

Лабораторные методы диагностики рассеянного склероза и других неврологических заболеваний

С.В. Лапин

*канд. мед. наук, зав. лабораторией диагностики аутоиммунных заболеваний
СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург,*

Е.П. Евдошенко

*канд. мед. наук, директор Санкт-Петербургского Городского центра
рассеянного склероза и аутоиммунных заболеваний
центральной нервной системы*

Рассеянный склероз (РС) – наиболее частое хроническое воспалительное заболевание центральной нервной системы (ЦНС) с иммуно-опосредованным, вероятно аутоиммунным, патогенезом [1, 2]. Морфологические проявления РС представлены периваскулярными мононуклеарными инфильтратами, состоящими из Т-лимфоцитов, моноцитов/макрофагов, В-клеток и плазматических клеток, демиелинизацией, снижением числа олигодендроцитов, утратой аксонов, пролиферацией астроцитов с исходом в глиоз (склероз). Очаги глиоза хорошо выявляются с помощью магнитно-резонансной томографии, однако глиоз может быть вызван дегенеративными, инфекционными, аутоиммунными и метаболическими причинами.

Инфекционно-опосредованный или аутоиммунный генез этого заболевания представляются наиболее вероятными, но этиологическая причина РС на сегодняшний день не установлена [3]. Несмотря на это за последние 15 лет значительно расширился спектр эффективных методов лечения этого тяжелого заболевания, большинство из которых направлены на подавление или модификацию функций иммунной системы. Для лечения РС успешно используется ряд иммуномодуляторов (интерферон-бета, глатирамер) и иммуносупрессантов (глюкокортикоиды, митоксантрон, натализумаб), причем в ближайшее время этот список будет и дальше пополняться препаратами, подавляющими функции иммунной системы [4].

Как и диагноз большинства аутоиммунных заболеваний, диагноз РС основывается на критериях [5]. Так как РС обладает крайне разнообразной клинической симптоматикой, которая может трансформироваться с течением времени, и поражает разные отделы ЦНС, а магнитно-резонансное

исследование не уточняет причину развития глиоза, лабораторное подтверждение иммуно-опосредованного воспаления в нервной ткани играет крайне важную роль в подтверждении диагноза. Поэтому наряду с клиническими проявлениями заболевания и магнитно-резонансной диагностикой, действующие критерии РС включают иммунологическое исследование цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). Анализ ЦСЖ проводится в связи с тем, что системная воспалительная реакция при РС отсутствует несмотря на выраженный иммунный ответ за гематоэнцефалическим барьером (интратекально). Выявление маркеров иммуно-опосредованного воспаления, таких как определение индексов проницаемости и местного синтеза иммуноглобулинов и олигоклонального иммуноглобулина, позволяет провести раннюю диагностику и дифференциальную диагностику демиелинизирующих заболеваний ЦНС.

Общеклинический анализ цереброспинальной жидкости при заболеваниях нервной системы

Сбор и анализ ЦСЖ в клинике были впервые выполнены Квинке (Quinke) в 1891 г. [6] и с тех пор являются основой диагностики многих неврологических заболеваний (табл. 1). Общеклинический анализ ЦСЖ должен быть проведен в срок до 3 ч с момента забора биоматериала. После

Таблица 1

Норма и варианты патологии при иммунологической оценке ликвора

Показатель, единицы	Общий цитоз, кл/мкл	Дифф. подсчет (Л/М/Н/П)	Альбумин, Qальб ($\times 10^{-3}$)	Местный синтез Ig, % обнаружения	Олиго IgG, % обнаружения
Норма	<5	Л>М	<8	0	0
Рассеянный склероз	5–30	Л>М>П	<10	70	98
Бактериальный менингит	1000–30000	Н>М/Л	50–100	0	0
Туберкулезный менингит	50–2000	Л=Н=М	20–100	25	25
Нейроборрелиоз	50–1000	Л>М>П	5–50	50	50
Вирусный энцефалит (HSV, VZV)	10–300	Л>М>П	<20	10	10
Транзиторная ишемическая атака	2–10	Л>М	<10	0	0
Системная красная волчанка, болезнь Бехчета, нейросаркоидоз	50–200	Л>М>П	5–50	50	50

Примечание. Л/М/Н/П – тип преобладающих клеток в ликворе (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, плазматические клетки). По [14] с изменениями.

спинномозговой пункции необходимо избегать вибраций и значительных изменений температуры образца, т. к. это может изменить результаты анализа. Для полноценной иммунологической оценки часто необходимо исследование парных проб ЦСЖ и периферической крови.

Увеличение числа клеток иммунной системы (плеоцитоз) встречается при всех острых формах поражений ЦНС. Оценка общего цитоза проводится путем подсчета клеток в камере Фукса – Розенталя с использованием реактива Самсона, который облегчает оценку цитоза. В норме цитоз ЦСЖ не превышает 5 клеток/мкл (или 15/3). В то же время нормальные значения цитоза не позволяют исключить воспалительный характер заболевания. В ЦСЖ при РС отмечается умеренный плеоцитоз (не более 50 клеток/мкл), представленный лимфоцитами, активированными В-клетками и плазматическими клетками. Одной из частых проблем является примесь в материале “путевой” крови. При высоких значениях цитоза возможно использование гематологического счетчика, что благодаря оценке лейкоцитоза позволяет сопоставить ЦСЖ и периферическую кровь и дать приблизительную оценку объемной доли “путевой” крови и истинного числа клеток в ликворе. Такая приблизительная оценка может быть необходима при исследовании альбумина и иммунологических показателей ЦСЖ. Однако воспалительные клетки ЦСЖ, прежде всего активированные лимфоциты, не могут быть правильно оценены с помощью гематологического счетчика.

Весьма информативным методом исследования ЦСЖ является дифференциальный подсчет клеток. Однако подготовка препарата обычно затруднена низким цитозом ЦСЖ при РС. Для концентрирования клеток и нанесения их на предметное стекло желательно использовать цитоцентрифугу, что позволяет избежать значительного цитолиза, связанного с нестабильностью клеток ЦСЖ. Дифференциальный подсчет клеток с окраской по Паппенгейму позволяет выявить 4 основные популяции – лимфоциты, моноциты, гранулоциты и плазматические клетки. Обнаружение в препарате плазматических клеток и активированных В-лимфоцитов имеет место при большинстве хронических иммуновоспалительных состояний, в т. ч. нейроинфекций и РС. Преимущественно лимфомоноцитарная и смешанная реакция характерна для процессов, которые не затрагивают оболочки мозга, в т. ч. при абсцессе мозга, а также инфекциях, сопровождающихся подострым воспалением (нейросифилис и нейроборрелиоз). Препараты могут быть дополнительно исследованы с помощью цитохимических и иммуноцитохимических реагентов, при дифференциальной диагностике с лимфопролиферативным заболеванием может применяться проточная цитометрия. При бактериальных менингитах преобладают исключительно нейтрофильные гранулоциты, что сопровождается макроскопическим плеоцитозом, превышающим 1000 клеток/мкл. Для большинства процессов в ЦНС, в т. ч. бактериальных и вирусных воспалений, характерна постепенная смена состава инфильтрата с нейтрофильного на монолимфоцитарный, а затем и на пре-

имущественно лимфоцитарный компонент. Подозрение на инфекционное поражение ЦНС требует дальнейшего исследования ЦСЖ микробиологическими, молекулярно-биологическими и серологическими методами.

В общеклинический анализ ЦСЖ входит также определение общего белка, глюкозы и лактата. Для оценки глюкозы ЦСЖ необходимо исследование парной пробы периферической крови. В норме концентрация глюкозы в ЦСЖ составляет 60–80% от уровня в крови. Падение глюкозы ЦСЖ ниже 50% наблюдается при бактериальном и туберкулезном менингите, а также лимфопролиферации, что отражает высокий метаболизм воспалительного инфильтрата. Вместо глюкозы можно исследовать концентрацию лактата, особенно в тех случаях, когда не известна концентрация глюкозы в периферической крови. Нормальная концентрация лактата в ЦСЖ составляет 1,2–2,1 ммоль/л. Молочнокислый ацидоз ($> 2,1$ ммоль/л) развивается при многих неврологических заболеваниях, включая субарахноидальное кровоотечение, инсульт, метастазирование и лимфопролиферацию, бактериальный менингит, редкие митохондриальные заболевания.

Оценка интратекального воспаления при демиелинизирующих заболеваниях

Воспаление в ЦНС при неизменном гематоэнцефалическом барьере является уникальной особенностью демиелинизирующих заболеваний. Интратекальный иммунный ответ сопровождается рядом иммунологических феноменов, в т. ч. изолированным синтезом иммуноглобулинов, появлением неспецифических серологических реакций против распространенных вирусов, а также изменением клональности синтезируемых иммуноглобулинов. Все эти проявления иммунного ответа выявляются у подавляющего большинства больных РС, что позволяет использовать их в иммунологической диагностике этого заболевания.

Первым признаком наличия интратекального воспаления является умеренное увеличение общего белка ЦСЖ, обусловленное увеличением местной продукции иммуноглобулинов. Увеличение общего белка нередко не превышает верхней границы нормы (500 мг/л), поэтому требует использования более чувствительных иммунологических методов. Использование “коллоидных” и “глобулиновых” реакций в свое время улучшило диагностику воспалительных заболеваний ЦНС и впервые выявило увеличение количества глобулинов при демиелинизирующих заболеваниях. Более надежным методом оценки интратекального воспаления является определение относительных параметров продукции иммуноглобулинов. Метод изучения интратекальной продукции иммуноглобулинов ликвора основан на общих иммунологических принципах исследования проницаемости гематотканевых барьеров, определяющих местный иммунитет.

Гематоэнцефалический барьер представляет собой полупроницаемую мембрану, проницаемость которой для молекулы обратно пропорциональ-

на ее молекулярной массе. За гематоэнцефалическим барьером синтезируется крайне ограниченное количество веществ, поэтому большинство молекул поступает из плазмы крови. Так, концентрация в ЦСЖ альбумина, который синтезируется только в печени, может служить индикатором барьерной функции. Для оценки гематоэнцефалического барьера применяется исследование коэффициента проницаемости $Q(\text{альб})$, который определяется как отношение концентраций альбумина в ЦСЖ и сыворотки крови. Использование расчетного коэффициента обусловлено необходимостью нормализации концентрации альбумина в ЦСЖ в связи со значительной биологической вариацией уровней альбумина в сыворотке крови. Этот коэффициент позволяет оценить проницаемость тканевых барьеров и стандартизовать определение локального синтеза других молекул воспаления, прежде всего иммуноглобулинов. Нормальное значение этого показателя зависит от возраста пациента и составляет менее 5×10^{-3} в возрасте 20 лет, увеличиваясь до 8×10^{-3} к возрасту 60 лет. Для РС изменения гематоэнцефалического барьера не характерны, и $Q(\text{альб})$ не превышает 10×10^{-3} . Увеличение $Q(\text{альб})$ отмечается при ряде воспалительных заболеваний, таких как гнойный бактериальный менингит, острый нейроборрелиоз, нейросаркоидоз и другие аутоиммунные заболевания ЦНС, синдром Гийена – Барре, опухоли и гематоонкологические заболевания, геморрагический инсульт.

В отличие от альбумина иммуноглобулины могут синтезироваться внутри ЦНС. Для определения интратекального синтеза иммуноглобулинов используется расчет коэффициентов для основных классов иммуноглобулинов ($Q\text{IgG}$, $Q\text{IgA}$, $Q\text{IgM}$) на основе их концентраций в сыворотке крови и ЦСЖ. На практике достаточным является определение $Q\text{IgG}$, в то время как определение других индексов самостоятельного значения не имеет. В норме $Q\text{IgG}$ не превышает 6×10^{-3} . Для оценки локального синтеза IgG используют номограммы зависимости $Q(\text{альб})$ против $Q\text{IgG}$, основанные на математической модели проницаемости гематоэнцефалического барьера [7]. Номограмма позволяет отнести результаты определения $Q(\text{альб})$ и $Q\text{IgG}$ к одному из 4 вариантов, которые соответствуют норме, локальному синтезу IgG , нарушению функции гематоэнцефалического барьера и комбинации двух патологий. РС обычно сопровождается выраженным увеличением локального синтеза IgG при сохранности барьерной функции. Выраженный локальный синтез IgG можно обнаружить у 70% больных с РС. Очевидным преимуществом этого подхода к оценке местного иммунитета ЦНС является его доступность для практических биохимических лабораторий, оснащенных современными иммунохимическими анализаторами.

Кроме увеличения интратекального синтеза иммуноглобулинов в ЦСЖ при РС одновременно возникает синтез специфических IgG антител к антигенам распространенных вирусов, в т. ч. вируса кори, герпес зостер и вируса ветряной оспы. Этот феномен получил название MZV -реакции (по первым буквам английских названий вирусов). Хотя эти агенты могут рассматри-

ваться в качестве этиологической причины РС, однако одновременное появление антител против них при отсутствии вирусов в организме указывает на анамнестический ответ иммунной системы при неспецифической активации в ходе аутоиммунного процесса. Обнаружение MZV-реакции многими исследователями рассматривается в качестве наиболее специфичного лабораторного теста при РС, который отмечается у 94% больных [8]. Для оценки MZV-реакции рекомендуется одновременное определение антител к вирусам в парных пробах ликвора и сыворотки периферической крови, что позволяет рассчитать индекс активности антител. Положительный результат оценивается как индекс, указывающий на преобладание антивирусных антител в ликворе по сравнению с сывороткой ($> 1,5$). Несмотря на ценность этого теста сложности в его выполнении и интерпретации затрудняют его широкое распространение для практической диагностики, и он остается вспомогательным методом даже в высокоспециализированных лабораториях.

Методы оценки клональности иммуноглобулинов и выявление олигоклонального IgG для диагностики рассеянного склероза

Кроме увеличения продукции иммуноглобулина в ЦСЖ при РС наблюдается изменение клональности иммунного ответа, что приводит к синтезу олигоклонального иммуноглобулина. Термин “олигоклональный” требует расшифровки. Так, в норме или при остром воспалении иммунный ответ является поликлональным, т. е. обладает максимальной вариабельностью. По мере хронизации воспаления преимущественно накапливаются только те клоны В-клеток, которые имеют наибольшее сродство к антигенам. Такой иммунный ответ называют олигоклональным, что отражает сужение спектра иммунных ответов с увеличением аффинности иммуноглобулинов при персистенции антигена. Наконец, при синтезе моноклонального иммуноглобулина преобладает только один клон клеток, который соответствует гематоонкологическому заболеванию, например миеломной болезни (рис. 1).

Олигоклональный синтез иммуноглобулинов, как проявление хронического иммунного ответа, наблюдается при ряде аутоиммунных заболеваний, например системной красной волчанке. Большая концентрация иммуноглобулинов плазмы крови маскирует олигоклональные иммуноглобулины в периферической крови, хотя очевидно, что олигоклональный синтез возникает при многих вариантах хронического или подострого воспаления. В редких случаях олигоклональный IgG можно обнаружить в гамма-фракции при электрофорезе белков крови. Значительно чаще олигоклональный иммунный ответ выявляется при анализе биологических жидкостей с низкой концентрацией иммуноглобулинов. Так, он может быть обнаружен в слезе и слюне больных с синдромом Шегрена, в синовиальной жидкости при реактивных артритах. Низкая, по сравнению с кровью, концентрация иммуноглобулинов в ЦСЖ облегчает исследование их клональности. Син-

тез олигоклонального IgG при РС возникает под действием хронической аутоантигенной стимуляции, однако антигенная направленность олигоклональных иммуноглобулинов остается изученной плохо. При РС может быть обнаружен олигоклональный синтез других классов иммуноглобулинов IgA и IgM, однако его клиническое значение неоднозначно.

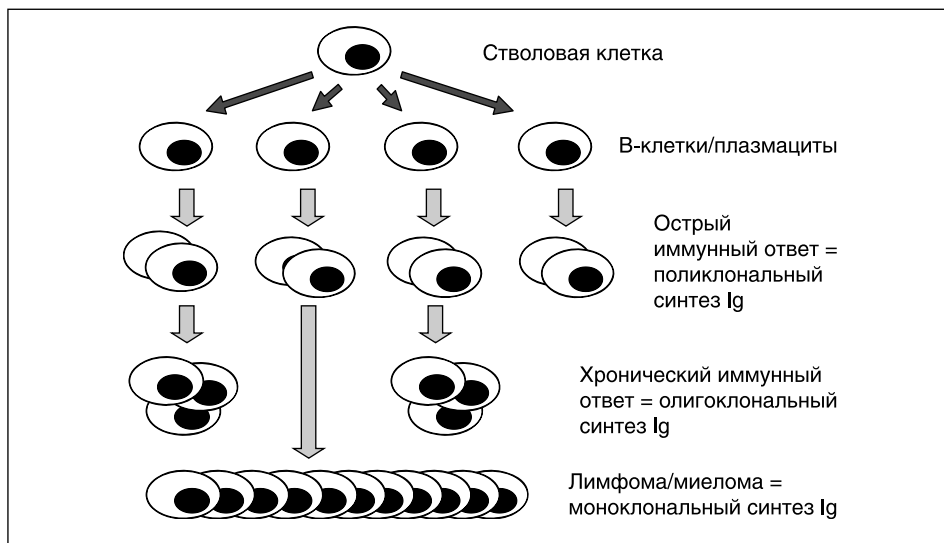


Рис. 1. Основные варианты клональности иммунного ответа

Было разработано несколько методов выявления олигоклонального иммуноглобулина. Впервые гамма-глобулины ЦСЖ были исследованы методом электрофореза в агарозе Lewenthal в 1960 г. [9]. Более чувствительным методом является иммунофиксация – т. е. объединение методов электрофореза в агарозе и иммунофиксации с антисыворотками против иммуноглобулинов человека. К недостаткам этого метода относят большой объем ЦСЖ, необходимый для анализа, т. к. классический метод электрофореза требует концентрации образцов ЦСЖ. Кроме того, разрешающая способность этого метода, вне зависимости от детекции иммуноглобулинов, очень низка. Другой разновидностью электрофоретических тестов для исследования клональности иммуноглобулинов ЦСЖ является электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ). Для детекции может использоваться либо прямая окраска, либо иммунофиксация. Методы электрофореза в ПААГ значительно более чувствительны и не требуют предварительного концентрирования ЦСЖ. В то же время изоэлектрофокусирование (ИЭФ) ЦСЖ, предложенное Laterre et al. в 1970 г., обладает рядом преимуществ перед электрофорезом в полиакриламидном геле благодаря большему разрешению [10]. При хорошем разрешении градиента ИЭФ позволяет четко различать иммуноглобулины с разницей в заряде молекул в один остаток сиаловой кислоты. Сравнение методов разделения молекул и детекции иммуноглобулинов представлено в табл. 2.

Таблица 2

**Преимущества и недостатки разных методов определения
клональности иммуноглобулинов**

Метод	Преимущества	Недостатки
Метод разделения иммуноглобулинов		
Электрофорез на ацетат-целлюлезе	Исторически первый метод анализа белков ЦСЖ	Недостаточная разрешающая способность
Электрофорез в агарозном геле	Позволяет исследовать гамма-глобулины	Требует концентрации ЦСЖ, плохое разрешение
Электрофорез в полиакриламидном геле	Позволяет точно разделить белки по молекулярному весу	Не требует концентрации ЦСЖ, среднее разрешение
Изоэлектрофокусирование	Фокусирование в изоэлектрической точке	Не требует концентрации ЦСЖ, максимальное разрешение
Метод детекции иммуноглобулинов		
Окрашивание белковым красителем (амидо-черный, кумасси, серебрение)	Быстрота, простота	Отсутствие селективности по отношению к иммуноглобулину
Иммунофиксация в геле с антисыворотками	Селективность для иммуноглобулина	Низкое разрешение
Иммуноблоттинг с антисывороткой и иммунохимической реакцией	Селективность для иммуноглобулина, высокая чувствительность	Сравнительная длительность метода

Метод ИЭФ с последующим иммуноблоттингом, разработанный Keir G. et al. в 1990 г. [11], представляет собой “золотой стандарт” иммунологической диагностики РС, признанный большинством международных экспертов [12, 13]. В основе метода ИЭФ для исследования клональности IgG ЦСЖ лежит разделение белков ликвора в соответствии с их изоэлектрической точкой. Разделение белков происходит в геле, насыщенном ионными амфолитами. По своей химической природе амфолиты – цвиттер-ионы, т. е. в их структуре имеются как положительно, так и отрицательно заряженные группировки. Под действием электрического тока амфолиты формируют непрерывный градиент pH. Внесенные в гель молекулы мигрируют в данном градиенте до своей изоэлектрической точки, в которой накапливаются – “фокусируются”. Фокусирование молекул в градиенте амфолитов позволяет четко отличить молекулы одной молекулярной массы с небольшой разницей в заряде. Молекулы человеческого IgG обладают зарядом в пределах от 6 до 9 единиц pH, который определяется количеством остатков сиаловых кислот на Fc домене молекулы. Так как молекулы IgG, синтезируемые одним клоном плазмочитов, идентич-

ны, они накапливаются в одной тонкой полосе (рис. 2). При олигоклональном или моноклональном синтезе количество идентичных молекул настолько велико, что полосу можно различить на поликлональном фоне. После того как молекулы иммуноглобулина распределились в геле в соответствии с изоэлектрическими точками, все вещества с геля переносятся на нитроцеллюлезную мембрану. Для детекции фокусированного IgG нитроцеллюлезная мембрана обрабатывается антисывороткой к IgG человека, меченной пероксидазой хрена. Места отложения IgG визуализируются с помощью колорогенного субстрата, например аминоэтилкарбазола, который окрашивает мембрану в коричневый цвет.

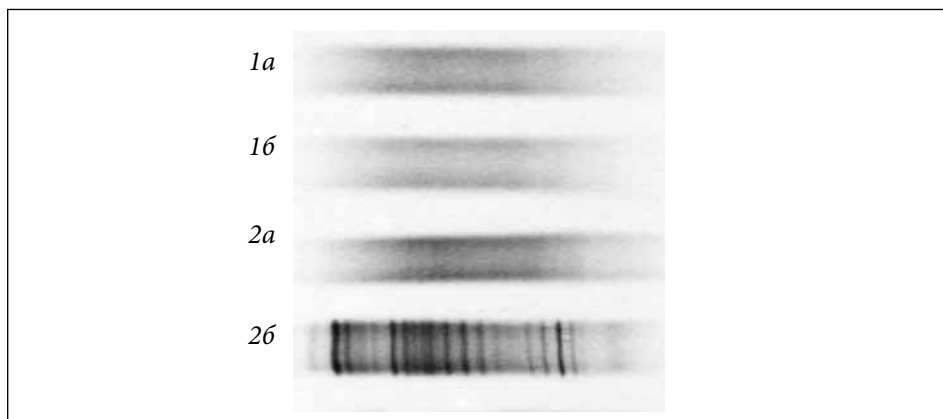


Рис. 2. Типичный результат изоэлектрофокусирования IgG в агарозном геле с иммуноблоттингом (результаты выполнены с использованием наборов производства компании Helena Biosciences Europe) в парных пробах от пациентов с разными неврологическими заболеваниями. Окраска аминоэтилкарбазолом: 1а – отрицательный результат изоэлектрофокусирования IgG сыворотке крови; 1б – отрицательный результат изоэлектрофокусирования IgG цереброспинальной жидкости; 2а – отрицательный результат изоэлектрофокусирования сыворотки больного рассеянным склерозом; 2б – обнаружение олигоклонального IgG в цереброспинальной жидкости больного рассеянным склерозом

Тест является качественным, т. к. подсчитать число полос при олигоклональном типе крайне затруднительно, а число полос не имеет клинического значения. Важная дополнительная информация может быть получена при изучении парной пробы сыворотки крови. Результат оценивается на основании описания типа синтеза в каждой из парных проб. Всего выделяют 5 вариантов синтеза иммуноглобулинов. Для РС наиболее характерен 2-й тип синтеза, в то время как 3-й тип может встречаться на фоне других аутоиммунных заболеваний, затрагивающих ЦНС, с минимальной системной продукцией олигоклонального IgG (табл. 3).

Олигоклональный IgG отмечается у 90–98% больных с РС, и его отсутствие с высокой вероятностью исключает диагноз. Особенностью феномена

Таблица 3

Типы синтеза иммуноглобулина IgG в ликворе и сыворотке крови в дифференциальной диагностике демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы

Тип синтеза	Синтез в ЦСЖ	Синтез в крови	Нозологическая форма
1-й	Поликлональный	Поликлональный	Норма или острое воспалительное заболевание
2-й	Олигоклональный	Поликлональный	Рассеянный склероз 85–95% в дебюте заболевания
3-й	Олигоклональный	Олигоклональный, но менее выраженный	Рассеянный склероз, реже системная красная волчанка, постинфекционных энцефалиты, саркоидоз, вирусные энцефалиты
4-й	Олигоклональный	Олигоклональный, идентичный ЦСЖ	Генерализованные процессы с вовлечением гематоэнцефалического барьера: боррелиоз, нейросифилис, синдром Гийена – Барре, инфекция вирусом иммунодефицита человека, грибковый менингоэнцефалит, туберкулез
5-й	Моноклональный	Моноклональный	Моноклональные гаммапатии

олигоклонального IgG является стабильность его выявления в течение времени несмотря на значительную динамику клинических проявлений РС. Тест может быть отрицательным у единичных больных с глубоким залеганием очагов демиелинизации. Олигоклональный IgG выявляется у ограниченного числа больных с другими воспалительными заболеваниями ЦНС.

Хорошие аналитические параметры этого теста делают его наиболее удобным и надежным методом диагностики демиелинизирующих заболеваний. В нашей лаборатории с 2001 г. мы используем метод изоэлектрофокусирования IgG ЦСЖ в соответствии с оригинальным методом G. Keir, 1990 [11]. В группе из 346 пациентов с подтвержденным диагнозом РС, обследованных в нашей лаборатории, частота положительных результатов исследования, соответствующих 2-му и 3-му типу синтеза, составила 92,8%.

С 2006 г. на отечественном рынке появились первые наборы, контрольные материалы и оборудование для определения олигоклонального IgG производства компании Helena Biosciences Europe (Великобритания). Компания Helena Biosciences Europe представляет два формата наборов, рассчитанных на 50 или 100 определений, в основу положен рекомендованный международными экспертами метод изоэлектрофокусирования с последующим иммуноблоттингом, что обеспечивает высокую чувствительность (> 95%) и специфичность (> 85%) [13]. Для проведения определения олиго-

клонального IgG достаточно всего 5 мкл биологического материала (сыворотки и ЦСЖ), не требуются дополнительные процедуры пробоподготовки по концентрированию образцов, для дополнительного удобства можно проводить анализ на автоматизированных системах гелевого электрофореза SAS-1/SAS-2 и SAS3/4 производства компании Helena Biosciences Europe.

Список использованной литературы

1. *Столяров И.Д., Бойко А.Н.* Рассеянный склероз: специалисты, диагностика, лечение. СПб.: “Элби-СПб”, 2008. 320 с.
2. *Milo R., Miller A.* Multiple Sclerosis /in Diagnostic Criteria in Autoimmune Diseases ed. Shoenfeld Y. et al. Humana Press, 2008. P. 401–406.
3. *Ланин С.В., Тотолян А.А.* Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. СПб.: Человек, 2010. 272 с.
4. *Cohen J.A.* Emerging therapies for relapsing multiple sclerosis // Arch Neurol. 2009. V. 66. № 7. P. 821–828.
5. *McDonald W.I., Compston A., Gilles E.* et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis // Ann Neurol. 2001. V. 50. P. 121–127.
6. *Quincke H.I.* Die Lumbelpunktion des Hydrocephalus // Berl klin Wschr. 1891. V. 32. P. 861–862.
7. *Rieber H., Felgenhauer K.* Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the aumatification of the humoral immune response withing the central nervous system // Clin Chem Acta. 1987. V. 163. № 3. P. 319–320.
8. *Felgenhauer K., Rieber H.* The diagnostic significance of antibody specificity indices in multiple sclerosis and herpes virus induced diseases of the nervous system // J.Clin Investigation. 1992. V. 70. P. 28–37.
9. *Lewenthal A., van Sande M., Karcher D.* The differential diagnosis of neurological diseases by fractionating electrophoretically the CSF gamma-globulins // J Neurochem. 1960. V. 6. P. 51–56.
10. *Laterre E.C., Callewaert A.* et al. Electrophoretic morphology of gamma globulins in CSF of multiple sclerosis and other diseases of nervous system // Neurol. 1970. V. 20. P. 982–990.
11. *Keir G., Luxton R. W., Thompson E.J.* Isoelectric focusing of cerebrospinal fluid immunoglobulin G: an annotated update // Ann Clin Biochem. 1990. V. 27. P. 436–443.
12. *Andersson M., Alvarez-Cermeno J., Bernardi G.* et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis. A consensus report // J Neurol Neurosurg Psychiatr. 1994. V. 57. P. 897–902.
13. *Freedman M.S., Thompson E.J., Deisenhammer F., Giovannoni G.* et al. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis // Arch Neurol. 2005. V. 62. P. 865–870.
14. *Zettl U.K., Tumani H.* / Multiple Sclerosis and Cerebrospinal Fluid Blackwell Publishing Ltd. 2005. 116 p.