

doi: 10.17116/jnevro20161162214-20

Современные представления об интратекальном гуморальном иммунном ответе и диагностическое значение выявления олигоклональных иммуноглобулинов при рассеянном склерозе

Г.С. МАКШАКОВ^{1*}, С.В. ЛАПИН³, Е.П. ЕВДОШЕНКО^{1,2}

¹СПбГБУЗ «Городская клиническая больница №31», Санкт-Петербургский городской центр рассеянного склероза и других аутоиммунных заболеваний, Санкт-Петербург; ²кафедра неврологии и нейрохирургии с клиникой ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова», Санкт-Петербург; ³ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова», Научно-методический центр по молекулярной медицине МЗ РФ, Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний, Санкт-Петербург

Рассеянный склероз (РС) — демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, предположительно аутоиммунной природы. В представленном обзоре литературы приведен перечень потенциальных антигенов, вызывающих аутоиммунную реакцию, постоянно расширяется, включая миелиновые и немиелиновые структуры. Определение антител ни к одному из антигенов не обладает достаточной специфичностью и чувствительностью для использования в рутинной лабораторной практике. Определяемые с помощью метода изоэлектрофокусирования (ИЭФ) олигоклональные иммуноглобулины являются на сегодняшний день основными иммунологическими маркерами РС. Чувствительность и специфичность метода ИЭФ составляют 90 и 85% соответственно. В статье рассмотрены также дополнительные маркеры, такие как олигоклональные IgM и MRZ-реакция.

Ключевые слова: рассеянный склероз, олигоклональные иммуноглобулины, изоэлектрофокусирование (ИЭФ), MRZ-реакция, олигоклональный иммуноглобулин M.

Current concepts on intrathecal humoral immune response and diagnostic importance of oligoclonal immunoglobulins in multiple sclerosis

G.S. MAKSHAKOV, S.V. LAPIN, E.P. EVDOSHENKO

City Clinical Hospital 31, Saint-Petersburg Center of multiple sclerosis and other autoimmune diseases, Saint-Petersburg; First Saint-Petersburg State I.P. Pavlov Medical University, Neurology and Neurosurgery Department, First Saint-Petersburg State I.P. Pavlov Medical University, Research Guidance Center for molecular medicine, Laboratory of diagnostics of autoimmune diseases, Saint-Petersburg

Multiple sclerosis (MS) is a demyelinating disease of the central nervous system of probable autoimmune origin. In this review of literature, the authors present a constantly broadening list of potential antigens, including myelin and non-myelin structures, that cause the autoimmune reaction. Determination of antibodies to any antigen has not sufficient specificity and sensitivity for the use in routine laboratory practice. Oligoclonal immunoglobulins determined with isoelectric focusing (IEF) technique are currently considered as the main immunological MS markers. The sensitivity and specificity of IEF are 90 and 86%, respectively. The authors have considered the additional markers such as oligoclonal IgM and MRZ-response.

Keywords: multiple sclerosis, oligoclonal immunoglobulins, isoelectric focusing, MRZ-response, oligoclonal immunoglobulin M.

Рассеянный склероз (РС) представляет собой многофакторное заболевание, развитие которого определяется генетической предрасположенностью, а также воздействием факторов окружающей среды [1, 2]. В патогенезе заболевания большое участие принимают аутоиммунные процессы, обуславливающие явления воспаления, демиелинизации, разрушения аксонов и восстановления поврежденных миелиновых оболочек. У каждого отдельно взятого пациента с РС данные процессы выражены в разной степени, что обуславливает отсутствие еди-

ного биомаркера этого заболевания. В то же время основным методом лабораторной диагностики РС, обладающим существенной доказательной базой, является обнаружение олигоклональных иммуноглобулинов (ОКИ) в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) пациентов [3, 4]. Обнаружение ОКИ в ЦСЖ при их отсутствии в сыворотке крови является высокочувствительным и сравнительно специфичным методом, позволяющим провести дифференциальную диагностику РС. В большинстве случаев выявление ОКИ наряду с данными клинической карти-

ны и магнитно-резонансной томографии (МРТ) позволяют поставить диагноз РС.

Механизмы образования ОКИ

Патогенез повреждений ЦНС при РС представляет собой комплексное взаимодействие разных типов клеток, участвующих в иммунном ответе. Хотя основной антиген, провоцирующий аутоиммунную реакцию, на сегодняшний день остается неизвестным, существует ряд теорий, объясняющих механизмы, лежащие в основе продукции ОКИ.

Описано 4 возможных пути интраклеточной продукции ОКИ [5]: 1) Ig-секретирующие клетки, прошедшие дифференцировку во вторичных лимфоидных органах, попадают в ЦНС и накапливаются в очагах воспаления вне зависимости от их антигенной специфичности; 2) под влиянием провоспалительной среды В-клетки памяти внутри ЦНС дифференцируются в плазмциты, продуцирующие ОКИ; 3) клетки памяти могут дифференцироваться в длительно живущие плазматические клетки путем активации иммунного ответа на один эпитоп в процессе активации иммунного ответа на другой (англ.: «bystander activation»); 4) плазмциты, продуцирующие ОКИ, могут образовываться в «третичных» эктопических лимфоидных фолликулах, наиболее часто встречающихся по ходу кровеносных сосудов мозговых оболочек [5]. Такие лимфоидные фолликулы были обнаружены только у пациентов с вторично-прогрессирующим течением РС [6].

Основную часть ОКИ составляют иммуноглобулины G (IgG) подкласса IgG1, однако они могут быть также представлены IgM и IgA [7]. Хотя такие иммуноглобулины называют «олигоклональными», чтобы подчеркнуть их доброкачественную природу, эти антитела являются по факту моноклональными парапротеинами, каждый клон которых обладает уникальными свойствами.

Антигенные стимулы, инициирующие и поддерживающие аутоиммунное воспаление, до сих пор остаются предметом споров. Показано, что ОКИ у каждого пациента могут реагировать с несколькими антигенами. Из-за своей локализации в области компактно расположенного миелина и наружной поверхности миелиновых оболочек потенциальными мишенями ОКИ могут быть основной белок миелина (ОБМ), миелиновый олигодендроглиципротеин (МОГ), миелин-ассоциированный гликопротеин (МАГ) [1, 8, 9]. В то же время диагностическая и прогностическая значимость анти-ОБМ и анти-МОГ антител весьма противоречива. Отмечено, что аутоантитела, выявляемые у пациентов с РС, не обладают высокой аффинностью к основным антигенам миелина [10]. Установлено, что анти-МОГ антитела распознают только конформационные эпитопы МОГ, а не его линейную последовательность, что увеличивает вероятность пе-

рекрестных реакций аутоантител [11, 12]. В то же время у пациентов с РС уровень анти-ОБМ антител оказался значительно выше, чем у контрольной группы с невоспалительными заболеваниями ЦНС [13]. Пациенты с клинически изолированным синдромом (КИС), у которых были обнаружены IgG, направленные против ОБМ и МОГ, испытывали второе обострение раньше, чем пациенты с КИС, но без анти-ОБМ и анти-МОГ антител. Относительный риск трансформации в достоверный РС у пациентов с анти-ОБМ и анти-МОГ антителами выше, чем у пациентов, у которых эти антитела не обнаруживаются [14]. Существуют данные других исследований, не подтверждающие связи анти-МОГ и анти-ОБМ антител с повышенным риском трансформации в достоверный РС [15]. Список потенциальных антигенов для аутоантител при РС постоянно расширяется. Установлена реактивность в отношении как миелиновых, так и немиелиновых антигенов [16]. Например, в него вошли небольшой белок теплового шока $\alpha\beta$ -кристаллин, специфический белок нейроглии трансальдолаза, нейрофасцин — белок нейронов, локализованный в области перехватов Ранвье, легкие субъединицы нейрофиламентов, ядерный рибонуклеопротеин A1 (hn-RNP A1) и другие молекулы [6, 16, 17].

Антитела могут быть направлены против ряда инфекционных агентов, в том числе вируса Эпштейна—Барр, вируса простого герпеса, вируса ветряной оспы, *Chlamidia pneumoniae*. Недавние исследования подчеркивают значимую роль вируса Эпштейна—Барр в индукции РС [2, 18—20]. Несмотря на то что детальный спектр специфичности олигоклональных антител не охарактеризован, антигены ряда вирусов могут быть мишенью для олигоклональных антител. Иммунореактивность в отношении антигенов вируса Эпштейна—Барр, таких как BRRF2 и ядерный антиген-1 (EBNA-1), значительно выше у пациентов с РС в сравнении со здоровой популяцией [1]. Исследование крови, взятой у заболевших РС до начала заболевания, подтвердило повышенный титр антител к EBNA в группе пациентов, у которых впоследствии развился РС, в сравнении с группой пациентов, оставшихся здоровыми [21—23].

Анализ результатов проведенных эпидемиологических исследований также подтверждает важность роли вируса Эпштейна—Барр в патогенезе РС. Лица, в раннем возрасте перенесшие инфекционный мононуклеоз или острую форму инфекции вируса Эпштейна—Барр, имеют повышенный риск развития РС в дальнейшем [24, 25]. Предполагается, что молекулярная мимикрия может запускать аутоиммунную реакцию. Вероятным механизмом индукции аутоиммунной реакции является перекрестная реактивность антигенов вируса Эпштейна—Барр с эпитопами ОБМ, МОГ и трансальдолазы

[26—28]. Кроме того, латентная инфекция вируса Эпштейна—Барр, персистирующая внутри В-клеток ЦНС, может оказывать локальный иммуномодулирующий эффект, стимулируя продукцию интерферона- α внутри бляшек РС [29].

В качестве других нейротропных вирусов-мишеней для ОКИ необходимо упомянуть вирусы кори, краснухи и ветряной оспы. Хотя продуцируемые против них иммуноглобулины обычно составляют лишь 2% от общего содержания IgG в ЦСЖ и лишь небольшую фракцию ОКИ, однако наличие такого синтеза очень характерно для РС и выявляется у 80—100% больных этим заболеванием [30—35]. Обнаружение антител к триаде вирусов носит название MRZ-реакции (*Mumps, Rubella, Zoster*, англ.). Следует подчеркнуть, что выработка MRZ-антител не связана с интраклеточной репликацией самих вирусов, что было подтверждено данными ПЦР-исследований ЦСЖ пациентов [30]. Предполагается, что продукция этих антител является результатом повторной активации В-клеток памяти, специфичных к данным вирусам, и, таким образом, вторичный иммунный ответ отражает индивидуальный анамнез перенесенных заболеваний или вакцинаций. Кроме того, обнаружение более высокого титра ОКИ против краснухи в ЦСЖ у пациентов с РС из Германии, чем у пациентов из Кубы, отражает эпидемические данные о более низкой заболеваемости краснухой на Кубе [36]. Вирус-специфические плазмциты, образованные из активированных В-клеток памяти, выживают в третичных фолликулах благодаря влиянию провоспалительной среды, содержащей важные средовые факторы, такие как CXCL12, BAFF, интерлейкин-6 и TNF- α [5]. Длительная персистенция плазмцитов внутри ЦНС обуславливает длительную продукцию MRZ-антител. По данным проспективных исследований, титр антител постепенно нарастает с течением времени [37], что свидетельствует о медленно прогрессирующем вовлечении новых плазмцитов в процесс аутоиммунного воспаления. При хронических инфекционных заболеваниях ЦНС MRZ-реакция также может быть положительной, что говорит о связи данного феномена с хроническим воспалением [38].

Ранее уже упоминалось, что помимо фракции IgG среди ОКИ присутствуют также IgM- и IgA-фракции. IgM отводят особую роль в патогенезе заболевания. В ряде исследований было показано, что олигоклональные IgM, синтезируемые популяцией CD5⁺ В-лимфоцитов, были связаны с более агрессивным течением заболевания [39]. Действительно, IgM обладают наибольшей способностью активировать C3-компонент системы комплемента, который является одним из ключевых участников воспалительного ответа и образования воспалительных бляшек при РС. Исследования иммунореактивности олигоклонального IgM показывают, что ряд его

олигоклональных фракций проявляет высокую реактивность в отношении липидных компонентов миелина: фосфолипидов и гликолипидов, в частности фосфатидилхолина. Повреждение миелинового волокна под действием IgM может быть опосредованно с комплемент-зависимой демиелинизацией, а также активацией фагоцитоза миелина активированными макрофагами и микроглией через взаимодействие с Fc-рецепторами и рецепторами комплемента [39]. Таким образом, показано, что IgM являются не только показателем, но и участником иммунного воспаления в ЦНС у пациентов с РС.

Таким образом, разные антигены могут запустить и поддерживать аутоиммунную реакцию, результатом которой является интраклеточная продукция антител клонами плазмцитов, которая происходит независимо от продукции антител в крови. Изолированный синтез антител в ЦНС не позволяет использовать серологические методы для постановки диагноза РС. До сих пор «золотым стандартом» иммунологической диагностики РС остается метод определения ОКИ в ЦСЖ.

Методы выявления олигоклональных антител

Попытки исследовать гамма-глобулин в образцах ЦСЖ с помощью метода электрофореза были впервые предприняты в 40-х годах прошлого века и увенчались выявлением повышенного синтеза γ -иммуноглобулина у пациентов с нейросифилисом [40]. Позднее такая же картина была обнаружена в ЦСЖ у больных РС. В конце 50-х годов с помощью меченного радиоактивным йодом гамма-глобулина было показано, что иммуноглобулины в ЦСЖ пациентов с РС происходят не из сыворотки крови [41]. Это послужило доказательством того, что антитела при РС могут быть синтезированы внутри ЦНС. Обнаружение ОКИ при РС было связано с использованием электрофореза в агарозном геле, который позволил более четко разделить фракции иммуноглобулинов. В своих исследованиях E. Laterre [42] подчеркнул важность сравнения данных электрофореза сыворотки крови и ЦСЖ, благодаря чему был определен характерный паттерн синтеза иммуноглобулинов, а в дальнейшем показано наличие интраклеточного синтеза у 86,9% пациентов с достоверным РС. Впоследствии на смену методу электрофореза пришел метод изоэлектрофокусирования (ИЭФ) с последующим иммуноблоттингом, разработанный G. Keig и соавт. [43]. На данный момент этот метод является «золотым стандартом» лабораторной диагностики РС и признан большинством международных экспертов [3].

В отличие от электрофореза при ИЭФ происходит смещение молекул иммуноглобулинов в геле под действием электрического поля в зависимости значения от их изоэлектрической точки, которое обусловлено отличиями в аминокислотных после-

довательностях константных и переменных областей иммуноглобулинов, а также различными вариантами посттрансляционных модификаций, например гликозилирования и сиалирования. Антитела, продуцируемые разными клоонами В-клеток, значительно различаются по изоэлектрической точке [44], что позволяет им разделяться при ИЭФ. Разделенные молекулы затем окрашиваются с помощью антител, меченных пероксидазой, и приобретают на геле характерный рисунок в виде полос. При оценке результатов анализируется клональность антител в сыворотке крови и ЦСЖ. Тест является качественным, т.е. определяется характерный тип синтеза, а число полос не имеет большого клинического значения. Говорить о присутствии олигоклональных антител можно при наличии двух и более отчетливо визуализируемых олигоклональных полос. Для определения типа синтеза важной информацией является анализ парной сыворотки крови. Выделяют 5 классических типов синтеза [4]. Для 1-го типа характерен поликлональный синтез антител в образцах сыворотки и ЦСЖ, олигоклональные полосы не обнаруживаются. Данный тип синтеза определяется у пациентов в норме или при остром воспалительном процессе. При 2-м типе синтеза олигоклональные полосы отсутствуют в сыворотке, но определяются в ЦСЖ, что подтверждает наличие интратекального синтеза иммуноглобулинов. Этот тип синтеза высокоспецифичен для РС. При 3-м типе синтеза олигоклональные полосы выявляются в ЦСЖ и в меньшем количестве — в образце сыворотки, что также свидетельствует об интратекальном синтезе. При 4-м типе синтеза одинаковое количество олигоклональных полос выявляется в ЦСЖ и сыворотке крови. Такой тип синтеза означает системную, а не интратекальную продукцию антител с проникновением их в ЦСЖ из крови через нормальный или поврежденный гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для 5-го типа характерно определение моноклонального синтеза антител, что встречается при множественной миеломе, лимфоме ЦНС и других парапротеинемиях.

Применение метода ИЭФ в медицинской практике

В большинстве клинических исследований при РС чувствительность метода ИЭФ для выявления ОКИ превышает 90%, а специфичность, по данным разных авторов [4, 45], составляет свыше 86%. Несмотря на то что до сих пор роль ОКИ точно не ясна, их обнаружение в ЦСЖ обладает высокой корреляцией с наличием РС (70—95%) и во многих случаях помогает поставить правильный диагноз. Однако у части больных РС олигоклональные полосы не выявляются. Кроме того, выявление 2-го типа синтеза ОКИ не абсолютно специфично для РС. ОКИ в ЦСЖ могут быть выявлены в 60% случаев нейробор-

релиоза и нейросаркоидоза, 11—50% герпетического, туберкулезного и ВИЧ-энцефалитов, а также при ревматических заболеваниях (например, при системной красной волчанке) и системных васкулитах (например, синдроме Шегрена). Поэтому врач при постановке диагноза должен опираться также на данные клинической картины и результаты других исследований. Эта идея нашла отражение в критериях Poser и McDonald 2001 г. и 2005 г., в которых в качестве одного из дополнительных методов указывается анализ ЦСЖ на ОКИ [46]. Положительный анализ на ОКИ позволял смягчить МРТ-критерии диссеминации в пространстве. Согласно критериям McDonald 2010 г., такой анализ рекомендуется использовать только для диагностики первично-прогрессирующего течения РС [47].

Анализ ОКИ с помощью метода ИЭФ является распространенным и наиболее изученным способом лабораторной диагностики РС, который также обладает прогностической значимостью [48]. Изучается роль олигоклональных антител в качестве показателя, предсказывающего риск перехода КИС в РС. По данным проспективных исследований пациентов с КИС, в случае обнаружения ОКИ в ЦСЖ риск такого перехода существенно возрастает [48]. Дополнительным фактором, усиливающим этот риск, является обнаружение очагов демиелинизации на МРТ, характерное для РС, причем при наличии обоих факторов риск значительно выше, чем при наличии только одного из них или при их отсутствии [49]. Обнаруженные с помощью метода ИЭФ ОКИ являются прогностическим фактором более ранней инвалидизации: так, время достижения 4 и 6 баллов по шкале EDSS у ОКИ-позитивных пациентов меньше, чем у ОКИ-негативных [50].

Интересной особенностью ОКИ является то, что однажды выявленные при ИЭФ эти антитела не исчезают с течением заболевания даже под воздействием иммуносупрессивной терапии. Не оказывают эффекта даже те методы, в основе которых лежит прямое воздействие на В-клетки, например лечение ритуксимабом (мабтера). Существуют спорные данные о конверсии пациентов после терапии натализумабом (тизабри) из ОКИ-позитивных в ОКИ-негативные [51], которые опровергаются данными других исследователей [52]. Метод аутологичной трансплантации стволовых клеток (АТСК) также не влияет на интратекальный синтез ОКИ [53]. Несмотря на химиотерапию, предшествующую трансплантации, синтез ОКИ за ГЭБ сохраняется так же, как и при воздействии других биопрепаратов. Данный факт не опровергает эффективность методики АТСК [54], однако наводит на мысль, что при сохранении островков третичной лимфоидной ткани за ГЭБ эффект от проводимой АТСК может быть неполным. Потенциальным методом, позволяющим повлиять непосредственно на забарьерный синтез

ОКИ, является метод интратекального введения биопрепаратов, влияющих на иммунные клетки. Такие методики в настоящий момент исследуются [38].

Упомянутая нами MRZ-реакция, представляющая собой определение титра олигоклональных антител против трех нейротропных вирусов, не получила широкого распространения для диагностики РС. В то же время определение MRZ-антител может являться более специфичным инструментом диагностики РС, чем определение олигоклональных полос [55]. Положительная MRZ-реакция определяется при выявлении повышенного индекса активности антител против двух и более вирусов. Существуют данные, что MRZ-реакция встречалась статистически значимо чаще среди пациентов с КИС, который трансформировался через 2 года в достоверный РС. Сочетание положительных анализов на ОКИ и положительная MRZ-реакция при наличии 2 и более очагов на МРТ обладали наибольшей диагностической ценностью положительного результата, чем сочетания других маркеров [55]. Интересным может показаться тот факт, что положительная MRZ-реакция может выявляться в отсутствие ОКИ у $\frac{1}{3}$ пациентов с рецидивирующе-ремиттирующим РС и у $\frac{2}{3}$ ОКИ-отрицательных пациентов с вторично- и первично-прогрессирующими формами [56]. Использование MRZ-реакции для диагностики сложных случаев среди ОКИ-отрицательных пациентов могло бы упростить постановку окончательного диагноза РС. Выявление фракции ОКИ, направленной против вируса кори, достоверно связано с наличием большего числа очагов демиелинизации в Т2-режиме [57].

ОКИ класса IgM являются прогностическим маркером заболевания, также они отмечаются при более агрессивном течении РС. Вероятность конверсии КИС в достоверный РС при наличии интратекального синтеза IgM-антител в течение первого года заболевания составляет 90% [58]. При 5-летнем наблюдении обострения РС чаще случались среди пациентов с интратекальным синтезом олигоклональных IgM [58]. Выявление ОКИ класса IgM, специфичных к липидным структурам миелина, связано с более коротким временным промежутком между

первым и вторым обострениями, а также большей степенью инвалидизации, оцененной по шкале EDSS. Терапия интерфероном- β не оказывала выраженного терапевтического эффекта на пациентов с ОКИ класса IgM. В этой группе сохранялась относительно высокая частота обострений, которая значительно отличалась от таковой в группе пациентов, отрицательных по ОКИ класса IgM, направленных против липидных структур [39]. Полученные данные свидетельствуют о связи ОКИ класса IgM с более тяжелым течением заболевания, большей частотой обострений и более высокой инвалидизацией пациентов.

Заключение

В заключение следует сказать, что ОКИ являются продуктом иммунного ответа на ряд белковых и небелковых антигенов ЦНС. Имеются данные, подтверждающие участие ОКИ в патогенезе заболевания. Выявление ОКИ класса IgG на сегодняшний день представляет собой основной диагностический и прогностический биомаркер РС при иммунологической лабораторной диагностике РС. Метод ИЭФ, применяемый для выявления ОКИ, обладает высокой чувствительностью и специфичностью, однако выявляемый при этом патологический тип синтеза встречается и при других хронических воспалительных заболеваниях с вовлечением ЦНС. Поэтому анализ ЦСЖ на ОКИ класса IgG следует рассценивать как дополнительный метод диагностики РС, что отражают критерии McDonald пересмотра 2010 г. [47]. Другие лабораторные маркеры, такие как MRZ-реакция и определение ОКИ класса IgM, имеют ограниченное использование в клинической практике. Развитие новых технологий оценки местных и системных иммунных реакций, происходящих с участием В-клеток у пациентов с КИС и РС, а также другими воспалительными заболеваниями, должно пролить новый свет на роль ОКИ и открыть путь к более специфичным методам диагностики РС.

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ России при финансовой поддержке Российского Научного Фонда.

ЛИТЕРАТУРА

- Lucchinetti CF, Hohlfeld R. *Multiple Sclerosis three*. IV. Series: Blue books of neurology; 35. Saunders. 2010;6:122-124.
- Бойко А.Н., Смирнова Н.Ф., Золотова С.Н., Гусев Е.И. Эпидемиология и этиология рассеянного склероза. *Consilium Medicum*. 2008;10:7:5-8.
- Freedman M, Thompson E, Deisenhammer F et al. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Arch Neurol*. 2005;62(6). doi:10.1001/archneur.62.6.865.
- Лапин С.В., Евдошенко Е.П. Лабораторные методы диагностики рассеянного склероза и других неврологических заболеваний. *Справочник заведующего КДЛ*. 2011;1:22-32.
- Meinl E, Krumbholz M, Hohlfeld R. B lineage cells in the inflammatory central nervous system environment: Migration, maintenance, local antibody production, and therapeutic modulation. *Annals of Neurology*. 2006;59(6):880-892. doi:10.1002/ana.20890.
- Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F. Detection of Ectopic B-cell Follicles with Germinal Centers in the Meninges of Patients

- with Secondary Progressive Multiple Sclerosis. *Brain Pathology*. 2004;14(2):164-174.
doi:10.1111/j.1750-3639.2004.tb00049.x.
7. Owens G, Bennett J, Gilden D, Burgoon M. The B cell response in multiple sclerosis. *Neurological Research*. 2006;28(3):236-244.
doi:10.1179/016164106x98099.
 8. Чехонин В.П., Семенова А.В., Турина О.И., Дмитриева Т.Б. Миелин-олигодендритный гликопротеин: строение, функции, роль в патогенезе демиелинизирующих заболеваний. *Биомедицинская химия*. 2003;49:5:411-423.
 9. Демина Т.В., Давыдовская М.В., Хачанова Н.В., Попова Н.Ф., Гусев Е.И. Рассеянный склероз: патогенез, диагностика, дифференциальный диагноз и лечение. *Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2008;1:84-90.
 10. Owens G, Bennett J, Lassmann H, O'Connor K, Ritchie A, Shearer A, Lam C, Yu X, Birlea M, DuPree C, Williamson R, Hafler D, Burgoon M, Gilden D. Antibodies produced by clonally expanded plasma cells in multiple sclerosis cerebrospinal fluid. *Annals of Neurology*. 2009;65(6):639-649.
doi: 10.1002/ana.21641.
 11. Menge T, Lalive P, von Büdingen H, Genain C. Conformational epitopes of myelin oligodendrocyte glycoprotein are targets of potentially pathogenic antibody responses in multiple sclerosis. *Journal of Neuroinflammation*. 2011;8(1):161.
doi:10.1186/1742-2094-8-161.
 12. Menge T, von Büdingen H, Lalive P, Genain C. Relevant antibody subsets against MOG recognize conformational epitopes exclusively exposed in solid-phase ELISA. *European Journal of Immunology*. 2007;37(11):3229-3239.
doi:10.1002/eji.200737249.
 13. Klawiter E, Piccio L, Lyons J, Mikesell R, O'Connor K, Cross A. Elevated intrathecal myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2010;67(9).
doi:10.1001/archneur.2010.197.
 14. Tomassini V, De Giglio L, Reindl M et al. Anti-myelin antibodies predict the clinical outcome after a first episode suggestive of MS. *Multiple Sclerosis*. 2007;13(9):1086-1094.
doi:10.1177/1352458507077622.
 15. Kuhle J, Pohl C, Mehling M et al. Lack of association between antimyelin antibodies and progression to multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(4):371-378.
doi:10.1056/nejmoa063602.
 16. Levin CM. Autoantibodies to non-myelin antigens as contributors to the pathogenesis of multiple sclerosis. *J Clin Cell Immunol*. 2013;04(03).
doi:10.4172/2155-9899.1000148.
 17. Ousman S, Tomooka B, Van Noort J et al. Protective and therapeutic role for α b-crystallin in autoimmune demyelination. *Clinical Immunology*. 2007;123:139.
doi:10.1016/j.clim.2007.03.034.
 18. Owens G, Gilden D, Burgoon M, Yu X, Bennett J. Viruses and multiple sclerosis. *The Neuroscientist*. 2011;17(6):659-676.
doi:10.1177/1073858411386615.
 19. Farrell R, Antony D, Wall G et al. Humoral immune response to EBV in multiple sclerosis is associated with disease activity on MRI. *Neurology*. 2009;73(1):32-38.
doi:10.1212/wnl.0b013e3181aa29fe.
 20. Füst G. The role of the Epstein—Barr virus in the pathogenesis of some autoimmune disorders — similarities and differences. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2011;1(4):267-278.
doi:10.1556/eujmi.1.2011.4.2.
 21. Sundstrom P, Juto P, Wadell G et al. An altered immune response to Epstein—Barr virus in multiple sclerosis: A prospective study. *Neurology*. 2004;62(12):2277-2282.
doi:10.1212/01.wnl.0000130496.51156.d7.
 22. Levin L. Temporal relationship between elevation of Epstein—Barr virus antibody titers and initial onset of neurological symptoms in multiple sclerosis. *JAMA*. 2005;293(20):2496.
doi:10.1001/jama.293.20.2496.
 23. DeLorenze G, Munger K, Lennette E, Orentreich N, Vogelman J, Ascherio A. Epstein—Barr virus and multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2006;63(6):839.
doi:10.1001/archneur.63.6.noc50328.
 24. Thacker E, Mirzaei F, Ascherio A. Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: A meta-analysis. *Annals of Neurology*. 2006;59(3):499-503.
doi:10.1002/ana.20820.
 25. Nielsen T, Rostgaard K, Nielsen N et al. Multiple sclerosis after infectious mononucleosis. *Arch Neurol*. 2007;64(1):72.
doi:10.1001/archneur.64.1.72.
 26. Esposito M et al. Human transaldolase and crossreactive viral epitopes identified by autoantibodies of multiple sclerosis patients. *J Immunol*. 1999;163(7):4027-4032.
 27. Lunemann J, Kamradt T, Martin R, Munz C. Epstein—Barr virus: environmental trigger of multiple sclerosis? *Journal of Virology*. 2007;81(13):6777-6784.
doi:10.1128/jvi.00153-07.
 28. Lang H, Jacobsen H, Ikemizu S et al. A functional and structural basis for TCR cross-reactivity in multiple sclerosis. *Nature Immunology*. 2002;3(10):940-943.
doi:10.1038/ni835.
 29. Meier U, Giovannoni G, Tzartos J, Khan G. Translational Mini-Review Series on B cell subsets in disease. B cells in multiple sclerosis: drivers of disease pathogenesis and Trojan horse for Epstein—Barr virus entry to the central nervous system? *Clinical & Experimental Immunology*. 2011;167(1):1-6.
doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04446.x.
 30. Reiber H, Ungefehr S, Jacobi C. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*. 1998;4(3):111-117.
doi:10.1177/135245859800400304.
 31. Felgenhauer K, Reiber H. The diagnostic significance of antibody specificity indices in multiple sclerosis and herpes virus induced diseases of the nervous system. *Clin Investig*. 1992;70(1):28-37.
doi:10.1007/bf00422934.
 32. Sindic C, Monteyne P, Laterre E. The intrathecal synthesis of virus-specific oligoclonal IgG in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 1994;54(1-2):75-80.
doi:10.1016/0165-5728(94)90233-x.
 33. Frederiksen J, Sindic C. Intrathecal synthesis of virus-specific oligoclonal IgG, and of free kappa and free lambda oligoclonal bands in acute monosymptomatic optic neuritis. Comparison with brain MRI. *Multiple Sclerosis*. 1998;4(1):22-26.
doi:10.1191/135245898678909213.
 34. Jarius S, Eichhorn P, Jacobi C, Wildemann B, Wick M, Voltz R. The intrathecal, polyspecific antiviral immune response: Specific for MS or a general marker of CNS autoimmunity? *Journal of the Neurological Sciences*. 2009;280(1-2):98-100.
doi:10.1016/j.jns.2008.08.002.
 35. Jarius S, Franciotta D, Bergamaschi R et al. Polyspecific, antiviral immune response distinguishes multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2008;79(10):1134-1136.
doi:10.1136/jnnp.2007.133330.
 36. Robinson-Agramonte M, Reiber H, Cabrera-Gomez J, Galvizu R. Intrathecal polyspecific immune response to neurotropic viruses in multiple sclerosis: a comparative report from Cuban patients. *Acta Neurologica Scandinavica*. 2007;115(5):312-318.
doi:10.1111/j.1600-0404.2006.00755.x.
 37. Brecht I, Weissbrich B, Braun J, Toyka K, Weishaupt A, Buttmann M. Intrathecal, polyspecific antiviral immune response in oligoclonal band negative multiple sclerosis. *PLoS ONE*. 2012; 7(7):e40431.
doi:10.1371/journal.pone.0040431.
 38. Bonnan M. Does disease-irrelevant intrathecal synthesis in multiple sclerosis make sense in the light of tertiary lymphoid organs? *Frontiers in Neurology*. 2014;5.
doi:10.3389/fneur.2014.00027.
 39. Villar L, Sádaba M, Roldán E et al. Intrathecal synthesis of oligoclonal IgM against myelin lipids predicts an aggressive disease course in MS. *Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(1):187-194.
doi:10.1172/jci200522833.
 40. Kabat E, Moore D, Landow H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins. *Journal of Clinical Investigation*. 1942; 21(5):571-577.
doi:10.1172/jci101335.

41. Frick E, Scheid-Seydel L. Untersuchungen mit J131-markiertem Globulin zur Frage der Abstammung der Liquoreiweissk. *Klin Wochenschr.* 1958;36(18):857-863.
doi:10.1007/bf01485232.
42. Laterre EC. Agar gel electrophoresis of cerebrospinalfluid proteins. Semiology of the γ -zone. *Acta Neurol Psychiatr Belg.* 1966;66:289-304.
43. Keir G, Luxton R, Thompson E. Isoelectric focusing of cerebrospinal fluid immunoglobulin G: An annotated update. *Annals of Clinical Biochemistry: An international journal of biochemistry and laboratory medicine.* 1990;27(5):436-443.
doi:10.1177/000456329002700504.
44. Holmoy T. The discovery of oligoclonal bands: a 50-year anniversary. *European Neurology.* 2009;62(5):311-315.
doi:10.1159/000235944.
45. Bourahoui A, de Seze J, Gutierrez R et al. CSF isoelectrofocusing in a large cohort of MS and other neurological diseases. *Eur J Neurol.* 2004;11(8):525-529.
doi:10.1111/j.1468-1331.2004.00822.x.
46. Polman C, Reingold S, Edan G et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the «McDonald Criteria». *Annals of Neurology.* 2005;58(6):840-846.
doi:10.1002/ana.20703.
47. Polman C, Reingold S, Banwell B et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Annals of Neurology.* 2011;69(2):292-302.
doi:10.1002/ana.22366.
48. Tintore M, Rovira A, Rio J et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology.* 2007;70:13:2:1079-1083.
doi:10.1212/01.wnl.0000280576.73609.c6.
49. Rojas J, Patrucco L, Cristiano E. Erratum to: Oligoclonal bands and MRI in clinically isolated syndromes: predicting conversion time to multiple sclerosis. *Journal of Neurology.* 2010;257(7):1231-1231.
doi:10.1007/s00415-010-5561-0.
50. Joseph F, Hirst C, Pickersgill T, Ben-Shlomo Y, Robertson N, Scolding N. CSF oligoclonal band status informs prognosis in multiple sclerosis: a case control study of 100 patients. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2009;80(3):292-296.
doi:10.1136/jnnp.2008.150896.
51. von Glehn F, Farias A, de Oliveira A et al. Disappearance of cerebrospinal fluid oligoclonal bands after natalizumab treatment of multiple sclerosis patients. *Multiple Sclerosis Journal.* 2011;18(7):1038-1041.
doi:10.1177/1352458511428465.
52. Stark J, Koffler D, Sadiq S. Persistence of Cerebrospinal Fluid Oligoclonal Bands after Natalizumab Treatment in Multiple Sclerosis Patients. *Neurology.* 2013;80:1:05.187.
53. Mancardi G, Saccardi R. Autologous haematopoietic stem-cell transplantation in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology.* 2008;7(7):626-636.
doi:10.1016/s1474-4422(08)70138-8.
54. Rogojan C, Frederiksen J. Hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis. *Acta Neurologica Scandinavica.* 2009;120(6):371-382.
doi:10.1111/j.1600-0404.2009.01168.x.
55. Brettschneider J, Tumani H, Kiechle U et al. IgG Antibodies against Measles, Rubella, and Varicella Zoster Virus Predict Conversion to Multiple Sclerosis in Clinically Isolated Syndrome. *PLoS ONE.* 2009;4(11):7638.
doi:10.1371/journal.pone.0007638.
56. Brecht I, Weissbrich B, Braun J, Toyka K, Weishaupt A, Buttmann M. Intrathecal, polyspecific antiviral immune response in oligoclonal band negative multiple sclerosis. *PLoS ONE.* 2012;7(7):40431.
doi:10.1371/journal.pone.0040431.
57. Rosche B, Laurent S, Conradi S, Hofmann J, Ruprecht K, Harms L. Measles IgG antibody index correlates with T2 lesion load on MRI in patients with early multiple sclerosis. *PLoS ONE.* 2012;7(1):28094.
doi:10.1371/journal.pone.0028094.
58. Villar L, Masjuan J, Gonzalez-Porque P et al. Intrathecal IgM synthesis predicts the onset of new relapses and a worse disease course in MS. *Neurology.* 2002;59(4):555-559.
doi:10.1212/wnl.59.4.555.