{M-W}=0,222$

Из таблицы 4.7. следует, что лечение в течение 6 месяцев натализумабом не оказало значимого влияния на концентрацию BDNF в сыворотке крови пациентов.

Проведен анализ изменения эмоционального состояния, выраженности неврологических симптомов и уровня инвалидизации, показателей качества жизни и синдрома усталости у 15-ти пациентов на фоне терапии натализумабом. Сравнение выраженности неврологических расстройств, оцененных по шкале EDSS до лечения и после полугода терапии, показало наличие положительной динамики состояния пациентов. EDSS после лечения равнялась 4,0 (3,0-4,5) баллам, что было достоверно лучше, чем до начала терапии ($p^w = 0,021$).

Анализ динамики других подсистем показал наличие достоверного улучшения по 4FS (мозжечковые нарушения): среднее значение показателя до лечения равнялось 3,0 (2,0-3,0) баллам, после терапии значение его снизилось до 2,0 (2,0-3,0) баллов, $p^w = 0,043$. В других подсистемах различий до- и после лечения выявлено не было.

Отмечена положительная динамика неврологических нарушений, оцениваемых по тесту MSFC: существенно улучшилось выполнение 9-Hole Peg Test. Когнитивные функции и ходьба не изменились. Результаты анализа динамики неврологического статуса представлены в таблице 4.8.

Таблица 4.8.

Динамика показателей MSFC у пациентов, лечившихся натализумабом

Компоненты теста MSFC	Медиана (квартили) показателей теста MSFC		Значимость различий p^w
	До лечения (n=15)	После лечения (n=15)	
Timed 25-Foot walk (сек.)	5,18 (4,58-5,68)	5,05 (4,82-5,54)	0,570
9-Hole Peg Test (сек.)	33,81 (31,34-37,13)	24,90 (21,37-31,57)	0,000
PASAT-3 (баллы)	37 (26-46)	38 (36-50)	0,286

Проанализирована динамика синдрома усталости у 15 пациентов до и после 6-ти месячного лечения препаратами моноклональных антител. Средние значения представлены в таблице 4.9. Из таблицы 4.9. следует, что после лечения существенно улучшилось физическое самочувствие пациентов. Остальные подшкалы достоверно не изменились.

Таблица 4.9.

Показатели астении в группе пациентов до и после лечения моноклональными антителами (в баллах)

Подшкалы MFI-20	Медиана (квартили) показателей астении		Значимость различий p^W
	До лечения (n=15)	После лечения (n=15)	
Общая астения	13 (8-15)	13 (9-15)	0,382
Физическая астения	13 (8-16)	11 (5-12)	0,023
Пониженная активность	10 (7-13)	11 (5-13)	0,433
Снижение мотивации	10 (9-11)	10 (8-12)	0,272
Психическая астения	10 (8-13)	10 (8-12)	0,572
Общий балл по шкале MFI-20	54 43-67	55 (42-62)	0,125

При анализе психоэмоционального статуса пациентов динамики депрессии и тревоги не выявлено: значение депрессии до лечения составило 4 (2-4) балла, после терапии моноклональными антителами оно также равнялось 4 (2-7) баллам, среднее значение тревоги до терапии равнялось 6 (3-12) баллам, после терапии - 4 (2-8) баллам, ($p^W=0,100$).

При сравнении показателей качества жизни у больных РС на фоне проводимой терапии моноклональными антителами значимых изменений выявлено не было. До лечения показатели физического и психического компонентов по шкале MSIS-29 составили 38 (25-42) и 15 (13-23) баллов соответственно, после терапии - 31 (24-45) и 12 (11-20) баллов. Достоверных

различий по данным показателям выявлено не было ($p^W = 0,330$ и $p^W = 0,272$ соответственно).

В процессе исследования изучена концентрация BDNF в сыворотке крови 15 пациентов, получавших терапию финголимодом (гилению). Среднее значение BDNF в сыворотке крови составило 16,06 нг/мл с колебаниями в диапазоне от 6,59 до 21,26 нг/мл.

Показатель был ниже контрольного уровня (27,79 нг/мл, $p < 0,05$), и не отличался от значения, полученного у наивных пациентов ($p^{m-w} = 0,412$).

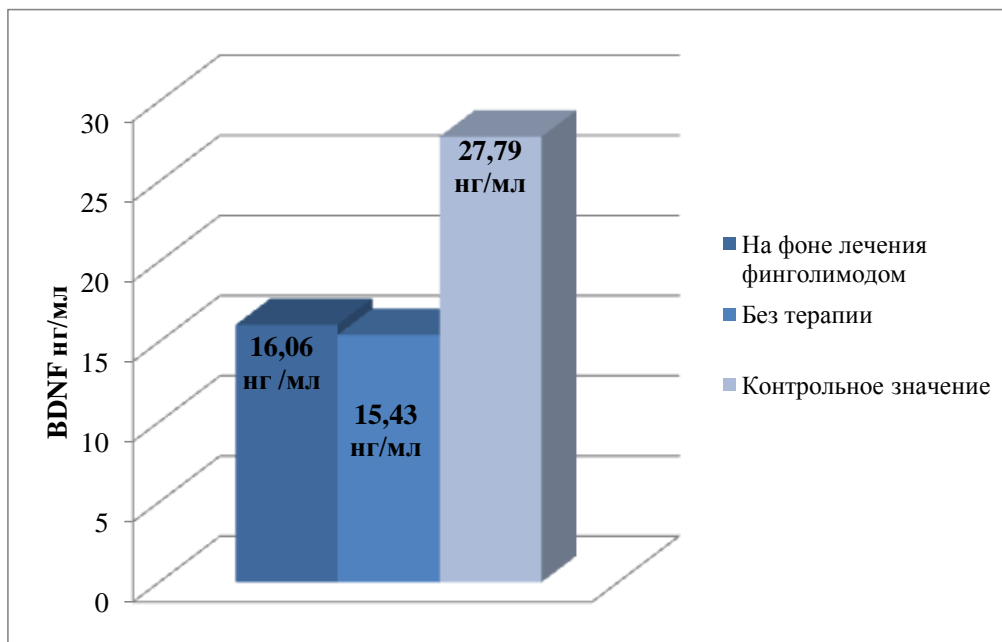


Рис.4.4. Значение концентрации BDNF на фоне лечения финголимодом, у пациентов без терапии и контрольное значение

Сравнение значения BDNF до и после лечения финголимодом достоверной динамики показателя не выявило (табл. 4.10.).

Таблица 4.10.

Концентрация BDNF в сыворотке до и через 6 месяцев терапии финголимодом

Статистический метод	BDNF сыворотки крови (нг/мл)		Значимость различий р
	До лечения	После лечения	
Метод парных сравнений	19,73 (15,28-23,55) (n=8)	17,78 (16,06-21,06) (n=8)	$p^W=0,735$
Сравнение независимых переменных	19,73 (15,28-23,55) (n=8)	16,06 (6,59-21,26) (n=15)	$p^{M-W}=0,565$

Проведенный анализ показал, что терапия финголимодом в течение 6-ти месяцев не оказала существенного влияния на уровень BDNF в сыворотке крови пациентов.

Поскольку удалось проследить динамику BDNF при лечении финголимодом только в малой группе пациентов, что делает вычисление медианы и достоверности различий некорректным, все индивидуальные значения показателя приведены в таблице 4.11.

Таблица 4.11.

Динамика индивидуальных значений концентрации BDNF в сыворотке в процессе лечения финголимодом

№ п/п	BDNF сыворотки крови (нг/мл)		Направленность изменений BDNF
	До лечения	После лечения	
1	19,24	27,06	+
2	15,94	16,06	+
3	33,68	21,95	-
4	20,6	21,6	+
5	14,63	17,16	+
6	0,64	3,87	+
7	20,23	5,668	-
8	25,84	3,402	-

Из таблицы 4.11. следует, что в группе из 8 пациентов направленность изменений BDNF распределилась 3/5 (доверительный интервал 0,245 - 0,915 для отрицательной динамики 0,032 - 0,651, для положительной - 0,245 - 0,915), то есть любое направление изменений BDNF при лечении финголимодом равновероятно.

Терапия финголимодом не повлияла на среднее значение EDSS, которое составило после лечения 2,5 (2,25-3,25) балла ($p=0,361$). Сравнение значений по остальным FS также не выявило достоверно значимых отличий между показателями до- и после лечения.

Таблица 4.12.

Динамика показателей теста MSFC в группе пациентов до и после лечения финголимодом

Компоненты теста MSFC	Медиана (квартили) показателей теста MSFC		Значимость различий p^w
	До лечения (n=8)	После лечения (n=8)	
Timed 25-Foot walk (сек.)	4,25 (4,09—4,61)	4,17(3,77-4,33)	0,724
9-Hole Peg Test (сек.)	32,70 (29,98-37,57)	21,04 (19,28-25,62)	0,017
PASAT-3 (баллы)	41,5 (35,5-58)	54 (43,5-58)	0,079

Проанализировав показатели теста MSFC, мы наблюдали достоверное улучшение выполнения его второго компонента (с использованием 9-луночного теста), что свидетельствует об улучшении моторики кистей.

Помимо оценки очаговых неврологических проявлений произведена оценка динамики синдрома усталости, аффективных нарушений и качества жизни на фоне проводимого лечения финголимодом в течение 6-ти месяцев.

Из таблицы 4.13. видно, что достоверных различий между показателями до и после лечения выявлены не были.

Таблица 4.13.

**Показатели астении в группе пациентов до и после лечения
финголимодом (в баллах)**

Подшкалы астении MFI-20	Медиана (квартили) показателей астении		Значимость различий p^W
	До лечения (n=8)	После лечения (n=8)	
Общая астения	11,5 (6,5-16,0)	10,5 (7,5-11,5)	0,352
Физическая астения	12,5(8,0-14,0)	8,5 (7,5-12,5)	0,059
Пониженная активность	10,5 (6-11,5)	8,0 (6,5-10,5)	0,673
Снижение мотивации	9,0 (7,5-10,0)	8,5 (7,5-9,5)	0,855
Психическая астения	8,5 (8,0-10,5)	8,0 (6,5-9,5)	0,173
Общий балл по шкале MFI-20	57,5 (38,5-61,5)	41,5 (37, 0-56,0)	0,151

Анализ изменения психометрических параметров на фоне лечения также не выявил значимых изменений. В целом аффективные нарушения не были выражены как до, так и после лечения.

Среднее значение депрессии по шкале HADS в группе до лечения составило 4 (1,5-6) баллов, после лечения - 4 (0,5-4,5) балла ($p^W = 0,208$), среднее значение тревоги до терапии равнялось 6 (5-10) баллам, после терапии - 5,5 (4-6,5) баллам ($p^W = 0,063$).

В процессе лечения к шестому месяцу терапии финголимодом наблюдалось улучшение показателей физического компонента качества жизни (рис.4.5).

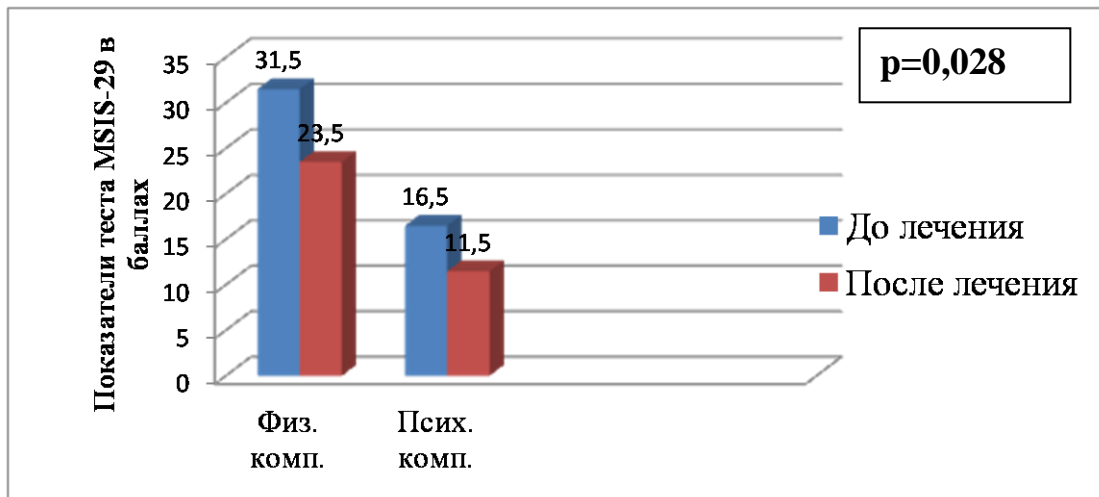


Рис. 4.5. Динамика показателей качества жизни на фоне терапии финголимодом

Среднее значение физического компонента по шкале качества жизни MSIS-29 до лечения составило 31,5(24,5-45,5) баллов, через 6 месяцев терапии финголимодом данный показатель снизился до 23,5(21,5-31,5) баллов, $p=0,028$.

Среднее значение психического компонента по шкале MSIS-29 составило 16,5 (11-24), после 6-месячного лечения - 11,5(9,5-14,0), $p=0,116$. Таким образом, терапия финголимодом улучшает физический компонент качества жизни больных РС.

В процессе лечения различными вариантами ПИТРС проанализирован основной показатель эффективности терапии РС - наличие и отсутствие обострений. При лечении финголимодом у всех пациентов, кроме одной, состояние оставалось относительно стабильным в течение 6 месяцев. У одной пациентки был эпизод диплопии при взгляде вправо и боли в глазных яблоках. Симптомы регрессировали самостоятельно менее чем за одну неделю.

У пациентов, получавших интерфероны бета, в процессе лечения обострений зарегистрировано не было.

На фоне терапии натализумабом состояние всех пациентов, кроме одного, было стабильным. У одного пациента на 4-ом месяце лечения было отмечено ухудшение в виде появления новой неврологической симптоматики и нарастания EDSS на 1 балл. Обострение потребовало госпитализации пациента в стационар и проведения курса ГКС. Оценка состояния больного на 6-ом

месяце лечения показала стабилизацию и возвращение балла по шкале EDSS к исходному уровню.

Данные о клинической динамике заболевания в процессе терапии ПИТРС являются предварительными и требуют уточнения более длительным наблюдением.

4.3. Содержание CNTF в сыворотке крови пациентов с рассеянным склерозом

Концентрация CNTF определена у 43 пациентов (24 мужчин и 19 женщин) с РС. Среднее значение концентрации нейротрофина равнялось 69,9 (31,2-132,3) пг/мл. Согласно данным, предоставленным фирмой-производителем лабораторного набора (R&D Systems, Inc.), полученным при определении этого нейротрофина в сыворотке 34 здоровых доноров, эндогенный CNTF в норме в сыворотке крови не экспрессируется.

Минимальное значение концентрации CNTF в сыворотке крови пациентов составило 1,6 пг/мл, максимальное - 425,6 пг/мл. Среднее значение нейротрофина у мужчин равнялось 73,85 (36,15-103,45) пг/мл, у женщин - 67,40 (7,90- 135,90) пг/мл без достоверных различий ($p=0,890$).

Не выявлено связи данного параметра с возрастом пациентов ($R=0,06$, $p=0,70$), с их возрастом в дебюте заболевания ($R=0,01$, $p=0,93$), со скоростью прогрессирования ($R=0,00$, $p=0,97$) и длительностью РС ($R=0,12$, $p=0,45$).

При проведении корреляционного анализа не было выявлено достоверной связи количественного содержания CNTF с количеством очагов на МРТ в режиме T1 ($R=0,39$, $p=0,12$), в режиме T2 ($R=0,22$, $p=0,39$), а также с количеством очагов, накапливающих контрастное вещество ($R=0,27$, $p=0,29$).

Выполненный корреляционный анализ зависимости уровня CNTF от выраженности аффективных расстройств, синдрома усталости и его компонентов, качества жизни и состояния когнитивных функций, показал отсутствие сопряженности анализируемых показателей, за исключением когнитивных функций. Результаты анализа представлены в таблице 4.14.

Таблица 4.14.

Зависимость CNTF от выраженности аффективных расстройств, астении и ее компонентов, качества жизни и состояния когнитивных функций

Корреляционные пары	R	p
HADS, тревога	0,08	0,603
HADS, депрессия	-0,10	0,542
MFI-20 общий балл	0,11	0,500
Пониженная активность	0,11	0,475
Снижение мотивации	0,26	0,094
Физическая астения	0,10	0,508
Психическая астения	-0,07	0,675
Общая астения	-0,09	0,576
MSIS-29 физ.	0,12	0,434
MSIS-29 псих.	-0,04	0,780
PASAT-3	0,30	0,049

Выявленная прямая зависимость между увеличением цилиарного нейротрофического фактора и результатами оценки когнитивных функций не исключают возможности его вовлечения в процессы, связанные с восстановлением когнитивного дефицита у больных рассеянным склерозом.

Рассмотрена корреляционная связь между содержанием CNTF и основной шкалой EDSS, оценивающей выраженность неврологического дефицита при РС, а также с компонентами теста MSFC (табл. 4.15.).

Таблица 4.15.

Корреляционная зависимость CNTF от степени выраженности неврологического дефицита

Корреляционные пары	R	p
CNTF и зрительная функция	0,07	0,634
CNTF и ствольные функции	-0,13	0,417
CNTF и пирамидные функции	0,10	0,533
CNTF и мозжечковые функции	0,09	0,548
CNTF и сенсорные функции	-0,09	0,571
CNTF и тазовые функции	-0,09	0,575
CNTF и функция мышления	0,01	0,966
CNTF и ambulation	0,20	0,194
CNTF и общий балл EDSS	0,22	0,153
CNTF и ср. показатель оценки функции	0,24	0,127
CNTF и ср. показатель оценки функции	0,10	0,542

Таким образом, в сыворотке больных РС определяется CNTF, который у здоровых отсутствует. Его концентрация положительно коррелирует с одной из основных клинических характеристик заболевания - выраженностью когнитивных расстройств, определяемых тестом PASAT-3.

4.4. Содержание CNTF в сыворотке крови пациентов с РС при различных вариантах ПИТРС

Концентрация CNTF в сыворотке у пациентов, ранее не лечившихся иммуномодулирующими препаратами (16 человек), колебалась в диапазоне 1,60 - 233,70 пг/мл. Среднее значение нейротрофина в данной группе составило 71,35 (26,3-95,10) пг/мл.

Концентрация CNTF в сыворотке пациентов, лечившихся интерферонами (17 человек), составила 40,30(5,28-19,40) пг/мл. Не выявлено достоверных различий среди значений между наивными пациентами по сравнению с группой пациентов, получавших интерфероны ($p^{M-W}=0,368$).

Изучена концентрация CNTF у 24 человек, получавших терапию моноклональными антителами. Значения данного параметра колебались в диапазоне 1,10 - 254,80 пг/мл, при этом среднее значение нейротрофина составило 74,60 (26,60-119,85) пг/мл, что не отличалось от аналогичных значений в группе наивных пациентов ($p^{M-W}=0,761$). Прослежена динамика изменения уровня CNTF в процессе лечения моноклональными антителами. Полученные результаты представлены в таблице 4.16.

Таблица 4.16.

Концентрация CNTF в сыворотке до и через 6 месяцев терапии моноклональными антителами

Статистический метод	CNTF сыворотки крови пг/мл		Значимость различий p
	До лечения	После лечения	
Метод парных сравнений	56,60 (13,30-90,70) (n=12)	57,05 (14,45-81,65) (n=12)	$p^W=0,937$
Сравнение независимых переменных	56,60 (13,30-90,70) (n=12)	74,60 (26,60-119,85) (n=24)	$p^{M-W}=0,977$

Проведенный анализ показал, что терапия моноклональными антителами в течение 6-ти месяцев не оказала существенного влияния на уровень CNTF в сыворотке крови пациентов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЗАКЛЮЧЕНИЕ)

Рассеянный склероз - широко распространенное дизиммунно-нейродегенеративное заболевание ЦНС, которое поражает лиц молодого возраста и облигатно вызывает тяжелую инвалидизацию пациентов [3,30,50,51]. Эти обстоятельства заставляют активно заниматься разработкой вопросов патогенеза заболевания и поиском, на этой основе, новых подходов к его терапии.

Основным разрабатываемым направлением борьбы с развитием РС на данном этапе являются различные способы иммунокоррекции [44]. Не смотря на очевидные успехи такого подхода к терапии, способного сократить количество обострений и, следовательно, замедлить прогрессирование РС, заболевание остается малокурабельным. В связи с этим актуальны альтернативные подходы к лечению РС, направленные, в частности, на активизацию нейропластичности - процессов защиты и восстановления нейронов и глии в условиях повреждения. Особое значение это направление приобретает в связи с пониманием того, что при РС повреждающими патологическими процессами в нервной системе являются не только воспаление, но и нейродегенерация, о чем свидетельствуют последние исследования в области нейрохимии, молекулярной биологии, генетики и нейроиммунологии. Известно, что нейропластичность регулируется семейством нейротрофических факторов, представителями которых являются BDNF и CNTF. Ряд фактов позволяют предположить, что нейротрофины участвуют в патогенезе РС. Так, BDNF может антероградно транспортироваться и выделяться нейронами, что особенно усиливается после аксонального повреждения и трансекции. Выявление данного феномена предполагает, что нейрональный BDNF может обеспечивать эндогенную нейротрофическую поддержку в очагах РС. Доказано, что чертой эндогенной экспрессии нейротрофинов в очагах РС является их присутствие по краям активной демиелинизации [33,34].

НТФ относятся к наиболее перспективным нейропротекторам, которые активно вмешиваются в генетические механизмы регенерации и апоптоза. Они регулируют как выраженность процесса программированной клеточной гибели, так и скорость его протекания. Стимуляция факторов нейротрофической поддержки может быть перспективным направлением оптимизации терапии РС. Частота использования и базовое значение иммуномодуляторов для ведения пациентов с РС вызывает вопрос относительно наличия и выраженности у этих препаратов нейротрофических свойств, в том числе с целью выбора оптимальных вариантов терапии среди всего многообразия препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС). Данные литературы по этому вопросу единичны и противоречивы, что предопределило цель исследования - изучить концентрацию нейротрофических факторов (BDNF, CNTF) в сыворотке крови пациентов с РС и связь её с различными характеристиками заболевания, а также установить влияние терапии, изменяющей течение рассеянного склероза, на данные нейротрофины. Для достижения этой цели проведено иммуноферментное исследование количественного содержания НТФ (BDNF, CNTF) в сыворотке крови у наивных пациентов с РС и при лечении различными вариантами ПИТРС. Новизной проводимого исследования явилось количественное определение BDNF, CNTF в сыворотке методом иммуноферментного твердофазного анализа с мониторингом показателей в динамике на фоне специфической терапии.

В исследование включены 82 пациента с достоверным ремиттирующим РС вне стадии обострения (не менее 30 дней после последнего обострения) в возрасте 19 - 57 лет и с длительностью заболевания в среднем 6,0 (3; 11) лет. Среди обследованных было больше женщин (54,9%). Большинство пациентов вследствие развившегося неврологического дефицита имели группу инвалидности: 24 (29,3%) чел. – третью, 21 (25,6%) – вторую. Диагноз РС у всех обследуемых пациентов подтвержден МРТ головного и спинного мозга. Результаты нейровизуализации соответствовали пересмотренным критериям Макдональда 2005 для установления диагноза РС: у всех больных выявлены

очаги демиелинизации, диссеминированные во времени и в пространстве. У 17 пациентов произведен подсчет количества очагов в режимах T1 и T2, а также количества очагов, накапливающих контрастное вещество (гадолиний). Среднее значение количества очагов в режиме T1 составило 34 (14-43), в режиме T2 - 58 (43-72). Среднее количество очагов, накапливающих контрастное вещество, равнялось 0 (0-0) (все больные были вне стадии обострения).

Нейрорадиологические данные соответствовали клиническим: при проведении корреляционного анализа выявлена связь количества очагов в режиме T1 со степенью неврологического дефицита по шкале EDSS ($R=0,54$, $p=0,03$), с поражением пирамидной системы ($R=0,59$, $p=0,01$), с мозжечковыми нарушениями ($R=0,5$, $p=0,04$).

На момент обследования у пациентов преобладали нарушения в пирамидной и в мозжечковой системах. Суммарный балл инвалидизации по шкале EDSS у больных колебался от 1,5 до 5,5 и составил 3,5 (2,5-4,5) балла. С увеличением возраста пациентов и длительности заболевания отмечено достоверное повышение балльной оценки EDSS, что является закономерным для хронического прогрессирующего заболевания. У обследованных больных выявлены невысокие баллы депрессии и тревоги по шкале HADS, на которые влияли пирамидные, координаторные, тазовые нарушения, изменения функции мышления, снижения способности передвигаться. У больных была выражена усталость, которая по данным работы Акинцевой Ю.В. и соавт. [1] при РС носит первичный характер. Наша работа демонстрирует связь синдрома усталости со степенью нарастания неврологического дефицита.

Изучение качества жизни при РС дает возможность оценить влияние болезни на состояние пациентов, эффективность проводимой терапии. По нашим данным, существенное влияние на качество жизни (физический и психологический компоненты) больных РС оказывают степень инвалидизации, синдром усталости и эмоциональные расстройства.

Концентрация BDNF в сыворотке крови определена у 82 пациентов с РС. Индивидуальные значения этого показателя колебались в диапазоне от 0,64 до

34,88 нг/мл, его среднее значение составило 14,68 нг/мл (7,14-21,95) нг/мл при контрольном популяционном значении 27,79 нг/мл. Поскольку известно, что содержание нейротрофинов в сыворотке крови соответствует таковому в центральной нервной системе, мы делаем вывод о том, что у больных РС имеется недостаточность механизмов нейротрофической защиты в ЦНС, природа которой (первичная, вторичная) не установлена. Эта недостаточность может обуславливать особую чувствительность нервной системы больных РС к повреждению - как воспалительному, так и дегенеративному, и низкую способность нервных структур к восстановлению. Наши данные совпадают с данными ряда исследователей [12].

Поскольку уровень BDNF, по нашим данным, зависит от длительности заболевания, с определенной долей вероятности можно предположить, что низкий уровень BDNF является исходным состоянием больных РС.

Сопоставительный анализ клинических симптомов РС с концентрацией BDNF выявил отрицательную связь между изучаемым параметром и выраженностью стволовых нарушений, а также с одной из основных характеристик выраженности мозгового и спинального повреждения при РС амбулаторным индексом (Ambulation Index): чем ниже была концентрация, тем более выраженными были неврологические симптомы. Таким образом, первичная недостаточность BDNF играет отрицательную роль в течении РС и, безусловно, нуждается в коррекции.

Концентрация CNTF определена у 43 пациентов (24 мужчин и 19 женщин) с РС. Среднее значение концентрации нейротрофина равнялось 69,9 (31,2-132,3) пг/мл. Согласно данным, предоставленным фирмой-производителем лабораторного набора (R&D Systems, Inc)., полученным при определении этого нейротрофина в сыворотке 34 здоровых доноров, эндогенный CNTF в норме в сыворотке крови не экспрессируется.

Таким образом, исследование показывает, что у больных РС данный нейротрофический фактор активизируется. Подобный факт можно объяснить тем, что CNTF, являющийся нейротрофином внутриклеточной локализации,

высвобождается при повреждении и является молекулой, обеспечивающей трофику и поддержку нейронов после повреждения. В сыворотке крови он, возможно, появляется вследствие мозгового повреждения, свободно проникая через гематоэнцефалический барьер, вследствие повышения его проницаемости, которое, как известно, имеет место при РС. Доказательством защитной роли CNTF при РС является выявленная нами ассоциация CNTF с когнитивными функциями, оцененными тестом PASAT-3: они были более сохранены у больных с высоким уровнем CNTF.

Для достижения цели исследования - определение влияния основных ПИТРС на состояние нейротрофической защиты мозга, нами прослежена динамика клинических симптомов заболевания (неврологического статуса, синдрома усталости, аффективных расстройств), качества жизни, течения РС и концентрации BDNF и CNTF в сыворотке крови на фоне терапии интерферонами-бета, финголимодом (гилениа) и моноклональными антителами (натализумаб).

Из 82-х пациентов, вошедших в исследование, 44 никогда ранее не получали ПИТРС, 38 находились на различных вариантах иммуномодулирующей терапии. Некоторым пациентам по объективным причинам за время, которое он находился под наблюдением, была проведена смена препарата лечащим врачом центра рассеянного склероза. В этом случае забор биообразцов мог осуществляться несколько раз и при анализе результатов пациент мог входить в группы больных с разным лечением.

Концентрация BDNF в сыворотке у пациентов в группе ранее не лечившихся иммуномодулирующими препаратами варьировала от 2,72 до 34,89 нг/мл, ее медиана составила 15,43 (9,23-24,35) нг/мл, что было ниже контрольного значения (27,79 нг/мл).

Концентрация BDNF в сыворотке пациентов, лечившихся интерферонами (27 пациентов), колебалась в диапазоне 0,64 - 29,93 нг/мл, медиана составила 8,27 (5,28-19,40) нг/мл, показатель был ниже контрольного значения (27,79 нг/мл) и ниже, чем у наивных пациентов ($p^{M-W}=0,042$). Концентрация CNTF в

сыворотке пациентов, лечившихся интерферонами (17 человек), составила 40,30(5,28-19,40) пг/мл. Не выявлено достоверных различий среди значений между наивными пациентами по сравнению с группой пациентов, получавших интерфероны.

Концентрация BDNF в сыворотке пациентов (25 человек), получавших терапию моноклональными антителами (натализумаб), варьировала в диапазоне 1,66 - 29,53 нг/мл, медиана составила 8,31(5,86-22,91) нг/мл, что было ниже популяционного значения (27,79 нг/мл, $p < 0,05$) и достоверно ниже, чем в группе наивных пациентов ($p = 0,044$). Изучена концентрация CNTF у 24 человек, получавших терапию моноклональными антителами. Значения данного параметра колебались в диапазоне 1,10 - 254,80 пг/мл, при этом среднее значение нейротрофина составило 74,60 (26,60-119,85) пг/мл, что не отличалось от аналогичных значений в группе наивных пациентов.

В процессе исследования изучена концентрация BDNF в сыворотке крови 15 пациентов, получавших терапию финголимодом (гиленией). Среднее значение BDNF в сыворотке крови составило 16,06 нг/мл с колебаниями в диапазоне от 6,59 до 21, 26 нг/мл. Показатель был ниже контрольного уровня (27,79 нг/мл, $p < 0,05$), и не отличался от значения, полученного у наивных пациентов ($p^{m-w} = 0,412$).

Динамика BDNF и CNTF, прослеженная методом парных сравнений, также не показала положительного влияния изученных ПИТРС на нейротрофические механизмы мозга.

Таким образом, исследованные варианты ПИТРС, по нашим данным, не способствуют стимуляции нейропластичности.

Однако, клиническая динамика при лечении интерферонами, финголимодом и моноклональными антителами была положительной. Так, при лечении интерферонами уменьшилась психическая астения, отмечена положительная динамика показателя 9-Hole Peg Test. При лечении моноклональными антителами уменьшилась физическая астения, ускорилось выполнение 9-Hole Peg Test, снизился балл 4FS (мозжечковые нарушения) и

общий балл EDSS. При лечении финголимодом улучшилась моторика кистей по результатам 9-луночного теста, и повысилось качество жизни (физический компонент). О положительном влиянии ПИТРС свидетельствовал основной показатель эффективности терапии РС - наличие и отсутствие обострений. В течение 6 месяцев терапии интерфероном-бета обострений не было, при лечении натализумабом и гиленией было по одному легкому обострению.

Диссоциация между динамикой BDNF и клиническим течением заболевания говорит о том, что эффект исследованных ПИТРС ни в коей мере не обусловлен нейротрофическими механизмами. Известно, что он базируется на разнообразных противовоспалительных эффектах и, по нашим данным, дополнительным влиянием на нейропластичность не обладает. При этом ни один из изученных ПИТРС не имеет приоритета перед другими за счет нейротрофических свойств. Лечение ПИТРС, следовательно, требует дополнительного назначения препаратов, обладающих способностью стимулировать нейропластичность

ВЫВОДЫ

1. Для больных рассеянным склерозом характерна исходная недостаточность мозгового нейротрофического фактора, что проявляется низкой по сравнению с популяционным уровнем его концентрацией в сыворотке крови, не сопряженной с длительностью заболевания. Нейротрофическая несостоятельность сопряжена с неблагоприятным течением заболевания, поскольку коррелирует со стволовыми нарушениями, а также с одной из основных характеристик выраженности мозгового и спинального повреждения при рассеянном склерозе - амбулаторным индексом.

2. Цилиарный нейротрофический фактор, отсутствующий в свободных средах в норме, экспрессируется у пациентов рассеянным склерозом, высвобождаясь из поврежденных аксонов и обеспечивая трофику и поддержку нейронов после повреждения, о чем свидетельствует положительная корреляция между когнитивными функциями и его концентрацией в сыворотке крови.

3. Концентрация мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови у пациентов, получающих интерфероны и натализумаб, ниже, чем у пациентов, ранее не получавших ПИТРС, а цилиарного - не отличается от концентрации у наивных пациентов.

4. Терапия в течение 6 месяцев интерферонами-бета, натализумабом и финголимодом оказывает положительное действие на течение рассеянного склероза, уменьшая неврологический дефицит (особо чувствительным к выявлению его динамики является 9-луночный тест), астению, повышая качество жизни и препятствуя развитию обострений, но в механизмах их терапевтического воздействия нейротрофические механизмы участия не принимают.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В комплекс лечения больных ремиттирующим рассеянным склерозом, не получающих ПИТРС, следует включать препараты, обладающие нейропротективными свойствами, поскольку у них имеется первичная недостаточность BDNF.

2. Больные с ремиттирующим рассеянным склерозом, получающие интерфероны, финголимод или натализумаб, должны дополнительно лечиться нейротрофическими препаратами, так как эти ПИРТС не обладают свойством стимулировать нейротрофические механизмы.

3. Для определения индивидуальной чувствительности к ПИТРС на ранних этапах лечения следует использовать 9-луночный тест, поскольку он обладает максимальной чувствительностью к положительным сдвигам, происходящим в процессе лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акинцева, Ю.В. Тромбоцитарный серотонин при синдроме усталости у больных рассеянным склерозом в процессе иммуномодулирующей терапии /Ю.В.Акинцева//: Автореф. диссерт. канд. канд. мед. н. – Пермь, 2011. – 19 с.
2. Болдырев , А. А. Нейрохимия/ А.А.Болдырев, Н.Д.Ещенко, В.А.Илюха, Е.М.Кяйвярейн – М.: Дрофа, 2010. – 400 с.
3. Бойко, А.Н. Лаквинимод – новый таблетированный препарат с нейропротективным эффектом для лечения рассеянного склероза / А.Н.Бойко, Е.И.Гусев// Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. - №2. – С. 93-99.
4. Бойко, А.Н. Эффективность и переносимость глатирамера ацетата (копаксона) при длительном использовании: 10-летний опыт Московского городского центра рассеянного склероза / А. Н. Бойко, М.В. Давыдовская // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2006. - №9. – С. 123-134.
5. Бойко, А.Н. Нейропротекция – новое направление в лечении рассеянного склероза/ А.Н. Бойко, С.В Петров, Е.И.Гусев // Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. - М.:-«Миклош».- 2004. - С.452-472.
6. Воробьева, А. А. Маркеры нейродегенерации при рассеянном склерозе (клинико-биохимическое исследование): Диссертация канд. мед. наук /А.А.Воробьева// Москва, 2014.- 109 с.
7. Вялова, Н. М. Роль BDNF в формировании депрессивных расстройств / Н. М. Вялова, Л.А.Левчук// Фундаментальные исследования. – 2014. - №10. – С. 771 – 775.
8. Гаврилова, Н. А. Влияние нейротрофического фактора мозга – BDNF на органотипические культуры сетчатки / Н. А. Гаврилова,

Л.М.Ланевская , Л.М.Бакаева , С.А.Борзенко // Офтальмохирургия. – 2009. - №1. – С. 25-53.

9. Галкина, Г.А. Мозговой нейротрофический фактор патогенетическая связь с неврологическими расстройствами на фоне нарушения углеводного обмена /Г.А.Галкина, А.А.Афонин, Н.В. Морозова// Сахарный диабет. – 2006. – №3. – С. 65-68.

10. Голосная, Г.С. Взаимодействие нейротрофических и проапоптотических факторов в патогенезе гипоксического поражения головного мозга у новорожденных /Г.С.Голосная, А.С. Петрухин, Т.М. Красильщикова, Д.И. Албагачиева,А.Л. Эрлих, С.В. Трепилец, А.Б. Карпенко, А.Ю. Герасимов, А.С. Трифонова // Педиатрия.- N 1.-С.20-25.

11. Голосная, Г.С. Иммунохимическая оценка нарушений функций гематоэнцефалического барьера у новорожденных с перинатальными гипоксическими поражениями центральной нервной системы/ Г.С. Голосная, А.С.Петрухин, С.А.Котий // Неврологический вестник. – 2004. - №3-4, том 36. – С. 12-16.

12. Головкин, В. И. Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) у здоровых людей и больных рассеянным склерозом /В.И.Головкин, Н.И. Давыдова И.И. Кула// Нейроиммунология. Рассеянный склероз, том XII, № 1-2, 2015. - Санкт-Петербург 2015. – С. 26.

13. Гомазков, О.А. Апоптоз нейрональных структур и роль нейротрофических ростовых факторов. Биохимические механизмы эффективности пептидных препаратов мозга /О. А. Гомазков// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Прил. Инсульт. - 2002. - № 7.- С.17—22.

14. Гомазков, О. А. Нейрогенез: монография/ О.А.Гомазков – М.: Икар, 2013. – 136 с.

15. Гомазков, О.А. Старение мозга и нейротрофическая терапия/О.А.Гомазков – М.: Икар, 2011. – 92 с.

16. Гомазков, О.А. Нейротрофические факторы мозга: справочно-информационное издание/ О.А. Гомазков. - М.: Cd-версия, 2004.
17. Громова, О. А. Нейротрофическая система мозга: нейропептиды, макро- и микроэлементы, нейротрофические препараты /О.А.Громова// Международный неврологический журнал. – 2007. - №2(12). – С. 94-106.
18. Гусев, Е.И. Роль процессов нейропластичности в развитии депрессивных расстройств / Е. И. Гусева, А.Н. Боголепова // Трудный пациент. – 2010. - №10. – С. 115 – 119.
19. Гусев, Е. И. Нейропротективное влияние длительного курса бета-интерферонов при рассеянном склерозе: прямые и непрямые механизмы / Е. И.Гусев, А.Н.Бойко, Н.В.Хачанова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2006. - №6. – С. 154-186.
20. Гусев, Е.И. Новые данные о механизме действия копаксона при рассеянном склерозе: у ряда больных отмечено существенное усиление продукции нейротрофического фактора BDNF/Е.И.Гусев, А.Н.Бойко, А.В.Сланова, В.А.Нестерова//В кн.: Нейроиммунология: исследования, клиника, лечение. - Ст-Петербург. – 2002. С. 78-79.
21. Дуйсебеков, М. М. Патогенетические критерии риска развития воспалительных осложнений после ушибы головного мозга: Автореф. диссерт. канд. канд. мед. наук /М.М. Дуйсебеков – Барнаул, 2010. – 32 с.
22. Дуйсебеков, М. М. Содержание провоспалительных цитокинов и цилиарного нейротрофического фактора в плазме при ушибе головного мозга /М.М. Дуйсебеков, Ю.А.Понаморев// Вестник Российской Военно-медицинской академии. - 2008. - №9.- С.68.
23. Живолупов, С.А. Прогностическое значение содержания в крови нейротрофического фактора мозга (BDNF) при терапии некоторых функциональных и органических заболеваний нервной системы с применением адоптола /С.А Живолупов, И.Н Самарцев, А.А. Марченко // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2012. - №4. – С. 37-41.

24. Зиньковский, А. К. Особенности изменения уровня цилиарного нейротрофического фактора у женщин с различной степенью прогрессивности эпилепсии до и после лечения цераксоном / А.К.Зиньковский, Л.О Мусина, К.А.Зиньковский// Современные проблемы науки и образования. – 2011. - №6. – С. 100-5253.

25. Зиньковский, К.А. Особенности изменения цилиарного нейротрофического фактора у больных эпилепсией до и после терапевтической коррекции /К. А. Зиньковский, Л.О. Мусина, Н.Н.Слюсарь, А.К.Зиньковский, Г.М Зубарева//Аллергология и иммунология - 2011. - Т.12 №1. -с.12

26. Инструкция к набору Quantikine Human BDNF для количественного определения человеческого мозгового нейротрофического фактора в клеточных культурах, сыворотке и плазме. - R&D Systems, Inc. – 2009 - 15 с.

27. Инструкция к набору Quantikine Human CNTF для количественного определения цилиарного нейротрофического фактора нейротрофического фактора в клеточных культурах, сыворотке и плазме. - R&D Systems, Inc. - 2009.- 15 с.

28. Каменских, И. Д. Регуляция нейродегенеративных процессов при первичной открытоугольной глаукоме/И.Д.Каменских, В.С.Сидельникова// Наноматериалы и нанотехнологии: проблемы и перспективы. – 2013. - №2. – С. 42.

29. Левчук, Л. А. Исследования полиморфизма гена мозгового нейротрофического фактора у лиц с депрессивными и коморбидными сердечно-сосудистыми заболеваниями /Л.А Левчук, Е.В. Лебедева М.В.Шмиголь // Фундаментальные исследования. – 2012. - №5. – с. 78-96.

30. Малкова, Н.А. Рассеянный склероз /Н.А.Малкова, А.П.Иерусалимский - Новосибирск, ГМУ МЗ и СР РФ, 2006 – 198с.

31. Мельников, М. В. Острый рассеянный энцефаломиелит и рассеянный склероз: открытые вопросы дифференциальной диагностики на примере клинического случая / М. В. Мельников [и др.] // Журнал неврологии и

психиатрии имени С. С. Корсакова. - 2012. - Т. 112, № 9, вып. 2: Рассеянный склероз. - С. 52-58.

32. Мусина, О.В. Клинико-патобиохимические и иммунологические нарушения у больных эпилепсией женского пола и их терапевтическая коррекция: Автореф. диссерт. канд. мед. наук/О.В.Мусина – М., 2012. – 16 с.

33. Переседова, А. В. Компенсаторные механизмы при рассеянном склерозе (обзор) / А. В. Переседова, И.А. Завалишин // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. - №2. – С. 17-22.

34. Переседова, А. В. Глатирамера ацетат (копаксон) в лечении рассеянного склероза. Результаты длительного применения: возникающие вопросы и направления дальнейших исследований/ А.В.Переседова, И.А.Завалишин, Л.С.Адарчева // Нервные болезни. – 2012. - №4. – С. 26-30.

35. Переседова, А. В. Современные представления о патогенезе и лечении рассеянного склероза / А.В.Переседова, И.А.Завалишин // Нервные болезни. – 2005. - №2. – С. 11-16.

36. Петрухин, А. С. Клиническая нейрохимия / А. С. Петрухин, А.А.Терентьев, Г.С.Голосная, К.А.Маркевич, С.А.Дуленков // Сахарный диабет. - 2004. - Т. 21. - С.293-301.

37. Рафиева, Л. М. Фолдинг рекомбинантных нейротрофических факторов человека: Автореф. диссерт. канд. хим. наук /Л.М.Рафиева – М.,2004.– 44с.

38. Рафиева, Л. М. Получение рекомбинантных нейротрофинов человека для биомедицинских исследований /Л.М.Рафиева, Д.Р. Сафина, И.В.Демидюк // Вестник МИТХТ. – 2011. – Т. 6, №2. – С. 51 – 57.

39. Реброва, О.Ю. Описание статистического анализа данных в оригинальных статьях. Типичные ошибки /О.Ю. Реброва// Журн. неврологии и психиатрии. - 2010. - №11. – С. 71-74.

40. Самсонова, Т.В. Продукция нейротрофического фактора головного мозга у детей с перинатальными поражениями ЦНС и их отдаленными

последствиями/ Т.В. Самсонова // Вопросы современной педиатрии. – 2006. - Т. 5, № 1.- С. 516.

41. Селянина, Н. В. Патогенетические механизмы формирования очаговых и нейродинамических нарушений в остром и отдаленном периодах ушиба головного мозга: автореф. ... докт. мед. наук: 14.01.11 /Наталья Васильевна Селянина – Пермь, 2015. – 48 с.

42. Селянина, Н. В. Мозговой нейротрофический фактор как прогностический критерий развития когнитивных нарушений у больных острой черепно-мозговой травмой/Н.В.Селянина // Медицинский альманах. – 2013. - №1. – С. 127-129.

43. Силуянова, В. А. Атипичные формы рассеянного склероза: Автореф. канд. мед. наук / В.А.Силуянова – М., 2007. – 16 с.

44. Столяров, И.Д. Современный взгляд на иммуномодуляцию при рассеянном склерозе / И. Д. Столяров, А.М. Петров, Е.В.Ивашкова // Оригинальные исследования. Патогенез. – 2010. – Т.8, №1. – С. 10-13.

45. Хасаева, М. А. Алемтузумаб – новый препарат на основе моноканальных антител для лечения рассеянного склероза: терапевтические возможности и риски (обзор)/ М.А.Хасаева, Т.В. Горохова, А.Н.Бойко, Е.И.Гусев // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. - №2. – С. 32-41.

46. Цимбалюк, В.И. Экспрессия нейротрофических факторов в эмбриональном мозге человека 5- 9 недель гестации/ В. И. Цимбалюк, Г.И.Васильева, Н.Г. Чопик // Украинский нейрохирургический журнал. - 2003. - №3. - С.13-16.

47. Шебитц, В.Р. Внутривенные инъекции мозгового нейротрофического фактора стимулируют нейрогенез и улучшают сенсомоторное восстановление после инсульта/ В.Р. Шебитц,Т. Стайгледер, К.М. Купер-Кун // Журнал "Stroke (Инсульт)". - 2008. - №1. - С.61-67.

48. Шмиголь, М. В. Исследования полиморфизма гена мозгового нейротрофического фактора у лиц с депрессивными и коморбидными

сердечно-сосудистыми заболеваниями/М.В. Шмитоль, Л.А.Левчук//
Fundamental research. – 2012. - №5. – С. 190-215.

49. Шмидт, Т. Е. Нейродегенерация при рассеянном склерозе и нейропротективное действие глатирамера ацетата (обзор литературы) / Т. Е. Шмидт // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2012. - №9. – С. 123-128.

50. Шмидт, Т. Е. Рассеянный склероз: руководство для врачей/Т. Е. Шмидт, Н.Н.Яхно- М.: МЕДпресс-информ, 2010. – 272 с.

51. Шмидт, Т. Е. Рассеянный склероз: монография / Т.Е.Шмидт, Н.Н.Яхно, – М.: Медицина, 2012. – 164 с.

52. Abe, Y. Apoptotic cells associated with Wallerian degeneration after experimental spinal cord injury: A possible mechanism of oligodendroglial death/ Y. Abe, T. Yamamoto, Y. Sugiyama // J. Neurotrauma. - 1999. - №10. - P. 954-952.

53. Acosta, C.M. Exploring the role of nerve growth factor in multiple sclerosis: implications in myelin repair/C.M. Acosta, C. Cortes, H. MacPhee// CNS Neurol Disord Drug Targets. – 2013. – Vol.12(8). – P.1242-1256.

54. Aharoni, R. The immunomodulator glatiramer acetate augments the expression of neurotrophic factors in brains of experimental autoimmune encephalomyelitis mice /R. Aharoni, R.Eilam, H.Domev ,G. Labunskay, M.Sela, R.Arnou // Proc Natl Acad Sci U S A. - 2005. – Vol. 102. – P. 19045–19050

55. Aharoni, R. Oral treatment with laquinimod augments regulatory T-cells and brain-derived neurotrophic factor expression and reduces injury in the CNS of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis/R. Aharoni, R.Saada, R.Eilam [et al.] //J Neuroimmunol. – 2012. - №251. – P.14—24.

56. Almeida, R.D. Neuroprotection by BDNF against glutamate-induced apoptotic cell death is mediated by ERK and PI3 - kinase pathways/ R.D. Almeida, B.J.Manadas, C.V. Melo // Cell death and differentiation. - 2005. –Vol. 10. - P. 1329–1343.

57. Alvarez-Buylla, M. Neurogenesis in Adult Subventricular Zone/ M.Alvarez-Buylla, J.M.García-Verdugo // The Journal of Neuroscience. – 2002. – Vol. 22(3). - P. 629-634;
58. Enciu, Ana M Neuroregeneration in neurodegenerative disorders/Ana M Enciu, Mihnea I Nicolescu, Catalin G Manole // BMC Neurol. – 2011. - №1. – p. 1-7.
59. Arnon, R. Neuroprotection and neurodegeneration in MS and its animal model EAE effected by glatiramer acetate/R.Arnon, R.Aharoni //J.Neurol.Transm. – 2009. - v.116. - p. 1443-1449.
60. Azoulay, D. Short communication Lower brain-derived neurotrophic factor in serum of relapsing remitting / D. Azoulay// Journal of Neuroimmunology. – 2005. – Vol. 167. – P.215– 218.
61. Binder, D. K. Brain-derived neurotrophic factor/ D.K.Binder, H.E. Scharfman // Growth Factors. – 2004. – Vol. 9. – p. 123-131.
62. Brinkmann, V. FTY720 (fingolimod) in multiple sclerosis: therapeutic effects in the immune and the central nervous system /V.Brinkmann // Br J Pharmacol. – 2009. - №158. – P.1173–1182.
63. Butzkueven, H. Endogenous leukemia inhibitory factor production limits autoimmune demyelination and oligodendrocyte loss / H. Butzkueven, B.Emery, T.Ciprian, M. P.Marriott, T. J. Kilpatrick // Glia. - 2006. – Vol. 53. – P. 696–703.
64. Caggiula, M. Neurotrophic factors in relapsing remitting and secondary progressive multiple sclerosis patients during interferon beta therapy / M. Caggiula, A. P. Batocchi, G.Frisullo , F.Angelucci, A.K. Patanella, C.Sancricca // Clin Immunol. – 2006. – Vol. 118. – P. 77–82.
65. Chen, M. Glatiramer acetate-reactive T cells produce brain-derived neurotrophic factor /M. Chen, R.M.Valenzuela, S.Dhib-Jalbut // J Neurol Sci. – 2003. - №215. – P. 37-44.
66. Colombo, E. Stimulation of the neurotrophin receptor TrkB on astrocytes drives nitric oxide production and neurodegeneration / E. Colombo, C.

Cordiglieri, G. Melli, J. Newcombe, M. Krumbholz, L.F. Parada // *J Exp Med.* - 2012. – Vol. 209. – P. 521–535.

67. Comini-Frota, E.R. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis /E. R. Comini-Frota, D.H. Rodrigues , E.C. Miranda, D. G. Brum , D.R. Kaimen-Maciel, E.A. Donadi , A.L.Teixeira Braz// *J Med Biol Res.* – 2012. – Vol.45(1). – P.68–71.

68. Constantin, G. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis /G. Constantin, S. Marconi, B. Rossi, S. Angiari, L. Calderan, E. Anghileri // *Stem Cells.* – 2009. – Vol. 27. – P. 2624–2635.

69. Damasceno, A. Serum BDNF levels are not reliable correlates of neurodegeneration in MS patients / A. Damasceno, F. Cendes, A. S .Moraes, A. Farias, L.M. Santos// *Mult Scler Relat Disord.* - 2015. – Vol. 4(1). – P. 65-66.

70. De Santi, L. Brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptor in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis /L. De Santi, P. Annunziata, E. Sessa, Bramanti P // *J. Neurol Sci.* – 2009. – Vol. 287. – P. 17–26.

71. Dhib-Jalbut, S. Pathogenesis of myelin/oligodendrocyte damage in multiple sclerosis / S.Dhib-Jalbut // *Neurology.* – 2007. - vol. 68 (Suppl.3). - P.13-21.

72. Duman, R.S. Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity / R. S. Duman // *Eur Psychiatry.* – 2002. – Vol. 3. – P. 306–310.

73. Dutta, R., Activation of the ciliary neurotrophic factor (CNTF) signalling pathway in cortical neurons of multiple sclerosis patients / R. Dutta, J. Donough, A.Chang, L.Swamy, A. Siu, G. J Kidd, R. Rudick, K.Mirnic, B.D.Trapp// *Brain.* – 2007. – Vol. 130(Pt 10). – P. 2566-2576.

74. Ernfors, P. Studies on the physiological role of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 in knockout mice/ P. Ernfors, J. Kucera // *Int. J. Dev. Biol.* – 1995. – Vol. 5. – P. 799

75. Fahnstock, M. / M.Fahnstock, D. Garzon, R. M.Holsinger, B.Michalski // *J Neural Transm Suppl.* – 2002. – Vol. 62. – P. 241-252.

76. Frotaa, E.R. Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse/ E.R. Frotaa, D.H.Rodriguesb // Psychoneuroendocrinology. – 2009. – Vol.34(2). – P. 172-180.

77. Fujimura, H. Brain-derived neurotrophic factor is stored in human platelets and released by agonist stimulation/ H. Fujimura, C.Altar, R.Chen // Thromb Heamost. – 2002. – Vol. 87. – P. 728-734.

78. Garrido, R. Nicotine up-regulates expression of neurotrophic factors and attenuates apoptosis of spinal cord neurons/ R. Garrido, M.Toborek // J.Neurochem. - 2003. - №2. - P. 26.

79. Ghasemi, N. Transplantation of human adipose-derived stem cells enhances remyelination in lyssolecithin-induced focal demyelination of rat spinal cord / N. Ghasemi, S. Razavi, M. Mardani, E. Esfandiari, H. Salehi, S.H. Zarkesh Esfahani // Mol Biotechnol. – 2014. – Vol. 56. – P.470–478.

80. Giess, R. Association of a null mutation in the CNTF gene with early onset of multiple sclerosis /R. Giess, M. Maurer, R. Linker// Arch Neurol. - 2002. – Vol. 59. – P. 407-409.

81. Gil-Ad, I. Effects of the anti-multiple sclerosis immunomodulator laquinimod on anxiety and depression in rodent behavioral models /I. Gil-Ad, B.H. Amit, L. Hayardeni, I. Tarasenko, M. Taler, R.U. Gueta, A. Weizman// J Mol Neurosci. – 2015. – Vol. 55(2). – P. 552-560.

82. Gold, S. M. Immune modulation and increased neurotrophic factor production in multiple sclerosis patients treated with testosterone /S.M. Gold, S. Chalifoux, B.S. Giesser, R.R. Voskuhl// J Neuroinflammation. - 2008 Vol. 5. – P.1742-2094.

83. Gold, S. M. Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls /S.M. Gold, K.H. Schulz, S. Hartmann// J Neuroimmunol. – 2003. – Vol. 138(1-2). – P.99-105.

84. Gravel, C. Adenoviral gene transfer of ciliary neurotrophic factor and brain-derived neurotrophic factor leads to long-term survival of axotomized motor

neurons / C. Gravel, R. Gotz, A. Lorrain, M. Sendtner // *Nat Med.* – 1997. - №3. –P. 765-770.

85. Hamamcioglu, K.L. Interferon-beta regulates cytokines and BDNF: greater effect in relapsing than in progressive multiple sclerosis/ K.L. Hamamcioglu, A.T. Reder // *Mult Scler.* – 2007. - №13(4). – P. 459-470.

86. He, Z. Role of Ciliary Neurotrophic Factor in the Proliferation and Differentiation of Neural Stem Cells Ding J / Z. He, J. Ruan, Z. Ma, C. LiuGong, K. Iqbal, S. Sun, H. Chen // *J Alzheimers Dis.* – 2013. - Vol. 37(3). – P. 587-592.

87. Hoffmann, V. A null mutation in the CNTF gene is not associated with early onset of multiple sclerosis /V. Hoffmann, C. Hardt // *Arch Neurol.* - 2002. – Vol. 59. – P. 1974-1975.

88. Hoffmann, S. Cognitive impairment in multiple sclerosis /S. Hoffmann, M. Tittgemeyer [et al] // *Curr Opin Neurol.* — 2007. — Vol. 20. — P. 275-280.

89. Hohlfeld, R. The neuroprotective effect of inflammation: implications for the therapy of multiple sclerosis/R. Hohlfeld, M. Kerschensteiner, C. Stadelmann H. Lassmann, H. Wekerle // *J Neuroimmunol.* – 2000. – Vol. 107. – P. 161-166.

90. Ikeda, O. Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on compression-induced spinal cord injury: BDNF attenuates downregulation of superoxide dismutase expression and promotes up-regulation of myelin basic protein expression/ O. Ikeda, M. Murakami, H. Ino [et al.] // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* - 2002. – Vol. 61. - P. 142–153.

91. Jones, J.L. Improvement in disability after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis is associated with neuroprotective autoimmunity/J.L. Jones, J.M. Anderson, C.L. Phuah [et al.] // *Brain.* – 2010. - №133. – P. 2232—2247.

92. Jonhagen, M. E. Nerve growth factor treatment in dementia /M.E. Jonhagen // *Alzheimer Dis. Assoc Disord.* – 2000. - №14. – P. 31-38.

93. Karege, F. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity/ F. Karege,G. Bondolfi , N. Gervasoni // *Biol. Psychiatry.* - 2005. - №9. - P. 1068-1072.

94. Kaufman, J. Brain-derived neurotrophic factor-5-HTTLPR gene interactions and environmental modifiers of depression in children /J. Kaufman, B. Yang, H. Douglas-Palumberi, D. Grasso, D. Lipschitz, S. Houshyar, J.H. Krystal, J. Gelernter // *Biol. Psychiatry*. – 2006. – Vol. 59. – P. 673–680.
95. Kerschensteiner, M. Neurotrophic cross-talk between the nervous and immune systems: implications for neurological diseases/M. Kerschensteiner C. Stadelmann, G. Dechant // *Ann Neurol*. – 2003. - №53. – p. 292-304.
96. Koda, M. Brain-derived neurotrophic factor supresses delayed apoptosis of oligodendrocytes after spinal cord injury in rats/ M. Koda, M. Murakami, H. Ino // *J. Neurotrauma*. - 2002. - №6. - P. 777-785.
97. Lalive, P. H. Interferon-beta induces brain-derived neurotrophic factor in peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis patients / P. H. Lalive, S. Kantengwa, M. Benkhoucha, C. Juillard, M.Chofflon // *J Neuroimmunol*. – 2008. - Vol. 197(2). – P. 147-151.
98. Laske, C. BDNF serum and CSF concentrations in Alzheimer's disease, normal pressure hydrocephalus and healthy controls / C. Laske, E. Stransky, T. Leyhe, G.W. Eschweiler, W. Maetzler, A. Wittorf [et al.] // *J Psychiatr Res*. – 2007. - № 41. – P. 387-394.
99. Lesch, K. Passociation of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region /K.P. Lesch, D. Bengel, A. Heils, S.Z. Sabol, B. D. Greenberg, S. Petri, J. Benjamin, C.R. Müller, D.H. Hamer, D. L. Murphy // *Science*. – 1996. - Vol. 274(5292). – P. 1527-31.
100. Levi-Montalcini, R. The nerve growth factor: thirthy-five years later/ R. Levi-Montalcini // *Nobel lecture*. – 1986.
101. Lewin, O. R. Phisiology of the neurotrophins/ O.R. Lewin, Y.A.Barde // *Annu Rev Neurosci*. – 1996. – Vol. 19. – P. 289 – 317.
102. Lindquist, S. The balance of pro-inflammatory and trophic factors in multiple sclerosis patients: effects of acute relapse and immunomodulatory treatment/ S. Lindquist, S. Hassinger, J.A.Lindquist, M. Sailer // *Mult Scler*. – 2011. - №17(7). – P. 851-66.

103. Liu, J. T cell independent mechanism for copolymer-1 induced neuroprotection / J. Liu, T. Johnson, J. Lin // *Eur J Immunol.* – 2007. - №37. – P. 3143—3154.

104. Lobher, D. Neurotrophic factor effect on oxidative stress-induced neuronal death / D. Lobher, S. Golner, J. Hjelmhaug // *Neurochem. Res.* – 2003.- Vol. 28(5).- P. 749-756.

105. Lu, Z. Overexpression of CNTF in Mesenchymal Stem Cells reduces demyelination and induces clinical recovery in experimental autoimmune encephalomyelitis mice / Z. Lu, X. Hu, C. Zhu, D. Wang, X. Zheng, Q. Liu // *J Neuroimmunol.* - 2009. – Vol. 206. – P.58–69.

106. Makar, T. K. Cell-based delivery of brain-derived neurotrophic factor in experimental allergic encephalomyelitis / T. K. Makar, V.K. Nimmagadda, D. Trisler, C.T.Jr. Bever // *J Interferon Cytokine Res.* – 2014. - Vol. 34(8). – P. - 641-647.

107. Marchioni, E. Effectiveness of intravenous immunoglobulin treatment in adult patients with steroid-resistant monophasic or recurrent acute disseminated encephalomyelitis/ E. Marchioni, K. Marinou-Aktipi, C. Uggetti // *J Neurol.* – 2002. - № 249. – P. 100-104.

108. Massaro, A. R. Cerebrospinal-fluid ciliary neurotrophic factor in neurological patients / A. R. Massaro, C. Soranzo, A. Carnevale // *Eur Neurol.* – 1997. – Vol. 37(4). – P. 243-246.

109. Massaro, A. R. Are there indicators of remyelination in blood or CSF of multiple sclerosis patients? / A. R. Massaro, C. Soranzo, A. Carnevale, S. Lindquist // *Mult Scler.* – 1998. – Vol. 4(3). – P. 228-231.

110. McTigue, D.M. Neurotrophin-3 and brain-derived neurotrophic factor induce oligodendrocyte proliferation and myelination of regenerating axons in the contused adult rat spinal cord/ D.M. McTigue, P.J. Homer, B.T. Stokes F.H. Gage // *J Neurosci.* – 1998. - №18. – P. 5354-5365.

111. Mendez, M.F. Depression in relapsing-remitting multiple sclerosis / M.F. Mendez, C.P. Tilberu, S. Basimilli [et. al.] // *Arg. Neuroropsiquiatr.*- 2003.- 61(3A). – P.591 – 595.

112. Muresanu, D. F. Neuroprotection and neuroplasticity – a holistic approach and perspective/ D. F. Muresanu // *Journal of the Neurological Sciences*. – F. – 2007. - №257. – P. 38-43.

113. Nakazawa, T. Brain-derived neurotrophic factor prevents axotomized retinal ganglion cell death through mAPK and PI3K signaling pathways/ T. Nakazawa, N. Tamai, M. Mori // *Invest. Ophthalmol. Vis sci*. - 2002. – Vol. 10. - P. 3319–3326.

114. Noda, H.L. Fingolimod phosphate promotes the neuroprotective effects of microglia/H.L. Noda, H. Takeuchi, T. Mizuno, A. Suzumura// *J Neuroimmunol*. – 2013. - № 256(1-2). – P. 13-8.

115. Prior, M. The neurotrophic compound J147 reverses cognitive impairment in aged Alzheimer's disease mice/ M. Prior // *Alzheimer's Research & Therapy*. – 2013. – Vol. 8. – P. 78-94.

116. Razavi, S. Comparing brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor secretion of induced neurotrophic factor secreting cells from human adipose and bone marrow-derived stem cell / S. Razavi, M.R. Razavi, H. Zarkesh, H. Esfahani, M. Kazemi, F. Mostafavi // *Dev Growth Differ*. – 2013. – Vol. 55. – P. 648–655.

117. Rist, J.M. The adult human oligodendrocyte precursor cell: a key player in myelin repair / J.M. Rist, R.J.M. Franklin. // In : *Multiple sclerosis: recovery of function and neurorehabilitation* / editors, Jurg Kesselring, Giancarlo Comi, Alan J.Thompson. Cambridge University Press. – 2010. – P. 53-59

118. Robinson, R. C. The structures of the neurotrophin-4 homodimer and the brain-derived neurotrophic factor/ R.C. Robinson, C. Redziejewski, G. Spraggon, M.R. Kostura, L.D. Burtnick // *Protein Sci*. – 1999. - №8. – p. 2589 – 2597.

119. Rockenstein, E. Regional comparison of the neurogenic effects of CNTF-derived peptides and .../ E. Rockenstein, K. Ubhi, E. Doppler // *J Alzheimers Dis*. – 2011. – Vol. 27(4). – P. 743-752.

120. Salehi, Z. Ciliary neurotrophic factor role in myelin oligodendrocyte glycoprotein expression in Cuprizone-induced multiple sclerosis mice / Z. Salehi, S.P. Hadiyan, R. Navidi // *Cell Mol Neurobiol.* - 2013. – Vol.33. – P.531–535

121. Sarchielli, P. Production of brain-derived neurotrophic factor by mononuclear cells of patients with multiple sclerosis treated with glatiramer acetate, interferon-beta 1a, and high doses of immunoglobulins/ P. Sarchielli, M. Zaffaroni, A. Floridi // *Mult Scler.* – 2007. – Vol. 13(3). – P. 313-331.

122. Sarchielli, P. Brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis / P. Sarchielli, L. Greco, A. Stipa, A. Floridi, V. Gallai // *J Neuroimmunol.* – 2002. - Vol. 132 (1-2). – P.180-188.

123. Sanches –Lopes, M.R. Multiple sclerosis and depression / M.R. Sanches –Lopes, P.T. Olivares [et. al.]// *Rev. Neurol.*- 2004. – 38(6) – P.524-529.

124. Schonrock, L. M. Interleukin-6 expression in human multiple sclerosis lesions /L.M. Schonrock, G. Gawlowski, W. Bruck // *Neurosci Lett.* – 2000. – Vol. 294. – P. 45–48.

125. Sleeman, M. W. The ciliary neurotrophic factor and its receptor, CNTFR alpha / M. W. Sleeman, K.D. Anderson, P.D. Lambert, G.D. Yancopoulos, S.J. Wiegand // *Pharm Acta Helv.* – 2000. - Vol. 74(2-3). – P. 265-272.

126. Song, F. Complexity of trophic factor signaling in experimental autoimmune encephalomyelitis: differential expression of neurotrophic and gliotrophic factors / F. Song, M. Bandara, H. Deol, J.A. Loeb, B. Joyce, R.P. Lisak R. P. // *J Neuroimmunol.* – 2013. – Vol. 262(0). - P.11–18.

127. Stankoff, B. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) enhances myelin formation: A novel role for CNTF and CNTF-related molecules / B. Stankoff, M.S. Aigrot, F. Noël, A. Wattilliaux, B. Zalc, C. Lubetzki // *J Neurosci.* -2002. – Vol. 2. – P. 9221–9227.

128. Sun, X. Neuroprotection of brain-derived neurotrophic factor against hypoxic injury in vitro requires activation of extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3 – kinase / X. Sun, H. Zhou, X. Luo // *Int. J. Devl. Neuroscience.* - 2008. - Vol.26. - P. 363–370.

129. Takeshima, Y. Neuroprotection with intraventricular brain-derived neurotrophic factor in rat venous occlusion model / Y. Takeshima // *Neurosurgery*. - 2011. - Vol. 68. - P. 1334–1341.

130. Thöne, J. Modulation of autoimmune demyelination by laquinimod via induction of brain-derived neurotrophic factor / J. Thöne, G. Ellrichmann, S. Seubert, I. Peruga, D. H. Lee, R. Conrad, L. Hayardeny, G. Comi, S. Wiese, R.A. SLinker, R. Gold // *Am J Pathol.* – 2012. – Vol. 180(1). – P. 267-274.

131. Thöne, J. Laquinimod: a promising oral medication for the treatment of relapsing–remitting multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*/ J. Thöne, R. Gold // *Mult Scler.* – 2007. - №7. – P. 365–370.

132. Tobias, C. A. Delayed grafting of BDNF and NT-3 producing fibroblasts into the injured spinal cord stimulates sprouting; partially rescues axotomized red nucleus neurons from loss and atrophy, and provides limited regeneration/ C.A. Tobias, J.S. Shumsky, M. Shibata M. // *Exp. Neurol.* - 2003. - №184(1). - P. 97-113.

133. Tokumine, J. Changes in spinal GDNF, BDNF, and NT-3 expression after transient spinal cord ischemia in the rat / J. Tokumine [et al.] // *J. Neurosci Res.* - 2003. - Vol. 74(4). - P. 552-561

134. Tongiorgi, E. Altered serum content of brain-derived neurotrophic factor isoforms in multiple sclerosis / E. Tongiorgi, A. Sartori, G. Baj, A. Bratina, F. Di Cola, M. Zorzon, G. Pizzolato // *J. Neurol Sci.* – 2012. - Vol. 320(1-2). – P.161-165.

135. Vacaras, V. Effect of glatiramer acetate on peripheral blood brain-derived neurotrophic factor and phosphorylated TrkB levels in relapsing-remitting multiple sclerosis / V. Vacaras, Z.Z. Major, D.F. Muresanu, T.L. Krausz, I. Marginean, D.A. Buzoianu // *CNS Neurol Disord Drug Targets.* – 2014. – Vol. 13(4). – P. 647-651.

136. Vanderlocht, J. Leukemia inhibitory factor is produced by myelin-reactive T cells from multiple sclerosis patients and protects against tumor necrosis factor- α -induced oligodendrocyte apoptosis / J. Vanderlocht, N. Hellings, J.J.

Hendriks, F. Vandenabeele, M. Moreels, M. Buntinx // *J Neurosci Res.* – 2006. – Vol.83. – P. 763–774.

137. Waterhouse, E. G. New insights into the role of brain – derived neurotrophic factor in synaptic plasticity / E.G. Waterhouse, B. Xu // *Mol Cell Neurosci.* – N. Y., 2009. - №42. – P. 81-89.

138. Wayne, D.C. Neuroplasticity in mood disorders. Dialogues in clinical neuroscience / D. C. Wayne // *Neuroplasticity.* – 2004. – Vol. 6. – P. 199–216.

139. Wegner, C. Laquinimod interferes with migratory capacity of T cells and reduces IL-17 levels, inflammatory demyelination and acute axonal damage in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis/ C.Wegner, C. Stadelmann, R. Pförtner [et al.] // *J Neuroimmunol.* – 2010. - №227. – P.133-143.

140. Yoshimura, S. Altered production of brain-derived neurotrophic factor by peripheral blood immune cells in multiple sclerosis / S.Yoshimura, H. Ochi, N. Isobe, T. Matsushita, K. Motomura, M. Minohara, J.Kira // *Multiple sclerosis journal.* – 2010. – Vol. 16. – P. 1178 – 1188.

141. Zeimssen, T. Glatiramer acetate specific T-helper 1- and 2-type produce BDNF: implication for MS therapy / T. Zeimssen, T. Kumpfel, W. Klinkert [et al]// In: *Milestones in the first decade of intervention, Poster session abstract book.* – 2005. – Prague. - p.13.

142. Zhang, J. Human bone marrow stromal cell treatment improves neurological functional recovery in EAE mice /J. Zhang, Y.Li, J. Chen, Y. Cui, M. Lu, S.B. Elias // *Exp Neurol.* – 2005. – Vol. 195. – P.16–26.