

Влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза

Д.С. КОРОБКО^{1*}, Н.А. МАЛКОВА^{1,2,3}, Е.В. БУЛАТОВА¹, Л.А. БАБЕНКО^{1,3}, Д.В. САЗОНОВ³,
Е.А. СОКОЛОВА⁴, М.Л. ФИЛИПЕНКО⁴

¹Областной центр рассеянного склероза и других аутоиммунных заболеваний нервной системы, Государственная новосибирская областная клиническая больница; ²кафедра клинической неврологии и алгологии факультета повышения квалификации и переподготовки врачей Новосибирского государственного медицинского университета; ³кабинет клинических исследований рассеянного склероза, Сибирский окружной медицинский центр ФМБА России; ⁴группа фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск

The effect of genetic factors on the phenotypic expression of multiple sclerosis

D.S. KOROBKO, N.A. MALKOVA, E.V. BULATOVA, L.A. BABENKO, D.V. SAZONOV, E.A. SOKOLOVA, M.L. FILIPENKO

Regional Center of Multiple Sclerosis and Autoimmune Diseases of Nervous System, Novosibirsk; Novosibirsk Regional Hospital, Novosibirsk; Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk; Department of Clinical Investigations of Multiple Siberian Regional Medical Center; Group of Farmacogenomics, Institute of Chemical and Foundamental Medical, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

Обследовали 326 пациентов с рассеянным склерозом (РС). Диагноз ставился в соответствии с критериями McDonald (2005). С использованием технологии TaqMan генотипированы полиморфизмы rs6074022, rs1883832, rs1535045 и rs11086998 (ген *CD40*), rs10492972 (*KIF1B*) и rs3135388. Выявлены значимые ассоциации генотипов rs1883832 гена *CD40* (риск-аллель Т, OR=1,74, 95%ДИ 1,34—2,32, $p=2,96 \cdot 10^{-7}$) и rs3135388 (риск-аллель Т, OR=3,23, 95%ДИ 2,43—4,29, $p=3,8 \cdot 10^{-17}$) с развитием РС у жителей Новосибирской области. Установлено достоверное влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию РС: аллель С полиморфизма rs6074022 (*CD40*) ассоциирован с более высокой скоростью прогрессирования, а генотип ТТ полиморфизма rs1535045 гена *CD40* сопряжен с более медленным прогрессированием РС и ранней манифестацией заболевания. Семейные случаи РС отличаются от спорадических случаев более мягким, доброкачественным течением и большей частотой аллеля Т полиморфизма rs3135388 (44% против 33%, $p=0,003$). Сделан вывод о необходимости дальнейших специальных исследований, в том числе семейных случаев заболевания.

Ключевые слова: рассеянный склероз, факторы риска, ген *CD40*, ген *KIF1B*, rs3135388, скорость прогрессирования болезни, MSSS.

A total of 326 patients with multiple sclerosis (MS) according to the McDonald criteria (2005) were recruited to the study. Single nucleotide polymorphisms in the *CD40* gene (rs6074022, rs1883832, rs1535045 and rs11086998) and the *KIF1B* gene (rs10492972 and rs3135388) were genotyped using TaqMan technology. We found a significant association of rs1883832 (risk allele T, OR=1.74, 95% CI 1.34—2.32, $p=2.96 \cdot 10^{-7}$) and rs3135388 (risk allele T, OR=3.23, 95% CI 2.43—4.29, $p=3.8 \cdot 10^{-17}$) with the risk of MS in the Novosibirsk region population. The study demonstrated a significant effect of genetic factors on phenotypic expression of MS: an C allele of rs6074022 polymorphism (*CD40*) was associated with a higher rate of MS progression, and the TT genotype of rs1535045 was associated with a slower progression of MS and early MS onset. A more benign course and a higher frequency of an T allele of rs3135388 (44% vs 33%, $p=0.003$) was found in familial cases compared to sporadic cases. The further specific research is needed for understanding the genetic basis of susceptibility to MS.

Key words: multiple sclerosis, risk factors, gene *CD40*, *KIF1B*, rs3135388, progression index, MSSS.

Существующие на сегодняшний день данные позволяют определить рассеянный склероз (РС) как полигенное мультифакториальное заболевание, подверженность к которому определяется сочетанием вариантов генов, взаимодействующих с различными факторами окружающей среды [1, 2, 14]. При этом генетические факторы могут влиять на фенотипическую экспрессию РС. В семьях больных женщины болеют в 5—6 раз чаще мужчин [1]. В парах сиблингов больных РС прослеживается умеренная,

но значимая конкордантность по клиническому течению заболевания [20, 39, 40, 44].

Использование подхода «ген-кандидат» позволяет выявить ассоциации генов не только с заболеванием в целом [15], но и с различными его характеристиками. Обсуждается роль полиморфизмов генов в развитии различных типов течения РС, скорости прогрессирования, интенсивности воспалительной реакции и других важных клинико-патогенетических особенностей РС [2, 5, 7, 8, 15].

Наиболее активно изучалась ассоциация между клиническим течением РС и полиморфизмом генов системы HLA [41]. Однако в этой области были получены противоречивые результаты. Первоначально L. Barcellos и соавт. [10] не было найдено никакого влияния гаплотипа DR2 на течение заболевания, затем ими [11] было отмечено, что носительство DR2 ассоциируется с более тяжелым течением РС. Но позднее на большой американско-европейской когорте больных они [12] не смогли эти данные подтвердить. Другая группа авторов [31] с учетом данных МР-спектроскопии и МРТ показала, что аллель HLA-DRB1*15 влияет на тяжесть заболевания. Было также установлено [13], что носительство аллеля HLA-DRB1*01 отмечается реже при злокачественных формах РС по сравнению с его мягкими вариантами. Большой интерес представляют данные о том, что протективный эффект HLA-DRB1*01 проявляется на значимом уровне только тогда, когда другая хромосома несет аллель HLA-DRB1*15 [35].

В отличие от ситуации с генами системы HLA исследования ассоциаций других генов-кандидатов с клиническим течением РС немногочисленны. Есть отдельные работы [3, 6—8, 18], в которых были выявлены значимые ассоциации с фенотипическими проявлениями, прежде всего, по генам, продукты которых участвуют в развитии иммунного ответа — гены цитокинов, ко-стимулирующих молекул, хемокинов [5] и их рецепторов. Однако и здесь были получены противоречивые результаты и сделаны неоднозначные заключения [9, 23, 34, 36, 42].

Цель настоящего исследования — изучение роли полиморфизмов системы генов цитокинов в патогенезе РС. В задачи исследования входило: изучить полиморфизмы rs6074022, rs1883832, rs1535045 и rs11086998 гена *CD40*, а также двух полиморфизмов, не относящихся к генам цитокинов rs10492972 (*KIF1B*) и rs3135388; уточнить предварительные данные по ассоциациям отдельных генотипов со скоростью прогрессирования, характером течения РС и клиническими характеристиками заболевания; оценить вклад генетических факторов в формирование своеобразной клинической картины РС на примере семейных случаев; оценить прогностическое значение выявленных ассоциаций для больных РС.

Материал и методы

В исследование были включены 326 больных РС. Диагноз во всех случаях ставился в соответствии с критериями McDonald (2005) [33]. Обследованные были русскими по национальности и проживали в Новосибирске и Новосибирской области. Исследование было одобрено этическими комитетами Государственной новосибирской областной клинической больницы и Новосибирского государственного медицинского университета. Для участия в исследовании у всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

В контрольную группу вошли 575 проживающих в Новосибирске человек, 203 мужчины и 372 женщины (средний возраст — $33,6 \pm 10,9$ года), без воспалительных заболеваний центральной нервной системы. Группа контроля соответствовала по полу и национальному составу группе больных РС.

Все пациенты прошли стандартное клиническое обследование (тщательный сбор анамнеза, включая семейный, физикальный и неврологический осмотр), МРТ на высокопольном томографе, молекулярно-генетическое исследование. На каждого участника заполнялась специально разработанная анкета, включающая демографические данные (возраст, пол, национальность), медицинскую информацию (возраст дебюта, длительность заболевания, скорость прогрессирования, тип течения, сопутствующие аутоиммунные заболевания) и генетический статус (наличие родственников с РС или другими аутоиммунными заболеваниями).

В группе больных отмечалось преобладание женщин в соотношении 1:1,9 (112 мужчин и 214 женщин). Медиана возраста составила 35 лет. Начало заболевания определялось по времени появления первых симптомов. Средняя длительность заболевания составила $8,98 \pm 8,70$ года. Медиана возраста дебюта РС составила 26 лет (min — 9, max — 51). Длительность первой ремиссии в среднем — 16 мес (min — 1, max — 300). За последний год до включения в программу наблюдения каждый больной перенес в среднем одно обострение (среднее значение $1,01 \pm 0,73$). Среднегодовое количество обострений было рассчитано ретроспективно на основании медицинских документов и со слов пациента в подгруппе с ремиттирующим течением РС. За временной интервал для анализа выбраны первые 10 лет заболевания. Среднегодовая частота обострений в указанной подгруппе составила $0,82 \pm 0,62$.

Тип течения РС определялся в соответствии с международной классификацией, предложенной F. Lublin и S. Reingold [28]. У большинства (69%) больных этой группы был диагностирован ремиттирующий характер течения РС (РРС). Вторично-прогрессирующее течение (ВПРС) наблюдалось у 22% пациентов, ремиттирующе-прогредиентное (РППРС) и первично-прогредиентное (ППРС) — по 3%. У 3% пациентов, включенных в исследуемую группу, заболевание находилось на стадии клинически изолированного синдрома (КИС) с высоким риском развития РС.

Для объективизации клинической картины заболевания использовалась оценка функциональных систем (FS) по Куртцке и расширенная шкала инвалидизации по Куртцке — EDSS (Expanded Disability Status Scale) [27].

Для оценки быстроты нарастания неврологического дефицита (т.е. прогрессирования РС) исполь-

зовались 2 параметра: балл по шкале тяжести РС (MSSS, Multiple Sclerosis Severity Score) [38] и скорость прогрессирования, определяемая путем соотношения степени тяжести в баллах шкалы EDSS к длительности заболевания в годах [4, 43]. Ключевой принцип MSSS — корректировка единичного балла по шкале инвалидизации отдельного пациента путем сравнения с распределением значений баллов EDSS у пациентов с аналогичной продолжительностью болезни. В рамках сотрудничества 16 различных исследовательских групп на основе обследования 9892 пациентов была создана база данных (таблица Global MSSS) и разработан простой частотно-ранговый алгоритм для получения балла MSSS. Все пациенты со средним уровнем инвалидизации для своей продолжительности болезни будут иметь балл MSSS около 5. Соответственно больные с ускоренными темпами прогрессирования получают более высокие значения этого индекса. Для расчета баллов MSSS нами использовалась специально разработанная программа MSSStest (версия 3.0, 2007), реализующая основные принципы метода, описанного R. Roxburgh и соавт. [38].

В табл. 1 приведена обобщенная характеристика больных РС и группы контроля.

Молекулярно-генетическое исследование проводилось на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН. Были исследованы 6 полиморфизмов: *CD40* (rs6074022, rs1883832, rs1535045 и rs11086998), rs10492972 (*KIF1B*), rs3135388 (генетический маркер носительства аллеля HLA-DRB1*15). Все изученные варианты являются однонуклеотидными заменами (SNP, от англ. Single nucleotide polymorphism). Интерес именно к этим генам не случаен, поскольку во многих исследованиях показана роль кодируемых ими белков в патогенезе РС.

ДНК выделяли из 3—5 мл венозной крови с использованием стандартной процедуры, включающей выделение и лизис клеток крови, гидролиз бел-

ков протеиназой K, очистку ДНК от примесей путем экстракции смесью фенола с хлороформом и осаждение ДНК этанолом [24]. Генотипирование проводилось с использованием технологии TaqMan. Амплификация проводилась с помощью амплификатора iCycler iQ5 («Bio-Rad», США).

Статистический анализ полученных результатов осуществлялся на Intel-совместимом персональном компьютере с использованием статистических программ Statistica for Windows 8.0 («StatSoft, Inc») и языка программирования R (version 2.11.0, www.r-project.org). Различия в возрасте пациентов анализировали с помощью U-критерия Манна—Уитни. В качестве нулевой гипотезы принималась гипотеза об отсутствии различий в группах. Корреляционный анализ данных проведен с помощью определения коэффициента корреляции Пирсона.

Для выявления ассоциации возраста начала, длительности заболевания, EDSS и средней скорости прогрессирования с генотипом использовали линейный регрессионный анализ (функция «glm» языка программирования R). Тесты на соблюдение равновесия Харди—Вайнберга и выявление ассоциаций генотипа с развитием заболевания проводили методом χ^2 с помощью программы DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, Германия) [21]. Рассчитывались отношения шансов (OR, odds ratio) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Нулевыми гипотезами являлись соответствие распределению Харди—Вайнберга и отсутствие ассоциаций (OR=1).

Для выявления ассоциаций темпов прогрессирования по баллу MSSS с генотипом и определения достоверности различий медиан нескольких подгрупп рассчитывался H-критерий Краскела—Уоллиса (Kruskal—Wallis test) с помощью программы MSSStest. Для сравнений двух групп генотипов применялся идентичный тесту Краскела—Уоллиса U-критерий Манна—Уитни. Пациенты с длительностью заболевания менее 1 года были исключены

Таблица 1. Характеристики больных РС и группы контроля

Показатель	Группа РС	Контрольная группа
Общее число пациентов	326	575
Возраст, годы	36,3±10,4	33,6±10,9
Пол (мужчины:женщины)	1:1,90	1:1,83
Возраст дебюта, годы	26 [21; 33]	—
EDSS, баллы	3,01±1,76	—
Длительность заболевания, годы	8,98±8,7	—
Длительность первой ремиссии, мес*	16 (9; 48)	—
КИС/РПРС/ППРС/ВПРС/РРС	9/9/11/73/224	—
Скорость прогрессирования, балл/год*	0,35 [0,2; 0,61]	—
MSSS*	3,90 [2,1; 6,1]	—
Среднегодовая частота обострений	0,82±0,62	—
Наличие родственников с РС, %	25 (7,7%)	—

Примечание. Сравнение больных РС и группы контроля по возрасту выполняли методом Манна—Уитни. *Данные приведены в формате: Медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль].

из данного анализа, так как на основании EDSS оценки в 1-й год болезни нельзя адекватно спрогнозировать дальнейшую скорость прогрессирования заболевания.

Для всех видов статистического анализа различия считались статистически достоверными при достижении уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В группе больных РС преобладали пациенты с легкой и умеренной степенью инвалидизации, на что указывает средний показатель EDSS $3,01 \pm 1,76$ балла (min 1, max 8,5). Показатели темпов нарастания инвалидизации также указывают на среднюю скорость прогрессирования РС у большинства больных. Медиана балла MSSS составила 3,90 [2,1; 6,1], скорости прогрессирования — 0,55 балла в год [0,2; 0,6], при этом у 30% пациентов скорость прогрессирования составила менее 0,25 балла в год, у 46% больных — от 0,25 до 0,75 балла и у 24% — была выше 0,75 балла в год.

На основании данных литературы для исследования были выбраны 4 полиморфизма гена *CD40*: rs6074022 T→C; rs1883832 C→T; rs1535045 C→T; rs11086996 C→G. Частоты аллелей всех четырех полиморфных локусов приведены в табл. 2. Были изучены также еще 2 полиморфизма — rs10492972 (ген *KIF1B*) и rs3135388. Распределение генотипов всех изученных полиморфизмов соответствовало закону Харди—Вайнберга в группе больных РС и группе контроля (HWE $p > 0,05$).

В табл. 3 представлено распределение пациентов с РС и лиц из контрольной группы по генотипам всех исследованных полиморфизмов.

Выявлены статистически значимые ассоциации двух полиморфных локусов с развитием РС: rs3135388 (риск-аллель T, OR=3,23, 95%ДИ 2,43—4,29, $p=3,8 \cdot 10^{-17}$) и rs1883832 (ген *CD40*, для аллели T OR=1,74, 95%ДИ 1,34—2,32, $p=2,96 \cdot 10^{-7}$). Т.е. гомозиготы, имеющие генотип TT по полиморфизмам rs3135388 и rs1883832, имеют наиболее высокие риски развития РС в представленной когорте (OR=7,84, 95%ДИ 3,19—19,27, $p=1,9 \cdot 10^{-7}$ и OR=3,31, 95%ДИ 2,012—5,452, $p=1,02 \cdot 10^{-6}$ соответственно). Эти варианты генов можно считать генетическими факторами риска развития РС в новосибирской популяции. Для других трех полиморфных локусов статистически значимых различий частоты встречаемости генотипов между группой больных РС и контрольной не выявлено (см. табл. 3).

В исследованной когорте больных не отмечается достоверной ассоциации полиморфного локуса rs6074022 гена *CD40* с развитием РС, что согласуется с данными, полученными на популяции Алтайского края. Такое противоречие с результатами некоторых исследований [7, 16] может объясняться как генетической гетерогенностью набранных пациентов и недостаточно высоким для такого рода исследований числом больных, чтобы преодолеть эту гетерогенность, так и региональными особенностями РС.

Согласно результатам полногеномного исследования, полиморфный локус rs3135388 находится в сильном неравновесии по сцеплению с HLA-DRB1*15 [19]. Полученные нами результаты подтверждают, что HLA-DRB1*15 является значимым фактором риска развития РС у жителей Новосибирской области.

Изучение влияния генотипа на такие характеристики течения заболевания, как возраст дебюта,

Таблица 2. Частота генотипов в соответствии с распределением Харди—Вайнберга

Ген (SNP)	Хромосома	Группа	Число пациентов (частота, %)			Всего	HWE p
			T/T	T/C	C/C		
<i>CD40</i> rs6074022	20	РС	194 (60,3)	111 (34,4)	17 (5,3)	322	0,87
		Контроль	335 (58,3)	208 (36,1)	32 (5,6)	575	1,0
<i>CD40</i> rs1883832	20	РС	147 (45,6)	131 (40,7)	44 (13,7)	322	0,11
		Контроль	343 (59,8)	200 (34,8)	31 (5,4)	574	0,81
<i>CD40</i> rs1535045	20	РС	176 (55,3)	118 (37,1)	24 (7,5)	318	0,47
		Контроль	315 (55,1)	219 (38,3)	38 (6,6)	572	1,00
<i>CD40</i> rs11086998	20	РС	315 (96,7)	11 (3,3)	0 (0)	326	1,00
		Контроль	548 (96,5)	20 (3,5)	0 (0)	568	1,00
rs10492972 (<i>KIF1B</i>)	1	РС	92 (46,2)	91 (45,7)	16 (8,1)	199	0,41
		Контроль	260 (45,5)	254 (44,4)	58 (10,1)	572	0,77
rs3135388	6	РС	145 (56,7)	94 (36,7)	17 (6,6)	256	0,74
		Контроль	468 (82,5)	92 (16,2)	7 (1,3)	567	0,32

Примечание. HWE p — уровень статистической значимости соответствия частот генотипов закону распределения Харди—Вайнберга (Hardy—Weinberg equilibrium).

Таблица 3. Частотный ассоциативный анализ исследованных полиморфных локусов

Ген	SNP	Аллель	Частота		95% ДИ	OR	<i>p</i>
			РС	контроль			
<i>CD40</i>	rs6074022	C	0,23	0,24	0,75—1,18	0,93	0,58
	rs1883832	T	0,34	0,23	1,41—2,16	1,74	2,96·10 ⁻⁷
	rs1535045	T	0,26	0,26	0,79—1,28	0,98	0,89
	rs11086996	G	0,02	0,02	0,26—1,46	0,61	0,26
<i>KIF1B</i>	rs10492972	C	0,30	0,32	0,73—1,20	0,94	0,60
	rs3135388	T	0,25	0,09	2,44—4,29	3,23	3,8·10 ⁻¹⁷

длительность первой ремиссии, частота обострений, балл по EDSS и средняя скорость прогрессирования РС, проводили с помощью линейного регрессионного анализа.

Было выявлено влияние генетических факторов на проявления РС, начиная с дебюта заболевания. Возраст манифестации РС оказался статистически значимо ниже на $1,9 \pm 0,9$ года у носителей редкого аллеля С полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B* ($p=0,04$). Этот ген расположен на коротком плече первой хромосомы в районе, где наблюдаются делеции при большинстве нейрогенных опухолей. Кодированный геном *KIF1B* белок кинезин участвует в аксональном транспорте митохондрий и синаптических везикул и, как предполагается, исходя из данных исследований на животных, может воздействовать на процесс демиелинизации/ремиелинизации [29].

В проведенной работе не выявлено ассоциации полиморфного локуса rs10492972 гена *KIF1B* с риском РС и показателями прогрессирования, и вообще вопрос о наличии такой ассоциации является очень дискуссионным [17]. В исследованиях на итальянской и греческой популяции также не выявлено влияния этого полиморфизма на риск РС и его прогрессирование [25, 30]. В метаанализе, проведенном Е.А. Кудрявцевой и соавт. [26], был показан статистически значимый ($p=0,02$) протективный эффект аллеля С полиморфизма rs10492972 в отношении риска РС. Международный консорциум по генетике РС в 2011 г. исключил данный полиморфизм из списка больших риск-факторов РС [22]. Это подчеркивает необходимость очень крупных размеров выборки, чтобы исключить ложноположительные результаты и применить соответствующие статистические методы.

Более ранний дебют (на $1,5 \pm 0,8$ года) отмечается и у носителей редкого аллеля Т полиморфизма rs1535045 гена *CD40* ($p=0,04$). Причем это согласуется с другой ассоциацией, полученной по данному полиморфизму. У гомозигот по редкому аллелю Т, т.е. у пациентов с генотипом ТТ полиморфизма rs1535045 гена *CD40*, достоверно более низкий балл MSSS — 3,32 (против 4,16 у гетерозигот и 4,41 у носителей СС), т.е. наблюдается более медленное прогрессирование РС ($p=0,04$).

Возраст больных к периоду дебюта заболевания оказался статистически значимо выше на $7,2 \pm 3,3$ года у носителей редкого аллеля G rs11086998. Возможно, этот аллель мог бы быть использован в качестве предиктора более позднего начала заболевания, а значит, более тяжелого течения. Однако это предположение требует дальнейшего изучения и уточнения. По другим клиническим параметрам статистически значимых различий не выявлено. В некоторых исследованиях также не было установлено связей полиморфизмов в гене *CD40* с показателями тяжести РС [36].

По другому полиморфизму гена *CD40* rs6074022 при анализе его связи со скоростью прогрессирования РС с помощью линейного регрессионного анализа выявлена значимая ассоциация. У носителей редкого аллеля С этого полиморфного локуса скорость прогрессирования статистически значимо выше на $0,14 \pm 0,06$ балла в год ($p=0,01$). Балл по шкале MSSS также выше у носителей генотипа СС (5,45 против 4,20 и 4,24), однако различие не достигло статистически значимого уровня ($p=0,26$). Наши результаты согласуются с данными С. Jensen и соавт. [23], которые в своей работе приводят доказательства влияния полиморфного локуса rs6074022 на показатели тяжести РС у мужчин, и российских исследований [7, 8].

На следующем этапе работы мы проанализировали подгруппу семейных случаев РС. Родственники пациентов с РС имеют в 15—50 раз более высокий риск развития РС, чем популяция в целом. Величина этого риска коррелирует со степенью родства [37].

В некоторых работах подчеркивается отличие семейных случаев РС от спорадических, что также может быть связано с наследственными факторами [1]. Другие исследователи [32] не находят отличительных черт и указывают на гетерогенность семейного РС.

Случай РС определялся как семейный при наличии у пациента как минимум одного родственника (любой степени родства) с данным заболеванием. В исследованной группе выявлены 25 больных, имеющих родственников с РС, в 23 семьях (в 68% случаев — родственники первой линии родства: мать —

дочь/сын; отец — дочь/сын; сестра—брат). Семейный риск повторяемости составил 7,0% у родственников первой, второй или третьей степени родства, общий риск повторяемости — 7,6%.

После проведенного анализа выявлено, что группа больных с семейными случаями РС статистически значимо не отличалась от остальных включенных в исследование больных РС по возрасту, длительности заболевания и уровню инвалидизации (EDSS). Однако при этом выявлены клинические особенности по другим параметрам, в том числе относящимся традиционно к прогностическим.

Возраст больных к периоду дебюта РС в группе семейных случаев оказался немного ниже по сравнению со спорадическими, однако статистически не достоверно ($23,6 \pm 9,22$ против $27,5 \pm 8,61$ года, $p=0,09$). Симптомы дебюта были различными, но при семейном РС преобладали зрительные, глазодвигательные и чувствительные нарушения (60%) и не встречались прогностически неблагоприятные тазовые расстройства, только в 1 (4%) случае первыми симптомами были мозжечковые нарушения. Достоверных различий в длительности первой ремиссии РС не выявлено ($p > 0,05$).

Показатель прогрессирования заболевания, оцененный по шкале MSSS, в подгруппе семейного РС был достоверно ниже по сравнению со спорадическими случаями (3,27 против 4,38, $p=0,03$). Причем балл MSSS коррелировал с возрастом дебюта ($r=0,49$, $p < 0,05$) и длительностью первой ремиссии ($r=-0,35$, $p < 0,05$).

У больных, имеющих родственников с РС, отмечена большая частота аллеля Т полиморфизма rs3135388 (44% против 33%, $p=0,003$). Поскольку данный полиморфный локус является генетическим маркером носительства аллеля HLA-DRB1*15 и увеличивает риск РС более чем в 3 раза, по данным нашего исследования, можно предполагать, что гаплотип HLA в определенной мере вносит вклад и в формирование своеобразного течения семейных форм заболевания. Также, возможно, аллель HLA-DRB1*15 определяет большую вероятность передачи РС последующим поколениям, т.е. появления новых семейных случаев.

На уровне тенденции отмечена немного более высокая частота аллеля Т полиморфного варианта rs1883832 гена *CD40*, однако не достигшая уровня статистической значимости.

В ходе исследования подробно изучены полиморфизмы генов нескольких групп: цитокинов (на примере гена *CD40*), не относящихся к процессам иммунного воспаления (KIF1B), и маркера носительства аллеля системы HLA. Выявлено влияние генотипов rs1883832 гена *CD40* (риск-аллель Т) и rs3135388 (риск-аллель Т).

Уточнены некоторые предварительные данные по ассоциациям отдельных генотипов со скоростью прогрессирования и клиническими характеристиками заболевания, в частности с возрастом дебюта. С помощью линейного регрессионного анализа выявлена ассоциация редкого аллеля С полиморфизма rs6074022 (*CD40*) с более высокой скоростью прогрессирования. А генотип ТТ полиморфизма rs1535045 гена *CD40* сопряжен с более медленным прогрессированием РС и ранней манифестацией заболевания, что может с определенной долей вероятности говорить о протективной роли аллеля Т.

Таким образом, в данной работе на репрезентативном клиническом материале (сибирская когорта) было подтверждено, что семейные случаи РС отличаются от спорадических более мягким, доброкачественным течением. Выявлены некоторые молекулярно-генетические и клинические особенности дебюта семейного РС.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что имеется достоверное влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию РС. Продемонстрирован вклад всех изученных полиморфизмов в развитие своеобразной клинической картины.

Данное исследование является пилотным и содержит много теоретических предположений, в связи с чем необходимы дальнейшие специальные исследования, в том числе семейных случаев. Изучение генетики семейных форм, возможно, станет еще одним шагом к пониманию патогенеза РС.

В заключение необходимо отметить, что имеющиеся в литературе противоречивые данные об ассоциации различных полиморфных локусов и клинических проявлений заболевания могут быть связаны как с небольшим числом обследованных пациентов, малой продолжительностью наблюдения и разными критериями включения пациентов в исследование, так и с региональными особенностями мест проживания пациентов. Все это делает актуальным проведение дальнейших исследований в генетически разнородных популяциях для выявления новых связанных с РС биомаркеров, которые могут быть использованы как прогностические факторы или терапевтические мишени для модуляции аутоиммунного ответа у пациентов с РС. Изучение региональных особенностей генетических факторов РС внесет свой вклад в понимание патогенеза этого комплексного и гетерогенного заболевания, будет способствовать улучшению оказания помощи больным, страдающим РС, и приближению к эре персонализированной медицины.

Работа поддержана Российской федеральной программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (2012-1.5-12-000-1002). Государственный контракт №8490.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко А.Н., Фаворова О.О., Кулакова О.Г., Гусев Е.И. Эпидемиология и этиология рассеянного склероза. В кн.: Рассеянный склероз. Под ред. Е.И. Гусева, И.А. Завалишина, А.Н. Бойко. М 2011; 7—43.
2. Бойко А.Н., Гусев Е.И. Достижения в изучении проблем рассеянного склероза (обзор). Доктор.Ру. Неврология, психиатрия 2012; 73: 5: 9—15.
3. Коробко Д.С., Кудрявцева Е.А., Малкова Н.А., Филипенко М.Л. Связь полиморфизмов генов цитокинов со скоростью прогрессирования рассеянного склероза. Выпуск 2. «Рассеянный склероз». Журн неврол и психиат 2012; 112: 2: 9—15.
4. Малкова Н.А., Иерусалимский А.П. Рассеянный склероз. Новосибирск 2006; 197.
5. Орлова Ю.Ю., Алифинова В.М., Чердынцева Н.В., Гервас П.А. Полиморфизм гена хемокинового рецептора CCR5 у больных рассеянным склерозом в Сибирском регионе. Бюллетень сибирской медицины 2006; 3: 98—104.
6. Смагина И.В., Ельчианинова С.А., Золовкина А.Г. и др. Генетические факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края. Журн неврол и психиат 2011; 111: 5: 42—45.
7. Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др. Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностей его течения в русской этнической группе. Бюллетень СО РАМН 2011; 31: 1: 113—118.
8. Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др. Влияние полиморфных локусов rs1800629 (TNFα), rs6074022 (CD40), rs187238 (IL-18), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A) на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом гендерной принадлежности в этнической группе русских. Бюллетень сибирской медицины 2011; 2: 50—56.
9. Baranzini S.E., Wang J., Gibson R.A. et al. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. Hum Mol Genet 2009; 18: 767—778.
10. Barcellos L.F., Oksenberg J.R., Green A.J. et al. Genetic basis for clinical expression in multiple sclerosis. Brain 2002; 125: 150—158.
11. Barcellos L.F., Oksenberg J.R., Begovich A.B. et al. HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. Am J Hum Genet 2003; 72: 710—716.
12. Barcellos L.F., Sawcer S., Ramsay P.P. et al. Heterogeneity at the HLA-DRB1 locus and risk for multiple sclerosis. Hum Mol Genet 2006; 15: 2813—2824.
13. DeLuca G.C., Ramagopalan S.V., Herrera B.M. et al. An extremes of outcome strategy provides evidence that multiple sclerosis severity is determined by alleles at the HLA-DRB1 locus. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104: 20896—20901.
14. Ebers G.C., Sadovnick A.D., Risch N.J. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. Nature 1995; 377: 150—151.
15. Forte G.I., Ragonese P., Salemi G., Scolio L. et al. Search for genetic factors associated with susceptibility to multiple sclerosis. Ann NY Acad Sci 2006; 1067: 264—269.
16. Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. The ANZgene Consortium. Nat Genet 2009; 41: 824—828.
17. Gourraud P.A. IMSSGC When is the absence of evidence, evidence of absence? Use of equivalence-based analyses in genetic epidemiology and a conclusion for the KIF1B rs10492972*C allelic association in multiple sclerosis. Genet Epidemiol 2011; 35: 568—571.
18. Gusev E.I., Sudomoina M.A., Boyko A.N., Deomina T.L. et al. TNF gene polymorphisms: association with multiple sclerosis susceptibility and severity. In: «Frontiers in Multiple Sclerosis: Clinical research and therapy». Chapter 5. Eds: O. Abramsky and J. Ovidia. Martin Dunitz Publishers, London 1997; 35—41.
19. Hafler D.A., Compston A., Sawcer S. et al. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. N Engl J Med 2007; 357: 851—862.
20. Hensiek A.E., Seaman S.R., Barcellos L.F. et al. Familial effects on the clinical course of multiple sclerosis. Neurology 2007; 68: 376—383.
21. <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>
22. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSSGC) et al. Lack of support for association between the KIF1B rs10492972[C] variant and multiple sclerosis. Nat Genet 2010; 42: 469—470.
23. Jensen C.J., Stankovich J., van der Walt A. et al. Multiple sclerosis susceptibility-associated SNPs do not influence disease severity measures in a cohort of Australian MS patients. PLoS One 2010; 5: 10003.
24. Johns M.B.Jr., Paulus-Thomas J.E. Purification of human genomic DNA from whole blood using sodium perchlorate in place of phenol. Anal Biochem 1989; 180: 276—278.
25. Koutsis G., Karadima G., Floroskufi P. et al. The rs10492972 KIF1B polymorphism and disease progression in Greek patients with multiple sclerosis. J Neurol 2011; 258: 1726—1728.
26. Kudryavtseva E.A., Rozhdestvenskii A.S., Kakulya A.V. et al. Polymorphic locus rs10492972 of the KIF1B gene association with multiple sclerosis in Russia: case control study. Mol Genet Metab 2011; 104: 390—394.
27. Kurtzke J. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). Neurology 1983; 33: 1444—1452.
28. Lublin F.D., Reingold S.C. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. Neurology 1996; 46: 907—911.
29. Lyons D.A., Naylor S.G., Scholze A. et al. Kif1b is essential for mRNA localization in oligodendrocytes and development of myelinated axons. Nat Genet 2009; 41: 854—858.
30. Martinelli-Boneschi F., Esposito F., Scalabrini D. et al. Lack of replication of KIF1B gene in an Italian primary progressive multiple sclerosis cohort. Eur J Neurol 2010; 17: 740—745.
31. Okuda D.T., Srinivasan R., Oksenberg J.R. et al. Genotype-Phenotype correlations in multiple sclerosis: HLA genes influence disease severity inferred by IHMR spectroscopy and MRI measures. Brain 2009; 132: 250—259.
32. Oreja-Guevara C., Manzano B., Martin N. et al. Clinical and radiological characteristics in familial multiple sclerosis. EFNS. Europ J Neurology 2011; 18: 2500.
33. Polman C.H., Reingold S.C., Edan G. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the «McDonald Criteria». Ann Neurol 2005; 58: 840—846.
34. Pravica V., Popadic D., Savic E. et al. Single nucleotide polymorphisms in multiple sclerosis: disease susceptibility and treatment response biomarkers. Immunol Res 2012; 52: 42—52.
35. Ramagopalan S.V., Morris A.P., Dymment D.A. et al. The inheritance of resistance alleles in multiple sclerosis. PLoS Genet 2007; 3: 1607—1613.
36. Ramagopalan S., DeLuca G., Morrison K. et al. Analysis of 45 candidate genes for disease modifying activity in multiple sclerosis. J Neurol 2008; 255: 1215—1219.
37. Ramagopalan S.V., Sadovnick A.D. Genetics and epidemiology of multiple sclerosis. In: Primer on multiple sclerosis. Ed: B.S. Giesser, Oxford University Press. New York 2011; 15—29.
38. Roxburgh R.H.S.R., Seaman S.R., Masterman T. et al. Multiple Sclerosis Severity Score: Using disability and disease duration to rate disease severity. Neurology 2005; 64: 1144—1151.
39. Runmarker B., Andersen O. Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. Brain 1993; 116: 117—134.
40. Sadovnick A.D., Ebers G.C., Dymment D.A., Risch N.J. and the Canadian Collaborative Study Group. Evidence for genetic basis of multiple sclerosis. Lancet 1996; 347: 1728.
41. Smestad C., Brynedal B., Jonasdottir G. et al. The impact of HLA-A and -DRB1 on age at onset, disease course and severity in Scandinavian multiple sclerosis patients. Eur J Neurol 2007; 14: 835—840.
42. van der Walt A., Stankovich J., Bahlo M. et al. Apolipoprotein genotype does not influence MS severity, cognition, or brain atrophy. Neurology 2009; 73: 1018—1025.
43. Verjans E., Theys P., Delmotte P. et al. Clinical parameters and intrathecal IgG synthesis as prognostic features in multiple sclerosis. Part I. J Neurol 1983; 229: 155—165.
44. Willer C.J., Dymment D.A., Risch N.J. et al. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 12877—12882.