

Нарушение биохимических показателей периферической крови у пациентов с рассеянным склерозом

Кротенко Н.В., Алифирова В.М., Иванова С.А.

The abnormality of the biochemical parameters in the peripheral blood of patients with multiple sclerosis

Krotenko N.V., Alifirova V.M., Ivanova S.A.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Кротенко Н.В., Алифирова В.М., Иванова С.А.

Введение

РС (рассеянный склероз) — хроническое заболевание, характерным признаком которого является поражение нервной системы воспалительного и нейродегенеративного характера, в генезе которого существенную роль играют аутоиммунные механизмы [2, 8, 9, 11]. Этиология этого заболевания сложна и окончательно не выяснена.

Индивидуальные различия во вкладе и взаимодействии факторов этиопатогенеза могут объяснять чрезвычайно гетерогенное клиническое течение РС. Характерной патоморфологической чертой является демиелинизация, а также повреждение нервных волокон различной выраженности [9].

На основании анализа данных литературы предполагается, что основное значение в разрушении миелина имеет усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и угнетение антиоксидантных систем (АОС) организма [10]. Нарушение баланса между продукцией свободных радикалов и механизмами антиоксидантного контроля за их содержанием приводит к развитию оксидантного стресса (ОС).

Пусковым механизмом ОС в нервных и глиальных клетках является интенсивная гиперпродукция свободных радикалов, повышение окислительной деструкции белков и липидов, приводящая к разрушению клеточных мембран, рецепторов, факторов транскрипции, митохондриальных ферментов, аминокислот, ДНК олигодендроцитов и нейронов с развитием демиелинизации и уменьшением числа аксонов [25]. Мозг высокочувствителен к кислороду. Так, составляя всего 2% от общей массы тела, он утилизирует 20—25% получаемого кислорода.

В нормальной ткани постоянно протекает процесс липидной перекисидации, его интенсивность находится в обратной зависимости от активности естественной АОС. Усиление процессов ПОЛ является неспецифическим процессом. С одной стороны, активация свободнорадикальных процессов — универсальный повреждающий механизм клеточных структур. С другой стороны, система ПОЛ играет ключевую роль в сложном комплексе механизмов формирования адаптационно-приспособительных реакций в ответ на различные стрессовые ситуации и лежит в основе пластического и энергетического обеспечения устойчивости клеток к действию повреждающих факторов. Механизм ПОЛ в клетках ЦНС аналогичен механизмам в других тканях, однако интенсивность процесса здесь значительно выше.

В современной неврологии изучению демиелинизирующих заболеваний нервной системы отводится важное место. В частности, интерес к РС объясняется его значительным распространением как за рубежом, так и в России [14]. Диагностика РС в настоящее время представляется исключительно сложной, поскольку основывается на анализе большого числа клинических показателей, которые широко варьируют. Одним из наиболее четких признаков этого заболевания является возникновение очагов демиелинизации в головном мозге, обычно обнаруживаемых с помощью метода магнитно-резонансной томографии (МРТ). Однако их появление происходит только на поздней стадии заболевания. Более того, даже этот параметр не считается достаточным для однозначной диагностики РС, поскольку такого же рода очаги обнаруживаются у людей с другими неврологическими заболеваниями. Для решения ряда вопросов, связанных с

очень сложной природой самого демиелинизирующего процесса, требуется дальнейшая комплексная работа, так как проблема миелообразования и демиелинизации имеет общебиологический интерес.

В связи с этим является актуальным поиск новых методов диагностики РС и маркеров тяжести патологического процесса, особенно на ранних стадиях его развития.

Данные об участии свободнорадикальных процессов в патогенезе РС противоречивы. При исследовании продуктов ПОЛ у пациентов с РС А.П. Хохлов и соавт. (1980) не обнаружили малонового диальдегида (МДА) в ликворе, а содержание диеновых конъюгатов было достоверно снижено [17]. В то же время А.А. Белкиной (2000) установлено, что процессы ПОЛ приводят к существенному снижению способности рецепторов нейрональных мембран связывать нейромедиаторы. Известно, что нарушение нейромедиаторной рецепции является одним из патогенетических механизмов, лежащих в основе развития РС [3].

В связи с предположением, что имеющая место при РС интенсификация ПОЛ и дисбаланс в АОС [15] как основные проявления ОС сочетаются с развитием синдрома эндотоксикоза [4, 6, 13], одним из показателей интоксикации организма являются так называемые средние молекулы. Это продукты распада белков, являющиеся токсинами с молекулярной массой до 5 000 Да. Интерес к исследованию данных веществ определяется прежде всего тем, что они получили известность как важные универсальные факторы синдрома эндогенной интоксикации. Причинные факторы возникновения синдрома эндогенной интоксикации разнообразны и сложны по своей природе. Деструктивные процессы, лежащие в основе этого синдрома, как правило, связаны с нарушениями структуры и функции мембран и в целом рассматриваются как реакции метаболического полома. Развитие синдрома эндогенной интоксикации, начиная от первичного поражения тканей и до генерализации процесса, не является специфическим. При ряде патологий уровень молекул средней массы коррелирует с тяжестью состояния больных и может быть показателем степени эндотоксикоза. Увеличение уровня молекул средней массы связывают с усилением их образования в тканях с последующим выходом в кровь, либо с нарушением их удаления из организма, либо смешанными механизмами [13], а также при снижении функциональной активности систем естественной детоксикации.

В большинстве случаев возникшая эндогенная интоксикация отяжеляет течение основного заболевания и крайне

тяжелых состояний, оказывает доминирующее влияние на исход болезни при многих патологических состояниях.

Промежуточные продукты ПОЛ — малоновый диальдегид и гидроперекиси являются мутагенами и обладают выраженной цитотоксичностью. Определяя концентрацию ТБК-активных продуктов в сыворотке крови, можно косвенно судить о степени мембранной патологии клеток у пациентов с РС. Наиболее доступным объектом для исследований в клинических условиях является кровь. Предполагая, что спектр биохимических показателей крови при РС может существенно отличаться от таковых у здоровых доноров, проведен анализ биохимических параметров сыворотки крови больных РС.

Цель настоящего исследования — изучение взаимоотношений процессов ПОЛ, показателей эндогенной интоксикации и компонентов АОС в сыворотке крови больных РС при разных типах течения заболевания и степенях его тяжести, а также в зависимости от проводимой фармакотерапии.

Материал и методы

В ходе работы было проведено комплексное клинико-биологическое обследование 78 пациентов с достоверным диагнозом РС, которые находились на лечении в неврологической клинике Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск). Диагноз РС установлен в соответствии с международными критериями Мак-Дональда (2005). Группа сравнения состояла из 75 здоровых доноров, не имеющих аутоиммунных заболеваний и признаков демиелинизации, проживающих в г. Томске, средний возраст — 31,9 года, аналогичный возраст у пациентов с РС.

Забор крови проводили утром натощак. Состояние ОС оценивали по содержанию в сыворотке крови ТБК-связывающих продуктов в пересчете на концентрацию малонового диальдегида как конечного продукта ПОЛ [16]. Состояние ферментативных и неферментативных систем АОС устанавливали по активности каталазы и содержанию восстановленного глутатиона. Уровень эндогенной интоксикации определяли по спектру среднемолекулярных пептидов в сыворотке крови при длине волн 280, 254 и 230 нм (с помощью скрининг-метода [6, 12]). Исследование интегральных антиоксидантных свойств заключалось в определении способности сыворотки крови снижать люминолзависимую хемиллюминесценцию в модельной системе: гемоглобин — перекись водорода — люминол [21].

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows («StatSoft Inc.», США). Достоверность различий определяли по *t*-критерию Стьюдента и с использованием непараметрического критерия Манна—Уитни для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$ [7].

Результаты и обсуждение

В ходе работы было проведено обследование 78 пациентов с достоверным диагнозом РС, находившихся на лечении в неврологической клинике. Клиническое обследование больных РС проводили по общепринятой схеме [11, 20, 23]. В ходе клинического обследования больных РС учитывались возраст, пол, первые симптомы заболевания, общая длительность болезни. Для объективизации тяжести неврологического дефицита применяли шкалу J. Kurtzke [20] с определением степени инвалидизации и скорости прогрессирования патологии (EDSS, длительность заболевания). Степень тяжести течения болезни оценивали по расширенной шкале состояния инвалидности (EDSS, Kurtzke) [20]. Средние значения клинико-демографических характеристик всей группы больных РС приведены в табл. 1.

Соотношение мужчин и женщин в исследуемой группе 1 : 1,78. Цереброспинальная форма заболевания установлена у 65 (94,67%) больных, церебральная — у 10 (2,96%) и спинальная — у 7 (2,37%).

По ряду специфических признаков течения болезни пациенты были разделены на три подгруппы: 1-я группа представлена 50 больными с ремиттирующим рассеянным склерозом (РРС), 2-я группа — с вторично-прогрессирующим РС (ВПРС), включающая 22 пациента, и 3 — с первично-прогрессирующим РС (ППРС) (6 человек). Клиническими признаками ремиссии считались отчетливое улучшение состояния больного в виде уменьшения выраженности или исчезновения симптомов длительно — не менее 1 мес. При наличии в анамнезе достоверных данных об обострениях и ремиссиях без признаков хронического прогрессирования (увеличение тяжести симптомов в течение не менее 2 мес), когда перенесенное обострение оставляло после себя лишь резидуальную симптоматику, которая, однако, накапливалась и усиливалась с каждым последующим обострением, тип течения определялся как РРС.

Таблица 1

Средние значения клинико-демографических характеристик для группы исследуемых пациентов с РС

Характеристика	Значение
Средний возраст пациентов, лет	35,65
Женщины/мужчины, количество человек	50/28
Средний возраст начала РС, лет	26,8
Средняя длительность РС, лет	10,89
Ремиттирующее течение, абс. (%)	50 (64,1)
Вторично-прогрессирующее течение, абс. (%)	22 (28,2)
Первично-прогрессирующее течение, абс. (%)	6 (7,7)
Средний уровень EDSS в баллах, абс. (%)	3,87 (0,24)
Количество человек с баллом по EDSS менее 3,0, абс. (%)	30 (38,46)
Количество человек с баллом по EDSS менее 6,0, абс. (%)	41 (52,56)
Количество человек с баллом по EDSS менее 8,0, абс. (%)	7 (8,98)
Скорость прогрессирования заболевания	0,87

У больных с ремиттирующим течением возраст начала болезни составил в среднем 26 лет, а длительность болезни 6 лет; средний показатель степени тяжести больных — 2,6 балла при скорости прогрессирования 0,5.

ВПРС определялась при наличии в анамнезе четких сведений о перенесенных обострениях и ремиссиях, причем с явной остаточной симптоматикой после очередного обострения. Средний возраст дебюта заболевания составил почти 28 лет, длительность болезни варьировала в широких пределах — от 1 года до 33 лет (в среднем 11,15). Балл по шкале инвалидности EDSS составил 3,87; скорость прогрессирования 0,86.

В случаях, когда заболевание с самого начала не имело обострений и ремиссий, а неуклонно прогрессировало, вариант течения определялся как первично-прогрессирующий [2, 3]. У больных с ППРС болезнь дебютировала в возрасте от 16 до 37 лет (средний возраст начала болезни составил 27 лет), длительность заболевания от 2 до 8 лет (в среднем 5,3 года), средняя степень тяжести больных по шкале инвалидности Kurtzke 5 баллов и средняя скорость прогрессирования 1,2.

При анализе биохимических показателей периферической крови у обследованных пациентов с РС, представленных в табл. 2 и на рис. 1, отмечалась значительная гипероксидация, что проявлялось увеличением содержания ТБК-активного продукта в сыворотке крови пациентов при всех типах течения РС по сравнению со здоровыми лицами в три раза.

Проведенные исследования, отражающие зависимость изменений содержания ТБК-связывающих продуктов свободнорадикального окисления липидов в сыворотке крови пациентов РС при разных уровнях тяжести неврологического дефицита по шкале J. Kurtzke [20] представлены в табл. 3 и на рис. 1. Показано, что уровень МДА в сравнении со здоровыми донорами достоверно выше — в 2,9 раза ($p < 0,05$) у пациентов с EDSS 1—3 балла. В то же время

имеет место повышение уровня МДА при EDSS 3—6 баллов и EDSS 6—8 баллов в 2,7 и 2,5 раза соответственно. Возможно, чем больше степень неврологического дефици-

та при РС, тем больше реагирует АОС, и наблюдается тенденция к частичному снижению уровня гипероксидации сыворотки крови у пациентов с РС.

Таблица 2

Биохимические характеристики крови при различных типах течения РС ($M \pm \sigma$)				
Показатель	РРС	ВПРС	ППРС	Здоровые доноры
МДА сыворотки, мкмоль/л	3,39 ± 1,65	2,97 ± 1,52	3,32 ± 1,55	1,16 ± 0,54
Каталаза сыворотки, мКАТ/л	72,63 ± 28,63	67,27 ± 31,43	58,67 ± 24,59	71,66 ± 35,50
Глутатион сыворотки, мкмоль/л	195,48 ± 98,57	163,15 ± 38,01	272,16 ± 208,90	224,59 ± 65,59
СМП 280 нм, усл. ед.	0,28 ± 0,07	0,29 ± 0,15	0,23 ± 0,06	0,29 ± 0,09
СМП 254 нм, усл. ед.	0,35 ± 0,10	0,32 ± 0,10	0,31 ± 0,10	0,32 ± 0,07
СМП 230 нм, усл. ед.	0,67 ± 0,54	0,73 ± 0,45	0,89 ± 0,41	0,31 ± 0,15
НПИ	2,23 ± 1,94	2,60 ± 1,90	3,22 ± 0,81	1,11 ± 0,80
ИА	0,82 ± 0,22	1,13 ± 0,83	0,72 ± 0,26	0,96 ± 0,38

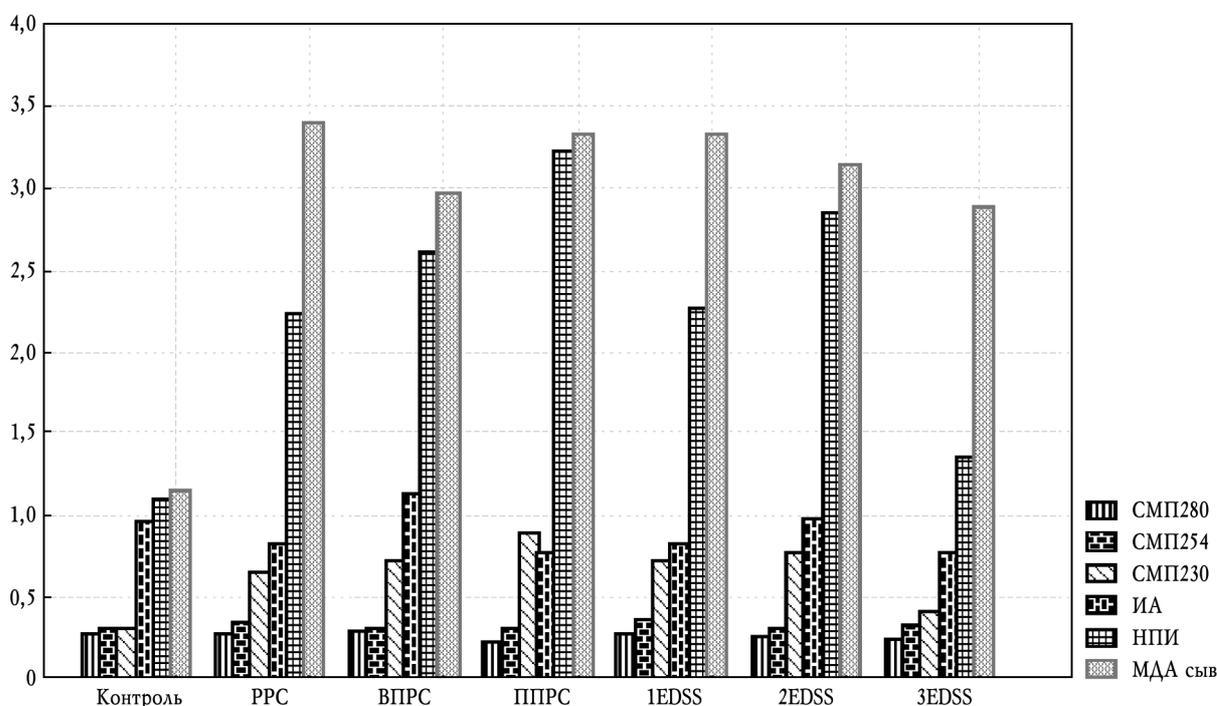


Рис. 1. Изменение биохимических параметров сыворотки крови при разных типах и разных степенях тяжести течения РС. По оси ординат — концентрация МДА (мкмоль/л), средних молекул в сыворотке крови (усл. ед.) — оптическая плотность при соответствующих длинах волн 280 нм, 254 нм, 230 нм и относительные значения индексов; по оси абсцисс — типы течения и тяжести РС

Таблица 3

Биохимические характеристики крови в зависимости от тяжести течения РС ($M \pm \sigma$)				
Показатель	EDSS 1—3 балла (30 человек)	EDSS 3—6 баллов (41 человек)	EDSS 6—8 баллов (7 человек)	Здоровые доноры (95 человек)
МДА сыворотки, мкмоль/л	3,33 ± 1,67	3,14 ± 1,61	2,88 ± 1,43	1,16 ± 0,54
Каталаза сыворотки, мКАТ/л	86,57 ± 30,74	62,18 ± 25,91	57,01 ± 26,66	71,66 ± 35,50
Глутатион сыворотки, мкмоль/л	185,03 ± 55,42	197,64 ± 60,42	209,00 ± 90,65	224,59 ± 65,59
СМП 280 нм, усл. ед.	0,29 ± 0,07	0,27 ± 0,12	0,25 ± 0,07	0,29 ± 0,09
СМП 254 нм, усл. ед.	0,36 ± 0,09	0,32 ± 0,10	0,33 ± 0,06	0,32 ± 0,07

СПМ 230 нм, усл. ед.	0,72 ± 0,58	0,78 ± 0,43	0,42 ± 0,29	0,31 ± 0,15
НПИ	2,26 ± 1,98	2,85 ± 1,79	1,36 ± 0,92	1,11 ± 0,80
ИА	0,82 ± 0,18	0,99 ± 0,37	0,7 ± 0,26	0,96 ± 0,38

Инициация ПОЛ, приводящая к увеличению ТБК-активируемых продуктов, безусловно, активирует такие факторы АОС, как каталаза и глутатион. Каталаза является одним из основных ферментов АОС. Происхождение сывороточной каталазы при острых воспалительных процессах не до конца ясно, наиболее вероятно ее выделение из разрушенных клеток. В то же время в результате действия протеолитических ферментов во внеклеточных жидкостях каталаза быстро теряет свою активность.

Как следует из табл. 2, 3 и рис. 1, активность каталазы сыворотки крови при разных типах и степенях тяжести течения РС не претерпевает достоверных изменений. Уровень активности каталазы у пациентов, страдающих РС, близок к показателям у здоровых доноров.

Баланс между перекисными процессами и антирадикальной защитой, по мнению исследователей [26], в значительной степени определяется обменом неферментативного компонента АОС — глутатиона — и его резервами. Тесная связь интенсивности процессов ПОЛ и метаболизма глутатиона была подтверждена В.Е. Высокогорским [17].

У обследованных пациентов с РРС отмечено снижение концентрации глутатиона в сыворотке крови на 17%, с ВПРС — на 22,4% по сравнению с контрольной группой, а у пациентов с ППРС уровень глутатиона не отличался от уровня здоровых доноров (табл. 3 и рис. 2). Результаты определения содержания глутатиона в сыворотке крови больных РС с разным уровнем инвалидизации (EDSS, Kurtzke) [20], представленные в табл. 3 и на рис. 1, свидетельствуют о снижении уровня глутатиона на 12,2% при EDSS 1—3 балла, на 19,5% — при EDSS 3—6 баллов, на 14,7% — при EDSS 6—8 баллов при сравнении с контрольными величинами.

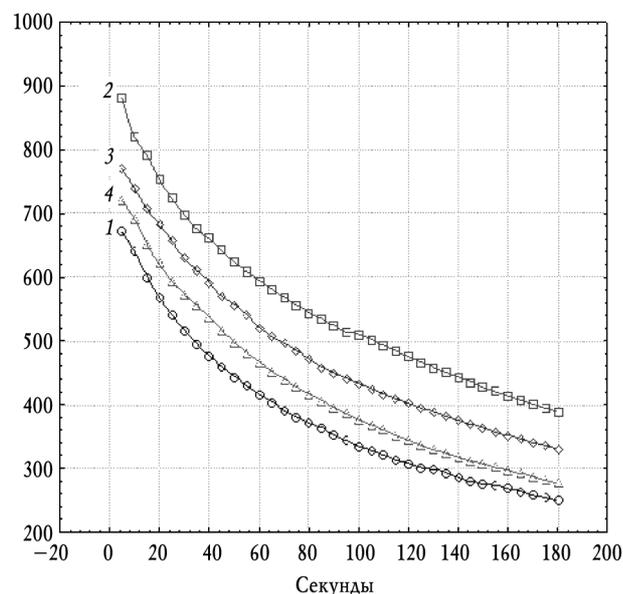


Рис. 2. Изменение уровня индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови в течение курса лечения: 1 — контроль; 2 — до лечения; 3 — 3 мес; 4 — 12 мес

Если рассматривать общие тенденции, то при среднем и тяжелом уровне проявлений РС происходит уменьшение концентрации неферментативных компонентов АОС — восстановленного глутатиона и слабая тенденция к увеличению ферментативной активности каталазы в сыворотке крови. Вероятно, неферментативное звено первым реагирует на ОС, участвуя в обезвреживании свободных радикалов.

Накопление СМП является не только маркером эндотоксикации, но и фактором, усугубляющим течение патологического процесса, приобретая роль вторичных токсинов, оказывая влияние на функции органов и систем.

В ходе исследования СМП у пациентов с РС в зависимости от типа течения (табл. 1, рис. 1) выявлено достоверное ($p < 0,05$) увеличение нуклеарной фракции E230 в сравнении с контролем E230 ($0,21 \pm 0,02$ ед.). Нуклеарная фракция E230 представлена эндогенными патогенами в виде белков-гистонов, продуктов разрушения ДНК, вышедшими из цитозоля в межклеточную среду, лимфоток и кровь при нарушении целостности клеточных мембран. Возможно, повышенная до проведения фармакотерапии нуклеарная фракция E230 указывает на увеличение в крови остатков ну-

клеиновых кислот, что может быть следствием усиления апоптоза [8]. Токсическая фракция E254 состоит из гидрофобных токсинов, обладающих высоким сродством к биологическим структурам, находящимся в плазме в практически полностью связанном состоянии в виде комплексов с альбумином или липопротеинами низкой плотности, и изменяется в меньшей степени.

Определение антиоксидантных свойств заключалось в способности сыворотки крови снижать хемилюминесценцию в модельной системе: гемоглобин — перекись водорода — люминол. Интенсивность хемилюминесценции обратно пропорциональна активности АОС. Среднестатистические графики хемилюминесценции, характеризующие интегральное состояние антиоксидантных систем сыворотки крови в процессе фармакотерапии, представлены на рис. 2. В общей группе пациентов с РС до начала лечения обнаружены достоверно значимые высокие показатели интенсивности хемилюминесценции, что свидетельствует о низких антиоксидантных свойствах сыворотки крови по сравнению с нормальными значениями здоровых лиц ($p < 0,05$).

После проведения комплексной фармакотерапии антиоксидантные свойства сыворотки крови пациентов достоверно улучшились ($p < 0,05$) по сравнению с кривой до лечения, но были ниже показателей здоровых лиц ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, проведенные исследования выявили у пациентов с РС повышение содержание ТБК-активных продуктов в эритроцитах, снижение концентрации глутатиона в сыворотке крови, повышение фона СМП. В результате проведенной фармакотерапии наблюдается снижение токсической фракции СМП E254 до значений нормы. Спектр СМП можно рассматривать в качестве объективного критерия метаболических нарушений при РС и оценки эффективности проводимой терапии. Полученные результаты способствуют дальнейшему углублению понятий о механизмах формирования РС, включающего изменения характера биохимических реакций и снижение устойчивости организма. Полученные данные свидетельствуют о существенной роли активации процессов ПОЛ при тяжелом течении поражений нервной системы при РС и снижении активности АОС-защиты, что следует учитывать при проведении лечебных мероприятий у больных данной этиологии.

Литература

1. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Соровский обзор. журн. 2001. Т. 7. № 4. С. 21—28.
2. Бойко А.Н., Фаворова О.О. Рассеянный склероз, молекулярные и клеточные механизмы // Молекулярн. биология. 1995. Т. 29. С. 727—749.
3. Белкина А.А. Биохимические механизмы нарушения нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2000. № 11. С. 42—46.
4. Беляков Р.А., Малахова М.Я., Соломенников А.В. и др. Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в хирургии. Ташкент, 1984. С. 240—241.
5. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в клетке // Природа. 1997. № 4. С. 47—54.
6. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев Ф.Ф. и др. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Методические рекомендации. М., 1985. С. 11.
7. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М., Практика, 1998. — 459 с.
8. Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз: от изучения иммунопатогенеза к новым методам лечения. М.: ООО «Губернская медицина», 2001. 128 с.
9. Дильман В.М., Голубев А.Г. Механизмы метаболической имуннодепрессии // МРЖ. Р. XXI. 1981. С. 4; 36—44.
10. Дулин А.М., Хаспекоев Л.Г., Лыжин А.А., Викторов И.В. Особенности регистрации продуктов перекисного окисления липидов при его индукции в монослойных нейроглиальных культурах мозга // Нейрохимия. 1997. Т. 14. В. 1. С. 93—96.
11. Завалишин М.Н., Захарова Л.Ш., Аскарова и др. Современные направления в изучении патогенеза демиелинизирующих заболеваний // Журн. неврологии и психиатрии. 1997. № 5. С. 64—67.
12. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Минск: Беларусь, 2000. Т. 1. С. 344—350.
13. Карякина Е.В., Белова С.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (Обзор литературы) // Клинич. лаб. диагностика. 2004. № 3. С. 56—59.
14. Марков Д.А., Леонович А.Л. Рассеянный склероз. М.: Медицина, 1976, 296 с.
15. Луцкий А., Есауленко И.Э. Оксидантный стресс в патогенезе рассеянного склероза // Рассеянный склероз. 2006. № 3. С. 26—30.
16. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Методы определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66.
17. Высокогорский В.Е., Самусева Н.Л. и др. Интенсивность свободно-радикальных процессов и нарушение закономерностей органогенеза у пренатально алкоголизированного потомства // Сиб. вестн. психиатрии и наркологии. 2003. № 1. (27). С. 69—72.
18. Boldyrev A.A. Significance of reactive oxygen species for neuronal function // Free Radicals, Nitric Oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects / Eds. A. Tomas et al. IOS Press, 2002. P. 157—163.
19. Gilgun-Sherki Y., Melamed E., Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective an-

- tioxidant therapy // *J. Neurol.* 2004. Mar. № 251 (3). P. 261—268.
20. Kurtzke J.F. The diagnosis of multiple sclerosis / Eds. C.M. Poser. N. Y.: Thieme-Stratton, 1984. P. 3—13.
21. Lander H.M. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. № 99. P. 7915—7922.
22. Okuda Y., Apatoff B.R., Posnett D.N. Apoptosis of T cells in peripheral blood and cerebrospinal fluid is associated with disease activity of multiple sclerosis // *J. Neuroimmunol.* 2006. Feb. № 171 (1—2). P. 163—170.
23. Poser C.M. The diagnosis of multiple sclerosis. N. Y.: Thieme-Stratton, 1984. P. 3—13.
24. Schumaker V.N., Puppione D.L. Sequential flotation ultracentrifugation // *Methods in Enzymology. Part A.* 1986. V. 128. P. 155—170.
25. Smith K.J., Kapoor R., Felts P.A. Demyelination: the role of reactive oxygen and nitrogen species // *Brain Pal hoi.* 1999. № 9. P. 69—92.
26. Wieland P., Lauterburg B.H. Oxigation of mitochondrial proteins and following administration of ethanol // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995. V. 213. № 3. P. 815—819.

Актуальные вопросы неврологии, г. Томск, 4—5 июня 2008 г.