

На правах рукописи

МАКШАКОВ  
ГЛЕБ СЕРГЕЕВИЧ

ОЦЕНКА РОЛИ В-ЛИМФОЦИТОВ И МЕНИНГЕАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ В  
РАЗВИТИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ И ТЯЖЕСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ  
РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2020

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова» Минздрава России

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор  
Тотолян Наталья Агафоновна

Официальные оппоненты: Бахтиярова Клара Закиевна  
доктор медицинских наук, профессор, профессор  
кафедры неврологии ФГБОУ ВО «Башкирский  
государственный медицинский университет» МЗ РФ

Смагина Инна Вадимовну  
доктор медицинских наук, профессор, заведующая  
кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом ДПО  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский  
университет» МЗ РФ

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия  
им. С.М. Кирова» МО РФ

Защита диссертации состоится « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.054.02 при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. А.В. Алмазова» Минздрава России (191104, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, д.12)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Российского научно-исследовательского нейрохирургического института им. проф. А.Л. Поленова и на сайте: <https://www.almazovcentre.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор Иванова Наталия Евгеньевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы

Рассеянный склероз (РС) является аутоиммунным заболеванием центральной нервной системы с выраженным нейродегенеративным компонентом, проявляющимся уже на ранних стадиях и неуклонно прогрессирующим. Изучение связи В-лимфоцитов (В-лц) с течением РС является одной из наиболее актуальных проблем в области рассеянного склероза. В патоморфологических исследованиях показано, что В-лц инфильтрируют паренхиму головного мозга в очагах демиелинизации и в области лептоменингеальных лимфоидных фолликулов, формируя зоны, где поддерживается клональная пролиферация и созревание аутореактивных Т- и В-лимфоцитов. Наличие подобных структур может быть ассоциировано с более ранним и быстрым прогрессированием инвалидизации. Недавно разработанная методика нейровизуализации выявляет лептоменингеальное воспаление у пациентов с РС посредством определения участков накопления контрастного вещества (КВ) в субарахноидальном пространстве на магнитно-резонансной томографии (МРТ) в режиме постконтрастного FLAIR 3D двойной инверсии-восстановления (Absinta M. et.al., 2015). Гипотетически, очаги накопления КВ в оболочках головного мозга на МРТ в режиме постконтрастного FLAIR могут являться маркером прогрессирования с перспективой использования в клинической практике для прогнозирования течения РС и определения терапевтической тактики. Проспективные исследования в этой области не проводились. Неизвестно, как связано наличие таких очагов с тяжестью течения РС и выраженностью нейродегенерации.

### Степень разработанности темы

Одним из ключевых звеньев в патогенезе РС являются В-лц. У пациентов с РС значительно увеличена интратекральная популяция CD27<sup>+</sup> В-лц памяти, а также присутствуют эктопические В-лимфоидные структуры в менингеальных оболочках (Corcione A. et. al, 2005; Serafini B. et. al, 2004). Выявлены признаки клональной экспансии и соматических гипермутаций в генах В-лц, а также плазматических клеток, что указывает на их антиген-зависимую дифференцировку (Colombo M. et. al., 2000, Ritchie, A.M., et al., 2004). Антиген-специфичные В-лц, центробласты, секретирующие антитела плазмабласты и плазматические клетки мигрируют в ЦНС

и длительно в ней персистируют, они ответственны за синтез иммуноглобулина G в центральной нервной системе (ЦНС) (Uccelli, A., et.al., 2005). При РС В-лц формируют лептоменингеальные фолликулоподобные структуры (ЛМФС) в пределах субарахноидального пространства, преобладающие у пациентов с вторично-прогрессирующим течением РС (ВПРС) (Serafini V. et. Al, 2004). Выяснение механизмов формирования третичных лимфоидных структур при РС и других аутоиммунных заболеваниях далеко от завершения.

Существенным ограничением в изучении ЛМФС является сложность визуализации лептоменингеального воспаления. С помощью МРТ-методики постконтрастного 3D FLAIR Absinta с соавт. выявили лептоменингеальные очаги контрастного усиления сигнала (ЛОКУС) у 25% пациентов с РС и впервые показали пространственную связь МРТ-участков накопления КВ с лимфоцитарными инфильтратами в субарахноидальном пространстве на аутопсии (Absinta M. et.al. 2015). Исследование на высокопольном томографе (7 Тесла) демонстрирует распространенность ЛОКУС при РС до 91% (Harrison D.M. et.al. 2017).

Многие аспекты лептоменингеального воспаления при РС требуют изучения. Не ясно, насколько стабильно накопление КВ в оболочках, и, следовательно, количество ЛОКУС в динамике. Неизвестно, как влияет наличие ЛОКУС на темп прогрессирования инвалидизации и скорость атрофии головного мозга. Мало известно об иммунных механизмах формирования ЛОКУС, чтобы уверенно связывать этот МРТ-феномен с формированием ЛМФС. Эти вопросы послужили основанием для проведения настоящей работы.

### Цель работы

Определить распространенность, особенности иммунопатогенеза лептоменингеального воспаления и его прогностическую значимость в отношении нейродегенерации и прогрессирования инвалидизации при рассеянном склерозе.

### Задачи исследования

1. Определить на основании кросс-секционного исследования встречаемость МРТ-показателей лептоменингеального воспаления и их связь с клиническими параметрами инвалидизации, МРТ-показателями нейродегенерации и лабораторными маркерами активности В-лимфоцитов при рассеянном склерозе;

2. Охарактеризовать связь МРТ-показателей лептоменингеального воспаления с характеристиками В-лимфоцитарного звена иммунного ответа у больных рассеянным склерозом;

3. Изучить характеристики и динамику МРТ-показателей лептоменингеального воспаления при длительном наблюдении у пациентов с рассеянным склерозом, получающих патогенетическую иммуномодулирующую терапию препаратами интерферона бета и глатирамера ацетата;

4. Выявить в проспективном когортном исследовании связь лептоменингеальных очагов контрастного усиления МРТ-сигнала у больных рассеянным склерозом с динамикой МРТ-показателей нейродегенерации и риском прогрессирования инвалидизации и динамикой МРТ-показателей нейродегенерации через 2 года.

#### Научная новизна

Впервые в российской популяции пациентов с рассеянным склерозом получены и проанализированы с учетом характеристик болезни данные о встречаемости лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала;

Разработан протокол автоматической и полуавтоматической оценки атрофии и очагового поражения белого и серого вещества головного мозга;

Впервые в российской популяции показаны взаимосвязи между наличием лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала и снижением количества субпопуляций переключенных В-лц и В-лц памяти в периферической крови, ассоциированным с выраженностью В-клеточного ответа в ЦНС;

Впервые в российской популяции проведено проспективное исследование динамики лептоменингеальных очагов за 2 года с определением пространственных и временных характеристик экспрессии ЛОКУС;

Проанализирована связь наличия ЛОКУС с риском краткосрочного прогрессирования инвалидизации при РС с помощью комплексной статистической модели;

Показана взаимосвязь между наличием ЛОКУС и более выраженной атрофией общего объема серого вещества, коры головного мозга и подкорковых структур. При долгосрочном исследовании показано влияние наличия ЛОКУС на выраженность атрофии отдельных структур подкорковых ганглиев;

Разработан комплекс МРТ- и лабораторных показателей для последующего изучения влияния современной терапии ПИТРС на выраженность лептоменингеального воспаления при РС.

#### Теоретическая и практическая значимость

В ходе работы разработан, стандартизирован и апробирован протокол магнитно-резонансной томографии для оценки лептоменингеального воспаления при рассеянном склерозе. Методика постконтрастной 3D FLAIR показала наибольшую чувствительность в определении очагов лептоменингеального воспаления по сравнению с другими опубликованными исследованиями. Протокол исследования внедрен в повседневную клиническую практику.

Показано, что наличие ЛОКУС при РС связано с атрофией структур головного мозга и более высокой инвалидизацией, а также является независимым прогностическим фактором атрофии подкорковых структур. Эти данные могут иметь решающее значение для понимания механизмов нейродегенерации при РС.

Это первое в России исследование, продемонстрировавшее связь лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала со снижением субпопуляций В-лц памяти в периферической крови пациентов с РС. Таким образом, обнаружение лептоменингеальных очагов контрастирования может быть связано именно с активностью В-лц. Это является обоснованием для последующего изучения влияния анти-В-клеточных и других лекарственных препаратов на показатели лептоменингеального воспаления, выраженность нейродегенерации и риск прогрессирования при рассеянном склерозе.

Полученные результаты могут быть использованы в работе неврологов-специалистов по лечению рассеянного склероза, радиологов, иммунологов.

#### Методология и методы исследования

Всего обследовано 226 человек: 204 с достоверным РС в соответствии с диагностическими критериями 2010/2017г.г. и 22 здоровых добровольца (для исследования В-лц звена с помощью проточной цитометрии). Все обследуемые подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Для всех пациентов с РС выполнены сбор анамнеза, полный неврологический осмотр, МРТ. головного мозга по специализированному протоколу. Забор крови для анализа субпопуляций В-лц проводился у 52 пациентов и 22 здоровых добровольцев.

Анализ данных цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) проводился у 78 пациентов. Повторные исследования проводились в соответствии с планом исследования.

До начала работы был проведен анализ литературы по изучаемой проблеме. В анализе данных использовались современные подходы статистической обработки данных: сравнительный анализ, анализ выживаемости, анализ общей линейной модели, регрессионный анализ. Все лабораторные исследования проводились с использованием современных методов и оборудования.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Предложенная методика определения лептоменингеального воспаления при рассеянном склерозе с использованием высокопольной МРТ (3 Тесла) позволяет выявлять лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала более чем у 40% пациентов;

2. Лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала ассоциированы с большей длительностью рассеянного склероза, прогрессирующим течением и более высокой уровнем инвалидизации, но не с частотой обострений или количеством новых и контрастных очагов на МРТ;

3. У пациентов с лептоменингеальными очагами контрастного усиления МР-сигнала по сравнению с пациентами без очагов и здоровыми лицами в периферической циркуляции снижено количество переключенных В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти, что коррелирует с более высокой активностью В-лимфоцитов за гемато-энцефалическим барьером и может являться свидетельством вовлечения этих клеток в процесс формирования очагов лептоменингеального контрастирования;

4. Патогенетическая иммуномодулирующая терапия рассеянного склероза препаратами интерферона бета и глатирамера ацетата не влияет на МРТ-показатели лептоменингеального воспаления через 2 года терапии;

5. Лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала при рассеянном склерозе связаны с нейродегенерацией в сером веществе, коре головного мозга, стволе мозга и базальных ганглиях с наиболее выраженной во времени динамикой изменений в подкорковых структурах.

### Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов, полученных в ходе выполнения диссертационной работы, обеспечивается соблюдением единого протокола МРТ, рекомендаций производителя лабораторных тестов, достаточным количеством обследованных пациентов, глубоким анализом литературных данных по проблеме, длительным периодом наблюдения, а также статистическим анализом с полным соответствием международным нормам обсчета данных. Сформированные группы пациентов были репрезентативны по количеству для решения поставленной цели и задач.

### Личный вклад автора

Автором лично разработан проект исследования, осуществлены его планирование и организация, наблюдение и неврологическая оценка пациентов-участников исследования, стандартизация и внедрение методики морфометрического анализа МРТ. Автором разработаны критерии оценки лептоменингеального воспаления и выполнен соответствующий анализ данных МРТ. Автором лично проводился морфометрический анализ данных МРТ в составе исследовательской группы. Автором лично выполнен статистический анализ данных.

### Внедрение результатов исследования в практику

Разработанный протокол МРТ внедрен в работу Городского Центра рассеянного склероза Санкт-Петербурга и отделения НМЦ «Томография».

### Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, включая 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований, 8 статей в журналах, индексируемых базами Scopus и Web of Science, в том числе зарубежных.

### Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 118 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц, иллюстрирована 8 рисунками и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов,



заклучения, выводов и списка литературы (включает 9 отечественных и 111 зарубежных источников).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Исследование проводилось с 2016 по 2018 год с учетом обработки статистических данных и публикации полученных результатов. В соответствии с планом исследования проведены клиническое, радиологическое и иммунологическое исследования отобранной когорты пациентов.

На первом этапе работы была отобрана группа пациентов, отвечающих критериям включения в планируемые исследования. Всего в исследование включено 204 пациента с рассеянным склерозом и 22 обследуемых без сопутствующих неврологических заболеваний. Диагноз «рассеянный склероз» устанавливался на основании критериев McDonald 2010 и 2017 года. Всем пациентам выполнялись неврологический осмотр и оценка инвалидизации по стандартной шкале EDSS 1 раз/3 месяца.

Исследование встречаемости лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала и их связи с клинико-радиологическими и лабораторными показателями при рассеянном склерозе имело кросс-секционный дизайн с ретроспективным анализом данных. В исследование включено 54 пациента с достоверным рассеянным склерозом, которые на момент включения в исследование получали только стандартную иммуномодулирующую терапию препаратами глатирамера ацетата (ГА) или интерферонов бета (ИФН). После подписания согласия были отобраны парные образцы сыворотки и ЦСЖ в сроки не более 6 месяцев до выполнения МРТ.

Исследование связи лептоменингеального воспаления с изменениями состава субпопуляций В-лц в крови и цитокинов ЦСЖ при рассеянном склерозе имело кросс-секционный дизайн с ретроспективным анализом данных и было предпринято с целью охарактеризовать профиль субпопуляций В-лимфоцитов периферической крови у пациентов с ЛОКУС и без них, а также изучить взаимосвязи уровней субпопуляций В-лц периферической крови с показателями интраклеточного воспаления в этих группах пациентов. В исследование включали больных

рассеянным склерозом с любым типом течения, не получавших анти-В-клеточную или цитостатическую терапию, терапию иммунореконституции. На этапе включения собраны подробные данные анамнеза, выполнен неврологический осмотр, после чего проводилась МРТ головного мозга по специально разработанному протоколу для детекции ЛОКУС. Группа пациентов с РС, ранее не получавших терапию, была выделена для исключения влияния терапии ПИТРС на концентрации клеток. Группа контроля была представлена лицами без достоверной неврологической или аутоиммунной патологии. В исследование включены 52 пациента с РС и 22 добровольца (группа контроля). После выполнения МРТ все пациенты были разделены на 4 группы: 1) пациенты с РС на терапии первой линии, с отсутствием ЛОКУС на МРТ (ЛОКУС «-»), n=15; 2) пациенты с РС на терапии первой линии, с наличием ЛОКУС на МРТ (ЛОКУС «+»), n=22; 3) пациенты с РС, ранее не получавшие иммунотерапию – группа положительного контроля для оценки влияния терапии на субпопуляции лимфоцитов, n=15; 4) группа здоровых добровольцев, соответствующая по полу и возрасту группам пациентов 1 и 2, n=22. Терапия РС первой линии в группах 1 и 2 включала препараты интерферонов бета и глатирамера ацетата. После подписания согласия были отобраны парные образцы периферической крови и ЦСЖ в сроки не более 6 месяцев до выполнения МРТ.

Проспективное исследование МРТ-показателей лептоменингеального воспаления у больных РС ставило целью изучить динамику очагов контрастного усиления сигнала в течение 2 лет. В исследование включено 30 больных РС с любым типом течения, не получавших анти-В-клеточную или цитостатическую терапию. Выполнялось МРТ-исследование головного мозга по специальному протоколу для выявления ЛОКУС на исходном визите. Повторные исследования выполнялись на визитах через 12 и 24 месяцев.

Когортное проспективное неинтервенционное исследование проводилось в параллельных группах для оценки связи ЛОКУС с выраженностью инвалидизации и нейродегенерации. Цель исследования: изучить связь ЛОКУС с риском подтвержденного прогрессирования инвалидизации и атрофии головного мозга. В исследование включали больных РС с любым типом течения, не получавших анти-В-клеточную или цитостатическую терапию. Всем пациентам выполняли МРТ головного мозга по специальному протоколу для детекции ЛОКУС на исходном

визите (M0). Пациенты были распределены в группы ЛОКУС «+» и ЛОКУС «-». На исходном визите проводились сбор данных анамнеза и полное неврологическое обследование. Дальнейшие промежуточные визиты проводились каждые 3 месяца. МРТ для оценки динамики выполняли через 12 (M12) и 24 месяца (M24). Для оценки подтвержденного в течение 3х месяцев (3м-ППИ) прогрессирования инвалидизации использовали критерий, применяемый в международных клинических исследованиях, а именно увеличение балла EDSS по сравнению с исходным, которое подтверждается при последующей оценке через 3 месяца и более. Для оценки эффективности терапии ПИТРС применялся критерий NEDA-3 (No Evidence of Disease activity). Первичная конечная точка исследования: доля пациентов, достигших подтвержденного 3-месячного прогрессирования инвалидизации (3м-ППИ) через 2 года в группе ЛОКУС «+» по сравнению с группой ЛОКУС «-». Основные вторичные конечные точки исследования: 1) балл EDSS через 24 месяца в группе ЛОКУС «+» по сравнению с ЛОКУС «-»; 2) время достижения 3м-ППИ, группе ЛОКУС «+» по сравнению с группой ЛОКУС «-»; 3) доля пациентов, достигших критерия NEDA-3 (No Evidence of Disease activity) через 24 месяца в группе ЛОКУС «+» по сравнению с группой ЛОКУС «-»; 4) объем структур головного мозга через 24 месяца в группе ЛОКУС «+» по сравнению с ЛОКУС «-»; 5) процент изменения объема головного мозга (ПИОМ) через 24 месяца в группе ЛОКУС «+» по сравнению с группой ЛОКУС «-». Всего в исследование включено 62 пациента.

#### Магнитно-резонансная томография и методики морфометрического анализа данных

Протокол МРТ-исследования для визуализации ЛОКУС был адаптирован из референтного исследования (Absinta M. et.al. 2015). Исследование проводилось в Научно-методическом центре “Томография” клиники “Скандинавия” на томографе General Electric Signa (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI) с напряженностью магнитного поля 3 Тл. Сразу после введения 0.1 ммоль/кг контрастного вещества (гадобутрол («Гадовист»), Bayer AG, Leverkusen, Germany) проводилось исследование в ИП T1, а через 10 мин после введения – в ИП FLAIR. Последняя применялась для определения ЛОКУС. Наличие ЛОКУС на FLAIR-постконтрастных изображениях предполагалось при наличии усиления сигнала в субарахноидальном

пространстве, отличающегося по интенсивности от сигнала паренхимы мозга. Далее исследовался аналогичный участок в ИП FLAIR до введения контраста. Если усиления сигнала в аналогичном участке до введения контраста не определялось, зона усиления сигнала расценивалась как ЛОКУС.

При морфометрическом исследовании основных структур ЦНС рассчитывали нормализованный объем головного мозга (НОМ) и белого вещества (НОБВ) при помощи полностью автоматизированной методики для морфометрии SIENAX (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk>). Скорость атрофии головного мозга через 1 и 2 года была рассчитана с помощью автоматизированного пакета SIENA (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk>), программного пакета FreeSurfer (<http://freesurfer.net>) для расчета нормализованного объема серого вещества (НОСВ), объема коры, подкоркового серого вещества, желудочков, ствола мозга и гипоинтенсивных очагов на T1 взвешенных изображениях (ВИ). Для определения объемов очагового поражения белого и серого вещества головного мозга использовались программы Slicer 4D (<https://www.slicer.org>) и Lesion Segmentation Tool (LST) программного пакета Statistical Parametric Mapping (SPM, <https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>).

#### Лабораторные исследования:

Образцы сыворотки и ЦСЖ у пациентов, включенных в исследование, были получены на этапе диагностики РС в пределах 6 месяцев до выполнения МРТ. Все образцы центрифугировали в стандартных условиях и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Определение олигоклональных полос иммуноглобулинов G (ОП-IgG) проводилось методом изоэлектрофокусирования в агарозном геле с последующим иммуноблоттингом сравниваемых парных образцов сыворотки и ЦСЖ.

У всех пациентов определяли концентрации каппа свободных легких цепей иммуноглобулинов (СЛЦ) в ЦСЖ ( $\kappa$ -СЛЦ<sub>ЦСЖ</sub>) с использованием наборов для иммуноферментного анализа (ИФА) производства ООО «Полигност» (Санкт-Петербург, РФ) в соответствии с инструкцией производителя. Уровень ВАФФ и CD40L в ЦСЖ и сыворотке крови определяли с помощью ИФА (UmanDiagnostics AB) в соответствии с рекомендациями производителей.

Анализ субпопуляций В-лц и клинический анализ крови проводились в день взятия биообразцов. Для фенотипирования В-лц определяли экспрессию трех основных поверхностных антигенов - IgD, CD38 и CD27. Выделяли следующие

субпопуляции В-лц: 1) непереключенные В-лц (CD19+IgD+); 2) переключенные В-лц (CD19+IgD-); 3) Фолликулярные В-лц/клетки маргинальной зоны (CD19+IgD+CD38+); 4) центроциты герминативного центра (CD19+IgD-CD38+); 5) плазмабласты (CD19+CD27++CD38++); 6) В-клетки памяти (CD19+CD27+). Фенотипирование периферических В-лц производилось с помощью анти-человеческих иммуноглобулинов к указанным эпитомам, данные получены на цитометре Navios™ (Beckman Coulter, США) и анализированы с помощью Navios Software v.1.2 и Kaluza™ software v.1.2 (Beckman Coulter, США).

#### Статистические методы анализа данных исследования

Статистическая обработка результатов проведена с помощью программы GraphPad Prism 7 («GraphPad Software Inc.», США), IBM SPSS Statistics (IBM, США) и Statistica 13 (Statsoft). В проведенных исследованиях в соответствии с задачами использовались следующие методы статистического анализа: критерий t Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, точный критерий Фишера, ковариантный анализ (ANCOVA), скорректированный по возрасту, полу и длительности течения заболевания, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с поправкой Бонферони на множественные сравнения, г-критерий Спирмена для оценки корреляций, анализ выживаемости Каплана-Мейера, а также регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса, общая линейная модель (General Linear Model, GLM). Нулевая гипотеза отклонялась при  $p < 0,05$ . Все критерии значимости были двусторонними.

#### Основные результаты исследования

Исследование встречаемости лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала и их связи с клинико-радиологическими и лабораторными показателями при рассеянном склерозе.

Исследование в постконтрастной ИП FLAIR проведено 54 больным РС. По результатам МРТ, пациенты были разделены на 2 группы: ЛОКУС «+» (22/54, 41%) и ЛОКУС «-» (32/54, 59%). Медиана (IQR) возраста ЛОКУС «+» пациентов составила 44,5 (22) лет, ЛОКУС «-» 36,5 (24,25),  $p=0,071$ . Медиана (IQR) длительности течения РС составила 111 (156,25) месяцев для ЛОКУС «+» и 70,5 (123,05) месяцев для ЛОКУС «-»,  $p=0,0098$ . ЛОКУС чаще встречались при более продолжительном течении РС: 0-4 года – 26%, 5-9 лет – 40%, 10-19 лет – 46%, более

20 лет – 71%. Большая часть пациентов из группы ЛОКУС «-» имела меньшую продолжительность заболевания: 0-4 года – 74%, 5-9 лет – 60%, 10-19 лет – 54%, более 20 лет – 29%. Не было получено аналогичной зависимости от возраста начала заболевания. Медиана (IQR) балла EDSS в группе ЛОКУС «+» пациентов составила 4,0 (3,25, 6,5) и была значимо выше, чем в группе ЛОКУС «-» пациентов (3,75 (2,4, 4,5),  $p=0,039$ ). Не было получено разницы между группами по количеству обострений в течение первого года и первых 5 лет заболевания ( $p=0,2362$ ,  $p=0,091$ , соответственно). Количество контрастных очагов на ИП T1 ВИ значимо не отличалось между подгруппами: ЛОКУС «+», медиана (IQR) – 0 (1), ЛОКУС «-», медиана (IQR) – 0 (0),  $p=0,3842$ . Встречаемость очагов накопления КВ не различалась между подгруппами и составила 50% в каждой. Среди ЛОКУС «+» у 13/14 (92,9%) выявлены ОП-IgG, а в группе ЛОКУС «-» - у 24/27 (88,9%),  $p>0,9999$ . Концентрации -СЛЦЦСЖ (среднее  $\pm$  SD) в подгруппе ЛОКУС «+» составила  $1,51 \pm 0,89$  мкг/мл и была в среднем выше, чем в подгруппе ЛОКУС «-» ( $0,88 \pm 0,94$  мкг/мл), однако значимой разницы получено не было ( $p=0,136$ ).

При анализе данных 32 ЛОКУС «+» пациентов всего выявлено 54 участка лептоменингеального накопления КВ. Примеры визуализации ЛОКУС представлены на Рисунке 1. Число ЛОКУС варьировало от 1 до 7, среднее значение ( $\pm$ SD) составило  $2 \pm 1,5$ . 31/54 (57%) участка имели точечную форму, 17/54 (32%) пластинчатую и 6/54 (11%) – линейную. Большинство участков - 52/54 (96%) - были локализованы супратенториально и только 2/54 (4%) – инфратенториально. Супратенториальные участки определялись в обеих гемисферах: 32/54 (59%) в левой и 20/54 (41%) в правой. Наиболее часто очаги располагались в глубине борозд - 35/54 (65%), и только 19/54 (35%) – на поверхности. В 65% случаев в области ЛОКУС также определялось слабое усиление сигнала на постконтрастных T1 ВИ (Рис 1.).

У ЛОКУС «+» пациентов средний объем (SD) очагового поражения белого вещества, рассчитанного в ИП T2 и FLAIR, составил  $13,6 (11,7)$  мм<sup>3</sup>, а у ЛОКУС «-» -  $9,2 (7,7)$  мм<sup>3</sup> ( $p=0,3484$ ). Средний объем (SD) очагового поражения серого вещества, рассчитанного в ИП DIR составил  $2,3 (4,3)$  мм<sup>3</sup> для ЛОКУС «+» и  $1,6 (2,4)$  мм<sup>3</sup> для ЛОКУС «-» ( $p=0,5702$ ). У ЛОКУС «+» пациентов по сравнению с ЛОКУС «-» выявлено значимое уменьшение объема коры головного мозга (среднее  $\pm$  SD:  $435,8 \pm$

53,2 vs 452,1 ± 48,9, соответственно,  $p = 0,043$ ,  $F = 2,529$ ), НОСВ (среднее ± SD: 582,4 ± 67,2 vs 604,8 ± 63,9, соответственно,  $p = 0,042$ ,  $F = 2,54$ ), увеличение общего объема желудочковой системы (среднее ± SD: 31,7 ± 16,8 vs 23,2 ± 8,9, соответственно,  $p=0,039$ ,  $F=2,605$ ), а также тенденция к уменьшению объема таламусов (среднее ± SD: 12,8 ± 1,7 vs 13,4 ± 1,6, соответственно,  $p = 0,05$ ,  $F = 2,428$ ). По другим показателям не было значимых различий между подгруппами.

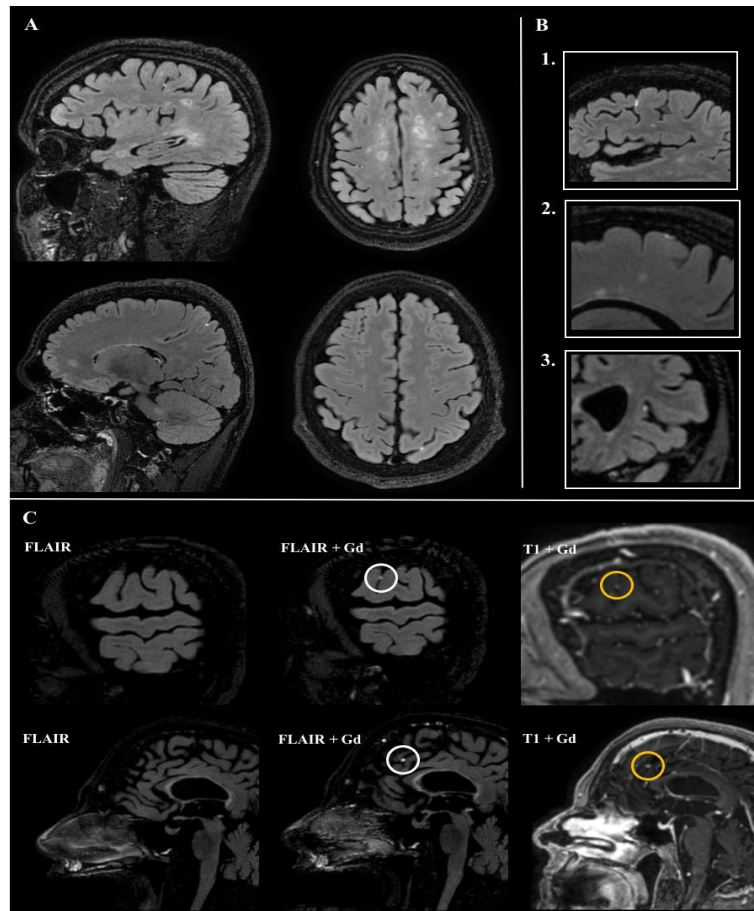


Рисунок 1 – Характеристики лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала. А – примеры расположения ЛОКУС; В – типы ЛОКУС по форме накопления контраста: 1 – пластинчатые, 2 – линейные, 3 – точечные; С – сравнение визуализации ЛОКУС при ИП FLAIR (ЛОКУС не определяются), ИП постконтрастной FLAIR (визуализация ЛОКУС в сулькальном субарахноидальном пространстве) и постконтрастной ИП T1 ВИ (трудно дифференцировать ЛОКУС и внутрисосудистое усиление сигнала)

Исследование связи лептоменингеального воспаления с изменениями состава субпопуляций лимфоцитов в крови и цитокинов в цереброспинальной жидкости при рассеянном склерозе

Проведен анализ концентраций В-лц в объединенной группе пациентов с рассеянным склерозом (n=58) в сравнении с группой контроля (n=22). Выявлена значимая разница в субпопуляции непереключенных В-лц с их повышенным уровнем в группе РС по сравнению с контролем (169,9 кл/мкл [129,8-230,6] и 121,8 кл/мкл [101,9- 197,0],  $p=0,0371$ ). По остальным субпопуляциям не получено значимой разницы.

Чтобы исключить влияние терапии ПИТРС, которую получали пациенты, сравнивали концентрации В-лимфоцитов в объединенной когорте пациентов из групп 1 и 2 (n=43) с концентрациями в группе 3 (n=15). Ни по одной субпопуляции не было показано значимых отличий.

С целью определения связи наличия ЛОКУС с концентрацией В-лц в крови, проведено сравнение концентраций субпопуляций В-лц в группах 1 и 2. В группе 1 (ЛОКУС «+») в сравнении с группой 2 (ЛОКУС «-») выявлены значимо более низкие концентрации переключенных В-лц (36,84 [21,81, 54,78] и 54,25 [42,83, 76,24],  $p=0,0264$ ) и В-клеток памяти (34,76 [26,12, 64,78] и 71,41 [44,21, 108,8],  $p = 0,0254$ ).

Только в группе ЛОКУС «+» пациентов выявлены значимые обратные корреляции концентрации  $\kappa$ -СЛЦ<sub>ЦСЖ</sub> с концентрациями центроцитов герминативных центров ( $r = -0,5545$ ,  $p = 0,0423$ ), непереключенных В-клеток ( $r = -0,5809$ ,  $p = 0,032$ ), а также более сильные корреляции с концентрациями переключенных В-лц ( $r = -0,7041$ ,  $p = 0,0063$ ) и В-клеток памяти ( $r = -0,6601$ ,  $p = 0,0122$ ).

#### Проспективное 2х-летнее исследование динамики МРТ-показателей лептоменингеального воспаления у пациентов с рассеянным склерозом

В исследование включено 30 пациентов с РС, получающих стандартную иммунотерапию первой линии: 15/30 (50%) - глатирамера ацетат и 15/30 (50%) - препараты интерферона бета (ИФН).

На исходном визите ЛОКУС выявлены у 10/30 (33%) пациентов и отсутствовали у 20/30 (67%). Через 1 год (визит М12) ЛОКУС определялись у 10/30 (33%) пациентов. Через 2 года (визит М24) ЛОКУС выявлены у 11/30 (37%) пациентов.

Медиана (IQR) количества лептоменингеальных очагов у ЛОКУС «+» пациентов на исходном визите составила 1 (1,75). При исследовании этой группы в динамике на визите М12 медиана (IQR) количества ЛОКУС составила 1 (2,5), на визите М24 – 1 (2,5) ( $p = 0,3086$ ). За период наблюдения отмечено появление 5



новых ЛОКУС у 3 пациентов на месяце 12 и 4 новых очага у 2 пациентов на визите М24. Выявлено исчезновение 6 очагов у 4 пациентов на визите М12 и 4 очагов у 3 пациентов на визите М24.

На основании результатов пациенты были разделены на 3 группы: группа 1, пациенты со стабильно отсутствующими ЛОКУС (не определялись на исходном визите, месяце 12 и месяце 24); группа 2, пациенты со стабильным наличием ЛОКУС (постоянно определяющиеся ЛОКУС одной локализации на исходном визите и визитах М12 и М24); группа 3, пациенты с нестабильными ЛОКУС – пациенты, у которых при обследовании на визитах М12 и/или М24 появлялись новые или исчезали имеющиеся очаги. Распределение пациентов по группам составило: группа 1 – 19/30 (63%); группа 2 – 4/30 (13%); группа 3 – 7/30 (23%). Среди пациентов группы 3 отмечена следующая динамика. На исходном визите ЛОКУС присутствовали у 6/7 (86%) пациентов. Через 2 года ЛОКУС присутствовали у всех пациентов, среднее количество (SD) составило 2 (1,5) очага.

Таким образом, в группе пациентов с отсутствием ЛОКУС на момент включения отмечалась слабая динамика изменений (1 пациентка с появлением ЛОКУС). У большинства ЛОКУС-позитивных пациентов отмечены колебания количества ЛОКУС, однако полного исчезновения лептоменингеального контрастирования не наблюдалось. На основании полученных данных сделан предварительный вывод о том, что количество ЛОКУС с течением времени остается относительно стабильным, редко в динамике очаги перестают определяться. Пациенты со стабильным выявлением ЛОКУС по клиническим и демографическим показателям не отличались от группы с изменяющимся количеством ЛОКУС.

Когортное проспективное неинтервенционное исследование, проводимое в параллельных группах, по оценке связи МРТ-показателей лептоменингеального воспаления с риском развития нейродегенерации и прогрессирования инвалидизации при рассеянном склерозе.

Всем пациентам выполнена МРТ на исходном визите. Группа ЛОКУС «+», составила 26/62 (42%) пациентов, группа ЛОКУС «-» – 36/62 (58%) пациентов. На визите завершения исследования (Месяц 24) выполнили МРТ 44/62 (71%) пациентов. Характеристики групп 1 и 2 представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Клинико-демографические характеристики участников проспективного исследования связи МРТ-показателей лептоменингеального воспаления с риском развития нейродегенерации и прогрессирования инвалидизации

Показатели	Группа ЛОКУС «+» n=26	Группа ЛОКУС «-» (n=36)	Значение p
Женщины, n (%)	19/26 (73%)	16/36 (44%)	0,0377
Возраст включения в исследование, годы, среднее ( $\pm$ SD)	43,04 $\pm$ 12,75	35,92 $\pm$ 10,74	0,0205
Тип течения РС (%)			
- РРРС	- 15/26 (58%)	- 32/36 (89%)	0,0068
- ВПРС	- 10/26 (38%)	- 2/36 (6%)	0,0023
- ППРС	- 1/26 (4%)	- 2/36 (6%)	>0,9999
Длительность РС, месяцы, среднее ( $\pm$ SD)	126,8 $\pm$ 100,2	60,86 $\pm$ 79,74	0,0027
Первое обострение – возраст, годы, среднее ( $\pm$ SD)	32,58 $\pm$ 11,06	30,72 $\pm$ 10,16	0,4971
Количество обострений в первый год РС, медиана (IQR)	1 (1)	2 (1)	0,0080
Балл EDSS на исходном визите, медиана (IQR)	4 (4,125)	2,5 (2,5)	0,0297
На терапии ПИТРС, n (%)	25/26 (96%)	35/36 (97%)	0,5669
- ГА, n (%)	- 8/26 (31%)	- 10/36 (28%)	>0,9999
- ИФН, n (%)	- 17/26 (65%)	- 25/36 (69%)	0,7876
Наличие ОП IgG в ЦСЖ, n (%)	17/18 (94%)	30/32 (94%)	>0,9999
$\kappa$ -СЛЦ ЦСЖ, мкг/мл^ среднее ( $\pm$ SD)	1,256 $\pm$ 0,9139	0,8108 $\pm$ 0,8648	0,1304

Примечание: ЛОКУС- лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала; РС -рассеянный склероз; РРРС – рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз; ВПРС – вторично-прогрессирующий рассеянный склероз; ППРС – первично-прогрессирующий рассеянный склероз; EDSS – расширенная шкала инвалидизации; ГА – глатирамера ацетат; ИФН – интерферон бета; ОП IgG – олигоклональные полосы IgG;  $\kappa$ -СЛЦ ЦСЖ – концентрации каппа свободных легких цепей иммуноглобулинов; SD – стандартное отклонение; IQR – межквартильный размах; значимые различия выделены жирным курсивом

У 14/62 (23%) пациентов зарегистрировано подтвержденное (ЗМ-ППИ) прогрессирование инвалидизации через 2 года наблюдения. Между группами ЛОКУС «+» и ЛОКУС «-» не было значимой разницы в скорости и выраженности прогрессирования инвалидизации. Анализ первичной конечной точки показал, что в

группе ЛОКУС «+» 3М-ППИ отмечено у 6/26 (23%) пациентов, в группе ЛОКУС «-» у 8/36 (22%),  $p > 0,9999$ . Среднее ( $\pm SD$ ) время до 3М-ППИ в группах составило 16,17 ( $\pm 8,52$ ) и 15,63 ( $\pm 7,44$ ) соответственно,  $p = 0,9012$ . Не выявлено значимого влияния ЛОКУС на риск достижения 3М-ППИ в анализе выживаемости по Каплану-Мейеру: HR 1,033, log-rank  $p = 0,9518$ , 95% ДИ 0,3574, 2,984 (Рисунок 2).

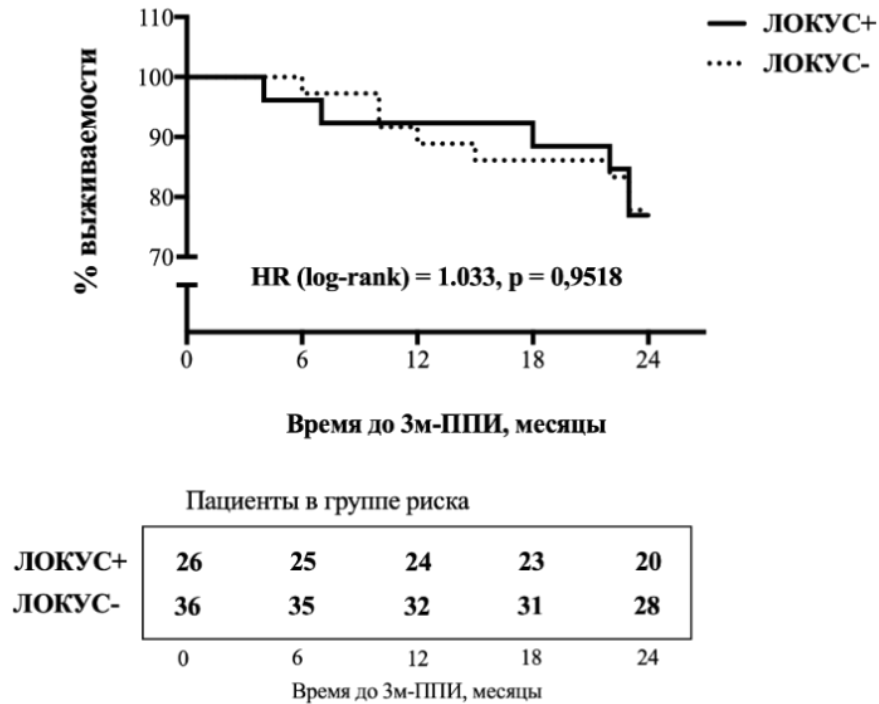


Рисунок 2 – Анализ выживаемости Каплана-Мейера по времени достижения 3М-ППИ в зависимости от наличия ЛОКУС. ЛОКУС-лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала; 3М-ППИ – подтвержденное через 3 месяца прогрессирование инвалидизации; HR – отношение рисков (hazard ratio)

Однофакторный регрессионный анализ Кокса не выявил значимого влияния ЛОКУС на риск достижения 3М-ППИ: Отношение рисков (OR) 1,04, 95% ДИ 0,36-3,01,  $p = 0,9356$ . Среди других факторов значимое влияние на риск 3М-ППИ оказывает объем серого вещества головного мозга, измеренный как % внутричерепного объема (%ВЧО): OR 0,83, 95% ДИ 0,8-1,0,  $p = 0,0464$ . Единственным фактором, определявшим риск прогрессирования инвалидизации в многофакторной регрессионной модели, был общий объем серого вещества головного мозга (%ВЧО):  $\beta = -0,18$ , OR 0,83, 95% ДИ 0,7-0,99,  $p = 0,0464$ .

Медиана балла EDSS через 2 года в группе ЛОКУС «+» была значимо выше: 4.0 (3.0; 6.5) по сравнению с 2,5 (1,5; 4,5) в группе ЛОКУС «-»,  $p = 0,0085$ . За первый год в группе ЛОКУС «+» средняя частота обострений была  $0,04 \pm 0,2$ , а в группе ЛОКУС «-» –  $0,5 \pm 0,66$  ( $p = 0,0008$ ). За второй год в группе ЛОКУС «+» средняя частота обострений составила  $0,12 \pm 0,33$ , в группе ЛОКУС «-» –  $0,29 \pm 0,58$  ( $p = 0,2526$ ). В группе ЛОКУС «+» среднее количество контрастных очагов на МРТ за 2 года составило  $0,19 \pm 0,4$ , а в группе ЛОКУС «-» –  $0,59 \pm 1,89$  ( $p=0,4031$ ). Проанализированы данные достижения критерия NEDA-3 за 2 года у пациентов, выполнивших МРТ на визитах M12 и M24. В группе ЛОКУС «+» статус NEDA-3 достигли 5/17 (29%) пациентов, а в группе ЛОКУС «-» 6/27 (22%),  $p = 0,7244$ .

Исследовано влияние ЛОКУС на атрофию структур головного мозга. После коррекции разброса статистических данных показано, что скорость атрофии головного мозга в группе ЛОКУС «+» была статистически значимо выше, чем в группе ЛОКУС «-»:  $0,89 \pm 0,59$  и  $0,38 \pm 0,57$ ,  $p = 0,05$ , соответственно. Выраженная атрофия через 2 года выявлена в скорлупе, темпы изменения ее объема у ЛОКУС «+» пациентов в 10 раз превышали темпы ЛОКУС «-» пациентов:  $-0,07 \pm 0,05$  и  $-0,007 \pm 0,03$ ,  $p < 0,0001$ , соответственно. Объем обоих таламусов продемонстрировал значимое уменьшение через 2 года в сравнении визитом M0 в группе ЛОКУС «+»:  $0,02 \pm 0,66$  vs  $-0,06 \pm 0,07$ ,  $p = 0,0003$ . Значимых изменений других показателей в динамике не выявлено.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлены ассоциации лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала с более тяжелым течением рассеянного склероза, большей выраженностью нейродегенеративных изменений по данным МРТ. Был разработан и стандартизирован протокол МРТ-исследования пациентов для выявления ЛОКУС. Долгосрочное наблюдение показало, что большинство ЛОКУС сохраняются в течение 2 лет и не исчезают под воздействием терапии ПИТРС 1ой линии. Не было выявлено повышения риска прогрессирования инвалидизации в течение 2х лет у ЛОКУС-позитивных пациентов, однако ряд структур головного мозга продемонстрировал более выраженные темпы атрофии через 2 года при наличии ЛОКУС.

## ВЫВОДЫ

1. Предложенный МРТ-протокол для визуализации лептоменингеального воспаления, включающий импульсную последовательность 3D FLAIR с контрастированием, выявил лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала у 41% пациентов с рассеянным склерозом, со средним количеством очагов  $2 \pm 1,5$ ; наличие лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала связано с большей длительностью рассеянного склероза ( $p=0,0098$ ), прогрессирующим течением (ВПРС и ППРС) и более высоким баллом инвалидизации по шкале EDSS ( $p = 0,039$ ), но не связано с более высокой частотой обострений ( $p = 0,2362$ ) или наличием контрастирующих МРТ-очагов в белом веществе ( $p = 0,5306$ );

2. Наличие лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала ассоциировано со значимым снижением концентраций субпопуляций зрелых В-лимфоцитов памяти ( $p<0,05$ ) в периферической крови, которое в свою очередь демонстрирует значимые обратные корреляции ( $p<0,05$ ) с концентрациями продуктов активации В-лимфоцитов (свободных легких цепей иммуноглобулинов) в цереброспинальной жидкости, что не наблюдалось в группе пациентов без лептоменингеального контрастирования.

3. Изучение динамики лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала не выявило изменений их количества и локализации у 23/30 (76%) пациентов через 2 года, а у 7/30 (23%) наблюдалась разнонаправленная динамика, при этом патогенетическая иммуномодулирующая терапия (интерфероны бета и глатирамера ацетат) продолжительностью 2 года не приводила к исчезновению лептоменингеальных очагов.

4. Наличие лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала ассоциировано с более выраженной атрофией паренхимы ( $p = 0,0193$ ) и серого вещества ( $p = 0,042$ ) головного мозга, а также с более быстрым нарастанием атрофии паренхимы головного мозга ( $p = 0,05$ ) и скорлупы ( $p < 0,0001$ ) при оценке через 2 года, при этом наличие лептоменингеальных очагов не было сопряжено с риском прогрессирования инвалидизации через 2 года в нашей выборке (hazard ratio (log-rank) = 1,033,  $p = 0,9518$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выполнении МРТ пациентам с РС для выявления и мониторинга лептоменингеального воспаления следует использовать расширенный протокол исследования на томографе с напряженностью магнитного поля 3 Тесла с добавлением ИП 3D FLAIR и шагом томосреза не более 1 мм. Исследование ИП 3D FLAIR необходимо выполнять до введения контрастного вещества, а повторное сканирование - через 10-12 минут после введения контраста;

2. Определение лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала целесообразно использовать в практике неврологов специализированных кабинетов и центров РС для определения прогноза в отношении прогрессирования атрофии головного мозга;

3. Иммуномодулирующая терапия рассеянного склероза препаратами с умеренной эффективностью (интерфероны бета и глатирамера ацетат) не изменяет количество лептоменингеальных очагов контрастного усиления МР-сигнала в связи с чем она может быть использована в качестве терапии сравнения в клинических исследованиях по оценке влияния других ПИТРС на лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективой дальнейшего изучения темы является проведение проспективных клинических исследований по оценке влияния современных таргетных анти-В-клеточных препаратов и препаратов селективной иммуноре-конституции на выраженность лептоменингеального воспаления. Положительные результаты этих исследований могут улучшить понимание патогенеза нейродегенерации при рассеянном склерозе, а также улучшить алгоритмы помощи пациентам. Для дальнейшего изучения роли лептоменингеального воспаления в аутоиммунном процессе при рассеянном склерозе целесообразно планировать проведение комплексных генетических исследований лимфоцитов цереброспинальной жидкости и крови с помощью биоинформационных методик секвенирования следующего поколения.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Макшаков, Г.С. Современные представления об интратекальном гуморальном иммунном ответе и диагностическое значение выявления олигоклональных иммуноглобулинов при рассеянном склерозе / Г.С. Макшаков, С.В. Лапин, Е.П. Евдошенко // **Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. Рассеянный склероз. - 2016. - № 2, вып. 2. - С. 14-20.**
2. Макшаков, Г.С. Роль определения свободных легких цепей иммуноглобулинов в диагностике дебюта рассеянного склероза / В.Д. Назаров, Г.С. Макшаков, А. В. Мазинг и соавт. // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск №2. – 2017. - № 117(2). – С. 60-65.**
3. Макшаков, Г.С. Множественные церебральные каверномы и рассеянный склероз / Н.В. Шулешова, Г.С. Макшаков, Н.А. Тотолян и соавт. // **Неврологический журнал. – 2017.- № 5– С. 252-258.**
4. Макшаков, Г.С. Связь интратекальной продукции свободных легких цепей иммуноглобулинов с прогрессированием рассеянного склероза / Г.С. Макшаков, В.Д. Назаров, Н.А. Тотолян и соавт. // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск №10. – 2017. - № 117(2). – С. 4-11.**
5. Makshakov, G. Diagnostic and Prognostic Value of the Cerebrospinal Fluid Concentration of Immunoglobulin Free Light Chains in Clinically Isolated Syndrome with Conversion to Multiple Sclerosis / G. Makshakov, V. Nazarov, O. Kochetova et al. // *PLoS ONE*. – 2015 . - 10(11). – e0143375. – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0143375
6. Макшаков, Г.С. Диагностическая информативность показателей интратекального синтеза свободных легких цепей иммуноглобулинов при рассеянном склерозе / В.Д. Назаров, С.В. Лапин, Е.А. Суркова и соавт. // *Медицинская иммунология*. - 2015. - Т. 17, No 3. - С. 241-250.
7. Makshakov, G. CD206-Targeted Liposomal Myelin Basic Protein Peptides in Patients with Multiple Sclerosis Resistant to First-Line Disease-Modifying Therapies: A First-in-Human, Proof-of- Concept Dose-Escalation Study / A. Belogurov, K. Zakharov, Y. Lomakin et al. // *Neurotherapeutics*. – 2016. – 13(4). – P. 895-904.
8. Макшаков, Г.С. Методы определения связывающих и нейтрализующих антител к препаратам интерферона-бета / В.Д. Назаров, С.В. Лапин, Е.А. Суркова и соавт. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2016. – 61(10). – С. 710-714.

9. Makshakov, G. Leptomeningeal Contrast Enhancement Is Associated with Disability Progression and Grey Matter Atrophy in Multiple Sclerosis / G Makshakov, E. Magonov, N. Totolyan et al. // *Neurology Research International*. – 2017. – P.1-7.
10. Makshakov, G. Neurofilament light chain and oligoclonal bands are prognostic biomarkers in radiologically isolated syndrome / C. Matute-Blanch, L.M. Villar, J.C. Alvarez-Cermeno et al. // *Brain*. – 2018. – Режим доступа: doi:10.1093/brain/awy021.
11. Makshakov, G. Concentrations of immunoglobulin free light chains in cerebrospinal fluid predict increased level of brain atrophy in multiple sclerosis / V. Nazarov, G. Makshakov, I. Kalinin et al. // *Immunologic Research*. – 2018. – 66(6). – P.761-767.
12. Makshakov, G. Real-world study of efficacy, risk management and reasons for discontinuation of natalizumab for treatment of multiple sclerosis in Russia / E. Evdoshenko, A. Stepanova, M. Shumilina et al. // *PLoS ONE*. – 2018. – 14(5). – e0217303. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217303>

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

К-СЛЦ<sub>цсж</sub> - концентрация каппа свободных легких цепей иммуноглобулинов  
 ЛОКУС - лептоменингеальные очаги контрастного усиления МР-сигнала  
 НОМ - нормализованный объем головного мозга  
 НОСВ - нормализованный объем серого вещества  
 НОБВ - нормализованный объем белого вещества  
 ОП-IgG - олигоклональные полосы иммуноглобулина G  
 ПИОМ - процент изменения объема головного мозга  
 3м-ППИ - прогрессирование инвалидизации, подтвержденное через 3 месяца  
 СЛЦ - свободные легкие цепи иммуноглобулинов  
 EDSS - расширенная шкала инвалидизации Kurtzke (Expanded Disability Status Scale)  
 FLAIR - инверсия-восстановление с подавлением сигнала от свободной воды (fluid attenuated inversion-recovery)