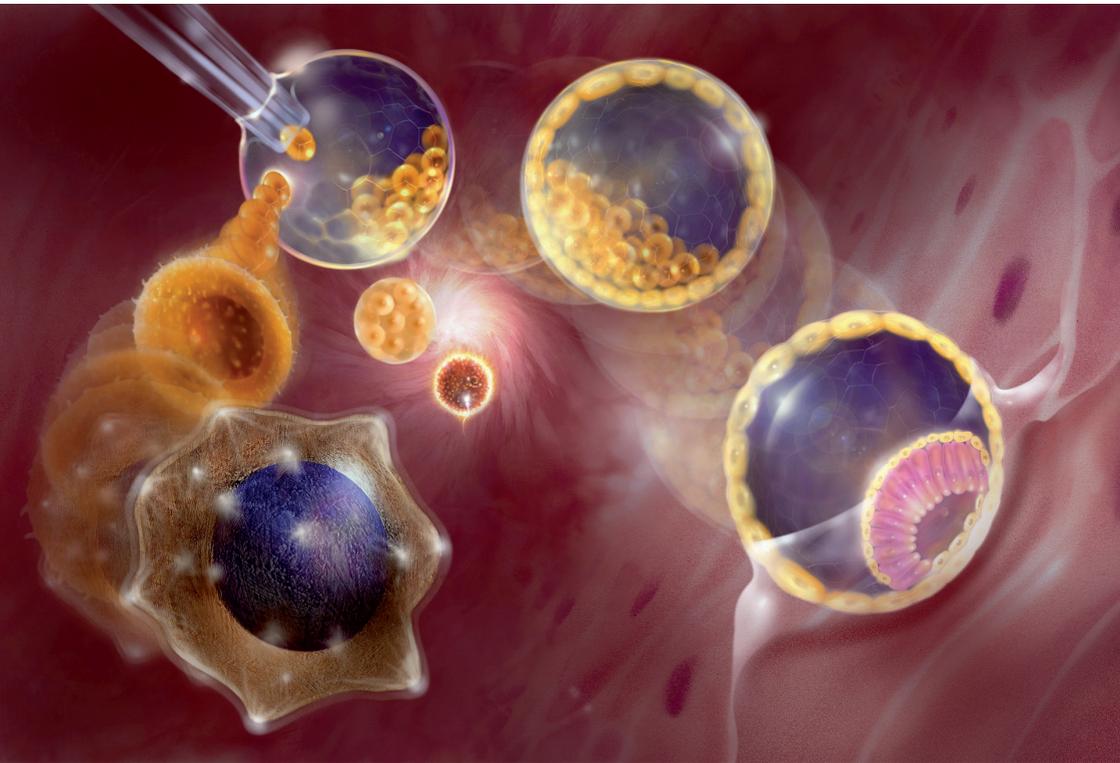


Сапарбаев С.С.
Сыздыкова Б.Р.



**ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ НА
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
У БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ**

Нур-Султан, 2020

Сапарбаев С. С., Сыздыкова Б. Р.

**Влияние трансплантации
фетальных нейроцитов
на клиничко-иммунологические показатели
у больных рассеянным склерозом**

Нур-Султан, 2020

УДК 616
ББК 53.3
С19

«Влияние трансплантации фетальных нейроцитов на клинико-иммунологические показатели у больных рассеянным склерозом», Сапарбаев С. С., Сыздыкова Б. Р., — Нур-Султан: Типография «IndigoPrint», 2020. — 110 с.

ISBN 978-601-80818-4-2

Рассеянный склероз — достаточно широко распространённое заболевание центральной нервной системы, которое поражает в основном лиц молодого возраста и почти с неизбежностью приводит к инвалидизации. Выключение в связи с инвалидизацией большого числа трудоспособных людей из активной жизни, высокая стоимость диагностики, лечения, реабилитации и социальной помощи делают проблему рассеянного склероза социально и экономически значимой.

Распространенность рассеянного склероза увеличивается во многих странах, что связано не только с ростом средней продолжительности жизни больных рассеянным склерозом и расширением возрастных границ заболеваемости, но и истинным повышением заболеваемости.

В настоящий момент не осталось сомнений, что аутоиммунные механизмы имеют большое значение в патогенезе рассеянного склероза.

Большинство существующих в настоящее время терапевтических подходов базируется на гипотезе, согласно которой рассеянный склероз является органоспецифическим аутоиммунным заболеванием. В 90-е годы в лечебную практику внедрены иммуносупрессивные препараты, иммуномодуляторы (бета-интерферон, платиримера-ацетат, иммуноглобулины для внутривенного введения).

Выбор эмбриональной нервной клетки связан с тем, что была доказана её способность приживляться и устанавливать синаптические связи с нейронами реципиента.

Экспериментально доказано, что низкодифференцированные клетки способны мигрировать в очаги повреждения и интенсифицировать репаративные процессы. Пересаженная эмбриональная нервная клетка развивается в мозге реципиента, её клеточные элементы пролиферируют, дифференцируются и интегрируются с мозгом реципиента.

Получены положительные результаты лечения рассеянного склероза методом фетальной нейротрансплантации. Позитивный опыт применения клеточных трансплантаций в терапии дегенеративных неврологических заболеваний, таких как паркинсонизм, синдром Гейера определяет интерес исследователей к углубленной разработке этого направления, а именно совершенствование методов трансплантации клеток, поиск объективных критериев контроля эффективности лечения, поэтому является актуальным поиск новых методов терапии и реабилитации больных рассеянным склерозом.

Целью исследования была отразить оценку влияния клеточной нейротрансплантации на клиническую и иммунопатологическую активность рассеянного склероза.

В монографии описан метод фетальной нейротрансплантации для коррекции иммунопатологического состояния в комплексном лечении рассеянного склероза.

Проведена оценка результатов клинической динамики после фетальной нейротрансплантации у больных рассеянным склерозом. Впервые изучены изменения иммунологического статуса у больных рассеянным склерозом после трансплантации фетальных нейроцитов.

Показано, что положительное влияние трансплантации фетальных нейроцитов на клинические проявления рассеянного склероза сопровождается нормализацией основных параметров клеточного, гуморального иммунитета и факторов неспецифической резистентности.

Впервые предложены в качестве лабораторных критериев эффективности трансплантации фетальной нейроцитов повышение показателей CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов, ответственных за клеточное звено иммунитета. А так же предложен в качестве клинического критерия эффективности трансплантации фетальных нейроцитов снижение показателя шкалы инвалидизации EDSS на 1 балл.

Результаты иммунологического исследования дополняют существующие на сегодняшний день представления о механизмах нарушений в системе иммунитета при рассеянном склерозе.

Установлено положительное влияние фетально-клеточной терапии на степень инвалидизации, скорость прогрессирования, частоту обострений заболевания.

Установлено, что трансплантация пролиферирующих и дифференцирующих фетальных клеток активизирует клеточное звено и стабилизирует активность гуморального звена иммунитета и исследование иммунологического статуса может быть предложено для внедрения в комплексное обследование больных рассеянным склерозом, получавшим клеточную терапию.

УДК 616
ББК 53.3

ISBN 978-601-80818-4-2

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

**СВИДЕТЕЛЬСТВО
О ВНЕСЕНИИ СВЕДЕНИЙ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР
ПРАВ НА ОБЪЕКТЫ, ОХРАНЯЕМЫЕ АВТОРСКИМ ПРАВОМ**

№ 11612 от «12» августа 2020 года

Фамилия, имя, отчество, (если оно указано в документе, удостоверяющем личность) автора (ов):

САПАРБАЕВ САМАТ САГАТОВИЧ, СЫЗДЫКОВА БАГЫЖАН РЫСБАЕВНА

Вид объекта авторского права: **произведение науки**

Название объекта: **Влияние трансплантации фетальных нейроцитов на клинико-иммунологические показатели у больных рассеянным склерозом**

Дата создания объекта: **11.08.2020**



Краткое URL-адресное указание: <http://www.kazpatent.kz/ru/сайт/аннотация>
"Авторский код" в базе данных: <https://copyright.kazpatent.kz>

Подлинность документа возможно проверить на сайте kazpatent.kz
в разделе «Авторское право» <https://copyright.kazpatent.kz>

Подписано ЭЦП

Куантыров Е.С.

СОДЕРЖАНИЕ

	ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	5
	ВВЕДЕНИЕ.....	6
	ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	10
1	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1	Современное состояние проблемы рассеянного склероза	10
1.2	Современные аспекты терапии рассеянного склероза.....	22
1.3	Развитие нейротрансплантации в эксперименте и клинике	25
2	МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	29
2.1	Характеристика клинического материала	29
2.2	Метод клинического исследования	31
2.3	Методы исследования иммунологического статуса.....	32
2.4	Метод магнитно-резонансного томографического исследования.....	34
2.5	Метод трансплантации фетальных нейроцитов.....	34
2.6	Метод статистической обработки полученных результатов.....	35
3	РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯНЫМ СКЛЕРОЗОМ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ.....	36
4	РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯНЫМ СКЛЕРОЗОМ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ.....	66
5	СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДО И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАССЕЯНЫМ СКЛЕРОЗОМ	81
6	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
7	ВЫВОДЫ	93
8	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	94
9	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	95
10	ПРИЛОЖЕНИЕ	107

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

РС - рассеянный склероз
ЭАЭ - экспериментальный аллергический энцефаломиелит
ОБМ - основной белок миелина
ЦСЖ – цереброспинальная жидкость
ИФА – иммуноферментный анализ
Ig G – иммуноглобулины класса G
ГЭБ - гематоэнцефалический барьер
CD8⁺ - Т-супрессоры/цитотоксические
CD4⁺ - Т -хелперы/индукторы
ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы
Ig M – иммуноглобулины класса M
ИЛ - интерлейкин
ФНО- фактора некроза опухоли
ИФН - интерферон
ШК - шкала Куртцке
FS – Functional Systems
СНД – сумма неврологического дефицита
СП - скорость прогрессирования заболевания
CD3⁺ - зрелые Т- лимфоциты
CD16⁺ -натуральные киллеры
CD20⁺ - В-лимфоциты
ИРИ - иммунорегуляторный индекс (CD4⁺/ CD8⁺)
Ig A –иммуноглобулины класса А
ТФН - трансплантация фетальных нейроцитов
НСТ тест- тест нитросинего тетразоля
ИС- индекс стимуляции
МРТ - магнитно-резонансная томография

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз - достаточно широко распространённое заболевание центральной нервной системы, которое поражает в основном лиц молодого возраста и почти с неизбежностью приводит к инвалидизации. Выключение в связи с инвалидизацией большого числа трудоспособных людей из активной жизни, высокая стоимость диагностики, лечения, реабилитации и социальной помощи делают проблему рассеянного склероза социально и экономически значимой [1,2].

Неясность ряда вопросов этиологии, патогенеза заболевания, трудности диагностики на ранних стадиях заболевания, своеобразии клинического течения значительно затрудняют его лечение, что наряду с большой социальной значимостью проблемы выводит изучение рассеянного склероза в круг наиболее актуальных задач неврологии.

Распространенность рассеянного склероза увеличивается во многих странах, что связано не только с ростом средней продолжительности жизни больных рассеянным склерозом и расширением возрастных границ заболеваемости, но и истинным повышением заболеваемости [3,4].

Причина рассеянного склероза остаётся неясной. Современный взгляд на этиологию данного заболевания предполагает, прежде всего, ее мультифакторность, так как в возникновении рассеянного склероза играют роль генетическая предрасположенность, инфекция как пусковой механизм, климатогеографический фактор, стресс, интоксикация и др. Это подтверждается данными многочисленных исследований, проведённых в России и за рубежом с целью выяснения причин заболевания и механизмов его развития [5,6, 7 стр.- 101].

Одним из наиболее значительных достижений в изучении рассеянного склероза является доказательство участия иммунной системы в его патогенезе. В настоящий момент не осталось сомнений, что аутоиммунные механизмы имеют большое значение в патогенезе рассеянного склероза. Хотя до сих пор не определено, первичны или вторичны аутоиммунные реакции при этом заболевании, считается доказанным, что они опосредованно участвуют в разрушении миелина и нарушении проведения импульса.

Большинство существующих в настоящее время терапевтических подходов базируется на гипотезе, согласно которой рассеянный склероз является органоспецифическим аутоиммунным заболеванием. Начиная с последней трети прошлого века в лечении рассеянного склероза произошли значительные перемены. Еще в 70-х годах XX века лечение этого заболевания ограничивалось лишь проведением симптоматической терапии. В 80-е годы появились возможности эффективной терапии сначала адренкортикотропным гормоном, а затем и метилпреднизолоном. В 90-е годы в лечебную практику внедрены иммуносупрессивные препараты, иммуномодуляторы (бета-интерферон, глатирамера-ацетат, иммуноглобулины для внутривенного введения).

Современная тактика лечения больных рассеянным склерозом связана с поиском внедрением новых способов иммунокорректирующей терапии [8].

Однако успехи современной фармакологии позволяют лишь облегчить страдания больных рассеянного склероза и не решают кардинальной проблемы восстановления утраченной в результате болезни функций.

Нейробиологические исследования последних лет свидетельствуют о возможности восстановления нарушенных функций мозга посредством пересадок эмбриональной нервной ткани. Необычайно широкий и пристальный интерес к проблемам нейротрансплантации обусловлен новыми возможностями, которые открывает этот метод для решения задач фундаментального и прикладного характера в области нейробиологии и неврологии. В этой связи достаточно упомянуть такие проблемы как изучение факторов развития регенерации нервных тканей или обратиться к исключительно важным для клинической практики вопросам компенсации пересаженной эмбриональной тканью дефектов, формирующихся при демиелинизации нервных оболочек. Различные аспекты нейротрансплантации активно разрабатываются в ряде стран.

Выбор эмбриональной нервной клетки связан с тем, что была доказана её способность приживляться и устанавливать синаптические связи с нейронами реципиента [9].

Экспериментально доказано, что низкодифференцированные клетки способны мигрировать в очаги повреждения и интенсифицировать репаративные процессы [10]. Пересаженная эмбриональная нервная клетка развивается в мозге реципиента, её клеточные элементы пролиферируют, дифференцируются и интегрируются с мозгом реципиента [11,12].

В современном мире накоплен определенный опыт лечения трансплантацией эмбриональных нервных тканей человека ранее неизлечимых традиционными методами органических заболеваний нервной системы. Получены положительные результаты лечения рассеянного склероза методом фетальной нейротрансплантации [13 стр.-17].

Позитивный опыт применения клеточных трансплантаций в терапии дегенеративных неврологических заболеваний, таких как паркинсонизм, синдром Гейера определяет интерес исследователей к углубленной разработке этого направления, а именно совершенствование методов трансплантации клеток, поиск объективных критериев контроля эффективности лечения, поэтому является актуальным поиск новых методов терапии и реабилитации больных рассеянным склерозом

Целью исследования было дать оценку влияния клеточной нейротрансплантации на клиническую и иммунопатологическую активность рассеянного склероза.

В задачи исследования входило

1. Оценить динамику клинической активности рассеянного склероза после трансплантации фетальных нейроцитов.

2. Изучить изменения иммунологических показателей на фоне фетальной нейротрансплантации у больных рассеянным склерозом.

3. Провести сравнительный анализ иммунологических и клинических показателей после фетальной нейротрансплантации у больных рассеянным склерозом.

4. Оценить эффективность фетальной нейротрансплантации по результатам клинико-иммунологических исследований у больных рассеянным склерозом.

Научная новизна

Предложен метод фетальной нейротрансплантации для коррекции иммунопатологического состояния в комплексном лечении рассеянного склероза.

Проведена оценка результатов клинической динамики после фетальной нейротрансплантации у больных рассеянным склерозом.

Впервые изучены изменения иммунологического статуса у больных рассеянным склерозом после трансплантации фетальных нейроцитов.

Показано, что положительное влияние трансплантации фетальных нейроцитов на клинические проявления рассеянного склероза сопровождается нормализацией основных параметров клеточного, гуморального иммунитета и факторов неспецифической резистентности.

Впервые предложены в качестве лабораторных критериев эффективности трансплантации фетальной нейроцитов повышение показателей CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов, ответственных за клеточное звено иммунитета.

Впервые предложен в качестве клинического критерия эффективности трансплантации фетальных нейроцитов снижение показателя шкалы инвалидизации EDSS на 1 балл.

Результаты иммунологического исследования дополняют существующие на сегодняшний день представления о механизмах нарушений в системе иммунитета при рассеянном склерозе.

Изменения количественного состава иммунокомпетентных клеток и их субпопуляций, нарушение гуморального звена иммунитета, факторов неспецифической резистентности, характеризуется признаками иммунодефицита, преимущественно клеточного звена иммунитета.

Установлено положительное влияние фетально-клеточной терапии на степень инвалидизации, скорость прогрессирования, частоту обострений заболевания.

Установлено, что трансплантация пролиферирующих и дифференцирующих фетальных клеток активизирует клеточное звено и стабилизирует активность гуморального звена иммунитета и исследование иммунологического статуса может быть предложено для внедрения в комплексное обследование больных рассеянным склерозом, получавшим клеточную терапию.

1. В иммунном статусе больных рассеянным склерозом исходно выявлено иммунодефицитное состояние.

2. Трансплантация фетальных нейроцитов активизирует клеточное звено иммунитета и одновременно нормализует повышенную активность гуморального иммунитета, что лежит в основе стабилизации клинической активности рассеянного склероза и приводит к существенному регрессу неврологического дефекта.

3. Достоверное повышение содержания CD3⁺- лимфоцитов и CD8⁺-лимфоцитов в периферической крови позволяют рассматривать данные параметры иммунного статуса в качестве лабораторных критериев эффективности трансплантации фетальных нейроцитов.

4. Фетально-клеточная терапия может быть предложена для коррекции клинической и иммунопатологической активности рассеянного склероза в комплексном лечении.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современное состояние проблемы рассеянного склероза

Рассеянный склероз (РС) впервые описан и выделен в отдельную нозологическую форму в 1868 г. французским невропатологом Жаном Мартеном Шарко (1825-1893). Шарко обратил внимание на возникновение заболевания в молодом возрасте, ремитирующий характер его течения и многоочаговость (рассеянность) поражения головного и спинного мозга в форме мелких островков глиосклероза (бляшек). Эта «триада Шарко» и по сей день лежит в основе дифференциальной диагностики рассеянного склероза. В 1878 г. Луисом Ранвье был открыт миелин и описаны олигодендроциты образующие миелин. С этого времени рассеянный склероз называется демиелинизирующим заболеванием. Слово «склероз» сохранилось в названии исторически и отражает только конечную стадию формирования фокуса демиелинизации. С момента первого описания клинической картины рассеянного склероза французским невропатологом Ж.М. Шарко прошло более 100 лет. Но особенности клинического течения данного заболевания, характеризующегося внезапными обострениями и ремиссиями вплоть до полного исчезновения клинических проявлений болезни, продолжают привлекать внимание исследователей.

После описания Марбургом в 1905 году острой формы РС и небольших вспышек этой болезни в 20-30 годы возникло мнение о вирусной этиологии заболевания. Представление о роли вирусов в этиологии РС развиваются на основе достижений вирусологии, особенно в области изучения механизмов персистенции указанных возбудителей. Здесь можно выделить три этапа. Первый (40-80-е годы) – изучение вирусных антител в крови и спинномозговой жидкости больных, а также выделение вирусов из мозга умерших больных РС. Второй этап (начало 80-х годов) – идентификация вирусных антител, синтезированных в пределах гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) в нервной ткани и спинномозговой жидкости, и выделение из мозга лиц, погибших от РС, специфических вирусных антигенов. Третий этап – (конец 80-х годов) – определение вирусспецифических генетических последовательностей в лимфоцитах больных РС, а также их выявление с помощью показателей характеризующих функциональную активность вирусного генома [14 стр.- 3, 15]. Третий этап в изучении вирусной этиологии РС, более перспективен, поскольку впервые появилась техническая возможность изучать механизмы собственно персистенции вирусов путем определения вирусспецифических генетических последовательностей в геноме клеток. Этот метод осуществляется с помощью метода амплификации генов, что позволяет выявить чрезмерно малые количества вирусного ДНК в зараженной клетке. Reddy E. и соавторы исследовали с помощью метода амплификации генов образцы крови 6 больных РС и выявили в лимфоцитах последовательности ДНК, сходные с участками генома HTLV-I (человеческого Т-лимфоцитарного вируса I типа). Был сделан вывод о тесной связи этих вирусспецифических генетических последовательностей в ДНК лимфоцитов с РС. Допускается, что в качестве

возбудителя в данной ситуации может выступать HTLV-I или неизвестный родственный вирус [16]. Следует отметить, что эта работа явилась логическим продолжением исследований Koprowski H. соавторов, которые в 1985г. впервые обнаружили у больных РС антитела к HTLV-I [17].

На современном этапе определенный успех в понимании этиологии РС достигнут после выделения из мозга и В-лимфоцитов больных персистирующего специфического ретровируса. Этот ассоциированный с РС ретровирус (MS-associated – retrovirus) относится к группе онковирусов и не обнаружен ни у здоровых людей, ни при других неврологических заболеваниях. Характерным является факт идентификации ретровируса у больных РС, не получавших иммуносупрессивной терапии [14 стр.- 4].

Наряду с чисто вирусологическими исследованиями по изучению этиологии РС существует также генетическое и географическое направления исследований. Эти исследования проводились в двух аспектах: один – изучение семей больных, в том числе близнецовым методом, другой – установление связи РС с различными генетическими маркерами. Установлено, что частота семейного РС не превышает 10%. В соответствии с исследованиями, проведенными в 60-х годах, риск развития болезни среди родственников больных РС в 15-20 раз выше, чем среди населения вообще [7 стр.-112]. В результате одного из самых больших исследований, которое было проведено в Канаде, удалось собрать сведения о 3154 детях и сибсах 815 больных РС в плане возможности развития у них этого заболевания. Полученные данные показали, что данная категория лиц имеет риск развития заболевания от 3 до 5% по сравнению с 0,1% общей популяции, т.е. риск заболеть РС в 30-50раз больший, чем у представителей общей популяции [18]. Генетическая подверженность РС еще более четко проявляется при исследовании близнецов, страдающих этим заболеванием. В работе, проведенной в Финляндии, проанализировали 15815 пар близнецов. Было установлено, что 13 пар больны РС, в том числе 7 – монозиготных и 6 дизиготных, причем у 2 монозиготных пар симптомы болезни были одинаковыми. Авторы делают вывод о генетической подверженности РС, однако они не смогли установить генетические детерминанты этого процесса [19].

Изучение наследственных факторов в этиологии РС с помощью генетических маркеров подняло проводившиеся работы на качественно новый уровень и придало им мощный импульс. В качестве маркеров здесь используется ряд показателей: группы крови, антигены системы HLA, эритроцитарные антигены, ненасыщенные жирные кислоты, базисные ферменты основных метаболических реакций, локусы, кодирующие тяжелые и легкие цепи иммуноглобулинов, гены α - и β -цепи рецептора Т-клеток и др. [14 стр. - 5]. В настоящее время достоверно установлено, что риск развития РС ассоциируется с определенными антигенами HLA-A3, B7, DR2, DW2, DQ6 для стран Европы и Северной Америки. На современном этапе генетические исследования направлены на изучение связи РС с генами различных цитокинов, ростковых факторов и молекул адгезии [20 стр.- 12].

Третьей составляющей этиологии РС наряду с инфекцией и генетическими механизмами является географический фактор, который изучается в рамках

эпидемиологических исследований. При этом выделяются три зоны, различающиеся по показателю распространенности РС: для зоны высокого риска более 50 случаев, зоны среднего риска от 10 до 50 случаев, низкого менее 10 случаев на 100 000 населения [21].

Несмотря на многолетние исследования, следует отметить, что причина рассеянного склероза до сих пор точно не известна. Общепринятым остается мнение, что РС является мультифакторным заболеванием, в иницировании и развитии которого важную роль играет вирусная инфекция, наследственная предрасположенность, которая реализуется полигенной системой, ответственной за формирование иммунного ответа и определенного типа метаболизма, а также неизвестные пока географические факторы [20 стр. - 17].

Основным патофизиологическим процессом при РС является демиелинизация. Патоморфологические исследования при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) показали, что разрушение миелина связано с воспалением и инфильтрацией ткани мозга макрофагами и Т-хелперами 1 типа, синтезирующими активационные цитокины [22, 23, 24].

Несмотря на то, что до сих пор не был идентифицирован специфический антиген, активирующий Т-клетки при РС, поиски в этом направлении ведутся достаточно интенсивно. Основанием является положение о том, что локальный аутоиммунный процесс, включающий активацию Т-хелперов против белковых компонентов ЦНС, является ключевым в процессе демиелинизации [25].

После выявления при РС, как и при ЭАЭ, клонов активированных Т-лимфоцитов, сенсибилизированных к антигенам мозга, наибольшее распространение получила аутоиммунная теория возникновения РС. В настоящее время позиции аутоиммунитета существенно пересмотрены. Истинными аутоиммунными болезнями считаются только те, в патогенезе которых лежат лимфоциты, запускающие механизмы деструкции распознают именно нативные молекулы мембран собственных клеток или межклеточного вещества и инициируют иммунное воспаление [26]. Существует несколько гипотез формирования аутоиммунных реакций и их роли в патогенезе заболевания. Согласно теории Ф. Бернета (1983) в иммунной системе существуют генетически измененные лимфоидные клетки, способные реагировать против нормальных антигенов организма. В пользу этой теории говорит возможность поликлональной активации В-клеточной дифференцировки, в том числе вследствие нарушения регулирующей функции Т лимфоцитов. В то же время автор придавал значение нарушению физиологической изоляции иммунологически привилегированных органов, к антигенам которых не устанавливается естественная иммунологическая толерантность. Важным моментом в запуске аутоиммунных реакций является то, что одна и та же Т-клетка может реагировать как на внешний, так и на внутренний аутоантиген [27, 28].

Ряд исследователей значительную роль в развитии демиелинизации отводят механизмам молекулярной мимикрии. Так, проведенные исследования показали, что около 129 вирусных и бактериальных пептидов имеют сходные с основным белком миелина последовательности аминокислот [29,30,31]. По мнению авторов, при перекрестной реактивности иммунного ответа со своими

антигенами, аутоиммунный процесс не может выйти в режим полноценной иммуносупрессии, что определяет его самоподдерживающийся характер. Возможно, суперантигены могут играть определенную роль в активации потенциально аутоагрессивных Т-клеток. Эти вирусные или бактериальные белки, способные присоединяться к Т-лимфоцитам, независимо от их антигенной специфичности, минуя процессинг в антигенпредставляющих клетках. Связываясь с молекулами Т-клеточного рецептора (V-бета цепь) и HLA, суперантиген стимулирует поликлональную активацию Т-лимфоцитов с последующим развитием иммунодефицитного состояния, вследствие апоптоза [32,33]. Некоторые исследователи считают, что причиной срыва иммунологической толерантности могут явиться нарушения регуляторного влияния Т-супрессоров/киллеров, экспрессирующих маркер CD8⁺ [34]. С этих позиций аутоиммунные болезни рассматриваются как состояния, обусловленные иммунодефицитом, а не гиперактивацией иммунной системы. Предполагается также, что при РС оба этих состояния могут сочетаться [35].

Наибольший интерес с иммунологической точки зрения отводится основному белку миелина (ОБМ), который рассматривается как один из главных аутоантигенов. ОБМ составляет до 30% от общего содержания белков в миелине и состоит из одной полипептидной цепи из 170 аминокислотных остатков; содержит большое количество гистидина, лизина и аргинина. Основное назначение ОБМ стабилизация мембраны, снижение текучести липидов. По данным некоторых исследований структура миелиновой оболочки при РС имеет признаки незрелости, что в свою очередь может влиять на восприимчивость к РС [36].

В ОБМ имеется несколько антигенных детерминант, которые расположены в разных частях молекулы. В исследованиях было показано, что в составе ОБМ кроме иммуногенных участков есть также фрагменты, которые не стимулируют, а подавляют функции иммунной системы [37].

Применение ОБМ в качестве маркера деструкции миелина открыло новое направление в нейроиммунологии, посвященное исследованию значимости этого антигена в патогенезе и диагностике демиелинизирующих заболеваний [38 стр.- 1326, 39, 40 стр. - 13]. Основная часть этих работ посвящена анализу ОБМ в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) больных рассеянным склерозом [38 стр. – 1327,41 стр. - 53,42.]. В частности, в работе А.Т.Томпсона и соавторов приводятся результаты определения ОБМ с помощью конкурентного радиоиммунного анализа в пробах ЦСЖ 221 пациента с рассеянным склерозом. В качестве группы сравнения были выбраны пациенты с различной неврологической патологией (85 человек). При этом повышение концентрации ОБМ было выявлено у 46 из 55 пациентов (84%) с рецидивом рассеянного склероза на протяжении 6 недель и только у 11 из 84 пациентов (13%) с другими неврологическими заболеваниями. При этом имелась четкая корреляция между уровнем ОБМ в ЦСЖ и тяжестью рецидива. Из 44 пациентов, находящихся в стадии ремиссии, у 12 были выявлены повышенные концентрации ОБМ в ЦСЖ и эти пациенты имели высокую степень рецидива заболевания. У 72 пациентов с прогрессирующим процессом присутствие ОБМ в ЦСЖ достоверно отражало клинический диагноз. К подобному заключению

пришли также М. Ohta и соавторов, которые методом иммуноферментного анализа (ИФА) исследовали образцы ЦСЖ у больных рассеянным склерозом в различных стадиях и больных с другими неврологическими заболеваниями. В результате исследования было выявлено, что у 78 пациентов в острой фазе рассеянного склероза отмечались повышенные концентрации ОБМ в ЦСЖ [38 стр. - 1327]. Полученные данные коррелировали с таковыми, полученными при исследовании методом радиоиммунного анализа, но предел чувствительности ИФА был ниже и составлял 30 нг/л. Аналогичные результаты приведены в работах А.Р. Massaro и соавторов, F. Barkhof и соавторов, что дает основание рекомендовать применение анализа ОБМ в ЦСЖ как маркера в диагностике рассеянного склероза и служить прогностическим критерием активности патологического процесса [41 стр. - 54, 42,43]. Кроме диагностики рассеянного склероза, ряд работ посвящен сравнительному исследованию ОБМ при целом ряде других заболеваний, сопровождающихся процессом демиелинизации. Так, К. Lamers и соавторы методом радиоиммунного анализа изучали концентрации ОБМ в ЦСЖ детей и взрослых с различной неврологической патологией: у больных с рассеянным склерозом (хронически-прогрессивным, ремитирующим и комбинацией обоих типов), при цереброваскулярных нарушениях (с ишемическим и геморрагическим инсультами), у пациентов с деменцией (сосудистой и Альцгеймеровского типа) и при инфекциях ЦНС [44]. Достоверно более высокие уровни ОБМ наблюдались в группе больных с рассеянным склерозом.

Кроме ОБМ на сегодняшний день известно около 30 белков миелина, из которых наибольший интерес представляет, гидрофобный протеолипидный белок, миелинассоциированный гликопротеин, миелинолигодендроцитраный гликопротеин [45,46,47,48]. Каждый белок миелина с энцефалотогенными свойствами содержит несколько аминокислотных последовательностей, которые в виде синтетических пептидов могут выступать в роли энцефалитогенов и вызвать ЭАЭ. В последнее время некоторые исследователи уделяют особое внимание специфичным антителам против миелинолигодендроцитраного гликопротеина и аутореактивным клеткам к миелинолигодендроцитраному гликопротеину поскольку индуцированная ими демиелинизация более выраженная, чем при введении ОБМ или протеолипидного белка [49].

Таким образом, на сегодняшний день считается, что ведущая роль в развитии РС принадлежит иммунопатологическим реакциям. Среди наиболее убедительных доказательств участия иммунной системы в патогенезе РС можно привести:

- выделение из ткани мозга, ликвора и крови больных клонов и линий клеток, сенсibilизированных к антигенам миелина;
- наличие в мозге, ликворе и крови больных активированных иммунокомпетентных клеток, высокий уровень цитокинов и активации комплемента;
- повышение уровня экспрессии молекул адгезии и антиген-представления в острых бляшках РС;

- повышенная продукция иммуноглобулинов класса G (IgG), образующего в ликворе олигоклональные группы, а также антител к антигенам миелина и вирусам;
- нарушение баланса в функционировании системы цитокинов;
- эффективность иммуносупрессоров при обострении рассеянного склероза.

Существует альтернативная теория, согласно которой заболевание изначально определяется, возможно, инфекционным поражением и метаболическими нарушениями в олигодендритах. При этом отмечается избыточная концентрация формальдегида, повышенная активность лейцинаминопептидазы. Кроме снижения скорости проведения импульсов по нервному волокну вследствие блокирования аминокруп ионных каналов, формальдегид нарушает процессы энгообразования при окислительном фосфорилировании и снижает скорость белкового синтеза. Избыток лейцинаминопептидазы, вследствие нарушения процессов ингибирования приводит к усиленному разрушению белков миелина. Деструкция биологической мембраны, возможно, является причиной активации перекисного окисления липидов. Продукты распада миелина – энцефалитогенные белки – через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) попадают в периферическое русло, активизируя синтез антител к миелину В-лимфоцитами, что и приводит к запуску последующей аутоиммунной реакции [40 стр. - 56].

Несмотря на различие, обе теории подразумевают активную роль аутоиммунных механизмов в развитии РС и значение белков миелина как основных аутоантигенов.

Основной вопрос патогенеза РС в настоящее время связан с определением первичности или вторичности этих аутоиммунных реакций, т.е. являются ли воспаление и демиелинизация следствием иммунологической реакции на антигены мозга, или сенсibilизация клеток к этим антигенам развивается уже после развития воспаления и разрушения миелина, когда происходит прорыв ГЭБ, проникновение «запрещенных» клонов клеток в циркуляцию и срыв толерантности к антигенам ЦНС.

Данные о субпопуляциях Т-лимфоцитов при РС достаточно противоречивы. Наиболее часто сообщается о снижении Тсупрессоров (CD8⁺) во время обострения РС и за несколько дней до обострения, а нормализация показателей этих клеток в период клинической стабилизации [50]. Полученные результаты исследования Деминой Т.Л., Бойко А.Н. и соавт. (1989г.) указывают на то, что в субпопуляциях Т-лимфоцитов периферической крови больных рассеянным склерозом чаще обнаруживались снижения числа Т-супрессоров и повышение относительного содержания Т-хелперов у больных с признаками активности патологического процесса. Более отчетливо выявилось увеличение числа Т-хелперов, содержание Т-супрессоров снижалось у больных с наиболее неблагоприятным течением РС. При сопоставлении клинического течения РС и типа иммунного ответа выявляется следующая тенденция - соотношения субпопуляций Т-хелперов (CD4) и Т-супрессоров увеличивалось за счет повышения числа первых и снижения вторых [51]. Те же авторы в 1995г отмечали, что клиническому обострению РС предшествует системные

изменения клеток иммунитета, свидетельствующие о гиперактивации клеток *in vivo* и повышение уровня CD4 клеток в крови. Вовремя и после клинического обострения РС снижается содержание в крови CD8 – клеток, появляются ингибирующие эффекты аутосыровотки на реакцию бласттрансформации лимфоцитов, наблюдаемые иногда и при стабилизации состояния больного. Для стабильного течения РС чаще характерно более высокое содержание СВ8-клеток [52]. В других исследованиях были получены результаты, свидетельствующие о том, что изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов крови, а также ликвора не всегда связаны с клинической активностью заболевания [53, 54].

Saresella M. и соавторы (1995), исследовав лимфоциты периферической крови и ЦСЖ у больных РС и неаутоиммунными неврологическими заболеваниями, обнаружили достоверное увеличение количества CD4⁺-лимфоцитов в крови и недостоверное в ЦСЖ больных РС, тогда как CD8⁺-лимфоцитов у них было достоверно снижено по сравнению с пациентами, страдающими неврологическим заболеваниями [55].

В работе Burns J. и соавторов (1983) показано наличие клонов Т-клеток в периферической крови, специфичных к ОБМ у больных с РС и у доноров, однако таковых у больных было выявлено намного больше. Более всего (46,4%) было клонов Т-клеток у больных РС, сенсibilизированных к ряду фрагментов(84-102) молекулы ОБМ[56].

По данным И.Д. Столярова и соавторами (2002) изменение иммунного статуса у пациентов РС находятся в зависимости от стадии заболевания, характера его течения. Смена стадий иммунопатологического процесса происходит согласно определенным закономерностям, но при этом имеют место выраженные индивидуальные особенности. Автор в своей монографии указывает, что наиболее информативным является определение следующих показателей:

- содержания супрессорных/цитотоксических лимфоцитов;
- соотношения CD4⁺/ CD8⁺,
- уровень чувствительности иммуноцитов к основному белку миелина;
- уровень продукции интерферона-гамма[57 стр. -78].

В ряде работ по иммунологии РС изучалось содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), причем, была выявлена зависимость между повышением уровня ЦИК и остротой демиелинизирующего процесса [58,59]. Хотя однозначного мнения о механизме повреждающего действия ЦИК при РС нет, но известно, что ЦИК оказывает воздействие на мембраны, нарушая сосудистую проницаемость, фактически приводя к дисфункциональным нарушениям ГЭБ. Эти нарушения могут играть важную роль в реализации аутоиммунных реакций. Существует мнение, что высокие уровни ЦИК являются генетически детерминированными дефектами системы иммунитета [60 стр.- 97]. Многие авторы в своих работах выявили, что более высокий уровень циркулирующих иммунных комплексов и В-лимфоцитов соответствовал более агрессивному течению болезни и выраженному повреждению нервной системы. Интенсивное образование антител к белкам мозга, пораженного демиелинизирующим процессом, коррелировало с

клиническим обострением, но не с характером течения заболевания в целом [60 стр.-98, 61 стр.-67].

У больных РС было зарегистрировано повышение в сыворотке уровня иммуноглобулина класса G и M (IgM) как при обострении, так и при стабильном течении заболевания, однако не выявлено прямых доказательств их антигенной специфичности [62 стр.-228]. Как правило, в ликворе больных РС выявляются олигоклональные иммуноглобулины, чаще IgG, которые синтезируются интратекально. Чаще их выраженное повышение наблюдали при обострении заболевания и злокачественном течении [63]. До сих пор остается открытым вопрос о том, какие антигены связываются с этими антителами.

Повышенный уровень иммуноглобулинов может быть обусловлен снижением количества или активности CD8 клеток и расценивается, как свидетельство активации В-клеток [62 стр.-230].

В последнее время в литературе обсуждается значение нарушения соотношения Т-хелперов первого и Т-хелперов второго типов в нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов. Многие исследователи считают, что решающее значение в развитии РС заболевания имеет разобщенность механизмов межклеточного взаимодействия, в реализации которых ведущая роль принадлежит цитокинам [57 стр.-112, 64, 65].

На сегодняшний день предполагается, что РС – это болезнь, обусловленная Т-хелперами первого типа, которые продуцируют провоспалительные цитокины, поддерживающие патологический воспалительный ответ в ЦНС, в то время как Th2-клетки подавляют воспалительный процесс, путем продукции ряда противовоспалительных цитокинов и с этих позиций являются частью супрессорного механизма, направленного против чрезмерного Th-1 ответа [66,67,68].

Цитокины, являясь пептидными медиаторами межклеточных коммуникаций, осуществляют связи между иммунной, нервной, эндокринной, кроветворной и другими системами и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных реакций [69]. К ним относятся интерфероны, колониестимулирующие факторы, интерлейкины (ИЛ), хемокины, трансформирующие ростовые факторы, группа фактора некроза опухолей (ФНО) и некоторые другие. К общим главным свойствам цитокинов, объединяющим их в самостоятельную систему регуляции, относятся: плейотропизм и взаимозаменяемость биологического действия, синтез, в основном в ответ на проникновение в организм патогенов (антигенов) или нарушение целостности тканей, отсутствие антигенной специфичности действия, саморегуляция продукции и формирование цитокинной сети, проведение сигнала посредством взаимодействия с высокоафинными клеточными рецепторными комплексами [70].

С точки зрения участия в процессе воспаления, цитокины условно можно разделить на две группы. Первая группа, продуцируемая макрофагами/моноцитами и преимущественно Т-хелперами 1 типа включает провоспалительные цитокины, к которым относятся интерферон-гамма (ИФН-гамма), ИЛ2, ИЛ1, ФНО-альфа и др. Если в ходе нормальной защитной реакции

на внедрение антигена продукция этих цитокинов необходима и направлена на активацию и регуляцию противоинфекционного иммунитета, то при РС эта ситуация несколько изменяется. Хронический иммунопатологический процесс, по-видимому, может поддерживаться постоянной повышенной продукцией этих цитокинов и как, следствие этого, активацией клеточного иммунитета. Второй группе цитокинов отводится роль механизмов отрицательной обратной связи, которые направлены на погашение воспалительного процесса, в случае острого характера, и на приостановление - в случае хронического течения воспалительного процесса. Такие цитокины как трансформирующий ростовой фактор-бета, ИЛ4, ИЛ10, простоглондин E2, способствуют в основном развитию гуморального иммунитета принимая участие в снижении активности иммунопатологического процесса при РС [71 стр.- 68].

Состояние гематоэнцефалического барьер имеет большое значение в запуске и реактивации патологического барьера при РС. Центральными медиаторами в регуляции эндотелиальной проницаемости для клеток и макромолекул являются цитокины. Провоспалительные цитокины, усиливая процессы межклеточного взаимодействия и антигенапредставления, способствуют повышению уровня матриксной металлопротеиназы, фермента с помощью которого лимфоциты повреждают базальную мембрану гематоэнцефалического барьера, что приводит к увеличению проницаемости ГЭБ. Кроме цитокинов в механизмах адгезии активированных Т-лимфоцитов к эндотелию сосудов мозга и их трансэндотелиальной миграции принимают участия молекулы адгезии [72,73]. Показательными являются экспериментальные данные Mc. Carron с соавторами (1993), которые сообщают о повышении уровней экспрессии молекул адгезии с последующей инфильтрацией ткани мозга клетками крови и клиническими проявлениями ЭАЭ уже через несколько часов после иммунизации животных гомогенатом мозга с адьювантом [74].

В активации Т-клеточного звена иммунитета центральная роль отводится ИЛ2, так как пролиферация лежит в основе ответа на действие антигена любых субпопуляций Т-лимфоцитов. О значительных колебаниях уровней продукции и рецепции ИЛ2 в супернатантах клеточных культур больных РС на разных стадиях активности заболевания сообщается многими авторами. Так в исследованиях Г.В. Порядина и соавторов(1997) было показано значительное повышение уровня экспрессии ИЛ-2Р и связь этого показателя с CD4⁺-лимфоцитами у больных с обострением РС [75].

Е.И. Гусев с соавторами (1997) выявили взаимосвязи между показателями рецепции и продукции ИЛ2 с другими характеристиками функциональной активности лимфоцитов и последующим ухудшением клинического состояния больных РС через 14 дней, а также снижение концентрации ИЛ2 в острейшую стадию заболевания наряду с повышенной восприимчивостью клеток к экзогенному ИЛ2 и его быстрым связыванием в культуральной среде. По мнению авторов, это является одним из компенсаторных механизмов, поскольку блокада провоспалительных цитокинов их растворимыми рецепторами обуславливает их значительное снижение проявлений воспалительного процесса [76 стр. -122].

Полагают, что в острой стадии РС астроциты продуцируют ИЛ1, ИЛ3 и ФНО-альфа, индуцирующие активную пролиферацию макрофагов с последующим обеспечением ими дополнительной выработки ИЛ1, ИНФ-гамма и простагландинов, играющих ключевую роль во включении всего комплекса активирующих событий не только ткани ЦНС, но и в периферических компонентах иммунной системы [77 стр.- 128].

Больные с активным процессом имеют значительно более высокую, чем при стабилизированном течении болезни, продукции ФНО-альфа [78].

В своих исследования А.А. Калашникова с соавт. показали, что повышение уровня ФНО-альфа, ИНФ-гамма и ИЛ-6 в супернатантах мононуклеаров клеток больных РС наблюдалось при обострении и при прогрессировании РС, т.е. были тесно связаны с клинической активностью заболевания [79].

Показано, что ФНО-альфа обладает прямым цитотоксическим для олигодендрцитов действием и способен разрушать миелин через активацию синтетазы окиси азота в макрофагах и микроглии, что приводит к усиленному образованию окиси азота и его токсичного соединения пероксинитрата с последующим апоптозом клетки [80]. В исследованиях С.Ф. Brosnan с соавторами продукция ФНО-альфа в ткани мозга была повышенной в хронических очагах с реактивацией процесса по периферии очага, причем часть клеток, расположенных по краям очага демиелинизации были астроцитами. Авторы подчеркивают, что макрофаги в центре очагов и микроглия в гистологически неизменной паренхиме также способны вырабатывать ФНО-альфа [81]. Кроме этого, наиболее активная продукция ФНО-альфа оказалось тесно связанной с синтезом ИФН-гамма и ИЛ1 [82].

Являясь цитокином, обнаруживаемым в активных очагах при РС, ИЛ1 активирует астроциты и усиливает синтез ими ИЛ6, ИЛ12, обеспечивает приобретение цитокинового профиля Т-хелперов первого типа Т-лимфоцитами. Исследование концентрации ИЛ1 в сыворотке и ликворе больных РС, как правило, не выявляли статистически значимых отличий от показателей контрольных групп [72 стр.-71]. В то же время получены данные о повышении спонтанной и стимулированной продукции ИЛ1 клетками крови и ликвора у больных РС при активном течении заболевания. Снижение уровня этого цитокина в культуральной среде мононуклеаров больных РС являлось прогностически благоприятным и предшествовало стабилизации заболевания [76 стр. -156].

Д.А. Hafler и соавт. в своих исследованиях показали, что ИЛ1 стимулирует активность как Т-хелперов, так и Т-супрессоров [83].

Как видно из представленного материала, большинство цитокинов обладают большим спектром функций. Их активность может варьировать в зависимости от их концентрации, состояния клетки и уровней продукции других цитокинов – их естественных антагонистов и агонистов. Так, наряду с тем, что многие исследователи выявили повышенное содержание ФНО-альфа у больных с обострением заболевания и в активных бляшках РС, повышение содержания этого активационного цитокина является одним из важных индукторов апоптоза аутореактивных Т-лимфоцитов, а постоянно низкий уровень его продукции при динамическом наблюдении может являться одним

из механизмов поддержания иммунопатологического процесса при прогрессирующем РС [84].

Существенное значение в патогенезе РС придается изменениям в системе интерферонов. Особый интерес к ИФН-гамма появился еще в 80-ые годы. Однако роль ИФН-гамма в этиопатогенезе РС до сих пор остается до конца неясной. Исследования уровня ИФН-гамма в сыворотке и ликворе больных РС также дали противоречивые результаты. Так имеются сообщения, как о повышенных, так и пониженных или близких к контрольным значениям уровнях ИФН-гамма [85 стр.-17].

На сегодняшний день наряду с прямыми указаниями на активацию у больных РС различных звеньев иммунитета, в том числе системы интерлейкинов и ИНФ, существует ряд данных, позволяющих говорить об определенном дефиците системы ИНФ. Так С.Б. Чекнев и соавт. (2001) считают, что в начале заболевания уровень стимулированной продукции ИФН-гамма повышается, вероятно, в результате воздействия на организм возможных триггерных агентов, с последующим истощением по типу вторичного иммунодефицита в процессе развития болезни. В пользу данного предположения авторы приводят ряд исследований, обнаруживших с одной стороны, возникновение обострений, вызванных применением препарата ИФН-гамма, а с другой, отсутствие эффекта терапии препаратами альфа и бета-ИФН. У больных РС выявлен высокий уровень ответственности клеток периферической крови на действие ИФН-гамма в условиях исключения ответственности на ИФН-альфа, который является его агонистом, что может поддерживать провоспалительную направленность иммунопатологических процессов при РС. Авторы отмечают, что препараты бета-ИФН могут оказаться неэффективными у пациентов с низким уровнем ответственности лейкоцитов периферической крови на прайминг бета-ИФН *in vitro* [86].

Важная роль в патогенетических механизмах при РС отводится системе естественной цитотоксичности и популяции естественных киллеров, составляющих ее основу, однако, сведения об ее функционировании, имеющиеся в литературе, противоречивы. Естественные киллеры составляют до 3% мононуклеарных клеток крови. Они имеют более крупные размеры, зернистую цитоплазму и множество азурофильных гранул. Естественные киллеры не только выполняет первую линию защиты в противоопухолевом и противовирусном иммунитете, осуществляя лизис чужеродных клеток без предварительной сенсibilизации, но и являются центральным звеном взаимосвязи и регуляции в иммунной системе, представляя собой, вероятно, наиболее древний механизм иммунобиологического надзора, универсальный регулятор пролиферации и дифференцировки клеток, как в физиологических условиях, так и при патологии. Изменение функции естественных киллеров при формировании иммунного ответа неоднозначны, поскольку их регуляторная активность опосредуется ИФН-альфа,-бета,-гамма, интерлейкинами 1,2, другими иммуноактивными факторами. У больных РС хорошо документировано снижение цитотоксической активности естественных киллерных клеток, не только при обострении ремитирующего процесса, но и у больных, обследованных в состоянии ремиссии, причем дефицит продукции

ИФН самими естественными киллерами не компенсируется другими клетками крови. Вместе с тем относительно ранние этапы болезни характеризуется активацией системы естественной цитотоксичности [87, 88]. По мнению авторов изменения системы, естественной цитотоксичности плотностью повторяют ситуацию в иммунной системе в целом, но отражают развитие патологического процесса стадийспецифически.

Сообщения о продукции супрессорных цитокинов отличаются некоторой противоречивостью. В исследованиях на экспериментальных моделях ЭАЭ было показано, что дефицит противовоспалительных цитокинов наблюдается у животных с тяжелым течением ЭАЭ, нередко с вовлечением спинного мозга в демиелинизирующий процесс, в то время как преобладание Th2 ответа способствовало более мягкому течению, с меньшей выраженностью обострения ЭАЭ [89]. У пациентов с РС при обострении выявлено повышение цитокинов обоих типов, что, вероятно, отражает монофазный характер течения заболевания, при котором деструктивные и восстановительные процессы могут происходить одновременно [90].

Г.Н. Бисага и соавт. (2000) сообщают о повышении спонтанной продукции ИЛ4, а также содержания в сыворотке и ЦСЖ в активную стадию болезни у пациентов с ремитирующим течением и малым неврологическим дефицитом по сравнению с вторично-прогрессирующим течением РС [85 стр.-19]. В тоже время Р. Rieckman и соавт. в своих исследованиях указывает на увеличение продукции ИЛ4, ИЛ10, и трансформирующий ростовой фактор-бета как правило во время ремиссии [91]. О важной роли трансформирующего ростового фактора-бета и ИЛ10 в снижении активности иммунопатологических реакций и выраженности клинических проявлений сообщается во многих исследованиях. У больных РС повышение уровня этого цитокина почти всегда выявлялось в стадию выздоровления, на основании чего Гусев Е.И. и соавторы высказали предположение, что снижение продукции противовоспалительных цитокинов может являться одной из причин обострения РС, тогда как повышение вызывает ремиссию, что находит подтверждение в последующих исследованиях [77 стр.-195, 92]. Вероятно, это является проявлением компенсации, подавления воспалительного процесса путем переключения иммунного ответа на Th2 тип с продукцией ряда супрессорных субстанций, в том числе противовоспалительных Th2 цитокинов.

Таким образом, развитие патологически значимых аутоиммунных реакций зависит от комплекса факторов, среди которых можно выделить срыв механизмов толерантности, повышение проницаемости ГЭБ, уровень продукции различных цитокинов, а также активность антигенпрезентирующих клеток, состоянии механизмов специфической и неспецифической супрессии иммунитета. На современном этапе разработка и применение различных методов лечения РС напрямую связаны с концепциями его патогенеза.

1.2 Современные аспекты терапии рассеянного склероза

В последнее десятилетие в мире сформировался новый подход к лечению РС. Широкое распространение получила практика комплексного обследования и лечения пациентов данной группы, включающая использование современных генно-инженерных и иммунокорректирующих препаратов, симптоматической медикаментозной и немедикаментозной терапии, физиотерапевтических методов, а также методов психологической коррекции [93,94,95].

На ранних стадиях ремитирующего течения РС неврологические нарушения, связанные с обострением заболевания, могут практически полностью регрессировать без специального лечения. Препаратами выбора для лечения тяжелых обострений на сегодняшний день остаются кортикостероиды. Действие этих лекарственных средств направлено на уменьшение воспаления и снижение повышенной проницаемости ГЭБ, что позволяет сократить продолжительность обострения и уменьшить выраженность неврологических нарушений. В настоящее время в мире получили широкое распространение схемы лечения обострения РС высокими дозами кортикостероидов в течение непродолжительного времени (5-10 дней), что позволяет добиться наибольшего эффекта при менее выраженных побочных эффектах. Чаще всего для этой целью используется препараты метилпреднизолон, дексаметазон [96,97, 98].

Однако в исследованиях было показано, что это положительное влияние кортикостероидов является непродолжительным, поскольку уменьшается только длительность обострения. R.W. Veck (1998) высказал предположение, что курсы наиболее часто используемого для проведения пульс-терапии препаратами метилпреднизолона, могут повлиять на вероятность развития РС после оптического неврита. Однако при сроке наблюдения за этими больными более двух лет различия становились статистически недостоверными [99]. Ряд других исследователей также указывает на то, что иммуносупрессивная терапия существенно не влияла на течение заболевания в последующем и на выраженность остаточной неврологической симптоматики [100]. Гормоны более эффективны в дебюте РС, чем при длительно текущем заболевании, в особенности при непрерывно-прогрессирующем течении. Также отмечено что эффект кортикостероидов реализуется перед и в острейшую фазу болезни, тогда как в подострую фазу, при стабилизации или медленном прогрессировании гормоны не имеют точки приложения [101].

Хорошо известно, что гормонотерапия сопряжена с массой побочных эффектов и осложнений, среди которых у пациентов с РС описаны задержка жидкости; гипокалиемия и артериальная гипертензия; стероидные гастриты, язвы и кровотечения; психозы и депрессии; инфекционные осложнения; сепсис, активация микобактерии туберкулеза и остеопороз [77 стр.-105, 102].

Наиболее часто при злокачественных, неуклонно-прогрессирующих течениях РС используются сильные иммунодепрессанты. Среди препаратов цитостатического и антипролиферативного действия активно при РС исследовались азатиоприн, циклофосфамид, циклоспарин А, метотрексат. В Европе в 80-х годах было проведено большое количество рандомизированных клинических испытаний азатиоприна для лечения ремитирующей и

прогрессирующей формы течения РС. Общий результат этих исследований – препарат оказывает незначительное благоприятное действие на течение РС, но вызывает выраженные побочные эффекты, так как после длительного его применения развивается иммуносупрессивный эффект [103]. Препарат не проникает через гематоэнцефалический барьер, поэтому его действие связано с системным иммуносупрессивным влиянием. Иммунологические эффекты азатиоприна связаны со снижением пролиферативных ответов, антителозависимой цитотоксичности, активности естественных киллерных клеток. Среди побочных эффектов наиболее частыми и тяжелыми являются подавление костного мозга с лейкопенией и анемией, нарушение функции печени, желудочно-кишечного тракта. Из-за выраженных, перечисленных выше, осложнений некоторые испытания были остановлены, так как побочные эффекты азатиоприна превысили положительный эффект [104].

При использовании метоксатрона в низких дозах в 8 из 9 случаев получен хороший результат в виде купирования экзацирбации, пролонгации периода ремиссии и уменьшения склеротических бляшек при динамичном МРТ – контроле. Хотя авторы и подчеркивали минимальность побочных эффектов, метод вряд ли будет внедрен в общую практику из-за полиморфных токсических эффектов этой группы препаратов [105,106].

Обоснованность применения цитокинов в лечении РС объяснима. Известно, что ИФН-гамма ухудшает течение РС, а ИФН-бета вызывает улучшение [107]. Синтезированный в 1993 году рекомбинантный интерферон- β -1b, на который возлагались большие надежды, показал лишь частичную эффективность при РС и препарат не лишен и побочных эффектов [108,109]. Механизм действия окончательно не установлен, но полагают, что он оказывает антагонистическое действие на провоспалительные цитокины –ИФН-гамма и ФНО-альфа [110,111]. Тогда как Jacobs L. и соавторы, проводившие рандомизированные исследования эффективности лечения «бетафероном» у 79 пациентов в течение 1 года, не выявили существенных различий в длительном ремиссии и изменении качества жизни по сравнению с контрольной группой. В настоящий момент накоплен опыт применения «бетаферона» у более 40000 пациентов. Подчеркивается, что эффективность (в снижении частоты обострений на 1/3, уменьшение очагов при МРТ исследованиях в динамике) наблюдается у пациентов, страдающих ремитирующей формой (не прогрессирующей) и имеющих по шкале Куртцке (ШК) не более 5,5 балла (т.е. возможность самостоятельного передвижения не более на 100метров) [112]. Негативным моментом следует признать весьма высокую стоимость препарата и длительность лечения (возможно пожизненно) [113].

Исключительно интересным видится возможность искусственной индукции толерантности к мозговым антигенам, в частности, ОБМ. Под иммунологической толерантностью понимают специфическую иммунологическую ареактивность, приобретенную в результате предшествующего контакта с данным антигеном. Иммунологическая толерантность, как правило, специфична в той же мере, что и иммунный ответ на соответствующий антиген. Так, при наличии в молекуле антигена разнородных эпитопов, толерантность может формироваться только к

некоторым из них, тогда как на другие эпитопы сохраняется способность к иммунному ответу [114]. Сроки развития толерантности различны и могут варьировать от нескольких часов до нескольких суток (недели). Первым препаратом способным вызвать индукцию иммунной толерантности явился копаксон (кополимер 1, глатирамера ацетат). Действующим веществом копаксона является глатирамер ацетат и представляет собой стандартизованную смесь из случайных последовательностей L-аланина, L-глюминовой кислоты, L-лизина и L-тирозина - препарат неинтерферонового ряда. Препарат конкурирует с основным белком миелина, как на клеточном, так и на гуморальном уровне. Тем самым копаксон играет роль "ложной мишени", при взаимодействии с которой на периферии запускается пролиферация супрессорных Т-лимфоцитов, которые, проникая через ГЭБ, продуцируют противовоспалительные цитокины (интерлейкин-4, интерлейкин-6 и интерлейкин-10); тормозится пролиферация Th1 клеток и выработка провоспалительных цитокинов, что сдерживает развитие аутоиммунной реакции против основного белка миелина [115].

Проведенные в США в 1991-1996г.г. на 100 пациентах исследования с применением двойного слепого метода показали высокую эффективность препарата в депрессии гуморального иммунитета на ОБМ [116]. По данным этих же авторов, рандомизированное двойное слепое плацеба-контролируемое исследование эффективности препарата (251 пациентов) показало уменьшение частоты рецидивов на 24%.

Учитывая иммуногенность, побочные эффекты, показания и противопоказания к каждому из препаратов, модулирующих течение РС, при назначении данной группы препаратов необходим индивидуальный подход. Важно отметить, что эти методы иммуномодулирующего лечения не решают всех проблем лечения РС и речь пока идет, прежде всего, о профилактическом воздействии, т.е. возможности снизить активность заболевания в последующем. Проблема применения указанных препаратов имеет много нерешенных аспектов, что связано в первую очередь с недостаточным опытом их использования во всем мире, во-вторых их высокая стоимость – от 9000 до 15000 долларов США в год. В-третьих – не определена длительность лечения, как и особенности течения РС при вынужденном прекращении приема этих препаратов [117].

Вышеизложенные концепции теоретически приемлемы для применения в практике лечения РС у людей. При всех достоинствах и недостатках медикаментозная терапия радикально не решает проблемы РС, что вынуждает исследователей к поиску новых лечебных технологий. Мультифакторность этиологии, сложнейшие изменения различных звеньев иммунитета, возможная молекулярно-генетическая «почва» заболевания практически исключает использование медикаментозных препаратов, имеющих конкретную точку приложения. В этой ситуации весьма показателен интерес большого количества ученых и практиков к клеточной терапии и препаратам биологической природы. «Клетка является универсальным, стабильным модулем для любых клеточных реконструкций.... Донорские клетки встраиваются в организм

реципиентов, а пересадка стволовых эмбриональных клеток позволяет создавать устойчивые ростки новой здоровой ткани в больных органах» [118].

1.3 Развитие нейротрансплантации в эксперименте и клинике

Пионером нейротрансплантации считают американского нейрохирурга Томсона, который в середине прошлого века делал трансплантацию нервной ткани в мозг животных в Нью-Йоркском университете и сообщил об успешных трансплантациях ткани мозга взрослых кошек в головной мозг взрослых собак. Другим исследователем, также одним из первых изучавшим возможности трансплантации нервной ткани, был Del Conte. Проводя аллотрансплантацию эмбриональной ткани взрослым животным, он пришел к выводу, что такая трансплантация невозможна. Пересадка нервной ткани взрослых животных таким же взрослым животным также оказалась безуспешной. Трансплантат полностью резорбировался, однако, в ткани реципиента отмечались усиленная регенерация, митотические явления.

В последующих работах (1940-1950гг.) была показана принципиальная возможность и успешность восстановления функций при трансплантации ткани головного мозга от эмбрионов или раннеонотальных животных молодым млекопитающим того же вида. Трансплантация коры большого мозга крысиных эмбрионов 6-недельным крысам, выполненная Le-Gross (1940), приводила к росту пересаженных эмбриональных нейронов в месте вживления и к их дифференцировке. Пересадка ткани мозга эмбрионов кроликов на мягкую мозговую оболочку взрослых кроликов, осуществленная Le-Gless (1941), также приводила к развитию трансплантата и его дифференцировке. Дифференцированные нервные клетки устанавливали синаптические контакты с нервными клетками реципиентов.

В 70-80-е годы использование радиоавтографических и гистохимических методов изучения трансплантированных тканей помогло установить, что клетки трансплантатов способны структурно включаться в мозг реципиента оставаясь жизнеспособными [119, 120,121]. Было показано, что при пересадке в структуру мозга предшественников аналогичной этой структуре нервной ткани, например, в мозжечок - предшественников наружной зоны, формируется соответствующая пересаженная нервная ткань. В дальнейшем были приведены исследования по пересадке эмбриональной нервной ткани в гетерологичные структуры головного мозга неонатальных животных, которые показали принципиальную возможность приживления и дифференцировки трансплантата в соответствии с его первоначальной природой. Так у крыс при пересадке неокортикальной эмбриональной ткани в мозжечок, трансплантат дифференцировался как ткань коры больших полушарий головного мозга, в нем формировалась слоистость и выявлялась цитоархитектоническая принадлежность. Развивающийся в мозжечке трансплантат не только рос, дифференцировался, но и устанавливал связи с нервной тканью мозжечка. Отмечалось, что пересаженные трансплантаты не смешивались с тканями реципиента, сохраняли собственную архитектуру [122,123].

В экспериментах на крысах выявлено позитивное влияние трансплантации эмбриональной нервной ткани на нарушенные поведенческие функции на разных моделях патологического состояния мозга, обусловленного разнообразными повреждениями мозговых структур. Восстановление поведенческих функций наблюдалось через несколько дней после трансплантации. Так, трансплантация эмбриональной ткани амигдалы или коры в поврежденный механическим способом амигдолярный комплекс мозга реципиента приводила к нормализации поиска пищи у крыс на 5-6 день после операции [124]. Поскольку образование связей между нейронами трансплантата и мозгом реципиента происходит на более поздних сроках, полученный положительный эффект нейротрансплантации был связан с действием нейрохимических веществ. Проведенные биохимические исследования показали, что трансплантация вызывает генерализованное снижение уровня свободнорадикального окисления в мозге и крови, являющийся показателем усиления адаптационных процессов. При этом наблюдается накопление фосфолипидов, прежде всего легкоокисляемых, свидетельствующих об усилении метаболических процессов в мозге при трансплантации [125,126,127].

Таким образом, в настоящее время признана благодаря множеству экспериментов возможность аллотрансплантации эмбриональной нервной ткани мозга млекопитающих. Работы Perlow и др. (1979) Freed и др. (1986) [128], проводивших эксперименты на крысах и последующие исследования на человекообразных обезьянах [129] показали, что и дофаминергические ЭНТ головного мозга, и гомологичная ткань мозгового вещества надпочечников, трансплантированные (в) или около поврежденного полосатого тела, приводит к уменьшению поведенческих нарушений, наблюдаемых у больных паркинсонизмом. Именно эту идею использовали шведские неврологи, которые в 1985 году опубликовали первые положительные результаты лечения болезни Паркинсона пересадкой хромофинной ткани надпочечников в стриатум [130]. Это привело к многочисленным попыткам трансплантировать в стриатум клетки, вырабатывающие дофамин. Пересадки эмбриональной нервной ткани, используемой в качестве стабильного генератора медиатора, в головной мозг пациентам с болезнью Паркинсона неоднократно проводились в начале 90-х годов и большинство случаев давали положительные результаты: отмечалось улучшение состояния больных, позволявшее сократить суточную дозу L-допа [131,132,133,134]. Результаты, полученные этими исследователями, было довольно трудно сравнить между собой из-за методологических различий в хирургии, включающих такие моменты, как возраст эмбриональной ткани, число использованных эмбрионов в имплантате, проведение односторонней или билатеральной имплантации, кроме того, использовались разные оценочные шкалы, но все исследователи сообщали об улучшении в двигательной сфере у пациентов.

В России данные об успешной трансплантации у 2-х больных с болезнью Паркинсона опубликованы группой ученых под руководством академика Н.П. Бехтеревой [135]. В.А. Шабалов с соавт. представили результаты лечения 7 больных с болезнью Паркинсона. У большинства больных отмечен регресс основных симптомов заболевания в виде снижения ригидности, брадикинезии,

медикаментозных дискинезий, а также в виде возрастания длительности действия одной дозы L-допы [136]. Многими авторами обсуждается о возможности комбинации нескольких методов лечения болезни Паркинсона в сочетании с трансплантацией фетальных нейроцитов [137, 138,139].

Успехи первых трансплантаций эмбриональной нервной ткани при болезни Паркинсона стимулировали расширение сферы клинического применения эмбриональной нервной ткани. В настоящее время нейротрансплантация успешно применяется при детском церебральном параличе В.И. Цымбалюк отмечает уменьшение двигательных расстройств у 70% пациентов [140]. Эти же авторы разработали нейрохирургический метод лечения апалического синдрома посредством трансплантации эмбриональной нервной ткани в поврежденные участки больших полушарий головного мозга имплантировалось 10 и более фрагментов эмбриональной нервной ткани. Уменьшение двигательных и психических нарушений получено более чем у 60% больных [141].

В.П. Берснев с соавт. описывают применение метода трансплантации эмбриональной нервной ткани у больных с эпилептическим цереброорганическим синдромом. Анализ материала показывает прекращение или урежение эпилептических припадков, повышения судорожной готовности [142].

В течение последних 10 лет в г. Иркутске ведутся интенсивные исследовательские и клинические работы по клеточной терапии при сирингомиелии [143].

Перспективными и многообещающими представляются результаты трансплантации эмбриональной и фетальной нервной ткани при тяжелых травмах головного и спинного мозга, а также в лечении коматозных состояний [144,145,146,147].

Barker R.A., Jain M, Armstrong R.J.E. (2003) выдвинули идею применения миелинпродуцирующих клеток при лечении демиелинизирующих процессов на модели ЭАЭ. В морфологических исследованиях показано, что трансплантированные в ЦНС экспериментальных животных шванновские клетки и олигодендрциты могут образовывать миелин с нормальной морфологической структурой вокруг демиелинизированных аксонов Трансплантированные предшественники глиальных клеток обладают способностью к дифференцированию и последующему образованию миелина [148, 149].

В институте нейрохирургии имени академика А.П. Ромоданова АМН Украины Лисяный Н.И., Бельский Л.Н. (2007) изучали влияние эмбриональных нейроцитов на течение экспериментального аллергического энцефаломиелита у крыс. Клеточную суспензию головного мозга (аллогенный фетальный материал) вводили внутривентрикулярно на 12-е,14-е, 16-е сутки постиндукционного периода и однократно правое полушарие на 5-е или 15 сутки после индукции энцефаломиелита. Облегчение тяжести течения энцефаломиелита у крыс получено при внутримозговом введении эмбриональных нейроцитов на начальных стадиях заболевания (5-е сутки после индукции). Таким образом, проведенные исследования позволяют

считать, что эмбриональные нейроклетки оказывают лечебный эффект у крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом и могут быть использованы для разработки клеточной и тканевой терапии аутоиммунных заболеваний [150].

Брюховецкий А.С.(1996), Миронов Н.В., Шмырев В.И. (1998) использовали нейротрансплантацию культур фетальных клеток для лечения РС. Авторы использовали метод эндолюмбального введения по 50-100млн. клеток, получив хороший результат в виде уменьшения доминирующих неврологических дефектов [21 стр.-13].

Таким образом, существующие достижения в изучении вопросов этиологии, патогенеза и лечения рассеянного склероза позволяет надеяться на более эффективное решение этой важнейшей проблемы современной неврологии и создание принципиально новых технологий терапии.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика клинического материала

В период 2004-2006г.г. нами обследовано и пролечено 30 больных рассеянным склерозом, находившихся на стационарном лечении в неврологическом отделении Национального научного медицинского центра г. Астаны. Всем пациентам была проведена трансплантация фетальных нейроцитов с курсом патогенетической и симптоматической терапии. 15 больных контрольной группы получали только патогенетическую терапию, которая включала в себя гормональную пульс-терапию при обострении и хроническом прогрессирующем заболевании, сеансы плазмафереза, проводилась симптоматическая терапия без введения фетальных нейроцитов.

В работе руководствовались основами законодательства РК приказ № 0243, утвержденной министерством образования и науки РК и зарегистрированном в Казахском государственном научно-исследовательском институте научно-технической информации, оформлялось согласие пациента на лечение.

Приказ Министра здравоохранения РК №587 от 31.07.2003 г. «О проведении клинической апробации»

Приказ Министра здравоохранения РК Ж. №923 от 11.12.2003 г. «Об утверждении Правил применения новых методов диагностики и лечения»

Приказ Министра здравоохранения РК № 53 от 14.02.2005 г. «Об утверждении Инструкции по проведению клинических исследований и (или) испытании фармакологических и лекарственных средств в Республике Казахстан

Постановление правительства РК № 687 «Об утверждении перечня социальных показаний для искусственного прерывания беременности»

Клиническую группу составили больные с достоверным диагнозом рассеянный склероз, верифицированный в соответствии с критериями W.I.Mac Donald (2001) [151].

В соответствии с применяемой в настоящее время классификацией рассеянного склероза, разработанной R.A.Rudick и соавт. (2001) в основной клинической группе были представлены следующие формы рассеянного склероза, в зависимости от течения заболевания рисунок 1[152].

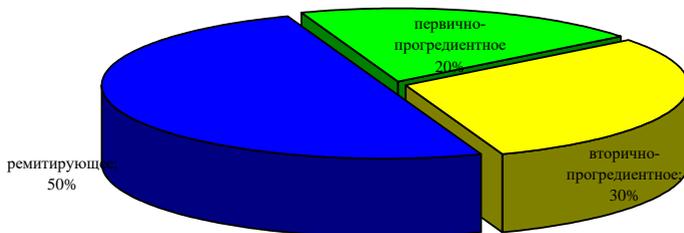


Рисунок 1 - Распределение пациентов основной группы по течению рассеянного склероза

На рисунке 1 видно, что в основную группу с применением фетально-клеточной трансплантации вошли 15 больных с ремитирующим течением, что составило 50% обследуемой группы, 6 больных с первично-прогрессирующим течением – 20% и 9 больных с вторично-прогрессирующим течением, что соответствует 30%.

Пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по возрасту, длительности болезни, тяжести и течению заболевания, выраженности неврологического дефицита.

Распределение по полу было следующим: в основной группе мужчины составили - 10, женщины -20. В контрольной группе мужчин было-6, женщин- 9, таблица 1.

Таблица 1 - Распределение больных РС по полу

Течение	Количество больных			
	Основная группа		Контрольная группа	
	Муж Абс.	Жен Абс.	Муж Абс.	Жен Абс.
Ремитирующее	4	11	2	5
Первично-прогрессирующее	2	4	2	1
Вторично-прогрессирующее	4	5	2	3
Итого	10	20	6	9

Соотношение больных по возрасту в основной и контрольной группах было в сопоставимых величинах, таблица 3. В основную группу вошли больные в возрасте от 18 до 54, средний возраст в этой группе составил. $36,89 \pm 10,76$ Контрольную группу составили пациенты в возрасте от 22 лет до 52, средний возраст $36,4 \pm 12,43$, таблица 2.

Таблица 2 - Распределение больных РС по возрасту

Возраст	Основная группа	Контрольная группа
До 30 лет	9	6
30 -45 лет	13	5
Больше 45 лет	8	4
Средний возраст (лет) $M \pm m$	$36,89 \pm 10,76$	$36,4 \pm 12,43$

Длительность заболевания имеет большое клиническое значение, поскольку обуславливает течение заболевания, выраженность клинических проявлений и играет важную роль в формировании и выраженности неврологического дефицита, также определяет эффективность лечения. В клиническую группу исследования были включены пациенты с достоверно

верифицированным диагнозом и длительным анамнезом заболевания, не менее 2-х лет с момента появления первых клинических симптомов. Все пациенты клинической группы неоднократно получали курсы амбулаторного и стационарного патогенетического, симптоматического лечения по месту жительства. Средняя длительность заболевания в основной группе составила $8,0\pm 4,5$, в контрольной группе - $7,85\pm 2,99$. По длительности заболевания соотношение больных основной и контрольной групп было в сопоставимых величинах, таблица 3.

Таблица 3 – Распределение больных по длительности заболевания

Длительность заболевания (лет)	Основная группа		Контрольная группа	
	Абс.	%	Абс.	%
От 2 – 5 лет	8	27	3	20
От 6 – 10 лет	15	50	9	60
10 лет и >	7	23	3	20
Итого	30	100	15	100
Средняя длительность заболевания $M\pm m$	8,0±4,5		7,85±2,99	

2.2 Методы клинического исследования

Всем пациентам клинической группы оценивали неврологический статус по общепринятой схеме с подробным исследованием всех функциональных систем центральной нервной системы: черепно-мозговых нервов, пирамидной и мозжечковой системы, чувствительных и тазовых расстройств. Анализ неврологического статуса проводилась по шкале клинической оценки функционального состояния проводящих систем при рассеянном склерозе составленная John Kurtzke (шкала FS – Functional Systems). Эта шкала содержит семь разделов, в которых нашла отражение (в баллах - от 0 до 5-6) условная классификация нарушений функции каждой системы (симптомы поражения пирамидного пути, нарушения координации, симптомы поражения черепно-мозговых нервов - кроме II-й пары, нарушения чувствительности, нарушения функции тазовых органов, симптомы поражения зрительного нерва, а также изменения интеллекта). Количество баллов подсчитывают по каждой из 7 шкал в отдельности, а также учитывают общую сумму для оценки неврологического дефицита. В каждой из этих разделов имеется условная классификация изменений функции каждой системы, от менее до более выраженных, оценка от 1 до 5-6 баллов [153].

Для оценки тяжести неврологического дефицита использовалась расширенная шкала инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale), которая включает 10 рубрик, оцениваемых в баллах (от 0 до 10), позволяющих

оценить не только выраженность нарушений неврологических функций, но и степень адаптации к ним [154].

Неврологический статус оценивался также с использованием такого показателя как сумма неврологического дефицита (СНД) на основе соответствующих шкал Куртцке. Для оценки быстроты нарастания степени инвалидизации использовалось понятие «скорость прогрессирования РС», которое рассчитывалось по отношению балла EDSS к длительности заболевания. Скорость прогрессирования (СП) считалось медленной при значениях меньше 0,3; умеренной при $0,3 < СП < 0,7$; и быстрой при значениях, превышающих 0,7 [155].

Степень неврологического дефицита определялась по баллам EDSS легкая степень от 0 до 2,5 баллов, 3-5 баллов оценивалась как средняя степень инвалидизации, от 5,5 до 9,5 баллов как тяжелая.

Большим основной группы оценку неврологического статуса проводили до и в различные сроки после трансплантации фетальных нейроцитов: через 7 дней, через 6 месяцев и через 12 месяцев. В контрольной группе неврологический статус оценивали до и после традиционного курса стационарного лечения через те же временные промежутки.

Критериями включения в группу для проведения трансплантации фетальных нейроцитов являлись:

- Клинически достоверный диагноз рассеянного склероза, верифицированный в соответствии с критериями W.I. Mac Donald (2001)
- Неэффективность ранее проводимой патогенетической и симптоматической терапии (пульс-терапия при обострении, эфферентная терапия и т.д.)
- Отсутствие тяжелой сопутствующей соматической патологии.

Критериями исключения в группу для проведения трансплантации фетальных нейроцитов являлись:

- Наличие острого инфекционного заболевания
- Острые гнойничковые заболевания кожи, наличие хронических очагов инфекции, независимо от места их локализации.
- Терминальные состояния, острая декомпенсация функции жизненно важных органов и систем.

2.3 Методы исследования иммунологического статуса

Комплексная оценка иммунного статуса больных основной и контрольной групп проводилась на базе клиничко-диагностического отделения ННМЦ г. Астаны. Группой научных сотрудников лаборатории определялись следующие параметры: общее число лейкоцитов, лимфоцитов, В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и их субпопуляций с использованием моноклональных антител. Определялись $CD3^+$ (зрелые Т-лимфоциты); $CD4^+$ (Т-хелперы/индукторы); $CD8^+$ (Т-супрессоры/цитотоксические); $CD16^+$ (натуральные киллеры); $CD20^+$ (В-лимфоциты); иммунорегуляторный индекс (ИРИ) соотношение $CD4^+ / CD8^+$, показатели неспецифической резистентности.

Исследовалось содержание иммуноглобулинов класса А (Ig A), М и G в сыворотке крови и в ЦСЖ, уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови.

Больным основной группы оценку иммунного статуса проводили до и в различные сроки после трансплантации фетальных нейроцитов (ТФН): через 7 дней, через 6 месяцев и через 12 месяцев. В контрольной группе иммунный статус оценивали до и после традиционного курса стационарного лечения через те же временные промежутки.

2.3.1 Метод определения субпопуляции лимфоцитов с использованием моноклональных антител

Для идентификации субпопуляций лимфоцитов применялся иммунофлюоресцентный метод с фиксированными лимфоцитами по стандартной методике. Использовались моноклональные антитела фирмы «ООО Сорбент» (Москва) Производился подсчет иммунокомпетентных клеток с помощью иммунофлюоресцентного бинокулярного микроскопа «Axiolab НВ 050» фирмы «Carl Zeiss» [156].

2.3.2 Определение концентрации иммуноглобулинов класса М, А, G в периферической крови и цереброспинальной жидкости

Содержание иммуноглобулинов крови и спинномозговой жидкости определяли иммунотурбодиметрическим методом на аппарате Hitache фирмы «Roch», наборами реактивов фирмы «Roch», оценка результатов выражалась в г/л.

2.3.3 Определение циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови

Метод основан на принципе селективной преципитации циркулирующих комплексов из сыворотки крови раствором полиэтиленгликоля – 600-(ПЭГ-6000) в конечной концентрации 3,6% с последующим спектрофотометрическим определением оптической плотности образца, умноженной на 100, выраженной в условных единицах (у.е.) [157].

2.3.4 Определение функциональной активности нейтрофилов

Функциональную активность нейтрофилов определяли в реакции восстановления нитросинего тетразоля (НСТ) по их способности генерировать активные формы кислорода [145-стр.158]. Принцип метода заключается в том, что нитросиний тетразолий восстанавливается под действием активных форм кислорода в гранулы диформазана темно-синего цвета, которые локализируются в цитоплазме или на мембране нейтрофила. Оценивали спонтанную продукцию активных форм кислорода по проценту активных нейтрофилов и интенсивности реакции, о которой ценили по показателям среднего цитохимического

коэффициента. Результаты спонтанного теста указывают на степень активацию кислородозависимых механизмов фагоцитоза *in vivo* под влиянием внутренних причин.

2.3.4. Определение фагоцитоза

Оценка состояния неспецифической резистентности проводилась по реакции фагоцитоза, который отражает *in vivo* хемотаксис, киллинг и переваривающую способность нейтрофилов. Происходит фагоцитирование гранул латекса фагоцитами-нейтрофилами. Подсчитывают количество фагоцитов (нетрофилы захватившие гранулы латекса) по отношению к обычным нейтрофилам. Подсчет на 100 клеток [151-стр.158].

2.4 Метод магнитно-резонансного томографического исследования

Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга проводилась на базе отделения лучевой диагностики ННМЦ г. Астаны. Исследование выполнялись на МР – томографе «Gytson» фирмы «Philips» с напряженностью магнитного поля 0,5Т квалифицированными врачами радиологами в соответствии с общепринятым протоколом. Томограммы регистрировали в аксиальной, сагиттальной и в части случаев во фронтальных плоскостях с получением T1-, T2-взвешенных изображениях и T2 FLAIR - взвешенных изображениях.

МРТ – исследование головного мозга проводилась до трансплантации фетальных нейроцитов, через 6 и 12 месяцев после введения фетального материала.

2.5 Метод трансплантации фетальных нейроцитов

В качестве исходного материала использовались нежизнеспособные плоды человека весом менее 400г, полученные от клинически здоровых женщин, с неотягощенным наследственным анамнезом, искусственно прерывающих нормально протекающую беременность по социальным показаниям в сроках гестации от 18 до 22 недель. Использовались плоды, у которых при наружном осмотре отсутствовали видимые генетические уродства и грубые нарушения кожных покровов.

Результаты исследования заносились в карту донора, где указывались паспортные данные женщины прерывающей беременность, сведения о состоянии здоровья, диагноз и срок прерывания беременности, сведения о сроках гестации, антропометрические данные плода (масса, рост, теменно-копчиковая длина, пол) и принадлежность к группе крови и резус фактору; указывается лабораторный номер или шифр (серия), дата получения, количество клеток.

Применялась стандартизованная схема аттестации материала, включающая в себя анализ фетального материал на наличие возбудителей внутриутробных

инфекций методом полимеразно-цепной реакции и иммуноферментным анализом.

Нами разработан способ длительной криоконсервации фетальных нейроцитов (Предварительный патент № 48456 от 29.09.2004), который позволяет сохранить к моменту трансплантации 80%-95% жизнеспособных **фетальных** клеток путем добавления к полученной взвеси фетальных нейроцитов раствора глицерина, используемого в качестве криопротектора (для снижения осмотического шока во время размораживания с целью стабилизации мембраны нейроцитов) в соотношении 10:1.

С целью определения жизнеспособности клеточного материала делали мазок из контейнера с взвесью фетальных клеток и окрашивали раствором 0,1% трепанового синего, по стандартной методике. Производился анализ и подсчет фетальных клеток с помощью бинокулярного микроскопа Carl Zeiss при 100 кратном увеличении с последующим фотодокументированием. Клеточный материал оценивался в процентном соотношении сохраненных (живых), разрушенных и голоядерных нейроцитов. Жизнеспособность фетальных клеток составляла от 80% до 95%.

Эндолюмбальные клеточные трансплантации осуществлялись в стационарных условиях в процедурном кабинете или малой операционной с соблюдением правил асептики и антисептики. Процедура осуществлялась в положении пациента лежа на боку. Производилась пункция спинномозгового пространства на уровне L3-L4 по стандартной методике. Полученная ЦСЖ извлекалась в объеме, соответствовавшем или немного превышавшем объем вводимой клеточной взвеси, но не более 4-5мл. Проводили барботаж (в шприц набиралась спинномозговая жидкость в количестве 3,0 мл). В спинномозговое пространство в растворе ликвора через пункционную иглу вводилась суспензия криоконсервированных нейроцитов, идентичных группе крови реципиента, в количестве 5,0 мл. В течение 2 часов после процедуры пациент находился в положении лежа на боку или животе. Кратность введения 2 раза с интервалом 5-6 месяцев.

2.6 Метод статистической обработки полученных результатов

Производились расчеты средней арифметической, ошибки средней арифметической $M \pm m$. Достоверность различий средних значений критериев оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Анализ данных производился с использованием статистических пакетов STATISTICA 6.0 FOR WINDOWS.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ

Нами проведено обследование 30 больных рассеянным склерозом. Среди них 20 женщин (67%), 10 мужчин (34%). К началу лечения средний возраст пациентов этой группы составил $36,89 \pm 10,76$ года (от 19 до 56 лет).

В течение всего периода лечения нами проводилось динамическое исследование неврологического статуса, а также таких показателей клинического состояния больных, как суммарное количество и среднегодовая частота обострений, среднегодовая частота лечения кортикостероидами за одинаковый период до лечения и после введения фетальных нейроцитов. Изучалась динамика степени инвалидизации по шкале EDSS, суммы неврологического дефицита по шкале Куртцке и показателя скорости прогрессирования заболевания.

Средняя продолжительность заболевания - $8,0 \pm 4,5$ лет. За время болезни среднее число обострений составило - $6,5 \pm 3,3$, среднее количество курсов кортикостероидной терапии - $5,2 \pm 1,32$.

У всех больных за предшествующий лечению год было от 1 до 3 обострений. В среднем этот показатель составил - $1,9 \pm 0,09$, что свидетельствует о клинически активном течении рассеянного склероза.

Исходно сумма неврологического дефицита в основной группе составила $18,83 \pm 1,35$, балл EDSS – $6,08 \pm 0,9$, скорость прогрессирования заболевания 0,76. В контрольной группе СНД равнялась $18,35 \pm 4,3$, балл EDSS $5,8 \pm 1,2$, скорость прогрессирования заболевания 0,77.

При анализе неврологического статуса до трансплантации фетальных нейроцитов у всех пациентов обследуемой группы имело место поражение пирамидной нервной системы в виде рефлекторных тетрапарезов у 4 пациентов (14%) с незначительным снижением силы до 4 баллов и без выраженного спастического гипертонуса, но с повышением амплитуды сухожильных и надкостничных рефлексов и отсутствием кожных брюшных рефлексов, с комплексом патологических стопных рефлексов с преобладанием разгибательной группы, слабость в конечностях у данных пациентов носила преходящий, эпизодический характер, она появлялась, как правило, при физической нагрузке, длительной ходьбе, беге, и проходила после непродолжительного отдыха. У 9 пациентов (30%) пирамидный синдром проявился в виде тетрасиндрома с силой в руках 3-3,5 балла, с легкой асимметрией мышечного тонуса и высокой амплитудой сухожильных, надкостничных рефлексов с отсутствием кожных брюшных рефлексов, с превалированием нижнего парапареза со снижением силы в ногах до 2-3 баллов, наличием спастического гипертонуса в нижних конечностях наличием и комплекса патологических стопных рефлексов и явлением анизорефлексии. У 15 пациентов (50%) преобладала клиника нижней параплегии с выраженным спастическим гипертонусом, повышенной амплитудой сухожильных и надкостничных рефлексов, с невозможностью передвижения и самообслуживания. В одном клиническом случае (3%) мы наблюдали

тетрапарез с правосторонней гемиплегией и выраженным спастическим гипертонусом. У одной пациентки (3%) поражение пирамидной системы проявлялось тетраплегией с выраженным спастическим гипертонусом.

Обширный диапазон мозжечковых расстройств, от легкого интенционного тремора и мимопопадание при выполнении координаторных проб до выраженной атаксии в конечностях с затруднением целенаправленных движений, был представлен в обследуемой группе до трансплантации фетальных нейроцитов. Интенционный тремор и мимопопадание при выполнении координаторных проб были отмечены в 2-х клинических случаях (7%), эти явления носили чаще всего мерцающий характер с вариабельностью в течение дня. У 5 (17%) пациентов мозжечковые нарушения выражались умеренной статической и динамической атаксией, что вызывало незначительные затруднения при выполнении целенаправленных действий. В 14 клинических случаях (47%) имела место более выраженная мозжечковая симптоматика в виде грубой статической и динамической атаксии с затруднением передвижения и выполнения координированных движений. Невозможность выполнения направленных движений из-за выраженной атаксии отмечали 8 пациента (27%). В одном клиническом случае проверка координаторных нарушений не представлялось возможным из-за тетраплегии;

Нарушения функции черепно-мозговых нервов до фетальной нейротрансплантации в основной группе проявлялись различной симптоматикой от легких глазодвигательных нарушений до тяжелого бульбарного синдрома. Полный бульбарный симптомокомплекс имел место в 7 клинических случаях (23%), отдельные симптомы, такие как дизартрия и дисфагия наблюдались у пациентов 12 (40%). Сочетание горизонтального и вертикального нистагма было выявлено в 4-х клинических случаях (13%). Дискоординированные движения глазных яблок по горизонтали с развитием страбизма мы наблюдали у 5-х больных (17%). Диплопию отмечали 24 больных (80%). Парез лицевого нерва по центральному типу имел место у 16 пациентов (53%), недостаточность подъязычного нерва по центральному типу у 4 больных (13%).

При оценке зрительных нарушениях до трансплантации фетальных нейроцитов мы наблюдали дебют рассеянного склероза с ретробульбарного неврита у 7-х пациентов (23%), частичную атрофию зрительного нерва у 11-пациентов (37%), периодическое снижение зрения отмечали 9 пациентов (30%).

Чувствительные расстройства были представлены в виде субъективных ощущений онемения, парестезий, похолодания и жжения преимущественно в дистальных отделах нижних конечностей отмечали 17больных (57%). Все указанные явления отличались нестойкостью, миграцией из одного участка тела в другой, подвергались изменениям под воздействием окружающей среды. Из объективных признаков нарушения чувствительности, мы наблюдали явления гипестезии, часто с гиперпатическим оттенком, преимущественно по дистальному типу, без четких границ у 8 пациентов (27%). В одном клиническом случае (17%) отмечался проводниковый тип расстройства чувствительности с уровня Th 3.

Нарушение функции тазовых органов в той или иной степени отмечались у всех пациентов. Учащенное мочеиспускание отмечали все пациенты. Сочетание императивных позывов с редкими эпизодами недержания мочи мы наблюдали у 7-х пациентов (23%), сочетание императивных позывов с частыми эпизодами недержания имели место у 19-ти пациентов (64%). Полное недержание мочи мы наблюдали в 4-х клинических случаях (13%).

При нейропсихологической оценке высшей нервной деятельности обращает на себя внимание наличие у всех пациентов выраженного астенического синдрома, аффективные нарушения в виде депрессии было отмечено у 14 пациентов (47%), эйфория имела место у 9 пациентов (30%). Дементный синдром мы наблюдали в 8 клинических случаях (27%). Кроме того, больные даже на ранних стадиях отмечали субъективное снижение памяти, способности концентрации внимания.

Все пролеченные пациенты удовлетворительно перенесли первую и последующую процедуру нейротрансплантации. Кратность эндолюмбального введения фетальной взвеси составила в большинстве случаев 2 раза, с временными промежутками между трансплантациями в среднем $5,57 \pm 1,12$ месяцев. Ни у одного из пациентов не было зафиксировано каких-либо серьезных осложнений, ухудшающих соматическое состояние или способствующих нарастанию неврологической симптоматики. Ранние послеоперационные реакции в виде менингизма, повышения температуры тела до 37°C - $38,0^{\circ}\text{C}$ и диффузной головной боли купировались к концу 2-3-х суток после пункции, как правило, без существенной медикаментозной коррекции.

Первые положительные сдвиги наблюдались уже через 7 дней после введения фетальных клеток. У всех пациентов данной группы отмечались эмоциональный подъем, повышение общего жизненного тонуса, улучшение самочувствия, фона настроения.

В неврологическом статусе также наблюдалась положительная динамика в виде частичного регресса неврологического дефекта и увеличения объема двигательной активности за счет снижения патологического мышечного тонуса, нарастания мышечной силы в конечностях и уменьшения координаторных расстройств.

При оценке двигательного-рефлекторной сферы отмечалось заметное снижение патологического мышечного гипертонуса у 20 больных (67%); повышение мышечной силы во всех конечностях до 5 баллов у 3 пациентов (10%), увеличение мышечной силы в верхних конечностях до 4-х баллов у 8 пациентов (27%) и до 5 баллов у 11 больных (37%); увеличение мышечной силы в нижних конечностях до 3-3,5 баллов у 5 пациентов (17%) и до 4-4,5 баллов у 8 пациентов (27%). Появления шевелений в парализованных нижних конечностях отметили 3 пациента (10%), у 2-х пациентов (7%) в течение 7 дней после фетальной нейротрансплантации заметного повышения мышечной силы не наблюдалось. У всех пациентов отмечалось заметное снижение амплитуды сухожильных и надкостничных рефлексов, при оценке патологических стопных знаков изменений не зарегистрировано. У пациента с тетрасиндромом и правосторонней гемиплегией заметно возросла сила в левых конечностях в руке до 4баллов, в ноге 4,5 балла, появились движения в правой руке мышечная

сила возросла в ней до 2баллов в проксимальных отделах. В клиническом случае с тетраплегией также отметилась положительная тенденция в виде заметного снижения патологического гипертонуса, появились движения в правой руке сила 1,5б, выросла сила в левой руке до 3б, в нижних конечностях без динамики.

Положительные изменения после трансплантации фетальных нейроцитов мы наблюдали и при оценке мозжечковой симптоматики в виде: уменьшения интенционного тремора у 7 больных (23%), удовлетворительного выполнения координаторных проб 5 больными (17%), заметного уменьшения атаксии в конечностях с восстановлением целенаправленных движений у 12 пациентов (40%), улучшения статики (устойчивости в позе Ромберга) и походки у 6 больных (20%).

Со стороны краниальных нервов также наблюдалась значительная положительная динамика. Горизонтальный нистагм стал менее выражен или односторонним у 10 пациентов (33%), вертикальный нистагм регрессировал у 2-х пациентов (7%). Значительные изменения отмечены со стороны глазодвигательных нарушений: частичный регресс косоглазия у 3-х пациентов (10%) и полный регресс диплопии в 8 клинических случаях (27%). Заметно восстановились функции бульбарной группы краниальных нервов: уменьшение дисфагии отметили 10 пациентов (33%) и дизартрии уменьшилась у 6 пациентов (20%). Не отмечено динамики при оценке функции лицевого и подъязычных нервов.

При оценке функции зрительных нервов заметной клинической динамики не выявлено.

Изменений со стороны чувствительной системы к 7 дню после фетальной нейротрансплантации отмечено не было.

Уже через 7 дней после введения фетальных нейроцитов нам удалось достичь заметного восстановления функций тазовых органов, в частности, улучшился контроль над мочеиспусканием у всех пациентов, в той или иной степени. Семь пациентов (23%), которые отмечали наличие императивных позывов и редких эпизодов недержание до нейротрансплантации уже на 7 день отметили отсутствие недержания мочи и редкие, периодические императивные позывы. У 7 (23%) пациентов императивные позывы и частые эпизоды недержания мочи сменились на уменьшение кратности мочеиспускания в день, но удерживались очень редкие эпизоды недержания мочи. Из 4-х пациентов с полным недержанием мочи у 1-го (3%) мы наблюдали полное восстановления контроля над тазовыми функциями. Облегчение акт дефекации отмечали 9 пациентов (30%).

Объективный анализ клинической симптоматики, как в основной группе, так и в контрольной проводился по шкале повреждений функциональных систем J.F. Kurtzke и представлен в таблице №4.

Таблица 4 - Сравнительная характеристика динамики функциональных нарушений по шкале Kurtzke через 7 дней после лечения в обследуемых группах ($M \pm m$)

Функциональные системы	Баллы неврологического дефицита до лечения		Баллы неврологического дефицита через 7 дней после терапии	
	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа
Пирамидная	4,6±0,19	4,51±0,43	4,0±0,18*	4,3±0,73
Мозжечковая	4,07±0,36	4,1±0,37	3,1±0,21^	4,0±0,13#
Краниальные нервы	3,03±0,24	3,2±0,66	2,35±0,18^	2,91±0,35
Чувствительность	2,26±0,59	2,11±0,44	2,16±0,32	2,1±0,69
Тазовые функции	2,81±0,26	2,78±0,29	2,17±0,15^	2,56±0,49
Зрение	1,46±0,77	1,65±0,33	1,35±0,59	1,55±0,14
Примечания: * - достоверность различий между показателями до начала лечения и на седьмые сутки после лечения менее 0,05 ^ - достоверность различий между показателями до начала лечения и на седьмые сутки после лечения менее 0,001 # - достоверность различий между показателями контрольной и основной группы менее 0,05				

Из таблицы 4 видно, что исходно в обеих клинических группах достоверной разницы в баллах неврологического дефицита по всем функциональным системам не выявлено. Мы наблюдали достоверную положительную динамику с регрессом неврологических нарушений в основной группе пациентов уже через 7 дней после фетальной нейротрансплантации. Максимальный регресс неврологической симптоматики был отмечен в системе мозжечковых нарушений на 24% ($p < 0,001$). Пирамидные нарушения уменьшились также достоверно на 13% ($p < 0,05$) в основной группе пациентов. Достоверно восстановились функции тазовых органов и краниальных нервов на 23% ($p < 0,001$) и 22% ($p < 0,001$) соответственно. Зрительные и чувствительные нарушения без заметной динамики.

В контрольной группе достоверного снижения баллов неврологических нарушений не выявлено. Через 7 дней после лечения нами отмечена достоверная разница в баллах системы мозжечковых нарушений между контрольной и основной группами на 23% ($p < 0,05$), по другим функциональным системам достоверных различий не выявлено.

В среднем степень инвалидизации по шкале EDSS через 7 дней равнялась – 5,81±0,9 балла, СНД – 15,13±4,03 баллов, т.е. сумма неврологического дефицита уменьшилась на 20%.

Следующая точка исследования была через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов. При оценке клинических симптомов в этой группе необходимо отметить, что в течение 6 месяцев после нейротрансплантации ни у одного пациента не отмечалось признаков экацербации заболевания, т.е. появление новых симптомов или ухудшение уже

имевшихся симптомов. У всех пациентов имело место стойкая ремиссия, регресс неврологических симптомов имел постоянный характер без лабильности в течение суток и без метеозависимости.

В двигательнo-рефлекторной сфере через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов сохранялось снижение патологического мышечного гипертонуса у 22 больных (73%), у 4 (13%) больных тонус был нормальным. Повышение мышечной силы во всех конечностях до 5 баллов теперь уже было у 4 пациентов (13%), возрастание мышечной силы в верхних конечностях до 4 баллов у 6 пациентов (20%), до 5 баллов в 12 клинических случаях (40%). Увеличение мышечной силы в нижних конечностях до 4-4,5 баллов у 15 пациентов (50%). Нарастание мышечной силы до 3 баллов в ранее парализованных конечностях отметили 3 пациента (10%), причем в одном клиническом случае пациентка могла самостоятельно передвигаться с тростью, и сила в ногах достигла 3,5-4баллов. У двух пациентов (7%) с первоначальной нижней параплегией выросла сила в ногах до 2баллов. У всех пациентов удерживалось заметное снижение амплитуды сухожильных и надкостничных рефлексов. Кожные брюшные рефлексы оставались сниженными и быстро истощались или не вызывались вообще. У одного пациента амплитуда сухожильных рефлексов расценена как нормальная, у него же регрессировали все патологические стопные знаки. У пациента П. с тетрасиндромом и правосторонней гемиплегией заметно возросла сила в левых конечностях в руке до 5баллов в проксимальном отделе, 4 баллов дистально, в левой в ноге 4-4,5 балла, возросла мышечная сила в правой руке до 4баллов в проксимальных отделах, 1,5-2 балла дистально, мышечная сила в левой ноге достигла 3 баллов.

Координаторные нарушения также заметно регрессировали через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов в основной группе пациентов. При оценке мозжечковой симптоматики мы наблюдали уменьшения интенционного тремора у 10 больных (33%) с удовлетворительным выполнением динамических проб. Заметное уменьшение атаксии в конечностях у 12 больных (40%) соответственно улучшения статики (устойчивости в позе Ромберга) и походки у 12 больных (40%). В 5 клинических случаях (17%) удерживалась умеренная атаксия в конечностях. В трех клинических наблюдениях (10%) полностью регрессировали мозжечковые нарушения.

Заметное восстановление функций краниальных нервов мы наблюдали через 6 месяцев в основной группе в виде регресса горизонтального нистагма у 10 пациентов (33%) и вертикального нистагма у 2-х пациентов (7%). Из глазодвигательных нарушений уменьшение косоглазия отмечено у 3-х пациентов (10%), диплопия купировалась в 9 случаях (30%). Полностью регрессировали стволовые нарушения в 4-х клинических случаях (13%). Значительно восстановились отдельные функции бульбарной группы краниальных нервов: уменьшение дисфагии отметили 11 пациентов (37%), дизартрия уменьшилась у 8 пациентов (27%). Не отмечено динамики при оценке функции лицевого и подъязычных нервов.

Через 6 месяцев после введения фетальных нервных клеток мы наблюдали значительное восстановление функций тазовых органов, в 6 (20%) клинических случаях пациенты отмечали восстановление полного контроля над тазовыми

функциями, с регрессом императивных позывов. У 12 (40%) пациентов императивные позывы и частые эпизоды недержания мочи сменились на уменьшение кратности мочеиспускания в день и наблюдались очень редкие эпизоды недержания мочи. Наличие императивных позывов без эпизодов недержания мочи отмечали 11 пациентов (37%). Хотелось бы отметить, что в одном клиническом случае при первоначальном абсолютном недержании мочи к 6 месяцу восстановился полный контроль над тазовыми функциями, беспокоили редкие дизурические расстройства в виде учащения мочеиспускания и очень редких императивных позывов.

Таблица 5 - Сравнительная характеристика динамики функциональных нарушений по шкале Kurtzke через 6 месяцев после лечения в обследуемых группах (M±m)

Функциональные системы	Баллы неврологического дефицита до лечения		Баллы неврологического дефицита через 6 месяцев после терапии	
	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа
Пирамидная	4,6±0,19	4,51±0,43	3,4±0,4 [^]	4,46±0,34 [#]
Мозжечковая	4,07±0,36	4,1±0,37	2,68±0,68 [^]	4,2±0,12 [#]
Краниальные нервы	3,03±0,24	3,2±0,66	1,9±0,61 [^]	3,1±0,13 [#]
Чувствительность	2,26±0,59	2,11±0,44	2,1±0,2	2,13±0,33
Тазовые функции	2,81±0,86	2,78±0,29	1,86±0,63 [^]	2,99±0,35 [#]
Зрение	1,46±0,77	1,65±0,33	1,23±0,42	1,5±0,1
Примечания: * - достоверность различий между показателями до начала лечения и через 6 месяцев после лечения менее 0,05 ^ - достоверность различий между показателями до начала лечения и через 6 месяцев после лечения менее 0,001 # - достоверность различий между показателями контрольной и основной группы менее 0,05				

Из таблицы 5 видно, что через 6 месяцев в основной группе пациентов после трансплантации фетальных нейроцитов удерживается первоначально достигнутый (после первой нейротрансплантации) клинический эффект. Помимо этого, отмечается дальнейший регресс неврологического дефекта. Максимальное восстановление отмечено в функциях черепно-мозговых нервов, где при сравнении с первоначальными данными балл неврологического дефицита достоверно снизился на 37% (p<0,001), в основном, за счет уменьшения бульбарных нарушений. Достоверная динамика наблюдалась в системе тазовых нарушений, здесь восстановление было отмечено на 34% (p<0,001), в сравнении с исходными показателями, Регресс пирамидных симптомов и координаторных нарушений, также достоверен, на 26% и 34%

($p < 0,001$), соответственно при сопоставлении с первоначальными баллами. При оценке чувствительных и зрительных расстройств отмечается тенденция к уменьшению неврологического дефицита.

В контрольной группе по данным шкалы функциональных повреждений Kurtzke достоверного снижения баллов неврологических нарушений при сопоставлении с исходными значениями не выявлено. Через 6 месяцев после лечения мы наблюдали достоверную разницу в баллах между контрольной и основной группами в следующих функциональных системах: в мозжечковой системе различия составила 36% ($p < 0,05$), в пирамидной системе на 24% ($p < 0,05$), в функциях тазовых органов и черепно-мозговых нервов разница составила 38% и 39% ($p < 0,05$) соответственно наибольшим восстановлением в основной группе. По другим функциональным системам достоверных различий не выявлено.

В среднем степень инвалидизации по шкале EDSS через 6 месяцев равнялась – $5,17 \pm 1,09$ балла, СНД - $13,17 \pm 1,94$ баллов, суммарный балл неврологического дефицита уменьшился на 30%. Скорость прогрессирования уменьшилось с 0,76 до 0,64, что соответствует умеренной скорости прогрессирования. Ни в одном случае не зафиксировано симптомов обострения заболевания, никто из пациентов не нуждался в дополнительной кортикостероидной и симптоматической терапии.

В контрольной группе СНД составила $18,38 \pm 1,37$ баллов, балл по шкале EDSS $6,3 \pm 2,2$ баллов, скорость прогрессирования заболевания 0,85.

Следующая точка исследования была через 10-12 месяцев после первоначальной трансплантации фетальных нейроцитов. Хотелось бы отметить, что у всех 30-ти больных за предшествующий лечению год было от 1 до 3 обострений, тогда как в течение 12 месяцев после введения фетальных нейроцитов обострение было зафиксировано только в двух клинических случаях. Этим пациентам нами проводилась гормональная пульс-терапия метилпреднизолоном в дозе 1000мг с переходом на пероральный прием преднизолона. У остальных 28 пациентов (93%) из наблюдаемой группы симптомов обострения не было, т.е. имело место стойкая ремиссия. Первоначально достигнутый регресс неврологических симптомов имел постоянный характер без лабильности в течение суток и без метеозависимости. Помимо этого, отмечался дальнейший регресс неврологического дефекта.

Оценка пирамидной системы спустя 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов показала значительный регресс пирамидных знаков в сравнении с исходными данными. Снижение патологического мышечного гипертонуса удерживалось у 22 больных (73%), у 4 (13%) больных тонус остался в норме. Полностью регрессировали парезы у 4 пациентов (13%), возрастание мышечной силы в верхних конечностях до 4 баллов у 6 пациентов (20%), до 5 баллов в 12 клинических случаях (40%). Увеличение мышечной силы в нижних конечностях до 4-4,5 баллов у 15 пациентов (50%). Нарастание мышечной силы до 3 баллов в ранее парализованных конечностях отметили 4 пациента (13%), причем в одном клиническом случае пациентка могла самостоятельно передвигаться с тростью, и сила в ногах достигла 3,5-4 баллов. У основной массы пациентов (88%) удерживалось заметное снижение

амплитуды сухожильных и надкостничных рефлексов. У 2-х пациентов (7%) амплитуда сухожильных рефлексов расценена как нормальная, у них же регрессировали все патологические стопные знаки. В одном клиническом наблюдении восстановились кожные брюшные рефлексы. У 2-х (7%) пациентов с обострением заболевания мы наблюдали нарастание спастических парезов со снижением силы в ногах до 3 баллов.

Значительный регресс через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов был отмечен при оценке мозжечковой системы. У 3-х пациентов (20%) удалось достичь полного регресса координаторных нарушений. При оценке мозжечковой симптоматики мы наблюдали уменьшения интенционного тремора у 11 больных (37%) с удовлетворительным выполнением динамических проб. Заметное уменьшение атаксии в конечностях у 14 больных (47%) соответственно улучшения статики (устойчивости в позе Ромберга) и походки у 14 больных (47%). В 5 клинических случаях (17%) удерживалась умеренная атаксия в конечностях, в том числе у пациентов с обострением заболевания. В трех клинических наблюдениях (10%) полностью регрессировали мозжечковые нарушения.

При оценке функций краниальных нервов через 12 месяцев после введения фетальных нейроцитов мы наблюдали, что у 4-х пациентов (13%) нам удалось добиться полного восстановления функций всех черепно-мозговых нервов. Регресс горизонтального нистагма мы наблюдали у 11 пациентов (37%) и вертикального нистагма у 2-х пациентов (7%). Из глазодвигательных нарушений уменьшение косоглазия отмечено у 3-х пациентов (10%), диплопия купировалась в 10 случаях (33%). Бульбарный симптомокомплекс не был отмечен ни у одного из пациентов.

Через 12 месяцев после введения фетальных нервных клеток мы наблюдали значительное восстановление функций тазовых органов, в 6 (20%) клинических случаях пациенты отмечали восстановление полного контроля над тазовыми функциями, с регрессом императивных позывов. У 12 (40%) пациентов наблюдались очень редкие эпизоды недержания мочи. Наличие императивных позывов без эпизодов недержания мочи отмечали 11 пациентов (37%). Хотелось бы отметить, что в одном клиническом случае при первоначальном абсолютном недержании мочи к 6 месяцу восстановился полный контроль над тазовыми функциями, беспокоили редкие дизурические расстройства в виде учащения мочеиспускания и очень редких императивных позывов.

При нейропсихологической оценке высшей нервной деятельности обращает на себя внимание повышение у всех пациентов общего фона настроения, снижение уровня аффективных нарушений и депрессий. Улучшения памяти и концентрации внимания.

Меньшему регрессу подвержены чувствительные расстройства, уменьшение субъективных ощущений онемения, парестезий, похолодания и жжения преимущественно в дистальных отделах нижних конечностей отмечали 5 больных (17%). Из объективных признаков нарушения чувствительности, мы наблюдали снижение явлений гипестезии по дистальному типу у 9 пациента

(30%), в одном клиническом случае проводниковый тип расстройства чувствительности с уровня Th 3 спустился до уровня Th 6.

Динамика зрительных расстройств без значительных изменений.

Таблица 6 - Сравнительная характеристика динамики функциональных нарушений по шкале Kurtzke через 12 месяцев после лечения в обследуемых группах (M±m)

Функциональные системы	Баллы неврологического дефицита до лечения		Баллы неврологического дефицита через 12 месяцев после терапии	
	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа
Пирамидная	4,6±0,19	4,51±0,43	3,04±0,43 [^]	4,78±0,28 [#]
Мозжечковая	4,07±0,36	4,1±0,37	2,47±0,12 [^]	4,43±0,23 [#]
Краниальные нервы	3,03±0,24	3,2±0,66	1,8±0,28 [^]	3,8±0,26 [#]
Чувствительность	2,26±0,59	2,11±0,44	2,0±0,11	2,3±0,4
Тазовые функции	2,81±0,86	2,78±0,29	1,8±0,6 [^]	3,22±0,38 [#]
Зрение	1,46±0,77	1,65±0,33	1,3±0,2	1,77±0,09
Примечания: * - достоверность различий между показателями до начала лечения и через 12 месяцев после лечения менее 0,05 ^ - достоверность различий между показателями до начала лечения и через 12 месяцев после лечения менее 0,001 # - достоверность различий между показателями контрольной и основной группы менее 0,05				

Таблица 6 демонстрирует, что через 12 месяцев в основной группе пациентов после трансплантации фетальных нейроцитов удерживается первоначально достигнутый (после первой нейротрансплантации) клинический эффект. Помимо этого, отмечается дальнейший регресс неврологического дефекта. Максимальное восстановление отмечено в функциях черепно-мозговых нервов, где при сравнении с первоначальными данными балл неврологического дефицита достоверно снизился на 41% ($p < 0,001$), в основном, за счет восстановления бульбарных нарушений. Достоверная динамика наблюдалась в системе мозжечковых нарушений, здесь восстановление было отмечено на 39% ($p < 0,001$), в сравнении с исходными показателями, Регресс пирамидных симптомов и тазовых нарушений, также достоверен, на 34% и 36% ($p < 0,001$), соответственно при сопоставлении с первоначальными баллами. При оценке чувствительных и зрительных расстройств отмечается тенденция к уменьшению неврологического дефицита.

В контрольной группе по данным шкалы функциональных повреждений Kurtzke наблюдается нарастание патологических симптомов, что подтверждается увеличением баллов неврологических нарушений при сопоставлении с исходными значениями. Через 12 месяцев после проведенного

курса лечения мы наблюдали нарастание спастических парезов на 4%, мозжечковые нарушения углубились на 8% по данным шкалы повреждения функциональных система Kurtzke. Балл в системе краниальных нервов и тазовых органов увеличился на 16% и 14% соответственно.

Мы зафиксировали достоверную разницу в баллах между контрольной и основной группами с регрессом неврологического дефицита в следующих функциональных системах: в мозжечковой системе разница составила 44% ($p < 0,05$), в пирамидной системе - 36% ($p < 0,05$), в функциях тазовых органов и черепно-мозговых нервов разница составила 44% и 53% ($p < 0,05$) соответственно. По другим функциональным системам достоверных различий не выявлено.

Следует отметить, в среднем за предшествующий фетально-клеточной терапии год в основной группе пациентов было $1,9 \pm 0,09$ обострений, в течение наблюдаемого нами периода после фетальной нейротрансплантации (12 месяцев) этот показатель достоверно снизился до $0,9 \pm 0,08$ ($p < 0,01$), рисунок 2.

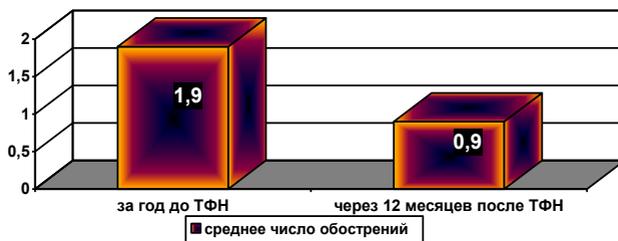


Рисунок 2 – Динамика количества обострений после фетально-клеточной терапии в основной группе пациентов.

Важным показателем положительного влияния терапии фетальными нейронами является динамика тяжести инвалидизации пациентов. Степень инвалидизации снизилось в основной группе как в сравнении с исходными значениями, так и при сравнении с показателями контрольной группы рисунок 3.

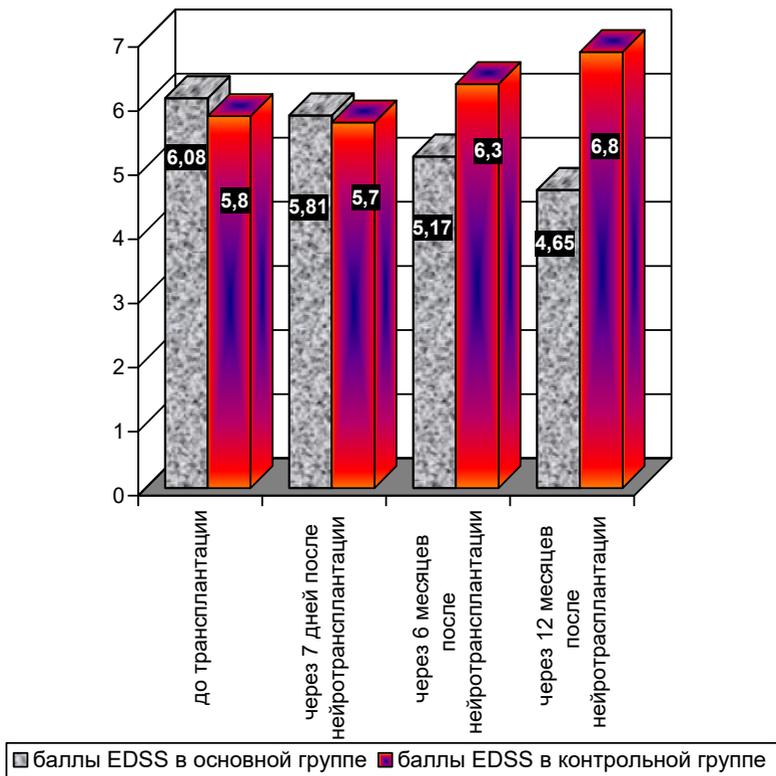


Рисунок 3 - Сравнительная характеристика динамики степени инвалидизации по шкале EDSS в обследуемых группах

Из рисунка 3 видна заметная положительная динамика с регрессом степени инвалидизации в основной группе с $6,08 \pm 0,9$ до $5,81 \pm 0,9$ баллов через 7 дней после фетальной нейротрансплантации на 4%, через 6 и 12 месяцев этот показатель достоверно снизился до $5,17 \pm 1,09$ и $4,65 \pm 0,76$ баллов ($p < 0,05$), т.е. на 15% и 24% соответственно. В то время как в контрольной группе степень инвалидизации возросла с $5,8 \pm 1,2$ до $6,3 \pm 2,2$ баллов через 6 месяцев после стандартной терапии без введения фетальных нейроцитов, т.е. степень инвалидизации увеличилась на 8%, через 12 месяцев этот параметр увеличился на 15%.

Следующим параметром, отражающий неврологический дефицит является сумма неврологического дефицита, динамическое изменение которого в течение обследуемого периода представлено на рисунке 4.

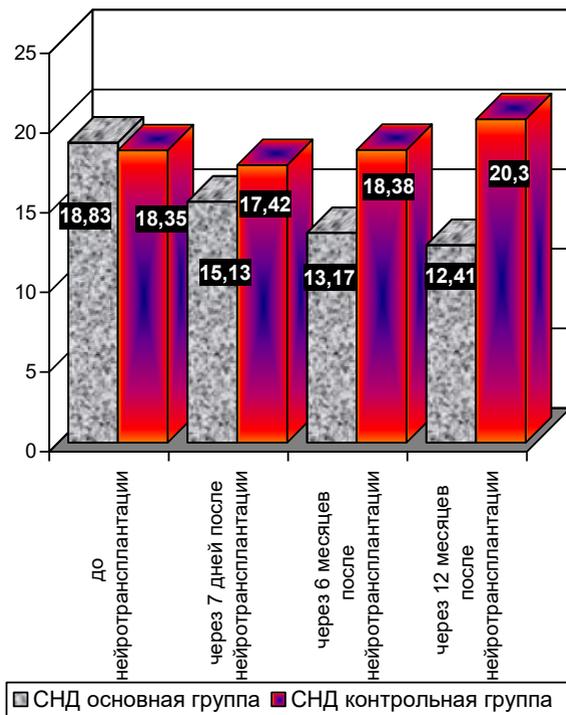


Рисунок 4 - Динамика степени инвалидизации по сумме баллов неврологического дефицита у пациентов основной и контрольной групп

Рисунок 4 демонстрирует заметный регресс суммы неврологического дефицита в течение обследуемого периода в основной группе после трансплантации фетальных нейроцитов с $18,83 \pm 1,35$ до $15,13 \pm 4,03$ через 7 дней, т.е. на 20%. Через 6 и 12 месяцев этот показатель снизился до $13,17 \pm 1,94$ и $12,41 \pm 2,62$ баллов соответственно, т.е. неврологический дефицит регрессировал на 30% и 34% соответственно.

В контрольной группе СНД через 7 дней после традиционной терапии снизилась с $18,35 \pm 4,3$ до $17,42 \pm 2,23$, т.е. неврологический дефицит уменьшился на 5%. Через 6 и 12 месяцев наблюдения этот параметр вырос до $18,38 \pm 1,38$ и $20,3 \pm 2,44$, т.е. неврологических дефект увеличился на 10%.

Важным показателем, отражающим быстроту нарастания неврологического дефицита, является скорость прогрессирования заболевания.

Следующий рисунок 5 демонстрирует изменение этого параметра в обследуемых группах.

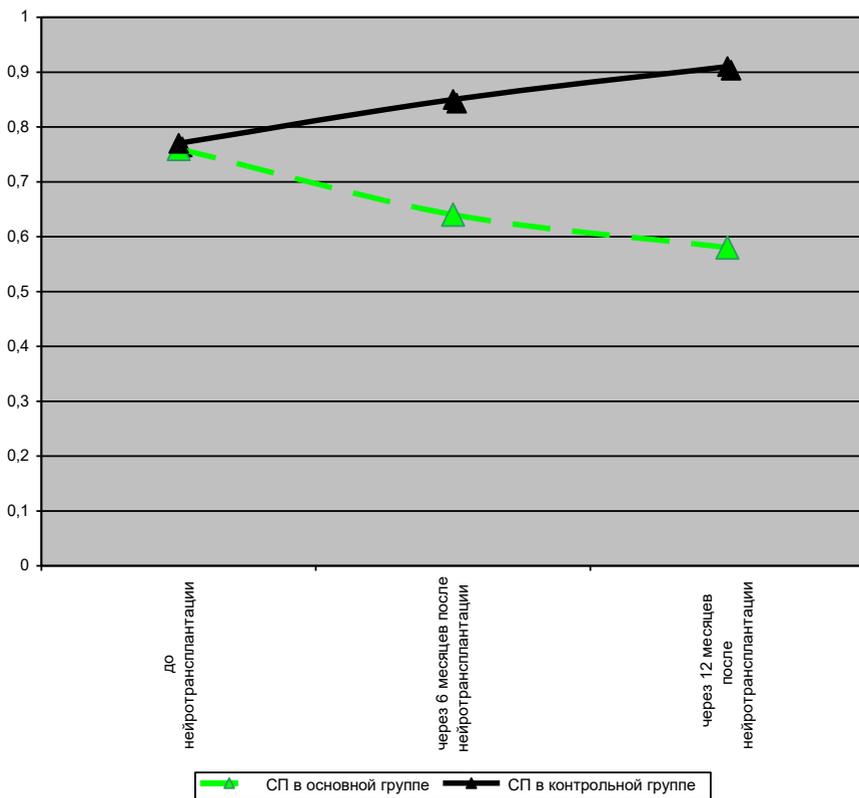


Рисунок 5 - Сравнительная характеристика динамики скорости прогрессирования рассеянного склероза в обследуемых группах

Представленный рисунок 5 демонстрирует, что в основной группе после ТФН отмечается значительное уменьшение скорости прогрессирования заболевания и снижение этого показателя с 0,76 до 0,64 через 6 месяцев, т.е. на 16%, и через 12 месяцев этот показатель снизился до 0,58, т.е. еще на 24%.

До фетальной нейротрансплантации скорость прогрессирования заболевания соответствовала высокой активности процесса через 12 месяцев этот показатель отвечал умеренной скорости прогрессирования заболевания.

В контрольной группе в обследуемый период отмечается увеличение скорости прогрессирования заболевания с 0,77 до 0,85 через 6 месяцев и до 0,91 через 12 месяцев, т.е. этот параметр увеличился на 15%.

Объективно динамику клинических симптомов по значениям шкалы Kurtzke в течение 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов в основной группе отразит диаграмма на рисунке 6.

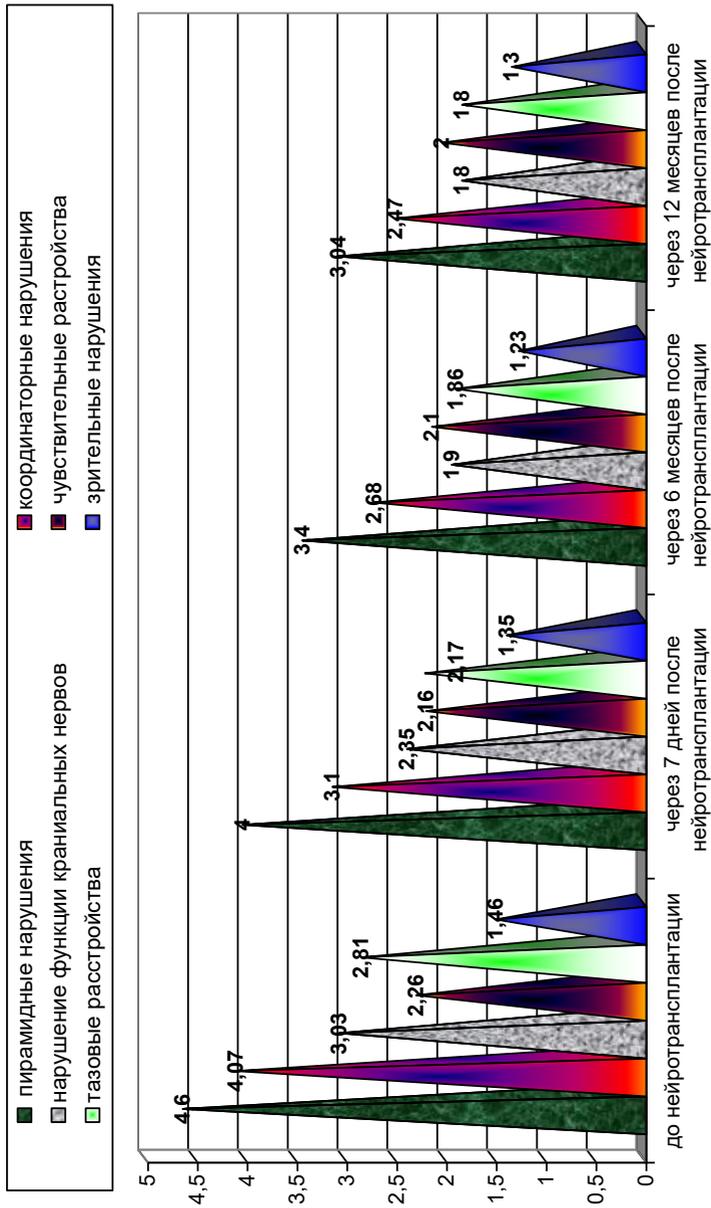


Рисунок 6 – Динамика регресса неврологических синдромов по данным шкалы Куртке в основной группе пациентов рассеянным склерозом после трансплантации фетальных нейроцитов

Анализируя представленную диаграмму на рисунке 6 нужно отметить, что во все обследуемые периоды в основной группе пациентов рассеянным склерозом после ТФН отмечается значительная позитивная динамика с достоверным регрессом неврологического дефицита. Пирамидные расстройства регрессировали через семь дней после ТФН на 13% ($p<0,05$), через 6 и 12 месяцев на 26% ($p<0,001$) и 34% ($p<0,001$) соответственно. Выраженность мозжечковых нарушений уменьшилась через семь дней после ТФН на 24% ($p<0,001$) в соответствии с исходными данными, через 6 и 12 месяцев на 34% ($p<0,001$) и 39% ($p<0,001$) соответственно. Функции краниальных нервов восстановились через семь дней на 22% ($p<0,001$), через 6 и 12 месяцев на 37% ($p<0,001$) и 41% ($p<0,001$) соответственно. Восстановление функции тазовых органов было также достоверным и значительным, уже через семь дней после ТФН балл по шкале Куртцке в этой функциональной системе снизился на 23% ($p<0,001$), через 6 и 12 месяцев на 34% ($p<0,001$) и 36% ($p<0,001$) соответственно. Достоверных изменений со стороны зрительных и чувствительных нарушений не выявлено.

Наряду с оценкой неврологической симптоматики нами проводилось исследование МРТ-картины. На МР-томографе нами были исследованы 30 пациентов РС. Исследование выполнялось в течение 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов.

На МР-томограммах в режиме T2 нами выявлены очаги патологического повышения МР-сигнала размерами от нескольких миллиметров до 10-15мм в диаметре. Во всех наблюдениях (кроме трех) патологические очаги имели относительно гомогенное строение МР-сигнала и относительно четкие границы с белым веществом мозга. В отдельных случаях определялись более высокий сигнал от центральных отделов «бляшки». Форма «бляшек» была самой разнообразной – от неправильной до округлой. Чаще, однако, встречались округлые формы очагов поражения. Как показали наши наблюдения, очаги поражений преимущественно определялись в перивентрикулярной зоне (у всех больных -100%), в мозолистом теле у 16 больных (53%), в полушариях мозга во всех наблюдениях (100%), в подкорковых образованиях у 2 пациентов (7%). Локализация «бляшек» в проекции ствола мозга и гемисферах мозжечка составила соответственно 25 (83%) и 22 (73%) наблюдений (по данным T2-и T2 FLAIR изображений).

В трех наблюдениях (20%) у больных с ремитирующим РС на МРТ в режиме T2 на фоне очагов поражения, имеющих выше описанную картину, определялись отдельные «бляшки», которые имели периферический отек снижение интенсивности МР-сигнала, окруженный участком повышения МР-сигнала больших размеров и размытыми контурами, распространяющимся по белому веществу мозга - перифокальный отек. Указанные бляшки имели супратенториальное расположение и, по нашему мнению, отражали более активный ответ мозга на его поражение, выраженную воспалительную реакцию ткани, проявляющуюся отеком. Данные больные, в отличие от других пациентов этой группы, имели непродолжительный период заболевания (в

среднем до 4-х лет), клинически заметный регресс неврологического дефицита отмечен только на фоне ТФН.

В 9-ти наблюдениях выявлено выраженное диффузное расширение конвекситальных субарахноидальных пространств головного мозга как суб- так и супратенториальной локализации с формированием «синдрома сочетанной мультифокальной диффузной лейкоэнцефалопатии», характеризующийся типичным многоочаговым поражением и наличием зон диффузного изменения сигнала, которые захватывают большие территория белого вещества полушарий мозга на супра- и перивентрикулярных уровнях [159, 160, 161,162, 163, 164,165]. Нами также отмечено при МР-исследований изменение мозгового вещества вокруг отдельных близко расположенных «бляшек» с формированием более обширных зон патологического МР-сигнала – «слияние бляшек». Указанные изменения более ярко визуализировались на T2-,T2-FLAIR взвешенных МР томограммах, хотя были определяемы в режиме T1.

Клинический пример значительной положительной клинической и нейровизуализационной динамики у пациентки с ремитирующим течением РС.

Пациентка А. 32. История болезни №3344.

Дебют болезни в возрасте 30лет с ретробульбарного неврита слева в июне 2004, на фоне терапии кортикостероидами полное восстановление. В октябре 2004г повторное ухудшение с развитием зрительных и глазодвигательных расстройств, атаксии и тазовых нарушений по типу императивных позывов. Верифицирован диагноз, рассеянный склероз в соответствии с клиническими данными и результатом МРТ-исследования. После проведенного повторного курса гормональной терапии частично регрессировали мозжечковая симптоматика, улучшились функции тазовых органов, полностью регрессировали глазодвигательные нарушения. В январе 2005г вновь выросла атаксия, развились зрительные нарушения справа и глазодвигательные нарушения и углубились расстройства тазовых органов с эпизодами недержания мочи. На фоне кортикостероидной терапии частично регрессировала неврологическая симптоматика. Повторное обострение заболевания в апреле 2005г в виде углубления координаторных нарушений, ухудшения тазовых расстройств и присоединения левостороннего гемипареза. В течение 10 месяцев после дебюта заболевания было зафиксировано 3 обострения, 4-хкратно проводилась гормональная терапия с кратковременным эффектом и частичным регрессом неврологического дефицита.

В мае 2005г пациентка госпитализирована в неврологическое отделение ННМЦ, где был подтвержден диагноз - рассеянный склероз, ремитирующее течение, стадия обострения. Балл по шкале EDSS равен 6, СНД по шкале Куртцке -20 баллов, скорость прогрессирования заболевания-2, что соответствует высокой активности заболевания, т.е. быстрой скорости прогрессирования заболевания. При МРТ исследовании выявлена следующая картина: на полученных T1 и T2 взвешенных МР-изображениях в аксиальной,

сагиттальной и фронтальной проекциях в мозолистом теле, зрительных буграх, перивентрикулярно в белом веществе полушарий большого мозга определяются множественные очаги и зоны повышенной интенсивности МР сигнала на T2 режиме, округло-овальной формы, с нечеткими неровными контурами. В режиме T1 указанные очаги имеют гипоинтенсивный МР сигнал по отношению к веществу мозга, размерами 3,9 на 3,4мм до 15,5мм на 15,2мм. Заключение: МРТ признаки демиелинизирующего заболевания головного мозга (рисунки 7,8,11,12).

Учитывая неэффективность проводимой ранее гормональной терапии, ремитирующее течение заболевания с частыми обострениями при информированном согласии пациентки было принято решение о проведении данной большой трансплантации фетальных нейроцитов. Ранний посттрансплантационный период прошел без осложнений.

Уже через 7 дней имела место положительная динамика в виде эмоционального подъема, повышения общего жизненного тонуса, улучшение самочувствия, фона настроения. В неврологическом статусе отмечено уменьшения патологического мышечного тонуса в левых конечностях, больше в ноге и улучшения контроля над тазовыми функциями.

При повторной госпитализации в ноябре 2005г (через 6 месяцев) отмечалась значительная положительная динамика в виде регресса атаксии и левостороннего гемипареза до рефлекторного тетрасиндрома, восстановления функций тазовых органов и краниальных нервов с регрессом глазодвигательных расстройств, т.е. имела место стойкая ремиссия в течение 6 месяцев. Больной была проведена повторная трансплантация фетальных нейроцитов.

В апреле 2006г, через 10 месяцев после первой трансплантации фетальных нейроцитов пациентка был вновь госпитализирован для третьей нейротрансплантации. Отмечается стойкая ремиссия с практически полным регрессом неврологического дефицита и нарастанием силы во всех конечностях до 5 баллов, нормализации мышечного тонуса, исчезновения координаторных нарушений, полным восстановлением функции глазодвигательных нервов и контроля над тазовыми органами.

Балл по шкале EDSS равен 1, СНД по шкале Куртцке -5 баллов, скорость прогрессирования заболевания- 0,5, что соответствует умеренной скорости прогрессирования заболевания.

Больная трудоспособна, улучшился психоэмоциональный статус – повышение фона настроения, повседневная жизненная активность.

При МРТ-исследовании выявлена положительная динамика: на полученных T1иT2 взвешенных, T2FLAIR - изображениях в аксиальной и сагиттальной проекциях в мозолистом теле, в перивентрикулярном белом веществе мозга, теменной долях выявлены множественные очаги повышенной интенсивности сигнала на T2режиме. Указанные овальной и округлой формы, диаметрами от 6,1мм до 9,3мм, с нечеткими контурами, без признаков перифокальных изменений, рисунки 9,10, 13, 14.



Рисунок 7 МРТ картина пациентки А. (исследование до ТФН)

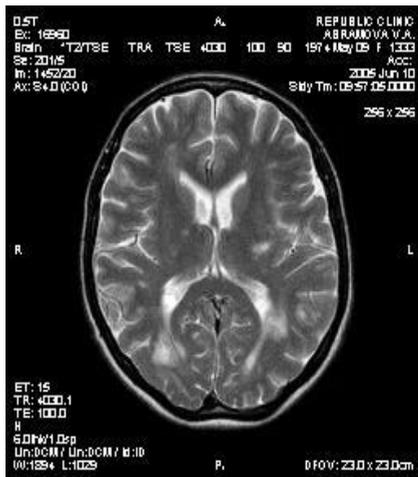


Рисунок 8 МРТ картина пациентки А. (исследование до ТФН)



Рисунок 9 МРТ картина пациентки А. (через 10 месяцев после ТФН)

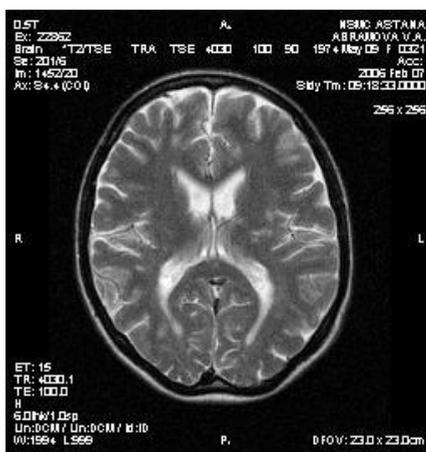


Рисунок 10 МРТ картина пациентки А. (через 10 месяцев после ТФН)

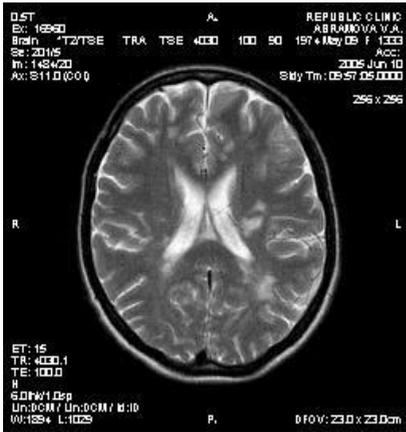


Рисунок 11 МРТ картина пациентки А. (исследование до ТФН)

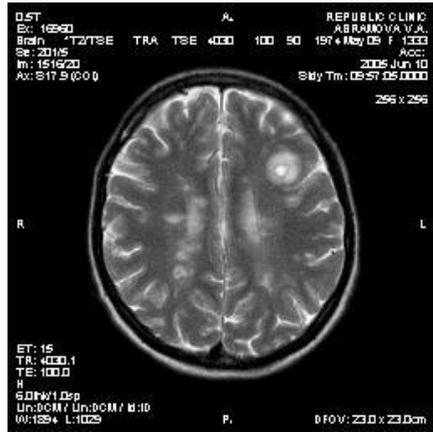


Рисунок 12 МРТ картина пациентки А. (исследование до ТФН)

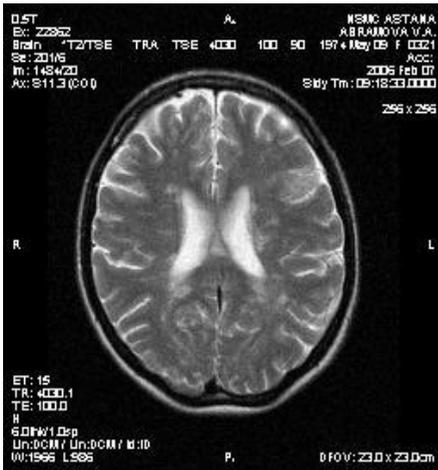


Рисунок 13 МРТ картина пациентки А. (через 10 месяцев после ТФН)

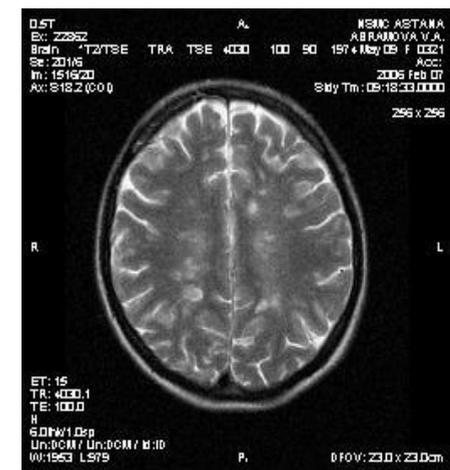


Рисунок 14 МРТ картина пациентки А. (через 10 месяцев после ТФН)

На рисунках 7,8 МРТ на аксиальной МР-томограмме больной А. в режиме T2 перивентрикулярном белом веществе на уровне задних рогов и центральных отделов боковых желудочков, определяются множественные очаги повышенного МР сигнала (исследование до ТФН).

На рисунках 9,10 в динамике через 10 месяцев после ТФН отмечается заметная положительная динамика в виде уменьшения количества очагов демиелинизации в головном мозге на МР томограмме в T2 режиме.

На рисунке 11,12. на аксиальной МР –томограмме в режиме T2 определяется множественные очаги повышенного МР-сигнала, различной формы и размеров, перивентрикулярно у переднего рога левого бокового желудочка визуализируется участок кольцевидной формы, окруженный зоной перитуморального отека (исследование до ТФН).

На рисунке 13-14 пациентка А. в динамике через 10 месяцев после ТФН отмечен регресс кольцевидного очага с явлением перифокального отека, новых очагов поражения не выявлено.

Клинический пример № 2 Пациентка Ц. 44г. История болезни №3407.

Диагноз: Демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы. Рассеянный склероз, вторично-прогрессирующее течение. Судорожный синдром с частыми генерализованными эпилептическими припадками. Тетрасиндром с выраженным нижним парапарезом. Атактический синдром. Нарушение функции тазовых органов по типу недержания.

Анамнез заболевания:

Первые симптомы заболевания стала отмечать в 1990г (в 29 лет) с периодически возникающей слабости в нижних конечностях, течение заболевания в дебюте имело ремитирующий характер с частыми обострениями, после которых сформировался стойкий неврологический дефицит с развитием страбизма, нижнего спастического парапареза, грубой атаксии, нарушений функций тазовых органов и с трансформацией в дальнейшем течение заболевания во вторично-прогрессирующее. Пациентка многократно получала курсы кортикостероидной терапии по месту жительства с кратковременным улучшением, периодически без эффекта. На 14-м году болезни у пациентки развился пароксизмальный синдром, с частотой приступов до 4-5 раз в месяц с тенденцией к серийному течению, постприпадочный период характеризовался наличием выраженного общемозгового синдрома с дезориентацией во времени и пространстве, нарастанием когнитивных расстройств. Противосудорожной целью пациентка получала бензонал в дозе 0,1г обед, на фоне которого росли общемозговые расстройства, частота эпилептических припадков не уменьшилась, в связи с чем препарат был отменен в отделении.

При поступлении в неврологическое отделение ННМЦ (июнь 2005г) пациентка предъявляла жалобы на затруднение речи, поперхивание при еде, отсутствие активных движений в ногах, слабость в руках., больше в слева, головокружение, недержание мочи, приступы потери сознания судорожного характера с частотой 5-6 раз в месяц, невозможность самообслуживания, нуждалась постоянно в посторонней помощи.

Клинический статус: расходящееся косоглазие справа, бульбарный симптомокомплекс, тетрасиндром с глубоким нижним парапарезом со снижением силы в ногах до 1 балла слева, справа 2-2,5 балла, атактического синдрома, нарушений функций тазовых органов по типу недержания. Балл по шкале EDSS был равен 7,5, СНД по шкале Куртцке -27 баллов, скорость прогрессирования заболевания-0,5, что соответствует умеренной активности заболевания.

На электроэнцефалографии зафиксирована полиморфная дизритмия и медленно-волновая активность.

На МРТ головного мозга: МРТ головного мозга: на полученных T1 и T2 взвешенных МР изображениях в аксиальной, сагиттальной и фронтальной проекциях выявлены множественные очаги повышенной интенсивности МР сигнала на T2 и T2 FLAIR режимах различной формы, локализации и диаметра. Указанные очаги изо-гипоинтенсивны по отношению к веществу мозга на T1 – изображениях, визуализируются в височных долях, симметрично в области ножек мозга, на уровне задних рогов и центральных отделов боковых желудочков, в проекции «лучистого венца», в области мозолистого тела. Диаметр очагов от 5мм до 14мм с четкими контурами, без признаков объемного эффекта, сливающиеся между собой. Заключение: МРТ - признаки демиелинизирующего заболевания головного мозга, церебральной атрофии, рисунки 15,16,19,20.

Учитывая неэффективность проводимой ранее гормональной терапии, вторично-прогредиентное течение заболевания с хроническим прогрессированием заболевания при информированном согласии пациентки было принято решение о проведении данной большой трансплантации фетальных нейроцитов.

Нейротрансплантацию пациентка перенесла удовлетворительно, ранний посттрансплантационный период проходил без осложнений. Уже через 7 дней имела место положительная динамика в виде эмоционального подъема, повышения общего жизненного тонуса, улучшение самочувствия, фона настроения.

В неврологическом статусе отмечено уменьшения патологического мышечного тонуса в нижних конечностях и нарастания мышечной силы в руках до 5баллов, в ногах слева 2б, справа 3 балла, улучшения контроля над тазовыми функциями.

При повторной госпитализации в январе 2006г (через 7 месяцев) отмечалась значительная положительная динамика в виде полного регресса бульбарного синдрома, патологического мышечного гипертонуса в ногах, выросла сила в руках до баллов, в ногах справа до 5 баллов, слева до 4 баллов, значительно уменьшилась выраженность координаторных нарушений, заметно улучшился контроль над тазовыми функциями, отмечал только очень редкие эпизоды императивных позывов.

Балл по шкале EDSS равен 6, СНД по шкале Куртцке -17 баллов, скорость прогрессирования заболевания-0,4, что соответствует умеренной скорости прогрессирования заболевания.

У пациентки отмечен эмоциональный подъем, повышение общего жизненного тонуса, улучшение самочувствия, фона настроения, общей активизации. Эти проявления объясняются введением в организм с трансплантированной фетальной тканью нейропептидов, медиаторов, эндогенных опиатов (эндорфинов, энкефалинов) и ряда других биологически активных веществ.

Пациентка самостоятельно передвигалась при помощи трости, без поддержки и посторонней помощи, полностью себя обслуживала, повысилась повседневная жизненная активность. Нужно отметить, что в течение 6 месяцев после первой нейротрансплантации у пациентки не зафиксированы эпилептические припадки, на ЭЭГ также отмечена положительная динамика в виде регресса пароксизмальной активности головного мозга, при этом противосудорожную терапию пациентка не получала.

При третьей госпитализации в июне 2006г (через 12 месяцев) мы отметили, что сохранялся ранее достигнутый положительный эффект. Полностью регрессировали бульбарные нарушения – речь вянутая, дисфагии и дисфонии нет. Нормализовался мышечный тонус в ногах, выросла сила в руках до 5 баллов, в ногах справа до 5 баллов, слева до 4 баллов. Значительно уменьшилась выраженность координаторных нарушений, пациентка передвигается с помощью трости. Заметно улучшился контроль над тазовыми функциями, отмечала только очень редкие эпизоды императивных позывов.

Балл по шкале EDSS равен 6, СНД по шкале Куртцке -15 баллов, скорость прогрессирования заболевания-0,4, что соответствует умеренной скорости прогрессирования заболевания.

Нужно отметить, что в течение 12 месяцев после первой нейротрансплантации у пациентки не зафиксированы эпилептические припадки, на ЭЭГ также отмечена положительная динамика в виде регресса пароксизмальной активности головного мозга.

Таким образом, в данном клиническом случае у пациентки с вторично-прогрессирующим течением мы наблюдали стабилизацию течения заболевания, что подтверждалось стойким регрессом неврологического дефицита, как по сумме неврологического дефицита, так и по баллам EDSS, снижение скорости прогрессирования заболевания до 0,4.

Изменения зафиксированы и при МРТ исследовании, где выявлена следующая картина: на полученных T1 и T2 взвешенных МР изображениях в аксиальной, сагитальной и фронтальной проекциях в перивентрикулярном белом веществе на уровне переднего и заднего рогов и центральной части боковых желудочков, в мозолистом теле, левой гемисфере мозжечка выявлены множественные очаги повышенной интенсивности сигнала на T2 режиме, округлой формы, с нечеткими контурами, без выраженных признаков перифокальных изменений, Заключение: МРТ-признаки очагов демиелинизации головного мозга, рисунки 17,18, 21,22.



Рисунок 15 МРТ картина пациентки Ц. (исследование до ТФН)

Рисунок 16 МРТ картина пациентки Ц. (исследование до ТФН)

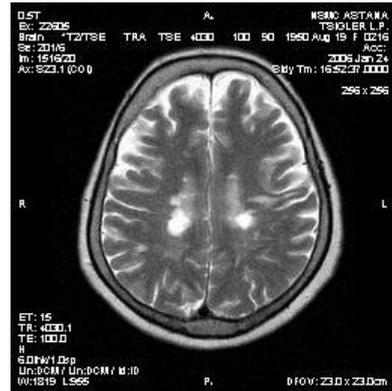
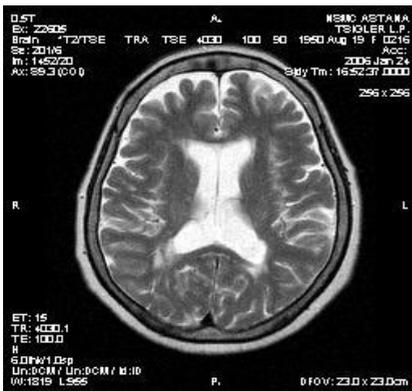


Рисунок 17 МРТ картина пациентки Ц. (через 10 месяцев после ТФН)

Рисунок 18 МРТ картина пациентки Ц. (через 10 месяцев после ТФН)



Рисунок 19 МРТ картина пациентки Ц. (исследование до ТФН)



Рисунок 20 МРТ картина пациентки Ц. (исследование до ТФН)

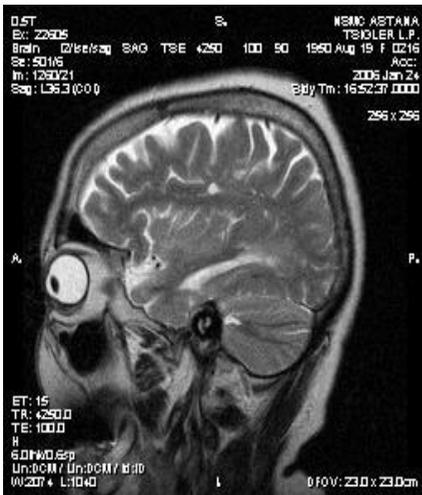


Рисунок 21 МРТ картина пациентки Ц. (через 10 месяцев после ТФН)



Рисунок 22 МРТ картина пациентки Ц. (через 10 месяцев после ТФН)

На рисунке 15-16 аксиальный срез - перивентрикулярно в теменных долях определяются очаги повышенного МР сигнала на T2 режиме, округлой и овальной формы без признаков объемного эффекта и перифокального отека. На уровне передних и задних рогов боковых желудочков определяются обширные перивентрикулярные зоны патологического повышения интенсивности МР сигнала на T2- режиме. Визуализируется корковая и центральная атрофия с расширением боковых желудочков мозга (исследование до ТФН)

На рисунке 17-18 динамика через 12 месяцев после ТФН на аксиальном срезе перивентрикулярно в теменных долях визуализируются «старые» очаги повышенного МР сигнала на T2 режиме, новых очагов поражения головного мозга не выявлено, нарастания корковой и центральной атрофии не отмечено.

На рисунке 19,20 в сагитальной проекции на T2 режиме в теменных долях, в области мозолистого тела визуализируются множественные сгруппированные очаги повышенного МР сигнала с тенденцией к «слиянию» (исследование до ТФН)

На рисунке 21-22 динамика через 12 месяцев после ТФН в сагитальной проекции на T2 режиме в теменных долях визуализируются множественные очаги повышенного МР сигнала, новых очагов демиелинизации не выявлено

Клинический пример №3 *Больной Г., 25 лет. История болезни № 3456*

Диагноз: Демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы. Рассеянный склероз, первично-прогрессирующее течение. Тетрапирамидный синдром с пlegией в нижних конечностях. Атактический синдром.

Анамнез заболевания: длительность заболевания 7 лет, дебют заболевания в возрасте 19 лет с развития нижнего спастического парапареза и атактического синдрома, течение заболевания носило злокачественный характер с быстрым нарастанием неврологического дефицита в течение 2-х лет с легкого нижнего парапареза до выраженного тетрапирамидного синдрома с нижней параплегией и атактическим синдромом, без периодов стабилизации состояния и четких эпизодов эксацербации. Проводились неоднократно курсы глюкокортикоидной пульс-терапии и плазмафереза, вазоактивных и нейропротекторных препаратов без значимого эффекта.

До первой трансплантации фетальных нейроцитов в неврологическом статусе имели место глубокий спастический тетрапарез до пlegии в нижних конечностях и снижением силы в левой руке до 3 баллов, и атактического синдрома с невозможностью самостоятельного передвижения, и самообслуживания, дисфункции тазовых органов.

Балл по шкале EDSS равен 8,5, СНД по шкале Куртцке -21 баллов, скорость прогрессирования заболевания-1,21, что соответствует высокой активности заболевания.

При МРТ исследовании выявлены следующие изменения: На серии МР-томограмм головного мозга в аксиальной, сагитальной и фронтальной проекциях срединные структуры мозга без дислокации. Желудочковая система симметрична, не расширена. Сильвиевы щели симметричные, умеренно

расширены. В белом веществе обоих полушарий определяются единичные очаги повышенного МР-сигнала в режиме T2, округло-овальных форм, размерами до 5-9 мм, которые изоинтенсивны в T1. Заключение: МРТ-признаки очагов демиелинизации в обоих полушариях головного мозга, рисунки 23,24, 27,28.

Учитывая неэффективность проводимой ранее гормональной терапии, первично-прогредиентное течение заболевания с хроническим прогрессированием заболевания при информированном согласии пациента было принято решение о проведении трансплантации фетальных нейроцитов.

Нейротрансплантацию пациент перенес удовлетворительно, ранний посттрансплантационный период проходил без осложнений.

При повторной госпитализации в январе 2005 г. (через 7 месяцев) отмечалась значительная положительная динамика в виде регресса пирамидной симптоматики: существенно уменьшился патологический мышечный гипертонус, выросла мышечная сила в конечностях, особенно справа до 3-3,5 баллов, уменьшилась выраженность координаторных нарушений, больной стал самостоятельно передвигаться, с помощью трости, восстановилось частичное самообслуживание. Больному была проведена повторная трансплантация фетальных нейроцитов.

Балл по шкале EDSS равен 6, СНД по шкале Куртцке -12 баллов, скорость прогрессирования заболевания-0,85, что соответствует высокой скорости прогрессирования заболевания.

В сентябре 2005г, через 15 месяцев после первой трансплантации фетальных нейроцитов пациент был вновь госпитализирован для третьей нейротрансплантации. Отмечается существенный регресс неврологического дефицита в виде нарастания силы в конечностях до 4,5-5баллов, нормализации мышечного тонуса, исчезновения координаторных нарушений.

Балл по шкале EDSS равен 2, СНД по шкале Куртцке -8 баллов, скорость прогрессирования заболевания-0,28, что соответствует медленной скорости прогрессирования заболевания.

Больной самостоятельно ходит, сам себя обслуживает, способен к труду, улучшился психоэмоциональный статус, повседневная жизненная активность.

При МРТ исследовании мы наблюдали следующую картину: выявлены единичные очаги повышенной интенсивности МР сигнала на T2 и T2 FLAIR режимах, локализованные в перивентрикулярном белом веществе левого полушария мозга, конвекситальных отделах теменных долей, в области зрительного бугра слева. Указанные очаги на T1 режиме изоинтенсивны по отношению к веществу мозга, различной формы и диаметра, с четкими, ровными контурами, без признаков объемного эффекта и перифокального отека. Заключение: МРТ-признаки демиелинизирующего процесса головного мозга (рисунки 25,26,29,30).

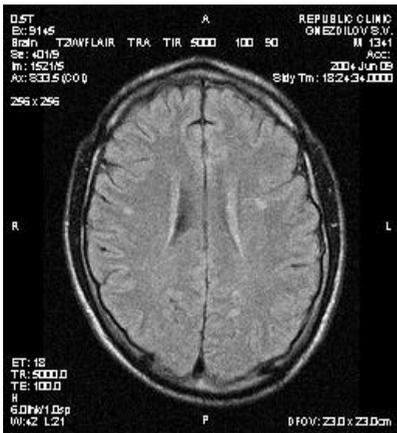


Рисунок 23 МРТ картина пациент Г. (исследование до ТФН)

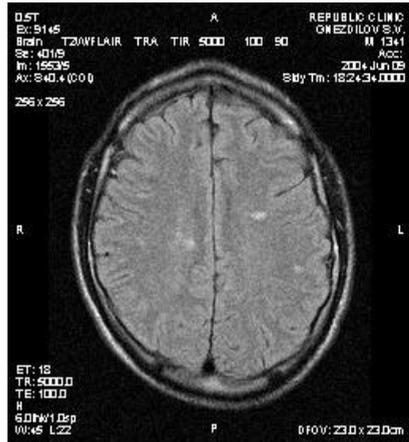


Рисунок 24 МРТ картина пациент Г. (исследование до ТФН)

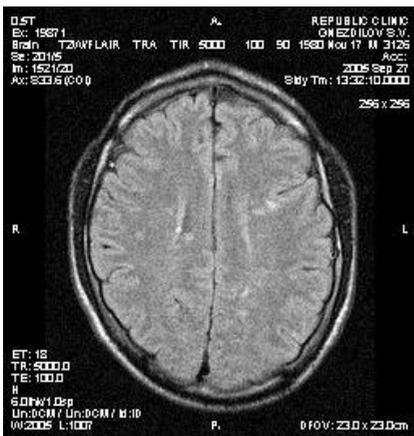


Рисунок 25 МРТ картина пациентки Г. (через 10 месяцев после ТФН)

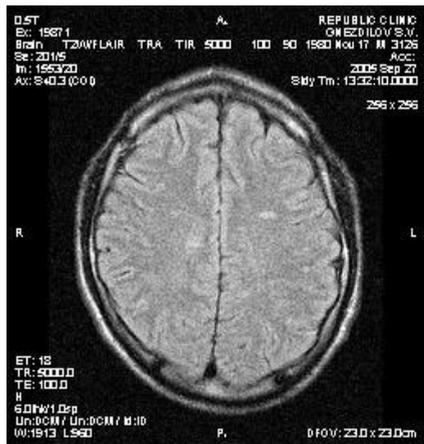


Рисунок 26 МРТ картина пациентки Г. (через 10 месяцев после ТФН)

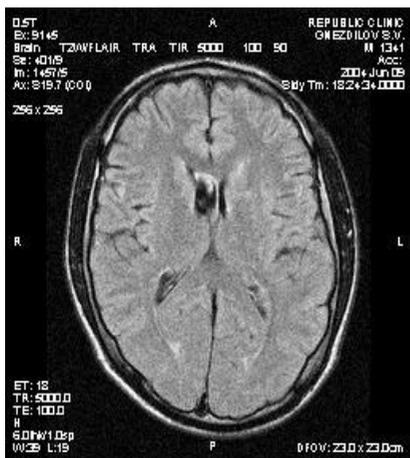


Рисунок 27 МРТ картина пациент Г. (исследование до ТФН)



Рисунок 28 МРТ картина пациент Г. (исследование до ТФН)

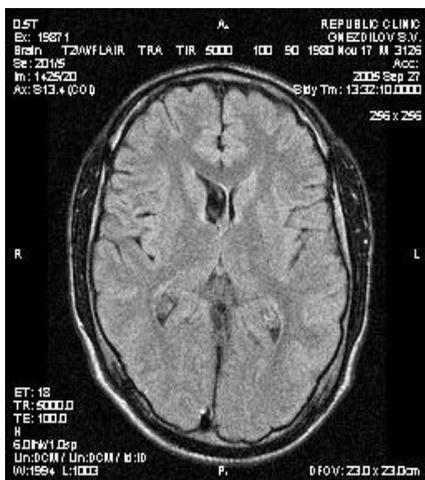


Рисунок 29 МРТ картина пациент Г. (через 10 месяцев после ТФН)

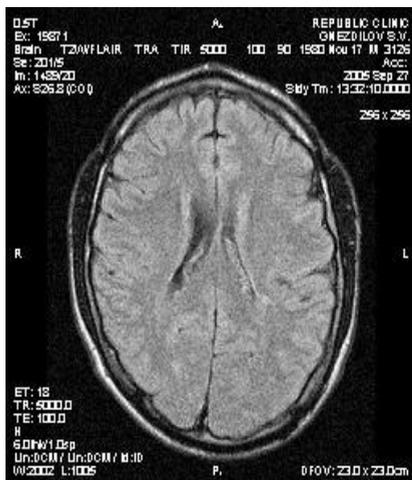


Рисунок 30 МРТ картина пациент Г. (через 10 месяцев после ТФН)

На рисунке 23-24 аксиальный срез - в белом веществе головного мозга перивентрикулярно определяются единичные очаги повышенного МР сигнала на T2 режиме, округло-овальной формы. (исследование до ТФН).

На рисунке 25-26 МРТ динамика через 12 месяцев после ТФН. На аксиальных срезах перивентрикулярно визуализируется меньшее количество очагов повышенного МР сигнала на T2 режиме, интенсивность МР сигнала значительно меньше.

Рисунок 27-28 аксиальная проекция в перивентрикулярном белом веществе визуализируются единичные очаги повышенного МР сигнала на T2 FLAIR режиме. Желудочковая система незначительно расширена (исследование до ТФН).

На рисунке 29, 30 МРТ динамика через 12 месяцев после ТФН. На аксиальных срезах перивентрикулярно визуализируется меньшее количество очагов повышенного МР сигнала на T2 режиме, интенсивность МР сигнала значительно меньше. Желудочковая система имеет прежние размеры.

По данным наших наблюдений для больных рассеянным склерозом, в соответствии с результатами МРТ исследования головного мозга, было свойственно наличие различных по размеру очагов поражения мозга, расположенных преимущественно супратенториально в перивентрикулярном белом веществе, мозолистом теле и полушариях мозга с тенденцией к слиянию крупных очагов. Также мы наблюдали «синдром хронической воспалительной демиелинизации» и «синдром сочетанной мультифокальной диффузной лейкоэнцефалопатии». После трансплантации фетальных нейроцитов в обследуемой группе мы наблюдали позитивные изменения МРТ-картины в виде существенного уменьшения количества очагов со снижением интенсивности МР сигнала от них на T2 и T2 FLAIR режимах, регресс перифокальных изменений маркеров активности процесса, отсутствие признаков нарастания атрофии мозга и гидроцефалии, а также признаков «слияния бляшек» демиелинизации.

Таким образом, завершая главу исследования клинического статуса нужно отметить, что по результатам наших наблюдений метод нейротрансплантации не вызывает клинических осложнений, которые бы ухудшили соматическое состояние или вызвали бы утяжеление течения рассеянного склероза. После фетальной нейротрансплантации отмечался стойкий достоверный положительный клинический эффект у обследуемых пациентов в основной группе в виде ремиссии и стабилизации процесса с уменьшением выраженности степени инвалидизации пациентов, скорости прогрессирования заболевания и количества обострений. Мы наблюдали у всех пациентов повышения фона настроения и общего жизненного тонуса, снижения депрессии. Позитивная динамика в неврологическом статусе имела место главным образом за счет уменьшения двигательных нарушений, улучшения контроля над тазовыми функциями, атаксии. Из неврологических синдромов наиболее толерантными к терапии у всех больных были чувствительные и зрительные расстройства, с другой стороны легче купировались спастические парезы конечностей и тазовые нарушения, в сравнении с контрольной группой.

4 РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ

Первым этапом исследования явился анализ и сравнение иммунологических показателей больных до начала терапии фетальными нейрочитами основной группы с пациентами контрольной группы, таблица 7.

Таблица 7 - Сравнение иммунологических параметров пациентов основной и контрольной групп до проведения трансплантации фетальных нейрочитов (M±m)

Иммунологические показатели		Контрольная группа	Основная группа
		n-15	n-30
Лц	10 ⁹ /л	4,09±1,05	4,75±1,24
Лф	%	30,78±10,12	32,62±11,45
Лф	10 ⁹ /л	2,55±1,05	2,72±1,15
CD3 ⁺	%	38,6±2,2	37,5±3,7
CD3 ⁺	10 ⁹ /л	1,46±0,97	1,28±0,09
CD4 ⁺	%	32,5±2,73	35,28±7,63
CD4 ⁺	10 ⁹ /л	0,86±0,34	0,9±0,06
CD8 ⁺	%	14,3±2,78	13,2±2,45
CD8 ⁺	10 ⁹ /л	0,29±0,09	0,22±0,06
CD16 ⁺	%	9,06±4,35	11,07±2,37
CD16 ⁺	10 ⁹ /л	0,17±0,06	0,19±0,09
CD20 ⁺	%	20,00±1,81	21,41±1,77
CD20 ⁺	10 ⁹ /л	0,27±0,14	0,63±0,17
CD4 ⁺ / CD8 ⁺		2,27±1,08	2,67±0,5
НСТ – тест спонтанный		9,03±0,18	8,65±0,21
ИС		0,30±0,06	0,41±0,03
Фагоцитоз нейтрофилов	%	38,44±2,18	37,91±3,18
IgM сыворотки крови	г/л	1,9±0,75	2,05±0,94
IgG сыворотки крови	г/л	10,69±1,2	11,19±2,81
IgA сыворотки крови	г/л	2,85±0,84	2,6±0,74
IgM ЦСЖ	г/л	0,11±0,09	0,24±0,08
IgG ЦСЖ	г/л	0,56±0,02	0,71±0,09
ЦИК		88,07±7,37	84,53±2,89
Примечания – n количество пациентов			

При анализе таблицы 7 отмечено в двух обследуемых группах снижение относительных значений субпопуляций лимфоцитов CD3⁺-лимфоцитов CD8⁺-лимфоцитов, что указывает об угнетении клеточного звена иммунитета, в основном за счет снижения цитотоксической/ супрессорной активности. В то же время абсолютные показатели содержания этих иммунокомпетентных клеток были в пределах нормы. Гуморальный компонент иммунной системы активизирован, о чем свидетельствует повышенное содержание ЦИК в крови,

IgG в сыворотке крови и в ЦСЖ у больных РС. Мы наблюдали снижение фагоцитарной активности, тогда как параметры НСТ-теста и индекса стимуляции в пределах нормы в обеих группах.

При исследовании динамики иммунологических параметров у больных РС, после трансплантации фетальных нейроцитов в течение одного года, изменения были выявлены как в гуморальном, так и в клеточном звене иммунитета, таблица 8.

Таблица 8 - Динамика иммунологических показателей после трансплантации фетальных нейроцитов в основной группе больных РС(М±m)

Показатель	До лечения	Через 7 дней	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Лф %	32,62±11,45	34,55±10,1	37,2±8,4	41,12±7,2
Лф 10 ⁹ /л	2,72±1,15	2,91±1,2	3,01±1,13	3,2±1,1
CD3 ⁺ %	37,5±3,7	41,7±11,5	50,28±4,7**	55,78±3,7**
CD3 ⁺ 10 ⁹ /л	1,28±0,09	1,48±0,16	1,98±0,04*	2,4±0,05*
CD4 ⁺ %	35,28±7,63	28,21±4,06*	29,21±3,53*	38,92±3,1
CD4 ⁺ 10 ⁹ /л	0,9±0,06	0,64±0,05*	0,60±0,08*	1,1±0,1
CD8 ⁺ %	13,2±2,45	18,0±1,28**	19,0±2,46**	21,4±2,18**
CD8 ⁺ 10 ⁹ /л	0,22±0,06	0,72±0,04**	0,75±0,03**	0,76±0,06**
CD16 ⁺ %	11,07±2,37	18,85±1,2**	14,14±3,37	15,57±5,5
CD16 ⁺ 10 ⁹ /л	0,19±0,09	0,28±0,16	0,23±0,11	0,25±0,9
CD20 ⁺ %	21,41±1,77	17,35±1,79**	16,07±2,3**	16,4±1,72**
CD20 ⁺ 10 ⁹ /л	0,63±0,17	0,31±0,12**	0,26±0,12**	0,35±0,01**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,67±0,5	1,57±0,11*	1,54±0,15*	1,35±0,14*
НСТ – тест	8,65±0,21	11,93±1,07**	7,18±1,03	6,97±0,97
ИС	0,41±0,03	0,62±0,08*	0,33±0,02*	0,35±0,04
Фагоцитоз %	37,91±3,18	38,14±2,45	67,6±8,8*	64,3±8,4*
IgM г/л	2,05±0,94	1,81±0,9	1,77±0,69	1,14±0,03
IgG г/л	11,19±2,81	7,84±1,04**	8,96±1,04*	8,82±1,07*
IgA г/л	2,6±0,74	2,09±1,0	2,43±1,25	2,09±0,68
IgM ЦСЖ г/л	0,24±0,08	0,14±0,01	0,12±0,04	0,13±0,08
IgG ЦСЖ г/л	0,71±0,09	0,24±0,03**	0,27±0,07*	0,24±0,08**
ЦИК	84,53±2,89	76,33±7,28	73,6±3,56**	75,79±4,34**
Примечания:				
* - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,05				
** - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,01				

Итак, при сравнении данных до начала лечения и в течение 12 месяцев отмечались фазные изменения в содержании иммунокомпетентных клеток у пациентов основной группы. Нами отмечено достоверное повышение относительных значений субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов через 6 месяцев на 34% (p<0,01), а через 12 месяцев на 33% (p<0,01). В эти же периоды абсолютные значения CD3⁺-лимфоцитов также достоверно повысились к 6 месяцу в 1,5 раза (p<0,05) и в 1,9 раза (p<0,05) к 12 месяцу. Мы наблюдали

достоверное снижение как относительных, так и абсолютных показателей субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов уже на 7-й день после трансплантации фетальных нейроцитов на 20% (p<0,05) и 29% (p<0,05) соответственно. Через 6 месяцев после ТФН нами отмечено незначительное повышение относительных и снижение абсолютных значений субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов в сравнении с результатами 7-го дня обследования, но они оставались ниже исходных показателей на 17-33% (p<0,05) соответственно. Содержание CD4⁺-клеток, как абсолютных показателей, так и относительных, через 12 месяцев стало выше исходных на 18% и 9,4% соответственно. При анализе динамики субпопуляции CD8⁺-лимфоцитов, мы наблюдали достоверное повышение значений CD8⁺-клеток, при сравнении с исходными показателями, на всех этапах обследования с увеличением к 6 и 12 месяцам абсолютных значений в 3,4 и 3,5 раза (p<0,01), относительных значений на 30% и 38% (p<0,01) соответственно.

Так, у пациентов рассеянным склерозом основной группы получавших клеточную терапию после фетальной нейротрансплантации направление иммунного ответа смещается в сторону Th I типа, что проявляется в снижении уровня относительных значений CD20⁺-клеток к 7 дню на 19%(p<0,01), а к 6-му и 12-му месяцам на 25% и 14%(p<0,01). Абсолютные значения мононуклеарных клеток с маркером CD20⁺ также достоверно снизилось через 7 дней в 2 раза (p<0,01), через 6 и 12 месяцев в 2,4 и 1,8 раза (p<0,01) соответственно. При этом нами отмечено не только достоверное снижение содержания IgG в спинномозговой жидкости на 66% (p<0,01) и в сыворотке крови на 21% (p<0,01), но и уровень ЦИК в крови на 10% (p<0,01) к 6 и 12 месяцам.

Нами отмечено в обследуемой группе достоверное повышение субпопуляции CD16⁺-лимфоцитов на 7-й день на 41% (p<0,01), через 6 и 12 месяцев показатели естественных киллеров стали выше исходных на 21% и 30% соответственно по результатам относительных данных. При анализе абсолютных значений мы видим увеличение натуральных киллеров, причем через 7 дней после ТФН они возросли в 1,5 раза (p<0,01), через 6 и 12 месяцев в 1,2 и 1,3 раза соответственно при сопоставлении с исходными значениями.

После трансплантации фетальных нейроцитов отмечены изменения в параметрах неспецифической резистентности. НСТ-тест достоверно повысился через 7 дней на 27% (p<0,01), что свидетельствует компенсаторном повышении функциональной активности нейтрофилов на введение фетального материала, через 6 и 12 месяцев этот показатель нормализовался. Фагоцитоз достоверно повысился через 6 месяцев на 44% (p<0,05) и через 12 месяцев на 41% (p<0,05).

Параллельно с исследованием иммунологического статуса больных основной группы, которым проводилась трансплантация фетальных нейроцитов, мы исследовали иммунограммы пациентов контрольной группы, получавших только иммуносупрессивную терапию при обострении и хроническом прогрессировании заболевания (пульс-терапия, плазмаферез). Результаты динамического изменения иммунного статуса контрольной группы представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Динамика иммунологических показателей в контрольной группе пациентов рассеянным склерозом после курса иммуносупрессивной терапии в течение 12 месяцев (M±m)

Показатель	До лечения	Через 7 дней	Через 6 месяцев	Через 12 месяцев
Лф %	30,78±10,12	32,11±6,1	33,21±5,5	32,28±10,12
Лф 10 ⁹ /л	2,55±1,05	2,11±0,6	2,01±0,3	2,1±0,5
CD3 ⁺ %	38,6±2,2	34,17±6,6	35,11±4,9	32,1±2,04*
CD3 ⁺ 10 ⁹ /л	1,46±0,97	1,14±0,16	1,08±0,1	1,06±0,08
CD4 ⁺ %	32,5±2,73	25,1±4,4	26,11±2,3	26,9±2,65
CD4 ⁺ 10 ⁹ /л	0,86±0,34	0,72±0,15	0,62±0,1	0,54±0,08
CD8 ⁺ %	14,3±2,78	15,1±1,1	11,2±1,2	12,1±1,09*
CD8 ⁺ 10 ⁹ /л	0,29±0,03	0,31±0,08	0,22±0,08	0,2±0,01*
CD16 ⁺ %	9,06±4,35	9,5±3,3	8,1±2,3	8,06±1,5
CD16 ⁺ 10 ⁹ /л	0,17±0,06	0,18±0,1	0,11±0,01	0,14±0,03
CD20 ⁺ %	20,00±1,81	16,3±1,9	19,09±2,3	26,74±2,21*
CD20 ⁺ 10 ⁹ /л	0,27±0,04	0,21±0,01	0,26±0,1	0,74±0,14*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,27±1,08	1,6±0,06	2,33±0,05	2,22±0,7
НСТ – тест	9,03±0,18	7,3±1,07	8,1±1,3	8,04±1,02
ИС	0,30±0,06	0,52±0,09	0,43±0,05	0,28±0,07
Фагоцитоз %	38,44±2,18	38,1±2,15	42,4±11,7	41,19±4,23
IgM г/л	1,9±0,75	1,1±0,03	3,32±0,09	3,4±0,08
IgG г/л	10,69±1,2	7,81±2,06	12,87±2,4	14,09±2,06*
IgA г/л	2,85±0,84	2,9±1,0	2,3±1,05	2,05±0,84
IgM ЦСЖ г/л	0,11±0,09	0,14±0,01	0,12±0,04	0,23±0,09
IgG ЦСЖ г/л	0,56±0,02	0,4±0,1	0,7±0,1	0,68±0,04*
ЦИК	88,07±7,37	79,43±6,8	91,7±5,56	92,2±7,7
Примечание				
* - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,05				

Из таблицы 9 видно, что в контрольной группе пациентов изменения в иммунологическом статусе после проведения курса только иммуносупрессивной терапии также имели место, но носили иной характер. В частности, относительное значение иммунокомпетентных клеток с маркерами CD3⁺ снизилось через 7 дней и 6 месяцев на 11% и 9% соответственно, через 12 месяцев достоверно снизилось на 17% (p<0,05), абсолютное количество этих клеток уменьшилось через 7 дней в 1,3 раза, через 6 и 12 месяцев в 1,4 раза. Субпопуляция CD4⁺-лимфоцитов по относительным показателям уменьшилась через 7 дней после лечения на 23%, через 6 и 12 месяцев на 20% и 17% соответственно. Абсолютное число Т-хелперов снизилось через 7 дней в 1,2 раза, через 6 и 12 месяцев в 1,4 и 1,6 раза. Содержание Т-супрессорных лимфоцитов по данным относительных значений снизилось через 6 месяцев на 22% и через 12 месяцев на 15%. Абсолютное количество CD8⁺-лимфоцитов через 6 месяцев уменьшилось в 1,3 раза, через 12 месяцев достоверно снизилось в 1,5 раза (p<0,05) при сопоставлении с исходными данными. Количество

натуральных киллеров также имело тенденцию к снижению во все обследуемые периоды, как по относительным данным, так и в абсолютных числах, и к 12 месяцу снизилось на 11% и в 1,2 раза соответственно. Содержание В-лимфоцитов достоверно увеличилось через 12 месяцев на 25% ($p<0,05$) по относительным данным и в 2,7 раза в абсолютных числах ($p<0,05$). Изменение гуморального иммунитета в сторону его активизации подтверждалось достоверным увеличением через 12 месяцев наблюдения уровня IgG в крови на 24% ($p<0,05$) и в ЦСЖ в 1,2 раза ($p<0,05$). Увеличением уровня ЦИК в крови на 5% при сравнении с исходными данными.

Комплексная оценка влияния фетальной нейротрансплантации на иммунитет больных РС, включала в себя сравнительный анализ иммунологических параметров больных, после введения фетального материала через 12 месяцев с контрольной группой пациентов, таблица 10.

Таблица 10 - Сравнение иммунологических параметров пациентов основной группы с контрольной группой через 12 месяцев наблюдения ($M\pm m$)

Иммунологические показатели	Контрольная группа		Основная группа	
		n-15		n-30
Лц	$10^9/\text{л}$	$4,09\pm 1,05$		$5,5\pm 1,2$
Лф	%	$30,78\pm 10,12$		$41,12\pm 7,2$
Лф	$10^9/\text{л}$	$2,55\pm 1,05$		$3,2\pm 1,1$
CD3 ⁺	%	$36,7\pm 7,9$		$55,78\pm 3,7^{**}$
CD3 ⁺	$10^9/\text{л}$	$1,06\pm 0,08$		$2,4\pm 0,05^*$
CD4 ⁺	%	$44,49\pm 2,65$		$38,92\pm 3,1$
CD4 ⁺	$10^9/\text{л}$	$1,44\pm 0,09$		$1,1\pm 0,1$
CD8 ⁺	%	$12,1\pm 1,09$		$21,4\pm 2,18^{**}$
CD8 ⁺	$10^9/\text{л}$	$0,29\pm 0,02$		$0,76\pm 0,06^{**}$
CD16 ⁺	%	$11,06\pm 3,45$		$15,57\pm 5,5$
CD16 ⁺	$10^9/\text{л}$	$0,21\pm 0,09$		$0,25\pm 0,9$
CD20 ⁺	%	$26,74\pm 2,21$		$16,4\pm 1,72^{**}$
CD20 ⁺	$10^9/\text{л}$	$0,74\pm 0,14$		$0,35\pm 0,01^{**}$
CD4 ⁺ /CD8 ⁺		$3,67\pm 1,4$		$1,35\pm 0,14^*$
НСТ – тест спонтанный		$8,04\pm 1,02$		$6,97\pm 0,97$
ИС		$0,28\pm 0,07$		$0,35\pm 0,04$
Фагоцитоз	%	$41,19\pm 4,23$		$64,3\pm 8,4^*$
IgM сыворотки крови	г/л	$3,4\pm 0,08$		$1,14\pm 0,03$
IgG сыворотки крови	г/л	$14,09\pm 2,06$		$8,82\pm 1,07^*$
IgA сыворотки крови	г/л	$2,05\pm 0,84$		$2,09\pm 0,68$
IgM ЦСЖ	г/л	$0,23\pm 0,09$		$0,13\pm 0,08$
IgG ЦСЖ	г/л	$0,68\pm 0,04$		$0,24\pm 0,08^{**}$
ЦИК		$92,2\pm 7,7$		$75,79\pm 4,34^{**}$
Примечание: n – количество пациентов; * - достоверность различий между показателями контрольной и основной групп менее 0,05				

Как видно из таблицы 10 в основной группе через 12 месяцев после ТФН содержание CD3⁺-лимфоцитов, как относительных, так и абсолютных значений

достоверно выше, при сравнении с контрольной группой на 34% и 56% соответственно. Содержание CD4⁺-лимфоцитов в основной группе было ниже, чем в контрольной группе, как абсолютных, так относительных значений, на 23% и 31% (p<0,05) соответственно. Тогда как, уровень относительных показателей CD8⁺-лимфоцитов был выше в основной группе на 43%(p<0,05), уровень абсолютных значений CD8⁺-клеток был выше в 2,62 раза.

Таким образом, в основной группе пациентов с рассеянным склерозом через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов отмечена активизация клеточного звена иммунитета, что подтверждается более высокими значениями CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов при сравнении с показателями контрольной группы. В параметрах неспецифической резистентности достоверной разницы в группах не выявлено, хотя в основной группе фагоцитоз выше на 36%.

Отмечены достоверные различия и в параметрах гуморального иммунитета. Так в основной группе параметры гуморального звена иммунитета в пределах нормы, тогда как в контрольной группе отмечаются признаки активизации гуморального иммунитета, что подтверждается более низким содержанием в основной группе CD20⁺-лимфоцитов: относительные показатели на 45%(p<0,05), абсолютные значения на 54% (p<0,05); также достоверно ниже содержание IgG в основной группе, как в сыворотке крови, так и в спинномозговой жидкости, в 1,6 и 2,8 раз (p<0,05) соответственно. Кроме того, мы наблюдали достоверный более низкий уровень ЦИК в крови на 17%(p<0,05) в основной группе. В контрольной группе удерживается напряженность гуморального иммунитета.

Приводим клинический пример реакции иммунологического статусе на введение фетального материала у пациентки с ремитирующим течением РС.

Пациентка А. 32. История болезни № 3344.

Иммунограмма до фетальной нейротрансплантации - в таблице 11.

Таблица 11 - Иммунограмма от 11.05.05. пациентки А. 32 года.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (х. 10 ⁹)	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (х. 10 ⁹)
Лейкоциты	3,6		4,0- 9,0	
Лимфоциты	43	2,9	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	37	0,9	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	31	0,4	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	10	0,12	16-39	0,3-1,0
ИРИ(CD4/ CD8)	3,1		1,5-2,0	
CD16 (NK – клетки)	2	0,32	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	27	0,9	6-23	0,05-0,6

Продолжение таблицы 11

Параметры гуморального звена иммунитета			
Показатель	Результат	Граница нормы	
		Мужчины	Женщины
Ig A	2,94	1,0-4,9	0,85-4,5
Ig G	18,46	8-17	
Ig M	1,73	0,5-3,2	0,6-3,7
ЦИК	95	24-84	
Факторы неспецифической резистентности			
НСТ-тест	9	<10	
ИС	0,43	<0,5	
Фагоцитоз	34	30-80%	

Заключение: дефицит клеточного звена иммунитета, повышена активность гуморального компонента иммунитета, увеличено содержание ЦИК.

Динамика иммунологического статуса через 7 дней после трансплантации фетальных нейроцитов.

Таблица 12 – Иммунограмма пациентки А., 32г. через семь дней после ТФН.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения $\times 10^9$	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)
Лейкоциты	6,5		4,0- 9,0	
Лимфоциты	47	3,4	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	41	1,5	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	29	0,6	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	17	0,68	16-39	0,3-1,0
Иммунорегуляторный индекс (CD4/ CD8)	1,7		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	19	0,3	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	17	0,4	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Женщины	
Ig A	2,52	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	10,77	8-17		
Ig M	2,1	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	82	24-84		
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-тест	12	<10		
ИС	0,6	<0,5		
Фагоцитоз	45	30-80%		

Заключение: Относительный лимфоцитоз. Активация клеточного звена иммунитета. Значение гуморального иммунитета в пределах нормы. НСТ-тест и индекс стимуляции повышены. Фагоцитоз в пределах нормы.

Динамика иммунологического статуса через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов от 2.11.05.

Таблица 13 – Иммунограмма пациентки А., 32г. через шесть месяцев после ТФН от 2.11.05.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения $\times 10^9$	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)
Лейкоциты	6,5		4,0- 9,0	
Лимфоциты	37	3,4	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	51	1,98	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	30	0,62	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	19	0,8	16-39	0,3-1,0
Иммунорегуляторный индекс(CD4/ CD8)	1,5		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	9	0,2	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	17	0,7	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Мужчины	
Ig A	2,2	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	9,1	8-17		
Ig M	2,1	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	84	24-84	ЦИК	
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-тест	8	<10		
ИС	0,34	<0,5		
Фагоцитоз	67	30-80%		

Заключение: в динамике отмечается увеличение показателей CD3-лимфоцитов, CD4-лимфоцитов, CD8-лимфоцитов, но удерживается дефицит клеточного звена иммунитета, снижение ИРИ. Гуморальный иммунитет и факторы неспецифической резистентности в пределах нормы.

Динамика иммунологического статуса через 10 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов

Таблица 14 – Иммунограмма пациентки А.32. через 10 месяцев после ТФН от 7.04.06.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения $\times 10^9$	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)
Лейкоциты	6,5		4,0- 9,0	
Лимфоциты	39	3,4	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	56	2,2	60-80	1,0-2,4
Продолжение таблицы № 19				
CD4(Т хелперы)	37	0,9	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	25	0,8	16-39	0,3-1,0
Иммунорегуляторный индекс(CD4/ CD8)	1,5		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	13	0,3	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	17	0,4	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Мужчины	
Ig A	1,9	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	8,02	8-17		
Ig M	1,1	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	81	24-84		
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-тест	7	<10		
ИС	0,4	<0,5		
Фагоцитоз	65	30-80%		

Заключение в динамике отмечается нормализация клеточного иммунитета. Гуморальный иммунитет и факторы неспецифической резистентности в пределах нормы.

У данной пациентки с ремитирующим течением РС после введения фетальных нейроцитов наряду с положительной клинической динамикой (описанной в главе клинические результаты 3) в течение 10 месяцев наблюдаются позитивные изменения в иммунологическом статусе в виде нормализации всех параметров иммунного статуса.

Приводим клинический пример реакции иммунологического статусе на введение фетального материала у больной с вторично-прогрессирующим течением РС.

Пациентка Ц. 44г. История болезни №3407

Иммунограмма до фетальной нейротрансплантации представлена в таблице 15.

Таблица 15 – Иммунограмма пациентки Ц. 44г. от 10.06.05.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (x 10 ⁹)	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (x 10 ⁹)
Лейкоциты	4,8		4,0- 9,0	
Лимфоциты	29	2,2	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	34	0,7	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	30	0,9	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	12	0,2	16-39	0,3-1,0
ИРИ (CD4/ CD8)	2,5		1,5-2,0	
CD16(НК – клетки)	4	0,04	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	22	0,7	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Женщины	
Ig A	3,13	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	14,77	8-17		
Ig M	2,88	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	93	24-84		
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-тест	13	<10		
ИС	0,67	<0,5		
Фагоцитоз	34	30-80%		

Заключение: дефицит клеточного звена иммунитета. Гуморального компонента иммунитета в норме. Увеличено содержание ЦИК. НСТ –тест и индекс стимуляции соответственно повышена. Фагоцитарная активность нейтрофилов в норме.

Динамика иммунологического статуса через 7 дней после трансплантации фетальных нейроцитов

Таблица 16 – Иммунограмма пациентки Ц. 44г. через семь дней после ТФН от 18.06.05.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения x 10 ⁹	Относительные значения (%)	Абсолютные значения(x 10 ⁹)
Лейкоциты	7,3		4,0- 9,0	
Лимфоциты	35	3,4	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	41	1,5	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	31	0,6	33-50	0,6-1,7

Продолжение таблицы 16

CD8(Т супрессоры)	18	0,68	16-39	0,3-1,0
ИРИ (CD4/ CD8)	1,7		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	11	0,3	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	18	0,4	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Женщины	
Ig A	2,2	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	9,76	8-17		
Ig M	2,0	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	81	24-84		
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-тест	16	<10		
ИС	0,6	<0,5		
Фагоцитоз	35	30-80%		

Заключение: удерживается дефицит клеточного звена иммунитета, но показатели CD3-лимфоцитов, CD4-лимфоцитов, CD8-лимфоцитов увеличились. Гуморального иммунитет в пределах нормы. НСТ-тест и индекс стимуляции повышены.

Динамика иммунологического статуса через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов.

Таблица 17 - Иммунограмма пациентки Ц. 44г. через шесть месяцев после ТФН от 16.01.06.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения $\times 10^9$	Относительные значения (%)	Абсолютные значения($\times 10^9$)
Лейкоциты	6,5		4,0- 9,0	
Лимфоциты	38	3,0	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	48	1,4	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	33	0,7	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	21	0,44	16-39	0,3-1,0
ИРИ(CD4/ CD8)	1,5		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	10	0,2	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	16	0,5	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Женщины	
Ig A	1,2	1,0-4,9	0,85-4,5	
Ig G	7,1	8-17		
Ig M	2,2	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	76	24-84		

Продолжение таблицы 17

Факторы неспецифической резистентности		
Показатель	Результат	Границы нормы
НСТ-тест	6	<10
ИС	0,3	<0,5
Фагоцитоз	44	30-80%

Заключение: в динамике отмечается увеличение показателей CD3-лимфоцитов, нормализовались показатели CD4-лимфоцитов, CD8-лимфоцитов, снижение ИРИ. Гуморальный иммунитет и факторы неспецифической резистентности в пределах нормы.

Таким образом, в данном клиническом наблюдении у пациентки с вторично-прогредиентным течением после введения фетальных нейроцитов наряду со значительной положительной клинической динамикой в течение 6 месяцев наблюдаются позитивные изменения в иммунологическом статусе в виде нормализации CD4-лимфоцитов, CD8-лимфоцитов, и гуморального звена иммунного статуса.

Приводим клинический пример реакции иммунологического статусе на введение фетального материала у пациента с первично-прогредиентным РС.

Пациент Г. 25лет История болезни №23456

Таблица 18 – Иммунный статус до трансплантации фетальных нейроцитов от 1.06.04.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения x 10 ⁹	Относительные значения (%)	Абсолютные значения(x 10 ⁹)
Лейкоциты	4,8		4,0- 9,0	
Лимфоциты	21	1,0	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	31	0,51	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	25	0,25	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	8	0,08	16-39	0,3-1,0
ИРИ(CD4/ CD8)	3,1		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	9	0,09	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	26	0,34	6-23	0,05-0,6
Показатель	Результат		Границы нормы(г/л)	
			Мужчины	Женщины
Ig A	3,31		1,0-4,9	0,85-4,5
Ig G	19,69		8-17	
Ig M	1,9		0,5-3,2	0,6-3,7
ЦИК	92,0		24-84	
Показатель	Результат		Границы нормы	
НСТ-спонтанный	13,07		<10%	
ИС	0,52		<0,5	
Фагоцитоз	37		30-80%	

Заключение: дефицит Т клеточного звена иммунитета. Повышение иммунорегуляторного индекса. Активизация гуморального звена иммунитета. Повышение уровня ЦИК. НСТ-спонтанный и индекс стимуляции повышены.

Таблица 19 - Иммунный статус через 7 дней после трансплантации фетальных нейтроцитов от 8.06.04.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения $\times 10^9$	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)
Лейкоциты	5,4		4,0- 9,0	
Лимфоциты	26	1,8	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	44	0,9	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	34	0,9	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	23	0,6	16-39	0,3-1,0
ИРИ(CD4/ CD8)	1,4		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	16	0,14	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	19	0,15	6-23	0,05-0,6
Параметры гуморального звена иммунитета				
Показатель	Результат		Границы нормы(г/л)	
			Мужчины	Женщины
Ig A	3,31		1,0-4,9	0,85-4,5
Ig G	9,69		8-17	
Ig M	1,9		0,5-3,2	0,6-3,7
ЦИК	72,0		24-84	ЦИК
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат		Границы нормы	
НСТ-спонтанный	19,12		<10%	
ИС	0,72		<0,5	
Фагоцитоз	31		30-80%	

Заклучение: в динамике через 7 дней после трансплантации фетальных нейтроцитов нормализовались показатели CD4-лимфоцитов и CD8-лимфоцитов, со снижением ИРИ. Параметры гуморального иммунитета в норме. Повышение НСТ-теста и индекса стимуляции. Уровень ЦИК в норме.

Таблица 20 - Иммунный статус через 6 месяцев после трансплантации фетальных нейтроцитов от 12.01.05

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)	Относительные значения (%)	Абсолютные значения ($\times 10^9$)
Лейкоциты	5,1		4,0- 9,0	
Лимфоциты	31	2,1	18-40	1,2-3,0

Продолжение таблицы 20

CD3(Т лимфоциты)	46	1,3	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	36	1,1	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	26	0,7	16-39	0,3-1,0
ИРИ(CD4/ CD8)	1,27		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	9	0,19	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	22	0,37	6-23	0,05-0,6
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Мужчины	
Ig A	2,1	1,0-4,9		
Ig G	8,9	8-17		
Ig M	1,5	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	74,0	24-84		
Факторы неспецифической резистентности				
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-спонтанный	9,2	<10%		
ИС	0,2	<0,5		
Фагоцитоз	39	30-80%		

Заключение: в динамике через 6 месяцев снизились относительные значения CD3-лимфоцитов. Показатели гуморального звена и факторы неспецифической резистентности в норме.

Таблица 21 - Иммунный статус через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов от 15.09.05.

Параметры клеточного звена иммунитета				
Показатели	Результат		Границы нормы	
	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (x 10 ⁹)	Относительные значения (%)	Абсолютные значения (x 10 ⁹)
Лейкоциты	5,1		4,0- 9,0	
Лимфоциты	35	2,2	18-40	1,2-3,0
CD3(Т лимфоциты)	55	1,6	60-80	1,0-2,4
CD4(Т хелперы)	33	0,7	33-50	0,6-1,7
CD8(Т супрессоры)	23	0,6	16-39	0,3-1,0
ИРИ (CD4/ CD8)	1,4		1,5-2,0	
CD16(NK – клетки)	8	0,14	3-20	0,03-0,5
CD20(В-лимфоциты)	20	0,3	6-23	0,05-0,6
Показатель	Результат	Границы нормы(г/л)		
		Мужчины	Женщины	
Ig A	2,23	1,0-4,9		
Ig G	7,59	8-17		
Ig M	1,11	0,5-3,2	0,6-3,7	
ЦИК	71,0	24-84		
Показатель	Результат	Границы нормы		
НСТ-спонтанный	7,2	<10%		
ИС	0,21	<0,5		
Фагоцитоз	61	30-80%		

Заключение: в динамике через 12 месяцев остаются сниженными относительные значения CD3-лимфоцитов. Другие показатели клеточного иммунитета в пределах нормы. Показатели гуморального звена и факторы неспецифической резистентности в пределах нормы.

Таким образом, в данном клиническом наблюдении у пациента с первично-прогредиентным течением после введения фетальных нейроцитов наряду с выраженной положительной клинической динамикой в течение 12 месяцев наблюдаются позитивные изменения в иммунологическом статусе в виде активизации звеньев клеточного иммунитета и нормализации параметров гуморального иммунитета и факторов неспецифической резистентности.

Анализ полученных результатов показал, что трансплантация пролиферирующих и дифференцирующих фетальных клеток оказывает влияние на содержание CD3⁺-лимфоцитов, соотношение CD4⁺ и CD8⁺ клеток, при этом уровень клеток с цитотоксической/супрессорной активностью повышается, смещает равновесие CD4⁺ в направлении Th1 типа, что нормализует гуморальный иммунитет, задействованный в генезе РС, подтверждением чему является снижения уровня IgG в спинномозговой жидкости и содержания ЦИК в периферической крови.

5 СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ У ПАЦИЕНТОВ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ ДО И ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОЦИТОВ

Для проведения сравнительного анализа клинических и иммунологических данных обследуемых больных до и после трансплантации фетальных нейроцитов пациенты основной группы были подразделены на три подгруппы в зависимости от течения заболевания. Первую подгруппу составили 15 больных с ремитирующим течением (50%), во вторую подгруппу - 9 больных с вторично-прогрессирующим течением (30%), в третью подгруппу вошли 6 больных с первично-прогрессирующим течением (20%).

Нами был проведен сравнительный анализ клинической структуры обследуемых подгрупп до трансплантации фетальных нейроцитов, который представлен в таблице 22.

Таблица 22 – Клиническая структура обследуемых групп до трансплантации фетальных нейроцитов ($M \pm m$)

	I -подгруппа с ремитирующим течением	II-подгруппа с вторично-прогрессирующим течением	III -подгруппа с первично-прогрессирующим течением
Стаж заболевания лет	7,0±4,12	11,4±4,05	5,6±3,01
Средний возраст больных лет	37,8±12,02	35,89±10,18	36,97±10,3
EDSS баллы до ТФН	4,9±1,23	6,75±1,29	6,59±1,6
СНД баллы до ТФН	16,11±1,23	20,23±4,31	20,15±6,17
СП до ТФН	0,7±0,03	0,59±0,31	1,17±0,4
Число обострений за время болезни	5,09±1,25	7,91±1,83	#
Число обострений за год до ТФН	1,4±0,63,	2,4±0,86	#
Число курсов кортикостероидной терапии за время болезни	4,4±1,32.	6,3±1,8	4,9±1,9

Из таблицы 22 видно, что наибольший стаж заболевания до трансплантации фетальных нейроцитов был отмечен в группе с вторично-прогрессирующим течением - 11,4±4,05 лет, наименьший стаж болезни - в группе с первично-прогрессирующим течением - 5,6±3,01 лет, в то же время в этой группе наиболее высокая скорость прогрессирования заболевания - 1,17±0,4, за счет исходно высокой баллы EDSS - 6,59±1,6.

Максимальный балл по шкале EDSS - 6,75±1,29 и СНД - 20,23±4,31 мы наблюдали в группе с вторично-прогрессирующим течением, наименьший балл EDSS – 4,9±1,23 и СНД - 16,11±1,23 были отмечены в группе с ремитирующим

течением. Наибольшее число обострений также отмечено во второй группе (с вторично-прогрессирующим течением), соответственно в этой же группе мы насчитали максимальное число курсов кортикостероидной терапии, как за весь период болезни, так и за год до клеточной терапии. В группе с первично-прогрессирующим течением как таковых обострений заболеваний не зафиксировано, поскольку в этой группе мы наблюдали хроническое прогрессирование заболевания без периодов стабилизации процесса, и число курсов кортикостероидной терапии составило $4,9 \pm 1,9$.

Через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов в первой группе пациентов с ремитирующим течением рассеянного склероза нами отмечено наиболее выраженное клиническое улучшение, что подтверждается достоверным уменьшением в 1,5 раз балла EDSS. Нужно также отметить если до фетально-клеточной терапии скорость прогрессирования заболевания соответствовала высокой активности процесса $0,7 \pm 0,03$, то через 12 месяцев этот показатель $0,38 \pm 0,09$ соответствовал умеренной активности процесса.

Наряду с позитивной клинической динамикой зафиксированы изменения иммунологических параметров у больных с ремитирующим течением рассеянного склероза.

Таблица 23 – Динамика клинических и иммунологических показателей в подгруппе с ремитирующим течением рассеянного склероза после трансплантации фетальных нейроцитов ($M \pm m$)

Параметры	До ТФН	Через 12 месяцев после ТФН
EDSS баллы	$4,9 \pm 0,23$	$3,11 \pm 0,65^*$
СНД баллы	$16,11 \pm 1,23$	$10,46 \pm 1,02^*$
CD3 ⁺ %	$42,6 \pm 4,7$	$62,78 \pm 4,7^{**}$
CD4 ⁺ %	$39,18 \pm 4,63$	$42,25 \pm 4,1$
CD8 ⁺ %	$14,8 \pm 2,45$	$23,1 \pm 3,18^{**}$
CD20 ⁺ %	$20,05 \pm 3,77$	$14,5 \pm 2,72^*$
IgG г/л	$10,01 \pm 2,81$	$7,8 \pm 1,37^*$
IgG ЦСЖ г/л	$0,61 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,01^{**}$
ЦИК	$83,12 \pm 1,89$	$73,13 \pm 1,34^{**}$
Примечание: * - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,05 ** - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,01		

Из таблицы 23 видно, что в течение 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов у пациентов с ремитирующим течением рассеянного склероза снижается балл EDSS на 36% и СНД на 35%, что сопряжено с достоверным повышением CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов на 32% и 36% ($p < 0,01$) соответственно.

Содержание CD20⁺-лимфоцитов достоверно уменьшилось через 12 месяцев после фетальной нейротрансплантации на 28% ($p < 0,05$), что сопровождалось

также достоверным снижением уровня ЦИК в крови на 12% ($p<0,01$) и содержания IgG сыворотки крови и спинномозговой жидкости на 22% ($p<0,05$) и 65% ($p<0,01$) соответственно.

Таким образом, после трансплантации фетальных нейроцитов клиническое улучшение состояния пациентов с ремитирующим течением рассеянного склероза связано с активизацией клеточного звена иммунитета, за счет увеличения субпопуляции общих лимфоцитов и цитотоксических/супрессорных клеток.

В группе больных с вторично-прогредиентным течением РС мы наблюдали также клиническое улучшение и изменения иммунного статуса после введения фетальных нейроцитов, которые отражены в таблице №.24

Таблица 24 – Динамика клинических и иммунологических показателей в подгруппе с вторично-прогредиентным течением рассеянного склероза после трансплантации фетальных нейроцитов ($M\pm m$)

Параметры	До ТФН	Через 12 месяцев после ТФН
EDSS баллы	6,75±1,29	5,03±1,13
СНД баллы	20,23±3,31	12,55±2,03
CD3 ⁺ %	33,6±3,4	54,8±6,93*
CD4 ⁺ %	34,77±7,77	37,11±6,54
CD8 ⁺ %	11,9±5,27	20,9±2,91*
CD20 ⁺ %	20,2±5,89	15,44±3,39
IgG г/л	12,1±1,07	9,56±1,01*
IgG ЦСЖ г/л	0,72±0,06	0,25±0,03**
ЦИК	86,0±1,48	76,5±2,54*
Примечание: * - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,05 ** - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,01		

Анализируя представленную таблицу 24 нужно отметить, что высокий балл EDSS и СНД до клеточной терапии был сопряжен с более низкими относительными значениями CD3⁺- лимфоцитов, CD8⁺- лимфоцитов при сравнении с параметрами I-ой подгруппы, что свидетельствует об исходном иммунодефиците, прежде всего клеточного звена иммунитета. В то же время гуморальный компонент иммунной системы несколько активизирован, что подтверждается более высоким содержанием CD20⁺- лимфоцитов, ЦИК, IgG в крови и в спинномозговой жидкости.

Через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов во второй подгруппе балл EDSS снизился на 25% , а СНД достоверно снизилась на 37%, что сопровождалось достоверным повышением CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов на 38% и 43% ($p<0,05$) соответственно. В то же время, мы наблюдали достоверное снижение уровня ЦИК в крови на 11%, содержания IgG

сыворотки крови на 20% и уровень IgG в спинномозговой жидкости уменьшился в 2,8 раза.

Таким образом, после трансплантации фетальных нейроцитов клиническое улучшение состояния пациентов с вторично-прогредиентным течением рассеянного склероза, также как в группе с ремитирующим течением, сопряжено с активизацией клеточного звена иммунитета, за счет увеличения популяции цитотоксических/супрессорных клеток и общих лимфоцитов. Мы наблюдали также подавление гуморального иммунитета, о чем свидетельствует, уменьшение субпопуляции CD20⁺-лимфоцитов, уменьшение уровня ЦИК в крови и содержания IgG сыворотки крови и спинномозговой жидкости.

В группе больных с первично-прогредиентным течением рассеянного склероза мы наблюдали также клиническое улучшение, положительная клиническая динамика была менее выражена, чем в предыдущих группах. Балл EDSS через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов снизился только на 11%, сумма неврологического дефицита снизилась на 29%. Скорость прогрессирования заболевания осталось высокой, и составила 0,95±0,3.

Наряду с положительной клинической динамикой зафиксированы изменения в иммунном статусе.

Таблица 25 – Динамика клинических и иммунологических показателей в подгруппе с первично-прогредиентным течением рассеянного склероза после трансплантации фетальных нейроцитов (M±m)

Параметры	До ТФН	Через 12 месяцев после ТФН
EDSS баллы	6,59±1,6	5,81±1,4
СНД баллы	20,15±6,17	14,22±3,5
CD3 ⁺ %	36,3±4,64	43,76±6,25
CD4 ⁺ %	31,89±5,98	37,4±3,18
CD8 ⁺ %	14,9±4,66	18,2±2,32
CD20 ⁺ %	23,98±3,96	19,26±3,21
IgG г/л	11,46±0,94	9,1±0,78
IgG ЦСЖ г/л	0,8±0,02	0,26±0,08*
ЦИК	84,47±2,8	77,74±2,2*
Примечание:		
* - достоверность различий между показателями при сравнении с исходными менее 0,05		

Анализируя представленную таблицу 25 нужно отметить, что высокий балл EDSS и СНД до фетально-клеточной терапии был сопряжен с низкими относительными значениями CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺- лимфоцитов и CD4⁺-лимфоцитов. Гуморальный компонент иммунной системы активизирован, что подтверждается более высоким содержанием CD20⁺-лимфоцитов, ЦИК, IgG в крови и в спинномозговой жидкости.

Через 12 месяцев после трансплантации фетальных нейроцитов мы наблюдали снижение баллов EDSS и ЧНД, которое было сопряжено также с повышением CD3⁺-лимфоцитов на 17%. Также отмечена тенденция к повышению содержания CD4⁺-лимфоцитов на 14%, CD8⁺-лимфоцитов на 18%.

В то же время, мы наблюдали достоверное снижение уровня ЦИК в крови на 8% и содержания IgG в спинномозговой жидкости в 3,07 раза.

Таким образом, после трансплантации фетальных нейроцитов в группе с первично-прогредиентным течением РС клиническое улучшение, наименее выраженное из всех исследуемых групп, отмечена тенденция к повышению параметров клеточного звена иммунитета без достоверных изменений. Положительная клиническая динамика связана с достоверным снижением уровня ЦИК и IgG в спинномозговой жидкости.

Проводя сравнительный анализ клинического и иммунного статуса у больных рассеянным склерозом до и после трансплантации фетальных нейроцитов, мы пришли к следующим выводам:

- длительный стаж заболевания приводит к высокому баллу неврологического дефицита по шкале Куртцке соответственно увеличивается число обострений, и кратность кортикостероидной терапии, что в конечном итоге приводит к развитию иммунодефицита;

- при высоком уровне CD20⁺-лимфоцитов, ЦИК, IgG в крови и ЦСЖ нами отмечен низкий уровень Т-клеток с поверхностными маркерами CD3⁺ CD8⁺ до лечения, что свидетельствует о высокой активности гуморального звена иммунитета и иммунодефицитном состоянии клеточного звена, прежде всего супрессорной функции;

- высокий балл неврологического дефицита по шкале Куртцке, т.е. тяжелая степень инвалидизации сопровождается наименьшим уровнем содержания популяции CD3⁺-лимфоцитов CD16⁺-лимфоцитов CD8⁺ и CD4⁺-лимфоцитов до клеточной терапии, что свидетельствует также об исходном иммунодефицитном состоянии;

- снижение балла неврологического дефицита после введения фетальных нейроцитов связано с повышением содержания субпопуляции общих лимфоцитов, цитотоксических/супрессорных клеток.

- низкий балл неврологического дефицита, т.е. легкая степень инвалидизации больных после лечения связана с наибольшим содержанием субпопуляции общих лимфоцитов, цитотоксических/супрессорных клеток.

Таким образом, трансплантация фетальных пролиферирующих клеток оказывает иммунокорректирующее действие посредством активизации клеточного звена иммунитета и стабилизации напряженности гуморального компонента иммунной системы, что сопровождается позитивной клинической динамикой в виде стабилизации активности РС с уменьшением степени инвалидизации, скорости прогрессирования болезни и частоты обострений.

При сравнительном анализе клинического и иммунологического статуса до ТФН выявлено, что высокая степень тяжести клинических проявлений сопряжено с более выраженным дефицитом клеточного звена иммунитета.

После ТФН значимый регресс неврологических проявлений выявлен у пациентов с исходно низким баллом EDSS и с наибольшим содержанием субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов (общих лимфоцитов), CD8⁺-лимфоцитов (цитотоксических/супрессорных клеток).

Вместе с тем, у пациентов с исходно высоким баллом EDSS после введения фетальных нейроцитов также отмечается тенденция к регрессу неврологического дефицита и повышение параметров клеточного звена иммунитета (CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов).

Таким образом, фетальная нейротрансплантация наиболее эффективна у пациентов с коротким анамнезом заболевания, менее выраженной скоростью прогрессирования патологического процесса, негрубым неврологическим дефицитом (низкий балл EDSS) и умеренно сниженными показателями клеточного звена иммунитета.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современной медициной накоплен большой объем знаний при изучении вопросов этиологии и патогенеза РС. Достигнуты серьезные успехи в его лечении, но не всегда общепринятые методы лечения бывают эффективны [76 стр.-344, 166, 167].

Исследование процессов демиелинизации свидетельствует об их сложности, участии в развитии последних практически всех систем организма, обеспечивающих гомеостаз: системы иммунитета и неспецифической резистентности, гормональной регуляции, перекисного окисления липидов антиоксидантной защиты, ряда других.

Большую роль в становлении и течение РС играет состояние барьеров организма, в частности, гематоэнцефалического. Однако ведущую роль в развитии демиелинизирующего процесса играет клеточное звено иммунитета. Развивающийся патологический порочный круг аутоиммунного процесса при РС порой бывает очень трудно разорвать даже с помощью мощных медикаментозных средств (гормонотерапии и цитостатиков), что в конечном счете приводит к непрерывному прогрессированию процесса и быстрой инвалидизации пациентов [89 стр.-8, 168]

В этих условиях крайне актуальным является поиск новых методов лечения не только с целью стабилизации патологического процесса, но и восстановлению утраченных функций.

В решении этой проблемы большие надежды возлагаются на методы клеточной терапии, которые в настоящее время активно развиваются как в нашей стране, так и за рубежом. Однако данный метод сталкивается с большими этическими проблемами, так как наиболее эффективными в лечении огромного перечня заболеваний являются эмбриональные клетки, которые в большом количестве содержатся в тканях эмбрионов. В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что при трансплантации нейрональных клеток эмбрионов они начинают активно выполнять функции ранней поврежденных нейронов [169,170, 171,172,173,174].

Накопленный большой клинический опыт свидетельствует о серьезной перспективе метода фетально-клеточной терапии [175]. Вместе с тем, при внедрении данного метода в клиническую практику помимо этических проблем возникает целый ряд задач сугубо биологического и медицинского плана (от технических – забор ткани, выявление контаминации, культивирование, хранение, до медицинских прикладных – показания, объемы и способы введения, критерии контроля эффективности и др.). Например, считается доказанным, что полипотентные стволовые клетки могут трансформироваться практически в любые клеточные линии, в том числе и в нервные клетки. В большом обзоре, посвященном возможностям применения стволовых клеток, подчеркивается целесообразность в терапии аутоиммунных заболеваний, в частности рассеянного склероза [13 стр.-18, 176, 177, 178,179,180,181] .

Увеличение уровня нейротрофических факторов и снижение маркеров повреждения мозговой ткани в спинномозговой жидкости и сыворотке крови

после трансплантации фетальных нейроцитов свидетельствует об увеличении числа миелинизированных волокон, ускорении аксональной регенерации, уменьшении выраженности аутоиммунных реакций и активации микроглии [182,183]. Не вызывает сомнений аутоиммунный механизм демиелинизирующего процесса, при этом ключевым звеном является реакция клеточного звена иммунитета [57 стр.-111, 60 стр.-76, 76 стр.-123, 184]. В развитие этих взглядов, нами была поставлена цель - оценка влияния клеточной нейротрансплантации на клиническую и иммунопатологическую активность рассеянного склероза.

С целью объективизации эффекта от проводимой трансплантации фетальных нейроцитов, определении активности иммунопатологического процесса в ранний посттрансплантационный период нами проводился иммунологический мониторинг, дающий возможность своевременно фиксировать патологические сдвиги в иммунном статусе до их клинической манифестации, а в ряде случаев выявлять субклиническую активность заболевания. Результаты иммунологического обследования позволяют обеспечить обратную связь с организмом больного и вносить необходимую коррекцию терапии.

В соответствии с поставленной задачей была проведена трансплантация фетальных нейроцитов 30 больным рассеянным склерозом с последующим проведением мониторинга за иммунологическими показателями и неврологической симптоматикой через 7 дней, шесть и двенадцать месяцев. Неврологический осмотр проводился с фиксированием имеющегося неврологического дефицита и степени инвалидизации по шкале Куртцке с расчетом суммы неврологического дефицита и скорости прогрессирования заболевания. Параллельно этому, в указанные сроки проводился забор крови, спинномозговой жидкости и анализ уровня иммунокомпетентных клеток, фагоцитарной активности, уровень IgG, IgM, IgA, ЦИК.

Все пролеченные пациенты удовлетворительно перенесли первую и последующие процедуры нейротрансплантации. Кратность эндолумбального введения фетальной взвеси составила в большинстве случаев 2 раза, с временными промежутками между трансплантациями в среднем $5,57 \pm 1,12$ месяцев. Ни у одного из пациентов не было зафиксировано каких-либо серьезных осложнений, ухудшающих соматическое состояние или способствующих нарастанию неврологической симптоматики. Ранние послеоперационные реакции в виде менингизма, повышения температуры тела до 37°C - $38,0^{\circ}\text{C}$ и диффузной головной боли купировались к концу 2-3-х суток после пункции, как правило, без существенной медикаментозной коррекции.

Первым этапом нашей работы была оценка клинической эффективности трансплантации фетальных нейроцитов. Первые положительные сдвиги наблюдались уже через 7 дней после введения фетальных клеток. У всех пациентов отмечались эмоциональный подъем, повышение общего жизненного тонуса, улучшение самочувствия, фона настроения. Также мы фиксировали в этот период положительную динамику в неврологическом статусе. Максимальный регресс неврологической симптоматики отмечен в системе

мозжечковых нарушений на 24% ($p < 0,001$). Пирамидные нарушения уменьшились также достоверно на 13% ($p < 0,05$) в основной группе пациентов. Достоверно восстановились функции тазовых органов и краниальных нервов на 23% ($p < 0,001$) и 22% ($p < 0,001$) соответственно. Зрительные и чувствительные нарушения без заметной динамики. В контрольной группе достоверного снижения баллов неврологических нарушений не выявлено. Балл EDSS снизился с $6,08 \pm 0,9$ до $5,81 \pm 0,9$ баллов через 7 дней после фетальной нейротрансплантации на 4%, сумма неврологического дефицита уменьшилась на 20%.

Через 6 месяцев после клеточной терапии мы наблюдали регресс объективных неврологических нарушений во всех функциональных системах, с преобладанием эффекта в функциях черепно-мозговых нервов, где при сравнении с первоначальными данными балл неврологического дефицита достоверно снизился на 37% ($p < 0,001$), в основном, за счет уменьшения бульбарных нарушений. Достоверная динамика наблюдалась в системе тазовых нарушений, здесь восстановление было отмечено на 34% ($p < 0,001$), в сравнении с исходными показателями, Регресс пирамидных симптомов и координаторных нарушений, также достоверен, на 26% и 34% ($p < 0,001$), соответственно при сопоставлении с первоначальными баллами. За наблюдаемый период не зафиксированы симптомы обострения и хронического прогрессирования заболевания ни у одного из пациентов. Общий балл степени инвалидности по EDSS снизился на 15%, общая сумма неврологического дефицита уменьшилась на 30%, скорость прогрессирования заболевания понизилась на 16%.

Через 12 месяцев мы также наблюдали снижение выраженности патологических симптомов во всех функциональных системах, но следует отметить, что наибольший регресс нами отмечен в функциях черепно-мозговых нервов, где при сравнении с первоначальными данными балл неврологического дефицита достоверно снизился на 41% ($p < 0,001$), в основном, за счет полного восстановления бульбарных нарушений. Достоверная динамика наблюдалась в системе мозжечковых нарушений, здесь восстановление было отмечено на 39% ($p < 0,001$), в сравнении с исходными показателями, Регресс пирамидных симптомов и тазовых нарушений, также достоверен, на 34% и 36% ($p < 0,001$), соответственно при сопоставлении с первоначальными баллами. Нарастание неврологического дефицита, обусловленное обострением заболевания, было отмечено в двух клинических наблюдениях (7%), причем балл по ШК у этих больных не достиг исходных позиций. Общий балл степени инвалидности по EDSS снизился на 24%. Нужно отметить исходный балл EDSS был равен $6,08 \pm 0,9$, что соответствовало тяжелой степени неврологического дефицита, через 12 месяцев после фетальной нейротрансплантации этот показатель снизился до $4,65 \pm 0,7$, что отвечает средней степени неврологического дефицита. Сумма неврологического дефицита в течение обследуемого периода в основной группе после трансплантации фетальных нейроцитов снизилась с $18,83 \pm 1,35$ до $12,41 \pm 2,62$ баллов, т.е. неврологический дефицит регрессировал через 12 месяцев на 34% соответственно. Мы наблюдали значительное уменьшение скорости прогрессирования заболевания и снижение этого

показателя с 0,76 до 0,58 через 12 месяцев, т.е. еще на 24%. Нужно отметить если до фетальной нейротрансплантации скорость прогрессирования заболевания соответствовала высокой активности процесса, то через 12 месяцев этот показатель соответствовал умеренной скорости прогрессирования заболевания.

Иными словами, после трансплантации фетальных нейроцитов отмечался стойкий положительный клинический эффект в обследуемой группе в виде ремиссии и стабилизации процесса у основной массы пациентов, т.е. регресс и сохранение неврологического дефицита без обострения или прогрессирования. Мы наблюдали у всех пациентов повышения фона настроения и общего жизненного тонуса, снижения депрессии. Позитивная динамика в неврологическом статусе имела место главным образом за счет уменьшения двигательных нарушений, улучшения контроля над тазовыми функциями, атаксии. Из неврологических синдромов наиболее толерантными к терапии у всех больных были подкорковые нарушения, чувствительные и зрительные расстройства, с другой стороны легче купировались спастические парезы конечностей и тазовые нарушения, в сравнении с контрольной группой.

Следует отметить, в среднем за предшествующий фетально-клеточной терапии год в основной группе пациентов было $1,9 \pm 0,09$ обострений, в течение наблюдаемого нами периода после фетальной нейротрансплантации (12 месяцев) этот показатель достоверно снизился до $0,9 \pm 0,08$ ($p < 0,01$).

Наряду с позитивными изменениями в клиническом статусе мы зафиксировали изменения в иммунологическом статусе пациентов РС. Исследования последних десятилетий показали, что развитие РС связано с изменениями иммунорегуляции. В ряде опубликованных работ показана достоверная корреляция показателей клеточного иммунитета периферической крови с особенностями клинического течения [40-стр. 51, 52-стр. 57, 18-стр. 90, 182]. Большинство авторов обнаруживает снижение уровня лимфоцитов CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов, при нормальном или повышенном уровне CD20⁺-лимфоцитов во время обострения или хронического прогрессирования заболевания [40-стр. 51].

В наших наблюдениях обнаружены значительные колебания иммунологических параметров. В целом анализируемые параметры иммунитета были взаимосвязаны. Исходно мы наблюдали снижение содержания CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов в периферической крови, что соответствует результатам ранее проводимых исследований клеточного иммунитета при РС [18-стр.181, 40-стр.51, 14-стр.182]. Но кроме дефицита клеточного звена иммунитета, нами отмечены изменения параметров гуморального иммунитета. В частности, мы наблюдали повышенное содержание CD20⁺-лимфоцитов, ЦИК, высокий уровень IgG зафиксирован как в периферической крови, так и в спинномозговой жидкости.

На всех этапах обследования иммунологического статуса после введения фетальных клеток мы наблюдали изменения, как в клеточном звене, так и в гуморальном звене иммунитета.

В обследуемой группе зафиксированы признаки активизации компонентов клеточного звена иммунитета, в основном за счет увеличения в субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов через 6 месяцев и 12 месяцев в относительных значениях на 34% (p<0,01) и на 33% (p<0,01), абсолютные значения возросли в эти же временные промежутки в 1,5 раза (p<0,05) и в 1,9 раза (p<0,05) соответственно. Уровень CD8⁺-цитотоксических/супрессорных лимфоцитов достоверно повысился при сравнении с исходными показателями к 6 и 12 месяцу в 3,4 и 3,5 раза (p<0,01) по данным абсолютных значений, и на 30% и 38% (p<0,01) соответственно в относительных данных.

Исходная активность гуморального звена иммунитета после трансплантации пролиферирующих и дифференцирующих фетальных нервных клеток снизилась, что подтверждалось достоверным уменьшением уровня CD20⁺-клеток через 6 и 12 месяцев на 25% и 14% (p<0,01) достоверным снижением содержания IgG в спинномозговой жидкости на 66%(p<0,01) и в сыворотке крови на 21%(p<0,01) и уровня ЦИК в крови на 12% (p<0,01) к 12 месяцу.

Отмечена реакция неспецифической резистентности в основной группе пациентов рассеянным склерозом в виде достоверного повышения НСТ теста на 7 дней на 27% (p<0,01) после ТФН, что говорит о компенсаторном повышении функциональной активности нейтрофилов на введение фетального материала. Через 6 и 12 месяцев этот показатель нормализовался. Фагоцитоз достоверно повысился через 6 месяцев на 44% (p<0,05) и через 12 месяцев на 41% (p<0,05).

Таким образом, мы можем предположить, что трансплантация пролиферирующих и дифференцирующих фетальных нервных клеток оказывает влияние на содержание CD3⁺-лимфоцитов, соотношение CD4⁺ и CD8⁺клеток, при этом уровень клеток с цитотоксической/супрессорной активностью повышается, смещает равновесие CD4⁺ в направлении Th1 типа, что стабилизирует гуморальный иммунитет, задейственный в генезе РС, подтверждением чему является снижения уровня IgG в спинномозговой жидкости и содержания ЦИК в периферической крови.

Результаты наших исследований свидетельствуют о клинической эффективности предложенного метода фетально-клеточной терапии, что подтверждается изменениями в параметрах иммунного статуса. С целью получения более детальной информации о взаимоотношении изменений клинических показателей и показателей иммунитета, нами был проведен сравнительный анализ между этими данными и мы пришли к следующим выводам:

- длительный стаж заболевания приводит к высокому баллу неврологического дефицита по шкале Куртцке соответственно увеличивается число обострений, и кратность кортикостероидной терапии, что в конечном итоге приводит к развитию иммунодефицита;
- при высоком уровне CD20⁺-лимфоцитов, ЦИК, IgG в крови и ЦСЖ нами отмечен низкий уровень Т-клеток с поверхностными маркерами CD3⁺ CD8⁺ до лечения, что свидетельствует о высокой активности гуморального звена

имунитета и иммунодефицитном состоянии клеточного звена, прежде всего супрессорной функции;

- высокий балл неврологического дефицита по шкале Куртцке, т.е. тяжелая степень инвалидизации сопровождается наименьшим уровнем содержания популяции CD3⁺-лимфоцитов CD16⁺-лимфоцитов CD8⁺ и CD4⁺-лимфоцитов до клеточной терапии, что свидетельствует также об исходном иммунодефицитном состоянии;

- снижение балла неврологического дефицита после введение фетальных нейроцитов связано с повышением содержания субпопуляции общих лимфоцитов, цитотоксических/супрессорных клеток.

- низкий балл неврологического дефицита, т.е. легкая степень инвалидизации больных после лечения связана с наибольшим содержанием субпопуляции общих лимфоцитов, цитотоксических/супрессорных клеток.

Таким образом, трансплантация фетальных пролиферирующих клеток оказывает иммунокорректирующее действие посредством активизации клеточного звена иммунитета и стабилизации напряженности гуморального компонента иммунной системы, что сопровождается позитивной клинической динамикой в виде стабилизации активности РС с уменьшением степени инвалидизации, скорости прогрессирования болезни и частоты обострений.

При сравнительном анализе клинического и иммунологического статуса до ТФН выявлено, что высокая степень тяжести клинических проявлений сопряжено с более выраженным дефицитом клеточного звена иммунитета.

После ТФН значимый регресс неврологических проявлений выявлен у пациентов с исходно низким баллом EDSS и с наибольшим содержанием субпопуляции CD3⁺-лимфоцитов (общих лимфоцитов), CD8⁺-лимфоцитов (цитотоксических/супрессорных клеток).

Вместе с тем, у пациентов с исходно высоким баллом EDSS после введения фетальных нейроцитов также отмечается тенденция к регрессу неврологического дефицита и повышению параметров клеточного звена иммунитета (CD3⁺-лимфоцитов, CD8⁺-лимфоцитов).

Иными словами, фетальная нейротрансплантация наиболее эффективна у пациентов с коротким анамнезом заболевания, менее выраженной скоростью прогрессирования патологического процесса, негрубым неврологическим дефицитом (низкий балл EDSS) и умеренно сниженными показателями клеточного звена иммунитета.

Таким образом, только системным воздействием трансплантации фетальных нейроцитов на иммунные механизмы в мозге и его репаративные механизмы, межнейрональные взаимоотношения, состояние гематоэнцефалического барьера можно объяснить выраженный клинический эффект.

ВЫВОДЫ

1. Метод трансплантации фетальных нейроцитов способствовал уменьшению степени выраженности неврологического дефицита и степени инвалидизации пациентов, снижению скорости прогрессирования болезни и частоты обострений. Позитивная динамика в неврологическом статусе имела место, главным образом за счет достоверного уменьшения спастических парезов в 1,5 раза ($p < 0,001$) и атаксии в 1,6 раз ($p < 0,001$), восстановления функций краниальных нервов и улучшения контроля над тазовыми функциями в 1,5 и 1,7 раз ($p < 0,001$) соответственно. Из неврологических синдромов наиболее толерантными к терапии были чувствительные и зрительные расстройства.

2. При исследовании иммунного статуса больных рассеянным склерозом до трансплантации фетальных нейроцитов в обследуемой группе было выявлено снижение абсолютного и относительного количества мононуклеарных клеток с маркерами CD3+, CD8+, повышение относительного и абсолютного количества CD20+-лимфоцитов и уровня ЦИК. Трансплантация пролиферирующих и дифференцирующих фетальных клеток оказывает влияние на содержание CD3+-лимфоцитов, способствуя их достоверному увеличению 1,5 раз ($p < 0,05$), изменяет соотношение CD4+ и CD8+клеток, при этом уровень клеток с цитотоксической/супрессорной активностью достоверно повышается в 1,6 раз ($p < 0,05$), смещает равновесие CD4+ в направлении Th1 типа, что снижает активность гуморального иммунитета, задействованного в генезе рассеянного склероза, подтверждением чему является достоверное снижение В-лимфоцитов в 1,3 раз ($p < 0,05$), уровня IgG в спинномозговой жидкости в 2,9 раз ($p < 0,05$) и содержания ЦИК в периферической крови в 1,1 раз ($p < 0,05$).

3. При сравнительном анализе клинической симптоматики и иммунного статуса установлено, что повышающаяся после трансплантации фетальных нейроцитов активность клеточного звена иммунитета (за счет субпопуляции общих лимфоцитов и цитотоксических/супрессорных клеток) и одновременное снижение активности гуморального иммунитета сопровождается стабилизацией клинической активности рассеянного склероза и частичным регрессом неврологического дефицита, при этом фетальная нейротрансплантация наиболее эффективна у пациентов с коротким анамнезом заболевания, менее выраженной скоростью прогрессирования патологического процесса, негрубым неврологическим дефицитом (низкий балл EDSS) и умеренно сниженными показателями клеточного звена иммунитета.

4. Клиническим и лабораторными критериями эффективности трансплантации фетальных нейроцитов у больных рассеянным склерозом являются снижение показателя шкалы инвалидизации EDSS на 1 балл и достоверное повышение в периферической крови CD3+ лимфоцитов, CD8+ лимфоцитов после введения фетальных нейроцитов.

5. Метод фетальной нейротрансплантации обладает иммунокорректирующим эффектом, приводит к позитивной клинической динамике, является безопасным и может использоваться в комплексной патогенетической терапии рассеянного склероза.

Практические рекомендации

1. При проведении трансплантации фетальных нейроцитов у больных рассеянным склерозом рекомендуется комплексная оценка тяжести неврологического дефицита по шкале инвалидизации EDSS как клинического критерия эффективности фетальной нейротрансплантации.

2. Комплексная оценка выраженности иммунодефицита, в первую очередь клеточного звена иммунитета, а также исследование показателей гуморального иммунитета и факторов неспецифической резистентности является необходимым при проведении трансплантации фетальных нейроцитов у больных рассеянным склерозом.

3. Трансплантация фетальных нейроцитов показана при всех формах рассеянного склероза, включая прогрессирующие формы, толерантных к гормональной терапии.

4. В комплексном лечении рассеянного склероза с иммунокорректирующей целью рекомендовано внедрение в практику метода фетальной нейротрансплантации путем эндолюмбального введения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Одинак М.М., Бисага Г.Н., Калинина Н.М., Акимов С.Б., Семилуцкая И.Б. Рассеянный склероза в Северо-Западном регионе России: результаты HLA-типирование //Журн. неврологии и психиатрии. - 2000. - № 2. - С. 40 - 44.
- 2 Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: от новых знаний к новым методам лечения //Рос. мед. журн. - 2001. - № 1.-С. 4 - 10.
- 3 Маслова О.И., Быкова О.В., Гусева М.Р., Сидоренко Е.И., Бойко С.Ю., Судомоина М.В., Студеникин В.М., Шелковский В.И., Фаворова О.О. Раннее начало рассеянного склероза – особенности патогенеза, клиники и возможности патогенетической терапии //Журн. неврологии и психиатр. - 2002. - № 1 (приложение «Рассеянный склероз»). - С. 46 - 51.
- 4 Гусев Е.И., Бойко А.Н, Смирнова Н.Ф., Демина Т.А. Факторы риска развития рассеянного склероза в московской популяции //Журн. неврологии и психиатрии. - 1999. - № 5. - С. 32-40.
- 5 Завалишин И.А., Захарова М.Н. Рассеянный склероз: современные аспекты этиологии и патогенеза //Журн. неврологии и психиатрии. - 2003. - № 2. - С. - 10 - 17.
- 6 Koprowski H., De Freitas E.C., Haepfer M.E. Multiple sclerosis and human T-cell lymphotropic retroviruses //Nature. - 1985. - Vol. 318. - P. 154-160.
- 7 Leibowitz S. Multiple sclerosis London, 1983. - 412p.
- 8 Завалишин И.Е., Захарова М.Н., Переседова А.В. Прогрессирующее течение рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии. - 2002. -№ 1. - С. 88-89.
- 9 Брюховецкий А.С. Трансплантация нервных клеток и тканевая инженерия мозга при нервных болезнях. – М., 2003.- 312с.
- 10 Яворская В.А., Гребенюк Г.В., Фломин Ю.В. Лечение цереброваскулярных и нейродегенеративных заболеваний с применением тканевой и клеточной трансплантации //Проблемы криобиологии. – 2001. – № 3. – С. 37 - 38.
- 11 Fraichard A., Chassande O., Bilbaut G. et al. In vitro differentiation of embryonic stem cells into glial cells and functional neurons. //J. Cell Sci. – 1995. - V. 108, №10. – P.3181-3188.
- 12 Отеллин В.А., Гилерович Е.Г., Гусихина В.И. Структурные основы нарушения формирования citoархитектоники в трансплантатах неокортекса человека //Арх. анат.- 1990.- Т. 99, № 10.- С. 20 - 25.
- 13 Миронов И.Н., Бугаев В.С., Миронов Н.В., Сухих Г.Т. Терапия рассеянного склероза. Новые аспекты //Клинический вестник. - 1998. - № 3. - С. 17-21.
- 14 Завалишин И.А. Современные представления об этиологии рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.- 1990.- № 2. - С. - 3-8.
- 15 Trapp B.D., Ransohoff R.M., Fisher E., Rudick R.A. Neurodegeneration in multiple sclerosis: relationship to neurological disability //Neurosci.– 1999.– Vol.5.– P. 48–57.

- 16 Reddy E., Premcumar, Mettus Richard V et al. Amplification and molecular cloning of HTLV-1 sequences from DNA of multiple sclerosis patients //Science.- 1989. - Vol. 243, № 4890.- P. 529-533.
- 17 Koprowski H., De Freitas E.C., Haeper M.E. et al. Multiple sclerosis and human T-cell lymphotropic retroviruses //Nature 1985.- Vol. 318.- P. 154-160.
- 18 Compston DAS, Sadovnick AD Epidemiology and genetics of multiple sclerosis //Curr. Opin Neurol. Neurosurg.-1992.- Vol. 5.- P.175-181.
- 19 Tienari PJ.Multiple sclerosis: multiple etiologies, multiple genes? //Ann Med.- 1994. - Vol. 26. -P. 259-269.
- 20 Завалишин И.А., Захарова М.Н. Рассеянный склероз: современные аспекты этиологии и патогенеза //Журн. неврологии и психиатрии.- 2003.-№ 2. - С.10-17.
- 21 Kurtzke J.F. MS epidemiology world wide. One view of current status //Acta Neurol. Scand. - 1995. - № 33. - P.632-639.
- 22 Ben-Nun A, Wekerle H., Cohen I.R. The rapid isolation of clonable antigen-specific T-lymphocyte lines capable of mediating autoimmune encephalomyelitis //Eur. J. Immunol.- 1981. - Vol. 11. -P. 195-199.
- 23 Ando D.G., Clayton J., Kono D., Encephalitogenesis T cells in the 91Q. PL model of experimental allergic encephalomyelitis are of Th 1 lymphokine subtype //Cell immunol.-1989.-Vol. 124.-P. 132-134.
- 24 Martin R., MacFarland H.F. Immunological aspects of experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis //Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.- 1995.-Vol. 32.-P.121-182.
- 25 Mor F., Cohen I.R. Pathogenesis of T cells responsive diverse cryptic epitopes of myelin basic protein in the Lewis rat //J. Immunol. - 1995. - Vol. 155. -P. 3693 - 3699.
- 26 Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. – М.: Медицина, 2000.- 430 с.
- 27 Бернет Ф. Клеточная иммунология: перевод с английского.- М.: Медицина, 1983.- 398с.
- 28 Padovan E., Giachino C., Cella M. Normal T lymphocytes can express two different T cell receptor B chains: implications for the mechanism of allelic exclusion //J. Exp. Med.-1995.-Vol.181.-P. 1587-1591.
- 29 Andersen O., Lygner P., Bergstrom T. Trial infections trigger multiple sclerosis relapses: a prospective seroepidemiological study //J. Neurol.-1993.-Vol.240.-P. 417-422.
- 30 Talbot PJ, Paquette J.S. Ciurlic P. Myelin basic protein and human coronavirus 229E cross-reactive T cells in multiple sclerosis //Ann. Neur.-1996.-№.39.-P.233-240.
- 31 Krogsgaard M., Wucherpfennig K., Cannella B. Visualization of myelin basic protein T cell epitopes in multiple sclerosis lesions using a monoclonal antibody specific for human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-DR2-MBP 85-99 complex //J. Exp. Med.- 2000.-№ 191.-P.1395-1412

- 32 Кулаков В.В., Бойко А.Н., Пинегин Б.В. Влияние моноклональных антител к дифференцировочным антигенам Т-клеток на пролиферативную активность лимфоцитов //Иммунология. - 1993.-№ 2. - С.40-43.
- 33 Herman A., Kappler J.W., Marrack P., Pullen A.M. Superantigen-mechanism of T-cell stimulation and role in immune responses //Ann. Rev. Immunol.-1991.-Vol. 9.-P. 745-758.
- 34 Фонталин Л.Н., Певницкий Л.А. Иммунологическая толерантность.- М., 1978.- 56с.
- 35 Cohen I.R. The cognitive paradigm and the immunological homunculus //Immunol Today.-1999.-Vol. 13.-P.490-494.
- 36 Moscarello M.A., Wood D.D., Ackerly C., Boulias C. Myelin in multiple sclerosis is developmentally immunare //J. Immunol.- 1995.-Vol. 155. - P.3693-3699.
- 37 Khoury S.J. Guttman CRG., Orav E.J. Longitudinal MRI in multiple sclerosis correlation between disability and lesion burden //Neurology.-1994.-Vol. 44.- P. 2120-2124.
- 38 Ohta M., Ohta K., Ma J. Identification of myelin basic protein –like material in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients //Clin. Chem.-2000.-Vol.46, №9. - P. 1326-1330.
- 39 Терлецкая Я.Т., Белик Я.В., Козулина Е.П. и др. Роль основного белка миелина в генезе рассеянного склероза //Молекулярная Биология.- 1987.- № 21.- С. 15-26.
- 40 Хохлов А.П., Савченко Ю.Н. Миелинопатии и демиелинизирующие заболевания. – М.: Медицина, 1990.-345с.
- 41 Massaro A.R., Michetti F., Laudisio A. Myelin basic protein structure, function //Ital. J. Neurol. Sci.-1985.-Vol. 6, №1.-P. 53-56.
- 42 Thompson A.J., Brazil J., Feighery C. Determination of myelin basic protein by means of radioimmunoassay in cerebrospinal fluid //Acta Neurol. Scand.-1985.-Vol.72, № 6.-P. 577-583.
- 43 Barkhof F., Frequin S.T., Hommes O.R. Isolation of myelin basic protein-reactive T-cell lines from blood of patients multiple sclerosis //Neurology.-1992. Vol. 42, №1.-P.63-67.
- 44 Lamers K.J., van Engelen B.G., Gabreels F.J. Cerebrospinal fluid concentration of myelin basic protein of patients with different organic diseases nervous system //Acta. Neurol. Scand.-1992.-Vol. 92, №3.-P.247-251.
- 45 Burgoon M.P.,Gilden D.H., OwenaG.P. B cell Diaz-Villoslada P., Shih A., Shoa L. Autoreactive to myelin antigens: myelin/oligodendrocyte glycoprotein is prevalent autoantigen //J. Neuroimmunol. – 1999.-Vol. 99,№ 1.- P. 36-43.
- 46 Hafler D.A. Multiple sclerosis //J. Clin. Invest.-2004.-Vol.113. № 6.-P.788-794.
- 47 Демина Т.Л., Бойко А.Н, Оганезев В.К. и др. Участие фактора некроза опухоли альфа в иммунорегуляции при хронически-прогредиентных формах рассеянного склероза //Иммунология.-1991.-№ 4.- С. 40-44.
- 48 Сучков С.В., Мисиков В.К., Дурова О.М., Черпахина Н.Е., Кимова М.В. и др. Аутоантитела при рассеянном склерозе: патогенетическая и клиническая значимость //Неврологический журн. - 2005. - № 4. - С. 49-54.

- 49 Bernard C.A., Mandel T.E., Mackey I.R. The autoimmune diseases.-San. Diego: Academic Press,1992.106p.
- 50 Weiner H.L., Hafler D.A., Fallis R.S., Altered blood Tcells subsets in patients with multiple sclerosis //J. Neuroimmunol.-1984.-Vol.6.-P.115-119.
- 51 Демина Т.Л., Бойко А.Н., Балашов К.Е., Пинегин Б.В. Особенности клеточного иммунитета при рассеянном склерозе //Журн. неврологии и психиатрии. - 1989. - № 2. - С. 35 - 41.
- 52 Демина Т.Л., Бойко А.Н., Балашов К.Е. и др. Клинико-иммунологические корреляции при длительном динамическом обследовании больных рассеянным склерозом //Журн. неврологии и психиатрии. - 1995. - № 2. - С. 53-57.
- 53 Salmagi A., Mantia L., Milanese C. CFS T-cells subsets in multiple sclerosis: Relationship to cerebrospinal fluid myelin basic protein and clinical activity //J. Neurology.-1989.-Vol. 236.-P. 336-339.
- 54 Matsui M., Mory K.L. The imbalance in CFS T cell subsets inactive multiple sclerosis //Acta Neurol. Scand.-1988.-Vol. 77.-P. 202-209.
- 55 Saresella M , Carter J.L., Compston A. Lymphocyte subpopulations in patients with multiple sclerosis and different neurological diseases //J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. -1995. -Vol.46,№ 2.-P. 105-114.
- 56 Burns J., Rosenzweig A., Zweiman B., Lisak R.J. Isolation of myelin basic protein-reactive tcell lines from normal human blood //Cell. Immunol.-1983.-Vol.81.-P.435-445.
- 57 Столяров И.Д., Осетров Б.А. Рассеянный склероз. - СПб, 2002.-172с.
- 58 Хондкариан О.А, Ганнушкина И.В., Завалишин И.А. и др. Тимусзависимые и тимуснезависимые лимфоциты крови при рассеянном склерозе //Журн. неврологии и психитрии.-1983. -Т.83, № 3. - С. 352-356.
- 59 Hohlfeld R., Meinl E., Weber F. The role of autoimmune T lymphocytes in the pathogenesis of multiple sclerosis //Neurology.-1995.-Vol.45, № 6.-P. 33-38.
- 60 Хондкариан О.А., Завалишин И.А., Невская О.М. Рассеянный склероз. - М.: Медицина. - 1987. - 265с.
- 61 Бисага Г.Н., Грязева И.В., Климович В.В. Диагностическая информативность определения свободных легких цепей иммуноглобулинов при рассеянном склерозе //Нейроиммунология на пороге XXI века.- СПб, 1993.-С.10-13 .
- 62 Goust J.M. Hogan E.L., Arnaud P. Abnormal immune regulation of IgG production in multiple sclerosis //Neurology.-1982.-Vol. 32.-С. 228-234.
- 63 Warren K.G., Catz I. Diagnostic value of cerebrospinal fluid anti-myelin basic protein in patients with multiple sclerosis //Ann Neurol.-1986.-Vol. 20.-P.20-25.
- 64 Ferber I., Broce S., Taylor-Edwards C. Mice with a disrupted INF- γ gene are suspetible to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis //J. Immunol.-1996.-Vol.156.-P. 5-7.
- 65 Leonard J.P., Waldburger K.E., Goldman S.J. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis by antibodies against interleukin-12 //J. Exp. Med.-1995.-Vol.81.-P.381-386.

- 66 Демина Т.Л., Гусев Е.И., Бойко А.Н., Пинегин Б.В. Цитокины в патогенезе рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-1997.-№ 5.- С. 68-72.
- 67 Hohnoki K., Inoue A., Koh C.S. Elevated serum levels of IFN- γ , IL-4 and TNF alfa/unelevated serum levels of IL-10 in patients with demyelinating diseases during the acute stage //J. Neuroimmunol.-1998.-Vol.87, № 2.-P.27-32.
- 68 Одинак М.М., Бисага Г.Н., Калинина Н.М., Акимов С.Б., Давыдова Н.И. иммуногенетическая рестрикция цитокинов при рассеянном склерозе //Журн. неврологии психиатрии.-2001.-№ 9.-С.39-44.
- 69 Ярилин А.А. Система цитокинов и принцип их функционирования в норме и патологии //Иммунология.-1997.- 35.- С. 7-14.
- 70 Симбирцев А.С. Цитокины - медиаторы защитных функций организма //Цитокины и воспаление.- 2002. –Т.1,№ 2.-С. 38-39.
- 71 Lotze M. T., Frana L.W. Sharrow S.O. Cytokine levels in standard and pathology //J. Immunol.-1999.-Vol.134.- P. 157-166.
- 72 Maimone D., Gregory S., Arnson B.G.W,Reder A.T. Cytokine levels in the cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis //J. Neuroimmunol.-1999.-№ 32.-P. 67-74.
- 73 Miller A. Liner N., Sharipo S. Immunoregulatory effects of interferon – B and interacting cytokines on human vascular endothelial cells, implication for multiple sclerosis and other autoimmune disease //J. Neuroimmunol.-1996.-Vol.64.- P.151-161.
- 74 Carron M., Wang L., Racke M.K. Cytokine-regulated adhesion between encefalitogenic T lymphocytes and cerebrovascular endothelial cells //J. Neuroimmunol.-1993.-Vol.43.-P.23-30.
- 75 Порядин Г.В., Макарьков А.И., Бойко А.Н., Салмаси Ж.М., Демина Т.Л., Гусев Е.И. Использование поверхностных маркеров для определения степени активности иммунопатологического процесса при рассеянном склерозе //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1997. - Т. 124, №9.- С. 342-345.
- 76 Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н. Рассеянный склероз. – М.: Медицина, 1997.- 463 с.
- 77 Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: от изучения иммунопатогенеза к новым методам лечения. – М., 2001.- 127с.
- 78 Navicas V., He B., Link J. Augmented expression of tumor necrosis factor and lymphotoxin in mononuclear cells in multiple sclerosis and optic neurotic //Brain.- 1996.-Vol.119.-P. 7452-7457.
- 79 Калашникова А.А., Давыдова Н.И., Бисага Г.Н., Калинина Н.М. Изменение продукции цитокинов и экспрессии их рецепторов мононуклеарами периферической крови больных рассеянным склерозом в зависимости от формы активности заболевания //Цитокины и воспаление. – 2002.-Т.1, №2.-С. 95 - 96.
- 80 Lee S.C. Liu W, Roth P, et al. Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes //J. Immunol.-1993.-№ 150.-P. 2659-2667.

81 Brosnan C.F., Cannella B., Battistini L., Raine C.S. Cytokines localization in multiple sclerosis lesions: Correlation with adhesion molecule expression and reactive nitrogen species //Neurology.-1995.-Vol.45.-P.16-21.

82 Чекнев С.Б., Сорокин А.М., Тункель О.И. Индивидуальная чувствительность естественных киллеров человека к регулируемому действию интерферонов //Иммунология.-1993.-№4.-С.8-12.

83 Hafler D.A., Choflon M., Kurt-Jones E., Weiner H.L. Interleukin-1 corrects the defective autologous mixed lymphocyte response in multiple sclerosis //Clin. Immunol. Immunophatol.-1991.-Vol. 58.-P.115-125.

84 Загарова Т.А., Фролова О.О., Исследование роли цитокинов при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите и рассеянном склерозе //Журн. неврологии и психиатрии.- 1990.-№ 2. - С. 3-8.

85 Бисага Г.Н., Калинина Н.М., Акимова С.Б., Давыдова Н.И. Ремитирующий и прогрессивный рассеянный склероз: иммунопатогенетические различия //Медико-социальные аспекты рассеянного склероза.-2000.-№1.-С. 17-21.

86 Чекнев С.Б., Нароволянский А.Н., Мезенцев М.В., Амченкова А.М., Кобякина Н.А., Скворцова В.И., Ершов Ф.И. Расширенный интерфероновый статус при рассеянном склерозе //Иммунология.- 2001. - №1. - С. 36-39.

87 Чекнев С.Б. Недостаточность системы интерферона как механизм развития иммунодефицита по естественным киллерам //Иммунология.-1993.-№4.-С. 8-12.

88 Семененя И.Н. Естественные киллерные клетки как звено в иммунной системе организма //Иммунология.-1991.-№4.-С.4-6.

89 Kennedy M., Torrance D.S., Picha K.S., Mohler K.M. Analysis of cytokine mRNA expression in the central nervous system of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis reveals that IL-10 mRNA expression correlates with recovery //J. Immunol.-1992.-№ 149.-P.2496-2505.

90 Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н., Татарина М.Ю. Клинико-иммунологический мониторинг состояния больных рассеянным склерозом //Журн. неврологии и психиатрии.- 1992. - № 2.-С. 14-18.

91 Rieckman P., Albrecht M., Kitce B. Cytokine mRNA levels in mononuclear blood cells from patients with multiple sclerosis //Neurology.-1994.-Vol.44.-P.1523-1526.

92 Link F., Soderstrom M., Ollson T. Increased transforming growth factor- β , interleukin-4, and interferon- γ in multiple sclerosis //Ann. Neurol.-1994.-Vol.36.-P.379-386.

93 Завалишин И.Е., Захарова М.Н., Переседова А.В. и др. Прогрессивное течение рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.- 2002.-№1.-С. 88 - 89.

94 Гусев Е.И., Беляева И.А., Чехонин В.П. Сравнительный клинико-иммунологический анализ ремитирующего и вторично-прогрессирующего рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии. - 2000. - № 6. - С. 51-57.

95 Столяров И.Д., Бисага Г.Н., Вотинцева М.В., Ильвес А.Г., Никифорова И.Г., Николаева Н.В., Рудас М.С., Петров А.М., Прахова Л.Н., Тотолян Н.А., Скоромец А.А. Некоторые современные методы диагностики и патогенетической терапии рассеянного склероза //Неврологический вестник.-2002.-Т.34,№ 2.- С. 65-72.

96 Barnes M.P. Bateman D.E., Cleland P.G., et al. Intravenous methylprednisolone for multiple sclerosis in relapse //J. Neurol. Neurosurg Psychiatry.-1985.-№ 48.-P. 157-159.

97 Thompson A.J., Kennard C., Swash M. Relative efficacy of intravenous methylprednisolone and ACTH in the treatment of acute relapse in MS. Neurology.-1989.-№ 39.-P. 969-971.

98 Шмидт Т.Е. Лечение рассеянного склероза // Рус. Мед. журн. –2001. – Т.9., № 8.- С. 12-16.

99 BeckR.W., Cleary P.A., Trobe J.D., et al. Optic Neuritis Study Group. The effect of corticosteroids for acute optic neuritis on the subsequent development of multiple sclerosis //N. Engl. J. Med.-1998.-Vol. 329.-P.1764-1769.

100 Неретин В.Я., Киряков В.А., Сапфирова В.А. Иммуносупрессивная терапия рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-1990.-Т.90, №2.-С.119-126.

101 Тотолян Н.А. Рассеянный склероз (лечение с позиций доказательной медицины) //Мир медицины. –2000.-№ 5.- С. 3-7

102 Жученко Т.Д., Завалишин И.А. Лечение рассеянного склероза //Неврологический журнал. –1996. -№1. –С. 37-43.

103 Yudkin P.L., EllisonG.W., Ghezzi A et al. Overview of azathioprine treatment in multiple sclerosis //Lancet.-1991.-Vol. 338.-P. 1051-1055.

104 Гусев Е.И., Бойко А.Н. Некоторые клинические и медико-социальные аспекты новых методов патогенетического лечения рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-1999.-№ 4.-С. 33-36.

105 Goodkin D.E., Rudick R.A., Van de Brug S et al. Low-dose (7,5mg) oral methotrexat reduces the rate of progression on chronic progressive multiple sclerosis // Ann. Neurol.-1995.-№ 37.-P. 37-44.

106 Weiner H.L.,Mackin G.A., Orav E.J. et al. Intermittent cyclophosphamide pulse therapy in progressive multiple sclerosis.-Neurology.-1993.- № 43.-P. 910-918.

107 Завалишин И.А., Жученко Т.Д., Переседова А.В. Патогенез и лечение рассеянного склероза //Вест. Рос. Акад. Мед. Наук.-2001.-№7.-С. 18-22.

108 Гусев Е.И., Демина Т.Л., Хачанова Н.В.Сравнительный анализ бета-интерферонов, используемых в лечении рассеянного склероза //Нейроиммунология.-2003.-Т. 1,№1.-С. 45-50.

109 Шмидт Т.Е. Ранняя терапия рассеянного склероза бета-интерферонами //Нейроиммунология.- 2004. - Т. 1, №11.-С. 40-44.

110 Гусев Е.И., Бойко А.Н. Современные аспекты патогенетического лечения рассеянного склероза //Журн.неврологии и психиатрии.-1997.-№ 2.-С. 33-36

111 Coyle P., Hartung H. Multiple Sclerosis. –2002. –V.8. –P.2-9.

- 112 Jacobs L., Cookfair D.L., Rudick R.A. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis //Ann Neurol. - 1996. -Vol, 39. - P. 285-294.
- 113 Гусев Е.И., Бойко А.Н. Современные подходы к использованию бета-интерферонов в лечении рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-2000.-№ 11.-С. 54-59.
- 114 Жученко Т.Д., Шмидт Т.Е. Копаксон – новое средство для лечения рассеянного склероза //Вестн. практ. неврол.-1998.-№ 4.-С.194-196.
- 115 Шмидт Т.Е., Чуркина И.А., Елагина И.Г., Яхно Н.Н. Течение ремитирующего рассеянного склероза на фоне терапии копаксоном и после его отмены //Невролог. журн.- 2005. - № 3. - С. 23 - 28.
- 116 Jonson K.P., Brooks B.R., Cohen J.Y. Extended use of Copaxon is well tolerated and maintains its clinical effect on MS relapse rate and degree of disability //Neurology.- 1998.-Vol. 95.-P. 675-680.
- 117 Гусев Е.И., Бойко А.Н., Позер Ч. Проблемы и перспективы использования бета-интерферонов и копаксона в лечении рассеянного склероза //Журн. неврол. психиатр.-1999.-№4.-С.33-36.
- 118 Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. - М.: Медицина, 1998.-260 с.
- 119 Bjerclund A., Stenevi U. Intracerebral neural grafting //Brain Res.-1979.-Vol. 170.- №3.-P.409-426.
- 120 Das G.D. Development of neurocortical transplants Neural grafting of the mammalian CNS. - Amsterdam New-York Oxford: Elsevier, 1985. – 290p.
- 121 Olson L., Stromberg I., Herrera-Marachitz M. et al. Neural grafting mammalian CNS Amsterdam. 1985. P.550.
- 122 Лосева Е.В., Цымбалюк В.И., Пичкур Л.Д., Брагин А.Г. Влияние трансплантации эмбриональной мозговой ткани на структурные изменения в мозгу крыс после черепно-мозговой травмы //Нейрофизиология. -1995. -Т. 27.-№6. С. 350.
- 123 Аникин А.Ю., Древаль О.Н., Акатов О.В. и др. Состояние проблемы применения нейротрансплантационных технологий в клинике //Бюл. эксперим. биологии и медицины - 1998. - Т.126, приложение 1. - С. 32-36.
- 124 Ермакова И.В. Возможности восстановления нарушенного поиска пищи у крыс путем нейротрансплантации //Журн. высшей нервной деятельности-1987.-Т.37,№1.-С.168-171
- 125 Гуляева Н.В., Ермакова И.В., Курбатова М.Б. Биохимические изменения в крови крыс после нейротрансплантации //Нейрохимия.-1990.-Т.9,№1.-С.68-74.
- 126 Stunder L., Tabar V., McKay R.D. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats //Nat Neurosci.- 1998.-Vol. 290.-P. 63-112.
- 127 Ключник Т.П. Трансплантация фетальных тканей человека. – М., 1996. – 520 с.

128 Freed C.R., Cannon-Spoor H.E., Krauhamer E. Intrastratial adrenal medulla grafts in rats. Long-term survival and Behavioral effects //Neurosurg.-1986.-Vol.65, №5.-P.664-670.

129 Sladek John R., Jr. Redmond Eugene D. Transplantation of fetal Neurons in Primates //Clin.res.-1988.-Vol.36,№3.-P. 200-204.

130 Backlund E.O., Granberg P.O., Hamberger B. et al.. Transplantation of adrenal medullary tissue to the striatum in parkinsonism //Neurology -1985 – Vol. 1. - P. 55-58.

131 Madrazo I., Leon V., Torres C. Transplantation of fetal substantia nigra and adrenal medulla to the caudate putamen in two patients with Parkinson's disease //N. Engl J Med.-1988.-V. 318.-P.51.

132 Lindvall O., Widner H., Rencrona S. et al. Transplantation of Fetal Dopamine Neurons in Parkinson's Diseases: One-year Clinical and Neurophysiological Observations in Two Patients with Putaminal Implants //Ann. of Neurology.-1992.-V.3.-P.155.

133 Stunder L., Tabar V., McKay R.D. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats. –Nat Neurosci.-1998.-Vol. 290.-P. 63-112.

134 Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Белопасов В.В. и др. Трансплантация эмбриональной нервной ткани в терапии паркинсонизма: современное состояние проблемы //Журн.неврология и психиатрия.-1999.- № 11.-С. 60-66.

135 Бехтерева Н.П., Гилерович Е.Г., Гурчин Ф.А. и др. О трансплантации эмбриональных нервных тканей в лечении Паркинсонизма //Журн.неврология и психиатрия-1990.-Т.90, № 11.-С. 10-13

136 Шабалов В.А., Угрюмов М.В.Совещание «Нейротрансплантация в лечении заболеваний ЦНС». М., 1996. – 144с.

137 Брюховецкий А.О., Ушаков С.О. Трансплантация фетальных тканей и клеток человека сб. статей. - М., 1996. С. 245 с.

138 Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - Т.126, приложение 1.-С.6-10.

139 Миронов Н.В., Шмырев В.И., Бугаев В.С. и др. Комплексное лечение пациентов с паркинсонизмом с использованием живых фетальных клеток //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 1998. - Т.12, Приложение 1. - С. 63-68.

140 Цымбалюк В.И., Рожкова З.З., Пичкур Л.Д. и др. Применение метода ЯМР спектроскопии для оценки влияния трансплантации эмбриональной нервной ткани при спастической форме детского церебрального паралича //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - Т.126.- Приложение 1. - С. 54-58.

141 Цымбалюк В.И., Пичкур Л.Д., Мартынюк В.Ю. Нейротрансплантация в лечении последствий апалического синдрома //Вопр. нейрохирургии.-1998.-№1.-С.15-17.

142 Берснев В.П., Степанова Т.С., Овечко В.Н. Метод нейротрансплантации в хирургическом лечении эпилепсии //Бюллетень

экспериментальной биологии и медицины.- 1998. - Т. 126.,Приложение 1. - С. 147-148.

143 Благодатский М.Д., Суфианов А.А., Ларионов С.Н. и др. Трансплантация эмбриональной нервной ткани при сирингомиелии: первый клинический опыт //Вопр. нейрохирургии. - 1994. - № 8. - С. 27-29.

144 Лосева Е.В., Цымбалюк В.И., Пичкур Л.Д., Брагин А.Г. Влияние трансплантации эмбриональной мозговой ткани на структурные изменения в мозгу крыс после черепно-мозговой травмы //Нейрофизиология. -1995. -Т. 27.- №6. С. 350-352.

145 Катунян П.И., Круглов Н.А., Дзукаев Д.Н., Шумилина В.И. Нейротрансплантация при оперативном лечении повреждения спинного травматического мозга //Актуальные вопросы вертебурологии, реконструктивной хирургии позвоночника и спинного мозга.: сб. науч. тр.- М., 1992.-С. 19-22.

146 Станков Д.С., Катунян И.П., Крашенинников М.Е., Онищенко Н.А. Нейротрансплантация в лечении травмы спинного мозга (аналитический обзор) //Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2002. - № 1-С. 44-52.

147 Цымбалюк В.И., Щерба Н.И., Верхоглядов В.П. Оценка влияния трансплантации эмбриональной нервной ткани на степень выраженности отека головного мозга на модели тяжелой черепно-мозговой травмы с помощью метода импедансометрии //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1998. - Т. 126, Приложение 1.-С. 99-101.

148 Barker R.A., Jain M, Armstrong R.J.E., Caldwell M.A. Cell transplantation of experimental allergic encephalomyelitis //Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry. - 2003. - Vol. 74. - P. 553-557.

149 Бархатова В.П., Завалишин И.А., Байдина Е.В. Патофизиология демиелинизирующего процесса //Журн. неврологии и психиатрии.- 2002.- №7.- С.53-56.

150 Лисяный Н.И., Бельская Л.Н., Маркова О.В. Влияние эмбриональных нейроклеток на течение экспериментального аллергического энцефаломиелита // Нейроиммунология.- 2007.- №2.-С.73-74.

151 Mc Donald W, Compston A., Edan G. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international Panel on the diagnosis of multiple sclerosis //Ann. Neurol.-2001.-Vol. 50.-P.121-127.

152 Rudick R.A. Multiple Sclerosis Therapeutics. - Eds, 2000. – 573 p.

153 Kurtzke J.F.The Disability Status Scale for multiple sclerosis //Neurology.- 1989.-Vol.39.-P.291-302.

154 Kurtzke J.F. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale //Neurology.-1983.-Vol.33.-P.1444-1452.

155 Завалишина И.А., Головкина В.И. Рассеянный склероз. – М., 2000. – 634 с.

156 Инструкция по применению набора моноклональных и поликлональных антител для определения дифференцировочных антигенов, лейкоцитов человека методом иммунофлуоресценции. – М., 2000.- 8с.

- 157 Гриневич Ю.А., Алферов А.Н. Медицинские лабораторные технологии. – СПб.: «Интермедика», 1999.- 657 с.
- 158 А.В. Караулов Клиническая иммунология и аллергология. – М.: МИА, 2002.- 650с.
- 159 Barkhof F. The role of magnetic resonance imaging in diagnosis of MS: a perspective study with comprasion of evaluation evoked potential, oligoclonal banding and CT //Neurology.-1997.-№ 38.-P. 180-185.
- 160 Paty D.W., Li DKV, Oger JFF et al. Magnetic resonance imaging in the evaluation of clinical trials in multiple sclerosis //Ann. Neurol.-1994.-№ 34.-P. 95-96.
- 161 Тотолян Н.А., Трофимова Т.Н., Скоромец А.А., Тютин Л.А., Поздняков А.В., Тычкова И.К. Возможности методов магнитно-резонансной визуализации в диагностике рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-2002.(приложение «Рассеянный склероз»). - С.32-41.
- 162 Тотолян Н.А. Магнитно-резонансная томография в дифференциальной диагностике поражений головного мозга при демиелинизирующих заболеваниях и системных аутоиммунных заболеваниях //Журн. неврологии и психиатрии. - 2005.-№ 5.-С. 42-46.
- 163 Бринар В.В., Позер Ч.М., Лабораторные методы в диагностике рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-2002.(приложение «Рассеянный склероз»). – С. 7-14.
- 164 Бисага Г.Н., Головкин В.И. Клинико-магнитно-резонансено-томографические соотношения при рассеянном склерозе //Неврологический журн.-1997.-№ 3.-С. 26-29.
- 165 Тодуа Ф.И., Окуджава М.В., Лачкепиани А.Н. Основные различия МРТ – картины при первично и вторично хронически прогрессирующих формах рассеянного склероза //Неврологический журн.-1999.-№ 2.- С. 26-29.
- 166 Завалишин И.А., Захарова М.Н., Аскарлова Л.Ш., Коньсова А.Ж., Хайдаров Б.Т., Мухамедова Б.Д. Современные направления в изучении патогенеза демиелинизирующих заболеваний //Журн. неврологии и психиатрии. - 1997. - № 5. - С.64-67.
- 167 Одинак М.М., Бисага Г.Н., Зарубина И.В. Новые подходы к антиоксидантной терапии рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.-2002.(приложение «Рассеянный склероз»). – С. 72-76.
- 168 Татарнинова М.Ю., Фокин И.В., Бойко А.Н. Качество жизни больных рассеянным склерозом и некоторые подходы к фармакоэкономическим исследованиям //Журн. неврологии и психиатрии.-2002.(приложение «Рассеянный склероз»). – С. 76-80.
- 169 Отеллин В.А. Нейробиологические проблемы структурно-медиаторной организации центральной нервной системы и нейротрансплантологии. СПб., 1992.- 344с.
- 170 Александрова М.А., Полтавцева Р.А., Марей М.В. и др. Трансплантация культивированных нейральных прогенеторных клеток человека в мозг крыс: миграция и дифференцировка //Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины. - 2001.-№10. С.34-39.

- 171 Педаченко Е.Г., Белошицкий В.В. Перспективы клеточной терапии в лечении нейрохирургических заболеваний. //Нейрохирургия.-2004.-№3.-С.6-11.
- 172 Волошин П.В., Грищенко В.И., Черненко В.Г. и другие. Предварительная оценка результатов метода трансплантации эмбриональных тканей в неврологии //Бюлл. эксперимент. биологии и медицины.-1998.-Т.126, приложение 1.-С. 78-79.
- 173 Угрюмов М.В., Ермаков А.С., Попов А.П. и другие. Генная и генно-клеточная терапия и нейродегенеративные заболевания. //Вопросы медицинской химии.-2000.-№3.-С. 14-18.
- 174 Кафанова М.Ю., Рабинович С.С., Селедцов В.И. //Тезисы докл. 2 Межрегиональной научно-практической конференции.- Омск, 2000.-280 с.
- 175 Жусупова А.С., Доскалиев Ж.А., Сыздыкова Б.Р., Яушева Д.С. и другие. Фетальная нейротрансплантация при органической патологии нервной системы //Медицина.-2005.-№2.-С.2-3.
- 176 Lindvall O., Bjorklund A. Cell replacement therapies for central nervous system disorders // Nat. Neurosci.-2000.-Vol. 3.-P. 537-544.
- 177 Halfpenny C., Benn T. Scolding N. Cell transplantation, myelin repair, and multiple sclerosis //The Lancet Neurology. - 2002. - Vol. 1, № 1. - P. 31-40.
- 178 Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E. et al. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis //Nature.-2003.-Vol.422, № 6933.-P.688-694.
- 179 Ширшев С.В. Белки фетоплацетарного комплекса в регуляции иммунных реакций //Успехи совр. биол.-1993.-№2.-С.230-247.
- 180 Tyndall A., Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplants in autoimmune disease//British Journal of Rheumatology.-1997.-Vol. 36, P. 390-392.
- 181 Филиппович А.Н. Диагностика начального периода рассеянного склероза //Журн. неврологии и психиатрии.- 2003.-№2.-С. 49-50.
- 182 Жусупова А.С. Динамика уровня мозгового нейротрофического фактора в ликворе после фетальной нейротрансплантации //Вестник Медицинского центра Управления делами Президента РК.-2006.-№1 (17).-С. 76-79.
- 183 Жусупова А.С., Сыздыкова Б.Р., Яушева Д.С., Попова Н.В., Откельбаева А.Г. Изменение маркеров повреждения мозговой ткани после фетальной нейротрансплантации//Нейрохирургия и неврология Казахстана.-2006.-№1 (5).-С.44-47.
- 184 Никифорова И.Г, Ильвес А.Т, Вотинцева М.В, Ивашкова Е.В., Петорв А.М., Огурцов Р.П. Иммунологические исследования в диагностике рассеянного склероза //Неврологический журнал. - 2003. - № 5. - С. 9 - 14.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Шкала повреждений функциональных систем по John Kurtzke (Functional Systems)

Группа	Классификация в зависимости от степени нарушения
Симптомы поражения пирамидного пути:	1- пирамидные патологические рефлексy без снижения силы; 2- незначительное снижение мышечной силы; 3- незначительный и умеренный геми- и парапарез (с нарушениями функций) 4- умеренный тетрапарез (функции значительно восстанавливаются после короткого отдыха); 5- параплегия, гемиплегия, или отчетливый тетрапарез.
Нарушения координации:	1- неврологические симптомы без нарушения функции; 2 – незначительная атаксия (функции практически не страдают, но интенционный тремор и мимопадание отчетливо выявляются при пробах); 3- умеренная атаксия туловища или конечностей (тремор и дисметрия затрудняют движения); 4- выраженная атаксия во всех конечностях; 5- невозможность выполнения направленных движений.
Нарушения краниальных нервов	1- симптомы без нарушений функций; 2- умеренно выраженный нистагм или другие незначительные нарушения; 3- выраженный нистагм, отчетливые симптомы вовлечения глазодвигательных и лицевого нерва, умеренные симптомы поражения других черепных нервов; 4- выраженная дизартрия или другие выраженные нарушения; 5- невозможность глотать или говорить.
Нарушения чувствительности	1- снижение вибрационной и мышечно-суставной чувствительности на одной из конечностей; 2- некоторое снижение тактильной, болевой чувствительности или чувства давления, 3- отчетливое снижение тактильной, болевой чувствительности и чувства давления, и /или потеря вибрационной на одной или двух конечностях или незначительное снижение тактильной, болевой и /или умеренное снижение всей проприорецептивной чувствительности на трех или четырех конечностях; 4- значительное снижение тактильной, болевой чувствительности или потеря проприорецепции (или в комбинации) на одной или двух конечностях, или умеренное снижение тактильной, болевой чувствительности и/ или выраженные нарушения проприорецепции на более чем двух конечностях; 5- потеря чувствительности на одной или двух конечностях, или умеренное снижение тактильной или болевой и/или потеря проприорецепции на всем теле ниже головы; 6- потеря всех видов чувствительности ниже головы.

Продолжение приложения А

Нарушения функций тазовых органов	<p>1-незначительное нарушения мочеиспускания (императивные позывы задержки);</p> <p>2- умеренно выраженные задержки, императивные позывы, запоры или редкие эпизоды недержания;</p> <p>3- частые эпизоды недержания мочи;</p> <p>4- необходимость в постоянной катетеризации и постоянных дополнительных мероприятий для эвакуации кишечника;</p> <p>5- полное недержание мочи; полное недержание мочи и кала.</p>
Поражения зрительного нерва:	<p>1-скотома, острота зрения лучше чем 0,6;</p> <p>2- худший глаз со скотомой с максимальной остротой зрения от 0,6 до 0,4;</p> <p>3-худший глаз с большой скотомой или умеренное сужение полей зрения, но при максимальной остроте зрения от 0,4 до 0,2;</p> <p>4 – худший глаз со значительным сужением полей зрения и максимальной остротой зрения от 0,2 до 0,1 или симптомы из разделы 3 плюс максимальная острота зрения лучшего глаза 0,4 или меньше;</p> <p>5- худший глаз с максимальной остротой зрения ниже 0,1, или симптомы из раздела 4 плюс острота зрения лучшего глаза 0,4 и меньше; 6- симптомы из раздела 5 плюс острота зрения с коррекцией, височное побледнение диска отмечается отдельно.</p>
Изменения интеллекта	<p>1-снижение памяти (не влияет на работоспособность);</p> <p>2-незначительное снижение интеллекта;</p> <p>3- умеренное снижение интеллекта;</p> <p>4-заметное снижение интеллекта;</p> <p>5-деменция</p>

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Шкала оценки тяжести состояния больных по John Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS)

Балл	Симптомы неврологических нарушений
0	Нормальное состояние;
1.0	Симптомы заболевания есть, но трудоспособность сохранена
2.0	Минимальные вовлечения в процессе одной или двух уже описанных функциональных групп, они включают в себя такие признаки, как слабость, визуально-моторные расстройства
3.0	Средняя дисфункция у больного, включающая в себя гемипарез или парапарез
4.0	Больные способные сохранять работоспособность 12 часов в сутки, подразумевается физическая способность работать и пользоваться общественным транспортом. Умеренный парапарез, слабый парапарез с атаксией или сочетание меньших дисфункций
5.0	Больные более слабые, но еще сохраняющие способность передвигаться на небольшие расстояния без посторонней помощи
6.0	Больные, которым нужны трости, подпорки, костыли для передвижения. Выраженный парапарез, обычно с атаксией, сенсорными расстройствами и некоторой дисфункцией ствола мозга, типичны для шестой степени
7.0	Больные прикованы к инвалидной коляске, но могут садиться в нее и вставать без помощи других людей, а также могут управлять коляской
8.0	Больные, прикованные к постели, но в этой группе также имеются больные, которые передвигаются с помощью инвалидной коляски, если сохранена полезная функция рук,
9.0	Полностью беспомощные больные, прикованные к постели
10.0	Больные, которые умирают от заболевания либо при обострении, или от осложнений.

Отпечатано в типографии
ТОО «Индиго Принт»

Тираж 1000 экз.

г. Нур-Султан,
пр-т. Кабанбай батыра 2/2,
офис 200