

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А.ВАГНЕРА» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Арбузова Елена Евгеньевна

**ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ
KIF1B, ZFNХ4, ZFAT, STARD13 И *CIT* НА КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ
РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ПЕРМСКОМ КРАЕ**

14.01.11 – нервные болезни

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинский наук, доцент
Селянина Наталия Васильевна

Пермь – 2019

| | |
|---|----|
| Оглавление | |
| ВВЕДЕНИЕ..... | 5 |
| ГЛАВА 1. РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ, ВЫРАЖЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ОТВЕТЕ НА ЛЕЧЕНИЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА..... | 12 |
| 1.1. Современное представление об этиопатогенезе рассеянного склероза | 12 |
| 1.1.1. Современное представление о генетической предрасположенности к РС..... | 15 |
| 1.2. Значение не-HLA генов в патогенезе РС, его течении и ответе на терапию | 16 |
| 1.2.1 Функциональное значение гена <i>KIF1B</i> | 16 |
| 1.2.2. Функциональное значение генов, кодирующих белки «цинковых пальцев» | 18 |
| 1.2.2.1 Функциональное значение гена <i>ZFAT</i> | 18 |
| 1.2.2.2. Функциональное значение гена <i>ZFNХ4</i> | 19 |
| 1.2.3. Функциональное значение гена <i>CIT</i> | 20 |
| 1.2.4. Функциональное значение гена <i>STARD13</i> | 21 |
| 1.3. Характеристика ПИТРС, получаемых участниками исследования..... | 22 |
| 1.3.1. ПИТРС «первой линии». | 23 |
| 1.3.2. ПИТРС «второй линии». | 25 |
| 1.3.3. Фармакогенетические исследования эффективности ПИТРС. | 26 |
| 1.3.4. Значение анти-IFN γ антител в эффективности терапии интерферонами | 29 |
| ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. | 31 |
| 2.1. Общая характеристика наблюдений | 31 |
| 2.2. Методы оценки общеклинического, неврологического статуса, данных дополнительных методов исследования..... | 34 |
| 2.3 Лабораторные методы исследования..... | 36 |
| 2.3.1. Молекулярно-генетическое исследование | 36 |
| 2.3.2. Исследование концентрации связывающих антител к препаратам интерферона-бета | 40 |
| 2.4. Характеристика контрольной группы..... | 41 |
| 2.5. Статистические методы исследования | 42 |
| ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ..... | 47 |

| | |
|--|----|
| ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ | 56 |
| 4.1. Результаты генотипирования..... | 56 |
| 4.1.1. Результаты генотипирования по полиморфизму <i>rs10492972 (KIF1B)</i> .. | 56 |
| 4.1.2. Результаты генотипирования по полиморфизму <i>rs11787532 (ZFHX4)</i> . | 58 |
| 4.1.3. Результаты генотипирования по полиморфизму <i>rs9527281 (STARD13)</i> | 59 |
| 4.1.4. Результаты генотипирования по полиморфизму <i>rs7308076 (CIT)</i> | 61 |
| 4.1.5. Результаты генотипирования по полиморфизму <i>rs733254 (ZFAT)</i> | 63 |
| 4.2 Клинико-генетические ассоциации у больных РС | 64 |
| 4.2.1. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом <i>rs10492972 KIF1B</i> | 64 |
| 4.2.2. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом <i>rs11797532 ZFHX4</i> | 67 |
| 4.2.3. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом <i>rs9527281 STARD13</i> | 68 |
| 4.2.4. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом <i>rs7308076 CIT</i> | 70 |
| 4.2.5. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом <i>rs733254 ZFAT</i> | 71 |
| ГЛАВА 5. СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ АЛЛЕЛЕЙ НА КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РС | 74 |
| ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ У БОЛЬНЫХ РС, ПОЛУЧАЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ПИТРС | 88 |
| 6.1. Клинико-генетические ассоциации <i>rs10492972</i> гена <i>KIF1B</i> в зависимости от получаемой терапии..... | 88 |
| 6.2. Клинико-генетические ассоциации <i>rs11787532</i> гена <i>ZFHX4</i> в зависимости от получаемой терапии..... | 90 |
| 6.3. Клинико-генетические ассоциации <i>rs9527281</i> гена <i>STARD13</i> в зависимости от получаемой терапии..... | 90 |
| 6.4. Клинико-генетические ассоциации <i>rs7308076</i> гена <i>CIT</i> в зависимости от получаемой терапии..... | 94 |
| 6.5. Клинико-генетические ассоциации <i>rs733254</i> гена <i>ZFAT</i> в зависимости от получаемой терапии..... | 96 |
| 6.6. Клинико-генетические ассоциации у больных РС при лечении ПИТРС «первой линии»..... | 98 |

| | |
|--|-----|
| 6.7. Влияние связывающих антител к препаратам Интерферона-бета на эффективность терапии. | 100 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 103 |
| ВЫВОДЫ | 110 |
| ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ..... | 112 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ..... | 113 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ..... | 115 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Рассеянный склероз (РС) представляет собой демиелинизирующее и дегенеративное заболевание с преимущественным поражением центральной нервной системы, характеризующееся многообразием клинических проявлений и представляющее одну из самых распространенных причин нетрудоспособности среди молодого населения, не связанной с травмами [27]. В настоящее время в мире насчитывается более 2 млн. больных РС [13]. Заболеваемость РС варьирует в различных регионах, однако наибольшая распространенность отмечена в популяциях с преобладанием белокожего населения [27]. В Российской Федерации на сегодняшний день зарегистрировано около 200 тыс. больных, причем зоной повышенного риска заболеваемости считается Северо-Западная часть страны [13]. В России риск развития РС выше в популяциях с преобладанием русской этнической группы и других представителей славянских народов (от 25 до 70 случаев на 100 000 населения). Более низкие показатели распространенности РС регистрируют у потомков тюркских народов (чуваши, татары, башкиры) и у представителей северокавказской группы (черкесы, чеченцы, дагестанцы) [7]. Так, например, в Алтайском крае распространенность РС в 2017 году составила 56,3 случая на 100 тысяч населения [19]. А в Пермском крае по данным учетно-отчетной документации МКУЗ «Бюро медицинской статистики – информационно-аналитический центр», на 2017 год распространенность РС составляет 44,4 на 100 тыс. населения, определяя таким образом актуальный для региона средний уровень.

Патогенетически РС характеризуется хроническим аутоиммунным воспалением, демиелинизацией и аксональной дегенерацией и сопровождается прогрессирующей неврологической дисфункцией [9]. Значимую роль в патогенезе РС и его прогрессировании играет генетическая предрасположенность. РС в настоящее время считается полигенным заболеванием, но значение отдельных генов в детерминированности заболевания установлено в ряде исследований с разной степенью достоверности. Более того, в разнородных этнических группах, и даже в пределах одной этнической группы, с РС могут быть ассоциированы

полиморфные участки различных генов [4]. Основным для развития РС является ген II человеческого лейкоцитарного антигена (HLA), о чем известно уже более 40 лет [29,34,46]. Однако в многочисленных исследованиях выявлено более 200 не-HLA-однонуклеотидных полиморфизмов (Single nucleotide polymorphism-SNP) и, по крайней мере, один защитный аллель HLA [101]. Все идентифицированные до настоящего времени SNP представляют собой нормальные варианты генов (т.е. не гены заболевания). Так в ряде исследований установлена роль аллели С однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, отвечающего преимущественно за аксональный транспорт, в развитии РС [31], хотя более поздние исследования этого не подтверждают [10] или опровергают [81, 113]. Многие из не-HLA полиморфизмов расположены рядом с генами, участвующими в адаптивном или врожденном иммунитете, что говорит о том, что патогенетически РС представляет собой нарушение иммунного гомеостаза, а некоторые не-HLA-SNP могут оказывать влияние на развитие и течение заболевания. Поэтому около 20% риска наследуемости обусловлено распространенными различными генетическими вариантами, а также вносят вклад (около 5%) низкочастотные и редкие вариации кодирования [101]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных генетике РС, актуальным является дальнейшее изучение различных, в том числе генетических, факторов риска развития заболевания.

Цель – оценить роль однонуклеотидных полиморфизмов нерегулирующих иммунитет генов *KIF1B* (rs10492972 T/C), *ZFHX4* (rs11787532 C/G), *STARD13* (rs9527281 G/T), *CIT* (rs7308076 C/T), *ZFAT* (rs733254 A/C) в патогенезе рассеянного склероза и их прогностическую значимость в отношении риска прогрессирования заболевания.

Задачи:

1. Выявить ассоциации аллелей и генотипов однонуклеотидных полиморфизмов генов *KIF1B* (rs10492972 T/C), *ZFHX4* (rs11787532 C/G), *STARD13*

(rs9527281 G/T), *CIT* (rs7308076 C/T), *ZFAT* (rs733254 A/C) с риском развития рассеянного склероза;

2. Выявить ассоциации аллелей и генотипов однонуклеотидных полиморфизмов генов *KIF1B* (rs10492972 T/C), *ZFHX4* (rs11787532 C/G), *STARD13* (rs9527281 G/T), *CIT* (rs7308076 C/T), *ZFAT* (rs733254 A/C) с выраженностью клинических проявлений РС в группе больных в Пермском крае;

3. Провести множественный анализ частоты встречаемости аллелей изучаемых полиморфизмов и выявить ассоциации аллелей, связанные с риском развития РС и выраженностью его проявлений;

4. Выявить клинико-генетические ассоциации в зависимости от вида получаемой терапии;

5. Сформулировать рекомендации по использованию исследования однонуклеотидных полиморфизмов генов *KIF1B* (rs10492972 T/C), *ZFHX4* (rs11787532 C/G), *STARD13* (rs9527281 G/T), *CIT* (rs7308076 C/T), *ZFAT* (rs733254 A/C) в клинической практике.

Научная новизна. Впервые проведено клинико-генетическое исследование больных РС на территории Пермского края, выявлены ассоциации аллелей, их сочетаний, генотипов с развитием РС и выраженностью его клинических проявлений. Впервые на территории Пермского края изучены характеристики однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, и на территории РФ – характеристики полиморфизмов rs11787532 гена *ZFHX4*, rs9527281 гена *STARD13*, rs7308076 гена *CIT*, rs733254 гена *ZFAT*. Установлено достоверное преобладание аллели генотипа C/T однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 *KIF1B*, а также генотипов G/T и T/T rs9527281 *STARD13* в группе здоровых лиц, а генотипа A/C и аллели C rs733254 *ZFAT* – в группе больных РС. Аллель T rs10492972 также чаще встречалась в группе больных РС. Впервые установлено влияние сочетания аллелей изучаемых полиморфизмов T,G,T,C,A на скорость прогрессирования РС в общей выборке, а также преимущественно у лиц, получающих терапию

интерферонами-бета (справка о приоритете изобретения №2019108392 от 22.03.2019).

Практическая значимость. Полученные результаты дополняют известные данные о распространенности генотипов и аллелей изучаемых полиморфизмов; могут внести вклад в разработку персонафицированных программ генетического консультирования родственников больных РС, а также могут служить основой для разработки методики персонафицированной терапии РС, на основании чего разработан патент «Способ прогнозирования течения РС у больных, получающих препараты интерферона-бета».

Методология и методы исследования. Данная работа представляет собой аналитическое исследование (типа «случай-контроль»), включающее совокупность клинических (сбор анамнеза, неврологический осмотр больного), молекулярно-генетических (выявление однонуклеотидных полиморфизмов генов), лабораторных (определение титра связывающих антител) и статистических методов. Основными характеристиками работы являются целостность, комплексность, системность, объективность и валидность.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В популяции Пермского края выявлены ассоциации аллели Т однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, аллели Т rs9527281 (*STARD13*) и аллели С rs7308076 (*CIT*), генотипа А/С и аллели С rs733254 (*ZFAT*), а также комбинации аллелей Т, G, G, C, C полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFH4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) с риском развития РС. Генотипы С/Т полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B* и G/Т и Т/Т rs9527281 гена *STARD13* явились протективными в отношении риска развития РС.

2. Не установлено влияния генотипов полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFH4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) на выраженность клинических проявлений РС. На степень инвалидизации

и скорость прогрессирования заболевания оказали влияние аллель T rs10492972 (*KIF1B*) и аллель G rs9527281 (*STARD13*), а также аллельные комбинации C,G,G,C,C и T,G,T,C,A.

3. Степень неврологического дефицита у больных, получающих препараты интерферона-бета зависела от наличия сочетания аллелей T,G,T,C,A и T,C,G,C,A полиморфизмов rs10492972 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*), а в группе, получающих глатирамера ацетат – от сочетаний T,G,G,C,A и C,G,T,C,A.

Личный вклад соискателя в получение научных результатов, изложенных в диссертации. Личное участие автора осуществлялось на всех этапах планирования и проведения диссертационной работы: литературный информационный поиск, клиническое обследование больных, ведение первичной документации, анализ клинических, лабораторных и молекулярно-генетических данных, статистическая обработка полученной информации. С активным участием автора проведена пробоподготовка для лабораторных и молекулярно-генетических исследований, а также постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и реакции иммуноферментного анализа (ИФА). Мы выражаем искреннюю благодарность заведующему лабораторией иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» к.м.н. Кривцову А.В. и генетику Мазуниной А.А. за помощь в проведении исследования. Автором самостоятельно произведено научное обобщение результатов, сформулированы положения, выводы, подготовлены материалы к публикации и практические рекомендации.

Степень достоверности. Достоверность результатов исследования подтверждают репрезентативность выборки, научный дизайн, использование современных клинико-лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования.

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на конференциях регионального («Молодая наука –

практическому здравоохранению, г. Пермь, 2017 и 2019 гг., «Научная сессия ПГМУ», г. Пермь, 2018г.), всероссийского («Неврологические чтения», г. Пермь, 2017 и 2018 гг., II-м Всероссийском съезде неврологов и психиатров, г. Нижний Новгород, 2018г., XI-м Всероссийском съезде неврологов, г. Санкт-Петербург, 2019г., V-й Всероссийской (с международным участием) научно-практической конференции "Бехтеревские чтения-2019", г. Казань, 2019 г.) и международного (V-й конгресс Европейской академии неврологии, г. Осло, 2019г.) уровней.

Всего по материалам диссертации сделано 10 докладов, в том числе 4 – на конференциях всероссийского уровня и 1 – на конгрессе международного уровня.

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 10 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, входящих в перечень научных рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Внедрение в практику. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре неврологии и медицинской генетики и кафедре факультетской терапии №2, профпатологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России при чтении лекций и проведения практических занятий со студентами медико-профилактического и лечебного факультетов, в том числе на английском языке, а также ординаторами.

По итогам работы подготовлены методические рекомендации по генетическому исследованию больных РС, используемые в лечебно-профилактической работе Центра рассеянного склероза ГБУЗ ПК «Ордена «Знак почета» Пермская краевая клиническая больница», а также лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания

материалов и методов, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 24 отечественных и 164 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 39 таблицами, 34 рисунками.

Связь исследования с планом НИР. Работа выполнена на кафедре неврологии и медицинской генетики ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.Вагнера Минздрава России (ректор – заслуженный деятель науки, проф. И.П. Корюкина) в соответствии с планом и этическими нормами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Протокол диссертационного исследования был одобрен Комитетом по этике при ФГБОУ ВО ПГМУ им. акад. Е.А.Вагнера Минздрава России (протокол №4 от 24.04.19).

Работа выполнена с использованием средств гранта У.М.Н.И.К. №13195ГУ/2018 «Разработка модели генетической панели для персонифицированного назначения препаратов, изменяющих течение рассеянного склероза» ФГБУ «Фонд содействия инновациям».

ГЛАВА 1. РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ, ВЫРАЖЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ И ОТВЕТЕ НА ЛЕЧЕНИЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА.

1.1. Современное представление об этиопатогенезе рассеянного склероза

На сегодняшний день РС считается аутоиммунным заболеванием центральной нервной системы и представляет собой актуальную социально-экономическую проблему ввиду значительной распространенности среди трудоспособного населения и высокой вероятности инвалидизации молодых людей [54].

Этиология РС представлена совокупностью провоцирующих факторов окружающей среды [30], отдельных генов [100] и их взаимодействий с экзогенными факторами [141], а также дисрегуляцией иммунной системы.

При развитии аутоиммунной реакции, нарушении регуляции генов, участвующих, прежде всего, в функционировании адаптивного иммунитета, активация микроглии может запускать нейротоксические механизмы, такие как выработка активных форм кислорода и азота, что приводит к повреждению нейронов и нейродегенерации [56]. На протяжении всего заболевания процессы воспаления и нейродегенерации сосуществуют, но в дебюте РС преобладает воспаление, при прогрессировании – дегенерация, то есть факторы дебюта РС и его прогрессирования могут отличаться.

На сегодняшний день основными факторами риска развития РС считаются:

1. Генетические особенности. В качестве средства описания генетического разнообразия в популяциях используются полногеномные наборы однонуклеотидных полиморфизмов [20]. Однонуклеотидный полиморфизм – это изменение в структуре ДНК, различные варианты (аллели) которого существуют в нормальных условиях в некоторых популяциях, при том, что минимальная частота одной из аллелей должна составлять 1% от популяции [41].

Так при РС с большей степенью достоверности доказана связь генов HLA-комплекса и, в частности, полиморфизма гена HLA DRB15:01 с риском развития

РС [115] и его ранним дебютом [148]. Однако в многочисленных исследованиях выявлено более 200 других полиморфизмов, не-HLA-однонуклеотидных, определяющих риск развития РС [101].

2. Экзогенные факторы. Установлено, что риск развития РС может быть ассоциирован с недостаточностью витамина D у матери при беременности, а также в период младенчества [132, 137]. Тот факт, что распространенность РС растет с увеличением расстояния от экватора, привел к гипотезе о том, что меньшее воздействие ультрафиолетового излучения и, как следствие, более низкий статус витамина D увеличивает риск развития РС. Высокая широта местности и короткое время летнего пребывания на солнце в подростковом возрасте были связаны с более молодым возрастом дебюта [119, 170].

Фактор питания все чаще рассматривается для разработки профилактических мер в отношении РС. Ряд исследований показывает протективное воздействие полиненасыщенных жирных кислот в отношении РС [32, 38, 95]. Нарушение микробиоты кишечника, играющей роль в реализации иммунного ответа, также является потенциальным фактором риска развития РС, однако данный вопрос требует дальнейшего изучения [35, 128].

Табакокурение некоторыми авторами [89, 147] рассматривается как фактор возникновения РС с четкой зависимостью риска от дозы. Это может быть связано с неспецифическим раздражением легочной ткани и возникновении локального воспаления. Исследования по влиянию загрязнения воздуха на развитие РС дают неоднозначные результаты, но указывают на то, что длительное воздействие загрязненного воздуха связано с повреждением ГЭБ и нейровоспалением [94, 142]. Более того, воздействие вдыхаемых органических растворителей может быть фактором риска при наличии аллели HLA DRB1*15:01, и отсутствии HLA A * 02 [90]. У некурящих лиц, имеющих носительство аллели HLA DRB1*15:01 и не имеющих HLA A*02, риск развития РС меньше, чем у курящих (OR=5 против OR=14) [91].

3. Вирусные инфекции. В частности, установлено влияние вируса Эпштейн-Барр (EBV) на развитие РС путем возможного изменения в транскрипции генов в

EBV-инфицированных астроцитах, микроглии и В-клетках [87]. EBV кодирует микроРНК (miRNAs), которые в большом количестве присутствуют в инфицированных клетках. MiRNAs в свою очередь ингибируют экспрессию вирусных антигенов, позволяя инфицированным клеткам уклоняться от иммунной системы хозяина. MiRNAs EBV препятствуют презентации антигена и активации иммунных клеток, таким образом подавляя противовирусный иммунитет хозяина. Сообщалось о взаимодействии Эпштейн-Барр ядерного антигена (EBNA) и HLA-A02 [169]. В исследовании S.Agostini показано, что у серопозитивных по EBV лиц, вирусная нагрузка EBV была самой низкой при наличии аллели HLA-A*A02, и самой высокой – при наличии HLA-B*07 [26].

4. Эпигенетические факторы. Эпигенетика относится к наследуемым изменениям вне последовательности ДНК, которые могут влиять на активность тех или иных генов. При РС настоящий вопрос изучен на сегодняшний день недостаточно. Метилирование ДНК, вероятно, как один из трех основных эпигенетических процессов, и aberrантное метилирование в областях регулирующих иммунный ответ генов, может лежать в основе развития РС [164].

Исследования в отношении изучения факторов прогрессирования РС затруднены тем, что довольно сложно выявить четкие прогностические критерии ввиду постепенного, многолетнего нарастания степени неврологического дефицита. Считается, что активность заболевания (частота рецидивов и появление новых очагов на МРТ) отражает воспалительные процессы, тогда как прогрессирование заболевания (нарастание инвалидизации и степени атрофии головного мозга) – дегенеративные [171]. В исследовании M.George et al., с участием более 7000 больных РС, не было установлено связи генов со степенью инвалидизации [77]. Единичные исследования сообщают о связи некоторых генетических вариантов и прогрессирования заболевания. Так, работа Y.Zhou et al. [188] демонстрирует связь генотипов С/Т+Т/Т полиморфизма rs12959006 гена MBP (основного белка миелина) с риском рецидивов и нарастанием степени инвалидизации в течение года. Аллель А rs9897526 и аллель Т rs5848 гена, кодирующего програнулин (GRN) ассоциированы с более тяжелым течением РС

(OR=1,886, $p = 0,002$; OR=1,580, $p = 0,019$ соответственно) [176]. Однако данные этих исследований еще не воспроизведены на других выборках. Гены, кодирующие метаболизм витамина D, влияют не только на концентрацию его основного метаболита 25OHD, но и на частоту рецидивов РС [120, 121].

Беременность не ухудшает долгосрочный прогноз, несмотря на повышенный риск рецидивов в послеродовом периоде [42, 98, 105], однако неизвестно влияние факта беременности и грудного вскармливания на исход РС.

В единичных исследованиях рассматриваются как возможные факторы риска прогрессирования РС влияние диеты, наличие ожирения, пребывание в условиях воздушного загрязнения [104, 110, 145, 183].

1.1.1. Современное представление о генетической предрасположенности к РС

Установлено, что в патогенезе РС значительную роль играет наследственная предрасположенность [37], наиболее часто проявляющаяся среди родственников первой линии родства одного поколения [181].

Метаанализ O’Gorman et al. [139] выявил более 500 исследований, посвященных семейным случаям заболеваемости РС, причем наивысший риск РС отмечался в северных странах [66, 102]. При этом авторы отмечают, что достоверность метаанализа может ставиться под сомнение ввиду различий в методологии сбора данных.

По данным международного консорциума по генетике РС, несмотря на то, что в многочисленных полногеномных поисках ассоциаций (genome-wide association studies – GWAS), посвященных полигенным заболеваниям, выявлены локусы, ассоциированные с определенным фенотипом, они не могут полностью объяснить всю полноту наследуемых признаков. Возможно, это связано с тем, что некоторые генетические варианты дают эпистатические (неаддитивные) взаимодействия, так что они несут больший риск в комбинации с другими генами, чем каждый из них в отдельности. Так, для РС установлено значимое взаимодействие локусов HLA генов: HLA-DQA1 * 01: 01 и HLA-DRB1 * 15: 01, а

также HLA-DQB1 * 03: 01 и HLA-DQB1 * 03: 02 [131]. Однако не определено, что эпистатические взаимодействия локусов HLA генов или отдельные мутации являются основным фактором риска РС. Вероятно, некоторые генетические варианты, присутствующие в популяции с низкой частотой, могут нести индивидуальный риск развития РС.

В мета-анализе, проведенном консорциумом по генетике РС, определена обратная сильная корреляция между величиной эффекта и частотой минорной аллели ряда генов, причем более редкие аллели оказывали большее влияние. Обнаружена значительная связь низкочастотных полиморфизмов генов, участвующих в адаптивном иммунитете: GALC (rs11552556), TYK2 (rs34536443), PRF1 (rs35947132), PRKRA (rs61999302), PRKRA (rs62176112), NLRP8 (rs61734100), HDAC7 (rs148755202) (частота минорной аллели <5%) с риском развития РС [100]. То есть данное исследование показывает, что даже низкочастотные генетические изменения могут являться факторами риска возникновения РС.

Таким образом, РС представляет собой сложное мультифакторное заболевание, где значительную роль играет наследственность, формируемая сотнями генетических вариантов, но каждый из которых определяет лишь небольшую долю риска развития заболевания [157].

1.2. Значение не-HLA генов в патогенезе РС, его течении и ответе на терапию

В проводимых исследованиях выявлено более 200 полиморфизмов генов, не относящихся к HLA комплексу, которые могут влиять на развитие РС и его прогрессирование [101]. В настоящем исследовании рассматриваются однонуклеотидные полиморфизмы генов *KIF1B* (rs10492972), *ZFHX4* (rs11787532), *STARD13* (rs9527281), *CIT* (rs7308076), *ZFAT* (rs733254)

1.2.1 Функциональное значение гена *KIF1B*

Основной функцией гена члена семейства кинезинов *KIF1B* (Kinesin family member 1B), кодирующего одноименный белок, является транспорт синаптических везикул и митохондрий [22, 123]. Белок также принимает участие в процессе

апоптоза, возможно, способствует миелинизации нервных волокон путем влияния на работу олигодендроцитов [123]. В исследовании *in vivo* на мышях установлено, что дефицит или ингибирование активности белка KIF1B приводит к нарушению эмбрионального развития, а также распределения митохондрий и дефициту АТФ [110]. Ген *KIF1B* регулирует аксональный рост и, совместно с KIF1B-связывающим белком, способствует антеградному нейрональному транспорту модификатора микротрубочек SCG10 [63].

Полиморфизм гена *KIF1B* rs10492972 в различных исследованиях показал противоречивые данные в отношении участия в патогенезе РС. В первом исследовании данного полиморфизма, проведенном под руководством Y.S.Aulchenko [31], установлено влияние вариантной аллели С на развитие РС с отношением шансов 1,35 ($p = 2,5 \times 10^{-10}$). Однако Международным генетическим консорциумом по проблемам РС отмечено отсутствие данной клинико-генетической связи, более того, показана противоположная тенденция [81]. В российском исследовании, проведенном на территории Якутии и республики Саха, не установлено влияния аллелей или генотипов на развитие РС, однако теми же авторами определена протективная роль аллели С в отношении развития РС (OR 0,95 CI 95% 0,9-0,99, $p=0,02$) [113]. В исследовании Коробко Д.С. и др. при генотипировании полиморфизмов гена *KIF1B* установлена связь аллели Т rs3135388 (OR = 3,23, 95% CI 2,43-4,29, $p = 3,8 \cdot 10^{-17}$) с риском развития РС в популяции Новосибирской области. Та же аллель чаще обнаруживалась у больных РС при семейных случаях заболевания. Связи полиморфизма rs10492972 с развитием РС или его прогрессированием не отмечалось [10].

В итальянской когорте также не обнаружено достоверных ассоциаций аллели С rs10492972 с развитием и прогрессированием заболевания у больных с первично прогрессирующим и рецидивирующе-ремиттирующим РС [124].

В исследовании Stuart M. Fell et al. установлено, что белок KIF1B β (изоформа белка KIF1B [159]), кодируемый также геном *KIF1B*, но при альтернативном сплайсинге [187], необходим для нейрональной дифференцировки, зависимой от действия нейротрофических факторов. Мутации гена *KIF1B*, нарушают транспорт

тропомииозин-рецепторной киназы А (TrkA), что показано на модели нейробластомы у мышей. Экспрессия факторов нейрональной дифференцировки угнетается как в нейробластоме мыши, так и в нейробластомах человека, со сниженной экспрессией *KIF1B* и дефицитом одноименного белка. Кроме того, мутации гена *KIF1B* препятствуют нейрональному транспорту, способствуя появлению нейробластом и нейродегенерации [73]. У лиц с нейроэндокринными опухолями 65 выявленных мутаций гена *KIF1B* встречаются в 19% случаев [71].

Полиморфизм rs1740199 гена *KIF1B* в ряде исследований [47, 186] показал достоверную связь с развитием гепатоцеллюлярной карциномы, однако проведенный метаанализ данную связь не подтвердил [169]. Некоторые исследования показывают вовлеченность гена *KIF1B* в процесс инвазии клеток рака желудка [62], в также злокачественных глиальных опухолей [49]. Повышение экспрессии данного гена было ассоциировано с большей степенью злокачественности [49]. Генотипы А/Г, G/G полиморфизма rs17401966 были связаны с меньшим риском рака яичников у женщин из восточного Китая (OR=0,81, 95% CI 0,68-0,97) [162].

Таким образом ген *KIF1B*, экспрессируемый преимущественно в нервной ткани, имеет значение в развитии патологии других органов и систем.

1.2.2. Функциональное значение генов, кодирующих белки «цинковых пальцев»

Мутации генов, кодирующие белки «цинковых пальцев» могут приводить к снижению способности одноименных белков связывать ДНК и/или цинк, и повышать риск развития РС. Белки «цинковых пальцев» (zinc finger proteins) – одна из основных групп ДНК-связывающих белков, действующих как регуляторы транскрипции, важные для процессов дифференцировки, апоптоза и выживания клеток [117].

1.2.2.1 Функциональное значение гена *ZFAT*

Ген *ZFAT* (zinc finger gene in AITD susceptibility region) изначально был идентифицирован, как ген предрасположенности к развитию аутоиммунного

тиреоидита [163] и некоторые его полиморфизмы ассоциированы также с тяжестью данного заболевания [99]. Ряд экспериментальных исследований показал, что у мышей дефицит белка ZFAT приводит к ингибированию дифференцировки Т-клеток и дисбалансу CD4+, CD8+ лимфоцитов [61], что имеет место и при рассеянном склерозе [2]. Кодированный белок ZFAT локализуется в ядре клеток всех млекопитающих и экспрессируется в тимусе, селезенке и лимфатических узлах. Белок выполняет функцию критического регулятора транскрипции в В и Т-лимфоцитах [111].

Помимо указанной функции, белок ZFAT является значимым для гемопоэза ввиду участия в регуляции транскрипционных факторов, а также для ангиогенеза, играя роль в формировании эндотелиальных клеток. Нокаут гена *ZFAT* индуцировал апоптоз эмбриональных фибробластов мыши и клеточной линии Т-лимфоцитов MOLT-4 [59]. Белок также показал значимость в отношении эритропоэза [60]. Дисрегуляция мишеней белка ZFAT может иметь значение для развития злокачественных заболеваний гемопоэза [174].

Генотип С/С и аллель С полиморфизма rs1036819 в когорте женщин г.Сындзянь (Китай) оказался ассоциирован с пролапсом тазовых органов по рецессивной модели наследования (OR = 10,286, 95% CI 1,158-91,386, p = 0,036 для генотипа СС; OR = 2,212, 95% CI 1,146-4,269, p = 0,02 для аллели С) [25].

1.2.2.2. Функциональное значение гена *ZFNХ4*

Ген *ZFNХ4* (Zinc Finger Homeobox), кодирующий одноименный белок, участвует в дифференцировке нейрональной [50] и мышечной ткани, экспрессируется в мозге, печени и мышцах взрослого человека [92]. Мутация этого гена ассоциирована с развитием опухолевых заболеваний, в том числе глиобластом [50]. Исследование на примере китайской популяции показало, что мутации гена *ZFNХ4* ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при развитии плоскоклеточного рака пищевода [152]. Аллель G rs28727938 ассоциирована с риском возникновения базально-клеточной карциномы (OR = 0,70, 95% CI 0,63 - 0,77, p = $3,5 \times 10^{-12}$) [167], в том числе в китайской популяции [122].

Кодируемый белок также принимает участие в развитии нервной системы, на что указывает исследование Else Eising et al., где показано значение мутаций гена *ZFHX4* связанных с нарушением развития функциональной системы речи [68]; а микроделеция в участке кодирования этого гена ассоциирована с умственной отсталостью [143] и аномалией Петерса [85].

Полиморфизм rs28376707 *ZFHX4* ассоциирован с уровнем нейтрофилов у афроамериканцев с серповидно-клеточной анемией [158].

Вероятно, мутация в локусе гена *ZFHX4* связана с развитием наследственного врожденного птоза [134].

В полногеномном поиске ассоциаций Manuel Comabella et al. показано, что полиморфизмы генов *ZFAT* (rs733254) и *ZFHX4* (rs11787532) ассоциированы с положительным ответом на терапию препаратами интерферона-бета у больных РС [52]. В другом исследовании, проведенном на основе данного полногеномного поиска, установлено влияние полиморфизма rs733254 *ZFAT* на развитие рассеянного склероза у женщин. Аллель G при этой замене определена как фактор риска развития РС [39].

1.2.3. Функциональное значение гена CIT

Ген *CIT* (citron rho-interacting serine/threonine kinase) кодирует цитронкиназу – участника деления и дифференцировки клеток, которая представлена в двух формах: N и K [37]. Цитронкиназа совместно с белками члена семейства кинезинов, в частности, KIF14, локализуется в центральной части веретена и способствует эффективному цитокинезу; играет роль в развитии центральной нервной системы [83]. В экспериментальных работах белок KIF14 был определен как фактор развития врожденных пороков ЦНС и дефекта миелинизации нервных волокон [75]. Однако достоверных данных о влиянии цитронкиназы на процессы миелинизации не получено. Снижение экспрессии белка *CIT* приводит к нарушению цитокинеза, и достоверно ассоциировано с развитием аутосомно-рецессивной первичной микроцефалии [33, 86, 160], что также показано для белка KIF14 [129]. Установлены ассоциации некоторых однонуклеотидных

полиморфизмов гена *CIT* с развитием шизофрении и биполярного расстройства [136].

Аберрантная экспрессия гена *CIT* может быть ассоциирована с развитием рака желудка, его прогрессированием и метастазированием [172]. Белок цитронкиназа-К (CIT-K) сверхэкспрессируется в тканях рака молочной железы, и связан с прогрессирующей стадией опухоли. Нокдаун экспрессии CIT-K уменьшал пролиферацию клеток молочной железы и способствовал апоптозу опухолевых клеток, а также ингибировал миграцию клеток рака молочной железы и их способность к инвазии [126].

Научных данных в отношении влияния данного гена на развитие или течение рассеянного склероза в настоящее время недостаточно. В полногеномном поиске ассоциаций полиморфизм rs7308076 также показал положительный ответ на терапию интерферонами-бета [52], что не нашло подтверждения в другом исследовании [39].

1.2.4. Функциональное значение гена STARD13

Ген *STARD13* (StAR Related Lipid Transfer Domain Containing 13) кодирует одноименный белок, N-конец которого отвечает за взаимодействие белков и связывание АТФ, С-конец содержит STAR- связанный домен переноса липидов (START). Белок участвует в реорганизации цитоскелета и пролиферации клеток и может действовать как супрессор некоторых опухолевых процессов [133]. Так в исследовании H.Zhang установлено, что пациенты с более высоким уровнем экспрессии белка *STARD13* имели лучшую выживаемость при гепатоцеллюлярной карциноме [185]. Белок *STARD13* также подавляет развитие астроцитомы [69, 135], метастазирование рака молочной железы посредством ингибирования эпителиально-мезенхимального перехода [84], а также сверхэкспрессия данного белка подавляет пролиферацию и инвазию опухолевых клеток при раке простаты и при остеосаркоме [48]. Исследование A.Nasrallah показало, что избыточная экспрессия *STARD13* приводит к уменьшению пролиферации раковых клеток в толстой кишке [135].

По данным полногеномных поисков ассоциаций у больных РС полиморфизм rs9527281 оказал положительное влияние на течение заболевания у лиц, получающих препараты интерферона-бета [52]. В исследовании S. Bourguiba-Nachemi, где также изучалось влияние полиморфизма на эффективность терапии интерферонами-бета, не установлено достоверной связи генотипа с показателями клинического статуса [39].

С учетом того, что у ряда полиморфных маркеров установлена положительная связь с эффективностью ПИТРС, показанная лишь в одном полногеномном поиске ассоциаций, данный аспект требует уточняющих исследований для разработки персонифицированного подхода к назначению терапии.

1.3. Характеристика ПИТРС, получаемых участниками исследования.

Препараты, изменяющие течение РС, условно разделяются на три группы: ПИТРС «первой линии», «второй линии» [6] и ПИТРС «третьей линии» [3].

Препараты «первой линии» назначаются сразу после установки диагноза ремиттирующего РС с учетом противопоказаний и включают такие препараты, как интерферон бета-1b, интерферон бета-1a (для п/к и в/м введения), глатирамера ацетат, диметилфумарат, терифлуноמיד.

Препараты «второй линии» назначаются при отсутствии эффекта от лечения ПИТРС «первой линии» или как препараты выбора при агрессивном и высоко активном течении РС. К этой группе относятся натализумаб, финголимод, алемтузумаб, митоксантрон, окрелизумаб [6].

В настоящем исследовании принимали участия пациенты, получающие преимущественно интерферон-бета 1a (Ребиф®, Генфаксон®, Синновекс®), интерферон-бета 1b (Бетаферон®, Инфибета®, Экставиа®, Интерферон-бета 1b®), глатирамера ацетат (Копаксон®, Аксоглатиран®), натализумаб (Тизабри®), митоксантрон (Митоксантрон®). Девять человек получали финголимод (Гилениа®) и терифлуноמיד (Абаджио®), которые объединены в статистическую группу «другие ПИТРС».

Препараты «третьей линии», включающей внутривенные иммуноглобулины, сильные иммуносупрессоры, аутологичную пересадку стволовых кроветворных клеток костного мозга и экспериментальные методы лечения [3], пациенты в настоящем исследовании не получали.

1.3.1. ПИТРС «первой линии».

Интерфероны-бета1a и интерфероны-бета1b рекомендуются как препараты первого выбора для лечения ремитирующего РС (при приеме в низких дозах) и ВПРС с обострениями, при приеме высоких доз.

Препараты интерферона-бета оказывают противовоспалительное и иммуномодулирующее действие [107], замедляют скорость прогрессирования инвалидизации по шкале EDSS, влияют на частоту обострений [55]. В исследовании PRISMS установлено, что подкожное введение интерферона-бета 1a 3 раза в неделю значительно уменьшало количество рецидивов в сравнении с плацебо [150]. Подкожное введение интерферонов-бета 1a дает значительные ранние преимущества в клинических и радиологических показателях в достижении критериев NEDA [173]. Однако когортное исследование показало, что отсутствие признаков активности заболевания в течение 1 года не прогнозирует отсутствие прогрессирования инвалидности в течение 7 лет [155]. Низкодозные интерфероны достоверно слабее высокодозных интерферонов-бета. Так у пациентов, получавших плацебо или интерферон β -1a 22 мкг подкожно, выявлялись активные T2-очаги на МРТ, в сравнении с теми, кто получал интерферон β -1a подкожно 44 мкг [173].

Длительное применение интерферонов в течение 4х лет сохраняло их эффективность в сравнении с группой плацебо или группах с перекрестным лечением [149]. У части пациентов недостаточная эффективность интерферонов может быть связана с появлением нейтрализующих антител, появляющихся, как правило не ранее 6 месяцев терапии [118, 166]. Однако при переходе течения заболевания во вторично-прогрессирующее не было убедительных доказательств в

пользу благоприятного долгосрочного исхода у пациентов, принимающих интерферон-бета 1b [114].

Пегиллированный интерферон бета-1a 125 мкг, показанный при ремиттирующем РС, у пациентов, включенных в данное исследование не применялся.

Глатирамера ацетат (ГА) 20 мг подкожно ежедневно или 40 мг подкожно 3 раза в неделю показан при ремиттирующем РС. Препарат оказывает иммуномодулирующее и нейропротективное действие, приводит к подавлению аутоиммунных воспалительных реакций. Препарат индуцирует рост клона ГА-специфичных Th2-лимфоцитов, продуцирующих противовоспалительные цитокины и нейротрофические факторы [153]. ГА достоверно уменьшает частоту обострений на 34% по сравнению с плацебо [106]. Пролонгированные исследования установили влияние глатирамера ацетата на замедление прогрессирования инвалидизации по шкале EDSS, а также регистрировались достоверные позитивные изменения на MPT [53]. Согласно исследованию REGARG ГА начале лечения показывает ту же клиническую эффективность, что препараты интерферона-бета, однако отмечено, что по данным визуализации, у пациентов с ГА было больше активных T2-очагов [127].

Пероральный препарат из группы ПИТРС «первой линии» (терифлуномид) применялся у 7 человек исследуемой выборки.

Терифлуномид обладает способностью неконкурентно и обратимо ингибировать митохондриальный фермент дигидро-оротатдегидрогеназу, ключевой клеточный фермент, участвующий в синтезе пиримидина de novo, тем самым уменьшая синтез ДНК. Это оказывает цитостатическое действие на пролиферирующие В и Т лимфоциты. Терифлуномид также ингибирует активность протеинтирозинкиназы, что приводит к снижению пролиферации Т-клеток. Кроме того, терифлуномид снижает способность антигенпрезентирующих клеток активировать Т-клетки и стимулировать их активировать моноциты *in vitro* [1, 87]. Терифлуномид достоверно уменьшает частоту обострений на 36% по сравнению с плацебо, замедляет прогрессирование инвалидизации по EDSS на 32%. При

сравнении препарата с высокодозным интерфероном бета-1а подкожно достоверных отличий клинических показателей не получено, лишь показатели астении были выше у лиц, получающих интерфероны в сравнении с 7 мг терифлуномида [177].

Диметилфумарат перорально показан при ремиттирующем РС для пациентов с плохой переносимостью или субоптимальным ответом на препараты интерферонов-бета или глатирамера ацетата, но не удовлетворяющих по клиническим и радиологическим характеристикам болезни критериям для назначения ПИТРС «второй линии», или при наличии у таких пациентов противопоказаний для терапии препаратами «второй линии» [6]. Препарат оказывает противовоспалительное и иммуносупрессивное влияние, стимулирует передачу активационного сигнала через Nrf2 транскрипционный путь, влияет на активность антиоксидантной системы, защиты от оксидантного стресса. Препарат снижает частоту обострений на 51-53% и замедляет прогрессирование на 21-38% в сравнении с группой плацебо [182].

1.3.2. ПИТРС «второй линии».

Митоксантрон рекомендуется при агрессивном/быстропрогрессирующем РРС или ВПРС с обострениями, так же используется в лечении ВПРС без обострений, но с прогрессированием [79]. Препарат снижает скорость прогрессирования инвалидности на 64% и частоту обострений - на 60% [125]. Механизм действия: иммуносупрессия, нарушает синтез ДНК и РНК и сильно угнетает топоизомеразу II, вызывая снижение пролиферации клеток, угнетает пролиферацию В-клеток, Т-клеток и макрофагов и нарушает процесс представления антигенов и секрецию интерферона-гамма, ФНО-альфа и ИЛ-2 [65]. У пациентов, включенных в настоящее исследование, инфузии Митоксантрона проводились не менее, чем за 3-6 месяцев до момента участия в исследовании.

Натализумаб – гуманизированное моноклональное антитело к α 4-интегрину, антагонист α 4-интегрина, препарат разработан с учетом снижения иммуногенности и увеличения периода полувыведения, блокирует VLA-4 на

поверхности иммунной клетки, препятствует связыванию VCAM1 и CS-1 фрагмента фибронектина, что резко снижает их способность проникать через ГЭБ или в слизистые [97]. Клинический результат: снижение частоты обострений на 68% и замедление прогрессирования EDSS на 54% по сравнению с плацебо [151]. У пациентов, получающих натализумаб, отмечена меньшая частота рецидивов, особенно в группе с изначально высокой активностью заболевания [140]. В исследовании SENTINEL при добавлении наализумаба к терапии интерферонами-бета у пациентов с РППС, отмечено снижение риска прогрессирования РС на 24% в течение двухлетнего периода и снижение частоты рецидивов на 55% в год, а также уменьшение количества новых Т2-гиперинтенсивных очагов на 83% [156]. Исследование TOP показало, что у пациентов, получающих натализумаб более 4 лет, было устойчивое снижение EDSS [44].

Финголимод – модифицированное производное мириоцина, предотвращающее выход активированных Т-клеток из лимфоузлов, перераспределяет лимфоциты из циркуляции, оказывая выраженное иммуносупрессивное действие. Проникая через ГЭБ, финголимод может оказывать прямое воздействие на олигодендроциты. Достоверно снижает частоту обострений (на 52%-54%) и замедляет прогрессирование EDSS [16].

Другие препараты «второй линии» у пациентов, принимавших участие в исследовании, не использовались

1.3.3. Фармакогенетические исследования эффективности ПИТРС.

Исследования в отношении генетической предрасположенности к эффективности терапии чаще всего проводятся по методу «ген-кандидат», исходя из имеющихся данных о метаболизме препарата и генах, вероятно принимающих участия в нем.

Наиболее современным и мощным подходом к анализу ассоциаций является полногеномный поиск ассоциаций – GWAS (Genome-wide association study), но он требует выборок в сотни или тысячи индивидов и обязательной репликации ассоциаций на других популяциях [138]. На сегодняшний день в базе

полногеномных поисков ассоциаций (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>) зарегистрировано 11 исследований, посвященных влиянию генов на эффективность терапии интерферонами-бета и одно, посвященное фармакогенетике глатирамера ацетата.

Исследований, посвященных влиянию генов на эффективность терапии натализумабом, митоксантроном, финголимодом, а также диметилфумаратом и терифлуномидом не зарегистрировано.

В исследованиях выявлен ряд полиморфных участков генов, влияющих на ответ к терапии интерферонами. Наибольшее значение для эффективности терапии представляют гены, ответственные за иммунный противовирусный ответ: *ADAR*, *IFNAR2*, *NOS2*, *OAS3*, а также установлена связь X-сцепленного гена *GRIA3* с реакцией на терапию интерферонами-бета [52]. Во второй фазе того же исследования определены аллели и генотипы полиморфизмов генов *CIT*, *ZFAT*, *ZFHX4*, *STARD13*, статистически значимо влияющие на терапию интерферонами. Проведенный анализ множественной встречаемости аллелей не выявил статистически значимых результатов в отношении ответа на терапию.

В исследовании E.Wuyn выявлено 19 однонуклеотидных полиморфизмов, оказывающих влияние на интерферонотерапию [45].

F.Esposito установил влияние снижения экспрессии гена *SLC9A9* и аллели G rs9828519 на увеличение обострений на фоне терапии интерферонами. Нокдаун этого гена в Т-клетках *in vitro* приводит к увеличению экспрессии интерферона гамма, который является провоспалительной молекулой. Ген *SLC9A9* также может влиять на дифференцировку Т-клеток и может влиять на активность РС и вне лечения интерферонами-бета [70].

Исследование D.Buck определило влияние полиморфизмов генов HLA системы (*HLA-DRB1*04:01*, *HLA-DRB1*07:01*) на уровень нейтрализующих антител к препаратам интерферона-бета [43].

В других работах, посвященных влиянию генов на выработку нейтрализующих антител, идентифицированы полиморфизмы rs9722105 (входящий в систему HLA) и rs4961252 (не входит в систему HLA), а также

ассоциация этих полиморфизмов ($p=0.0006258$), демонстрирующие значительную связь с развитием противоинтерфероновых антител [179]. В исследовании F.Ciarelli, направленном на долгосрочное (более 4 лет) наблюдение пациентов, получающих интерфероны, установлено снижение экспрессии генов NINJ2 и TBXAS1 при терапии интерферонами-бета. Аллель А rs4726460 (TBXAS1) оказался связан с более благоприятным течением РС на фоне терапии. Обнаружено также влияние генов глутаматергической системы GRM3 и GRIK2 [51].

Полногеномный поиск, посвященный терапии глатирамера ацетатом [154], выявил влияние генов UVRAG (rs80191572), HLA-DQB2 (rs28724893), MBP (rs1789084) и ZAK (rs139890339) на эффективность терапии. Однако результаты данного единичного исследования требуют дальнейшего подтверждения.

Исследования в отношении терапии Митоксантроном и Натализумабом на сегодняшний день проводятся лишь по методу «ген-кандидат». Так, в исследовании S.Cotte [57] установлена роль генов ABC-транспортеров в эффективности Митоксантрона у лиц с РППС и ВППС, но более позднее исследование Grey Née Cotte S [82] не подтвердило надежность этих фармакогенетических маркеров.

Исследование фармакогенетических маркеров эффективности натализумаба представлено единичными исследованиями по методу «ген-кандидат». Так, работа A. Alexoudi показала значение полиморфных участков генов NQO1 и GSTP1 в эффективности терапии [28].

Систематический обзор фармакогенетических исследований, проведенный под руководством К. Ношеваг, обобщил данные 48 оригинальных исследований. Определено отсутствие совпадений в результатах полногеномных поисков, что отражает различия исследуемых групп по этнической принадлежности, а также платформам генотипирования. Однако предполагается, что генетическая изменчивость может значительно способствовать ответу на лечение при РС. Авторы видят необходимость в дополнительных исследованиях на различных этнических группах, а также необходимость в выявлении не только отдельных значимых полиморфизмов, но также и их комбинаций. Кроме того, большинство

собранных исследований (94%) были проведены на пациентах, получавших интерферон-бета или глатирамера ацетат. Отсутствие фармакогеномных исследований, проведенных на одобренных в последние годы лекарствах, таких как диметилфумарат, терифлуномид, ограничивает внедрение персонализированной медицины в клиническую практику [96].

1.3.4. Значение анти-IFN β антител в эффективности терапии интерферонами

Эффективность препаратов интерферона обусловлена, вероятно высокой экспрессией генов интерферонового ответа [12] и появлением антител, ингибирующих фармакологическое действие препарата.

Выработка антител против лекарственных препаратов была описана при лечении такими препаратами, как инсулин [74], фактор VIII [40], ботулотоксин-А [78]. Антитела против интерферона описаны еще в 1981 году [175]. Синтез антител связан с иммуногенностью препарата, то есть способностью вызывать иммунный ответ против него [72].

Различают два типа антител: связывающие и нейтрализующие [166]. Нейтрализующие антитела связываются с биологическим агентом, предотвращая его взаимодействие с рецептором, тем самым ингибируя или нейтрализуя биологическое действие препарата. Связывающие антитела существенно не влияют на действие молекулы, однако могут менять период полувыведения молекулы вещества [64].

Причины, по которым у одних лиц развиваются только связывающие антитела, а у других – связывающие и нейтрализующие, на сегодняшний день неясны. Как правило, наличие нейтрализующих антител коррелирует с высокими концентрациями связывающих антител [103].

Однако высокие концентрации связывающих антител могут изменять фармакодинамику и фармакокинетику препаратов Интерферона- β , а также предсказывать снижение клинической эффективности проводимого лечения [12].

Терапевтическая эффективность интерферонов может уменьшаться в присутствии нейтрализующих антител, которые формируются у 13-42% пациентов [166]. Связывающие антитела могут встречаться у 50-80% больных [64]. Связывающие и нейтрализующие антитела могут быть обнаружены, как правило, через 6–18 месяцев [166].

В исследовании различных препаратов нейтрализующие антитела встречались у 5-80% больных. Так, у пациентов, получающих интерферон-бета 1a в виде препаратов Ребиф® и Авонекс®, у 24,4-55% больных через 2 года терапии были обнаружены связывающие антитела [180]. В исследованиях PRISMS и SPRCTRIMS отмечено преобладание антител-положительных лиц в группе, принимающих низкодозные интерфероны, в сравнении с высокодозными [166]. В исследовании больных РС, получающих Синновекс в Иране, отмечено появление нейтрализующих антител в 3 случаях из 45 [161]. Связывающие антитела обнаруживались у 5-30% лиц, получающих Авонекс, 25-45% - Ребиф, 50-80% - Бетаферон [108, 130, 144].

Ряд исследований показывает, что высокая концентрация противоинтерфероновых антител коррелирует с более высокой частотой рецидивов, активностью поражения на МРТ, а также более высокой скоростью прогрессирования РС [67].

Детекция связывающих антител может проводиться методами прямого и связанного иммуноферментного анализа, вестерн-блот [77], а также афинной хроматографии и радиоиммунной преципитации [166]. Титр нейтрализующих антител определяется с использованием культивируемых, чувствительных к интерферону, клеточных линий [12]. Стандартизированных тест-систем для определения нейтрализующих антител в настоящее время нет, однако существуют референсные значения, отраженные в международных рекомендациях [146].

Таким образом, несмотря на большое количество исследований, посвященных генетике РС, актуальным является дальнейшее изучение генетической предрасположенности к заболеванию, а также воспроизведение результатов полногеномных поисков ассоциаций на различных популяциях.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Работа выполнена на базе кафедры неврологии и медицинской генетики ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, клинической базой явился центр рассеянного склероза, а также неврологическое отделение ГБУЗ ПК «Ордена «Знак Почета» Пермская краевая клиническая больница»; генетический и иммунологический анализ осуществлен в лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

2.1. Общая характеристика наблюдений

Проведено простое одномоментное исследование по типу «случай-контроль» 206 пациентов с установленным диагнозом G35. – Рассеянный склероз (согласно критериям McDonald, 2010) в возрасте от 18 до 70 лет (средний возраст составил 39,0 [32,0; 48,0] лет). Среди обследованных было 70 мужчин и 136 женщин. Исследование включало один визит, в ходе которого проводился сбор и анализ жалоб, анамнеза, неврологический осмотр, заполнение специализированных шкал оценки выраженности клинических проявлений, забор крови для лабораторных исследований.

Критериями включения явились: русская этническая принадлежность, рецидивирующе-ремиттирующий и вторично прогрессирующий тип течения РС, длительность РС не менее 6 месяцев с момента первых симптомов, добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Пациент исключался из исследования при наличии другого демиелинизирующего заболевания нервной системы, не соответствии критериям McDonald, 2010, при наличии первично-прогрессирующий типа течения РС, если время от момента первых симптомов до момента исследования составило менее 6 месяцев; при наличии сопутствующих онкологических заболеваний, дегенеративных заболеваний ЦНС, беременности; при отказе пациента от участия в исследовании.

Пациенты с первично-прогрессирующим течением РС не включались в исследование ввиду невысокой частоты его встречаемости – от 1,5 до 10,9% [7, 13], генетических особенностей [17], а также ограниченными возможностями его

терапии. Единственным зарегистрированным препаратом для лечения данного типа течения РС на сегодняшний день является Окрелизумаб [14], опыт применения которого в Пермском крае ограничен клиническими исследованиями.

Наличие сопутствующих заболеваний устанавливалось методом сбора анамнеза, а также в ходе анализа имеющейся медицинской документации.

Группу контроля составили 80 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу, возрасту, этнической принадлежности (русские), территории проживания (Пермский край) без неврологического дефицита, не имеющих родственников с диагнозом РС.

Исследования были проведены с соблюдением международных стандартов и биоэтических норм, в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», принятой в 1964 г., с учетом поправки 52-й сессии Генеральной Ассамблеи в Эдинбурге, в октябре 2000 г. [76]. Протокол исследования и форма информированного согласия были одобрены Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России.

По типу течения РС пациенты распределились следующим образом: 83,98% (n=173 человека) имели рецидивирующе-ремиттирующий тип течения, у 16,02% (n=33 человека) установлен вторично-прогрессирующий тип РС (Рисунок 1).

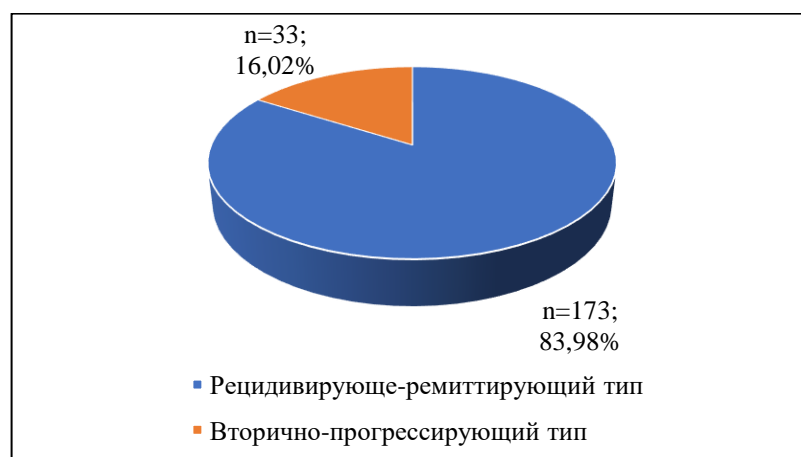


Рисунок 1. Распределение больных по типу течения рассеянного склероза, n, %

Возраст дебюта РС варьировал от 11 до 57 лет. Медиана возраста дебюта составила 28 [22; 35] года, без значимой разницы в группах, выделенных по полу.

Длительность РС с момента первых симптомов отмечалась в пределах от 6 месяцев до 38 лет, составляя в среднем 10 [6;14] лет.

По виду получаемой терапии (Рисунок 2) участники исследования были распределены следующим образом: 116 человек (56,31%) получали инъекции препаратов интерферона-бета1а и интерферона-бета1b в виде препаратов Ребиф®, Генфаксон®, Синновекс®, Бетаферон®, Инфибета®, Экставия®, Интерферон-бета 1b®, 35 человек (16,99%) – глатирамера ацетат, преимущественно в виде препарата Аксоглатиран®, 28 человек (13,59%) – Натализумаб (Тизабри®), 9 человек (4,37%) получали другие ПИТРС (Финголимод и Терифлуномид), 18 человек (8,74%) отказались от терапии ПИТРС не менее, чем за 6 месяцев до момента участия в исследовании. Курсы Митоксантрона® и глюкокортикостероидов при обострении проводились у многих пациентов, однако у всех больных последняя инфузия препарата была не позднее чем, за 3-6 месяцев до момента участия в исследовании, и они не были выделены в отдельную статистическую группу.

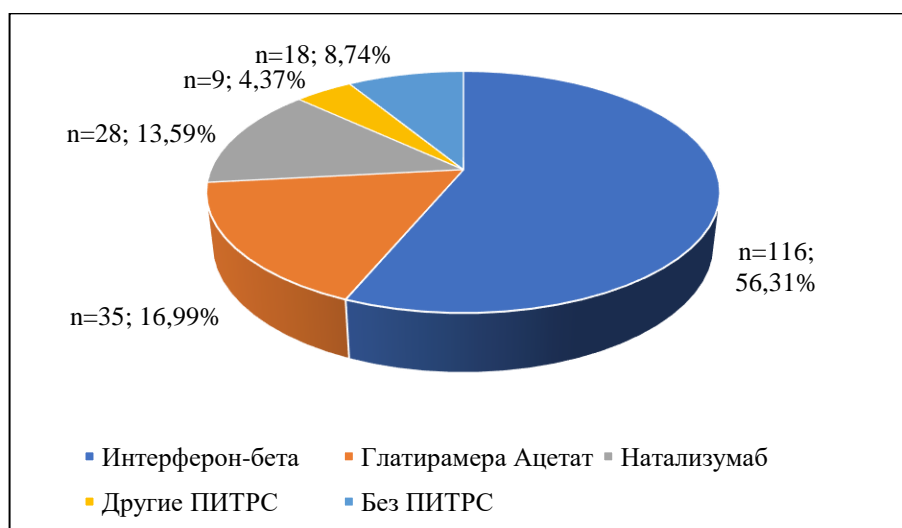


Рисунок 2. Распределение больных по виду получаемого препарата, n, %

Дизайн исследования (Рисунок 3) предполагал однократное обследование участников исследования, в ходе которого проводился сбор и анализ жалоб,

анамнеза, неврологический осмотр, заполнение специализированных шкал по оценке выраженности клинических проявлений, забор крови для лабораторных исследований. Изучение генетических маркеров *KIF1B* C/T (rs10492972), *ZFHX4* C/G (rs11787532), *STARD13* G/T (rs9527281), *CIT* C/T (rs7308076), *ZFAT* A/C (rs733254) проведено у всех 206 пациентов, а также у 80 человек группы контроля.

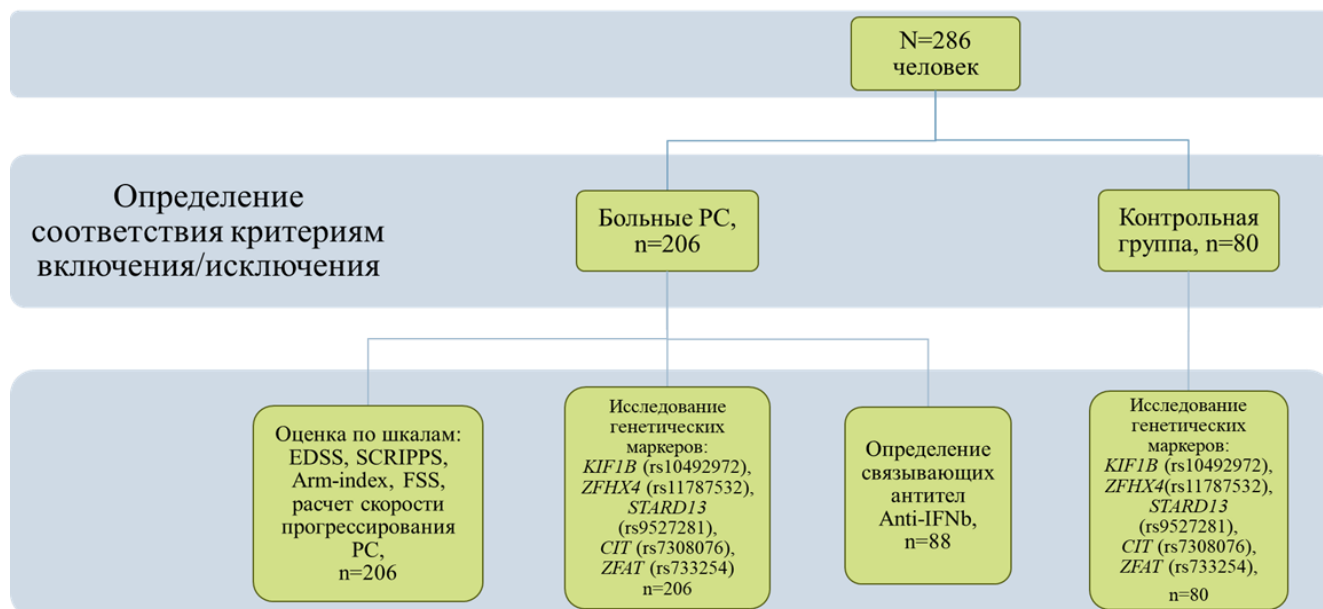


Рисунок 3. Дизайн исследования

2.2. Методы оценки общеклинического, неврологического статуса, данных дополнительных методов исследования

Общеклиническое и неврологическое обследование включало в себя детальный сбор жалоб по каждой функциональной системе, анамнеза жизни и заболевания, включающего информацию о симптомах дебюта, частоте обострений, принимаемой терапии. Выраженность неврологического дефицита оценена в ходе подробного расспроса и осмотра по функциональной системе зрения, движения, координации, чувствительности, функций ствола головного мозга, тазовых, а также корковых функций.

Всем пациентам проведена МРТ головного мозга в лечебных учреждениях Пермского края в различные сроки. Ввиду технической невозможности проведения МРТ головного мозга всем пациентам, включенным в исследование, в момент

осмотра, а также различные протоколы описания ранее проведенных МРТ, данные визуализации использованы лишь в качестве подтверждающего критерия РС.

С целью объективной оценки и удобства статистической обработки материала для оценки степени неврологического дефицита нами использовались следующие шкалы.

1. *Шкала функциональных систем Kurtzke* [116] представляет собой метод измерения тяжести неврологических проявлений РС. В ходе неврологического осмотра оцениваются пирамидная, мозжечковая, чувствительная системы, функции ствола головного мозга, функции тазовых органов, зрение, высшие психические функции и расстояние ходьбы. Значение балла по каждой из функциональных систем необходимо для расчета балла EDSS.

2. *Расширенная шкала инвалидизации Expanded Disability Status Scale (EDSS)* применяется для оценки выраженности неврологического дефицита исключительно у больных РС. Представляет собой одиннадцатилетнюю шкалу, отражающую общее ограничение активности и способности к передвижению, где минимальное значение 0 – норма, максимальное – 10 баллов – смерть. Балл от 1 до 3,0 соответствовал легкой степени инвалидизации, от 3,5 до 5,5 – средней степени, от 6,0 – тяжелой степени инвалидизации.

3. *Шкала неврологического статуса Scripps* [24, 112] применяется у больных РС также для оценки тяжести неврологического дефицита по тем же функциональным системам, что и шкала Kurtzke. Однако в данной шкале большее внимание уделяется мнестическим функциям, а также отдельно учитывается функция черепных нервов, движение конечностей, в том числе выраженность рефлексов и наличие патологических знаков, сенсорные нарушения, координация и тазовые функции. Представляет собой 100-балльную шкалу, где максимальное значение соответствует норме.

4. *Шкала оценки функции рук Arm-index* использовалась с целью дополнительной для оценки функции рук [24]. Шкала представляет собой опросник из четырех пунктов, отражающих наиболее распространенные действия: одевание, умывание, пользование ножом и вилкой, пользование мелкими предметами.

Каждый из пунктов оценивался отдельно для каждой из рук с позиций: нет нарушений, выполняется не в полной мере, выполнение невозможно. Общая оценка была в пределах от 0 (норма) до 5 (выраженные симптомы в обеих руках, даже минимальные направленные движения невозможны). Оценка X ставилась в том случае, если затруднения движений обусловлены не РС, а другими причинами. В настоящем исследовании пациентов с дисфункцией рук, вызванной не РС, не было.

5. *Опросник тяжести астении Fatigue Severity Score (FSS)* [24, 93] использовался в дополнение для оценки уровня утомляемости ввиду того, что объективизация утомляемости по шкале EDSS затруднительна. Опросник состоит из 9 утверждений, каждое из которых оценивалось самим пациентом от 1 до 7 баллов. 1 балл соответствовал категорическому несогласию с предложенным утверждением, а 7 баллов – абсолютной его правильности. Пациент самостоятельно указывал на наиболее подходящий балл по каждому из утверждений. Результат оценивался путем суммирования полученных баллов по каждому пункту с расчетом среднего арифметического значения. На основе этой шкалы уровень утомляемости классифицировался по степени тяжести: 4 балла и выше соответствовало выраженной утомляемости, показатель менее 4 – утомляемости незначительной степени. Метод характеризовался быстротой оценки, удобством в применении для врача и пациента и позволил осуществить дополнительную оценку утомляемости.

6. *Скорость прогрессирования РС* рассчитывалась как отношение балла EDSS к длительности заболевания (в годах). Значение скорости прогрессирования определялось как низкое - $\leq 0,25$ баллов/год, умеренное - $> 0,25$, но $\leq 0,75$ баллов/год, или высокое - $> 0,75$ баллов/год [5].

2.3 Лабораторные методы исследования

2.3.1. Молекулярно-генетическое исследование

Выбор генов, а также их полиморфизмов производили на основе изучения данных литературы о потенциальной связи гена с развитием или течением РС.

Характеристики полиморфизмов определены по специализированным базам данных в сети Internet (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

Генотипирование образцов ДНК проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием наборов праймеров и зондов TaqMan® SNP Genotyping Assays (Thermo Fisher Scientific Applied Biosystems, США) (Кат.номер – 4351379), где в качестве праймеров использованы участки ДНК: гена *KIF1B* C/T (rs10492972), *ZFHX4* C/G (rs11787532), *STARD13* G/T (rs9527281), *CIT* C/T (rs7308076), *ZFAT* A/C (rs733254).

Перед генотипированием проводилась необходимая пробоподготовка. Для выделения образца ДНК у обследуемого из вены в пластиковую вакуумную пробирку с антикоагулянтом ЭДТА набирали 5-7 мл крови вне зависимости от времени суток и приема пищи. Для выделения ДНК пробы венозной крови в количестве 100 мкл лизировали 300 мкл лизирующего раствора, состоящего из смеси 0,5 % раствора саркозила и протеиназы К (20 мг/мл) в ацетатном буфере (рН 7,5). Затем добавляли сорбент (каолин) и последовательными процедурами промывки отмывали пробы от белков при использовании фосфатно-солевого буфера (рН 7,2) и от липидов смесью изопропилового спирта и ацетона. ДНК оставалось при этом на сорбенте.

Далее адсорбированные ДНК экстрагировали ТЕ-буфером, представляющим собой смесь 10 мМ трис-НСl и 1 мМ ЭДТА (рН 8,0). Экстракт подвергали центрифугированию, в результате которого полученная надосадочная жидкость содержала очищенную ДНК, готовую к постановке ПЦР.

ПЦР проводили на детектирующем амплификаторе с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с использованием готовых наборов праймеров и зондов производства Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems, США (Кат.номер – 4351379), где в качестве праймеров использованы участки ДНК: гена *KIF1B* C/T (rs10492972), *ZFHX4* C/G (rs11787532), *STARD13* G/T (rs9527281), *CIT* C/T (rs7308076), *ZFAT* A/C (rs733254).

Для проведения реакции амплификации для исследования аллельного состояния каждого гена готовили свою реакционную смесь. В каждую лунку

планшеты вносили 0,1 мкл готовой смеси праймеров и зондов для выбранных генов: *KIF1B* (rs10492972), *ZFHX4* (rs11787532), *STARD13* (rs9527281), *CIT* (rs7308076), *ZFAT* (rs733254).

Далее добавляли остальные компоненты, необходимые для осуществления ПЦР, согласно инструкции коммерческого набора 2,5x Реакционная смесь для проведения ПЦР, ЗАО «Синтол», Россия (Кат.номер – М 428): нуклеотиды (дезоксинуклеозидтрифосфаты: по 10 мМ дАТФ, дТТФ, дГТФ, дЦТФ), буферы (100 мМ трис-НСl-буфера, 500 мМ КСl, 40 мМ MgCl₂). Планшетка плотно закрывалась пленкой и устанавливалась в амплификатор.

В ходе исследования амплификация и детекция проводились на детектирующем амплификаторе CFX96 и программном обеспечении к нему CFX Manager 2.1 (Biorad, США) с применением универсальной программы амплификации, в соответствии с рекомендациями производителя реактивов.

После стадии отжига праймеров для выбранных генов проводилась регистрация сигнала флюоресценции, возникающего при накоплении продуктов амплификации участков ДНК, в режиме «реального времени» по каналу FAM– для детекции нормального аллельного варианта генов, и по каналу VIC или HEX – для альтернативного варианта.

Интерпретация результатов происходила на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флюоресценции с установленной на заданном уровне пороговой линией, что соответствовало наличию (или отсутствию) значения порогового цикла (Cq1 для канала FAM, Cq2 для канала VIC (HEX) в соответствующей графе в таблице результатов, отображаемой в программном обеспечении для амплификатора CFX96.

По соотношению пороговых циклов (Cq1/Cq2), полученных по двум каналам детекции, определяли состояние генов *KIF1B* в исследуемом участке ДНК С/Т (rs10492972), *ZFHX4* С/Г (rs11787532), *STARD13* Г/Т (rs9527281), *CIT* С/Т (rs7308076), а также гена *ZFAT* в исследуемом участке ДНК А/С (733254). Регистрировалось два возможных варианта гена: гомозиготное – в случае, когда одно из значений порогового цикла было ниже пороговой линии и не определялось

и гетерозиготное – в том случае, когда получено два значения пороговых циклов, что графически представляло собой параболические кривые флюоресценции. В зависимости от того, накопление какого продукта амплификации происходило в реакции, устанавливалось гетерозиготное, или нормальное гомозиготное, или вариантное гомозиготное состояние генов *KIF1B* C/T (rs10492972), *ZFHX4* C/G (rs11787532), *STARD13* G/T (rs9527281), *CIT* C/T (rs7308076), *ZFAT* A/C (rs733254) (Рисунок 4).

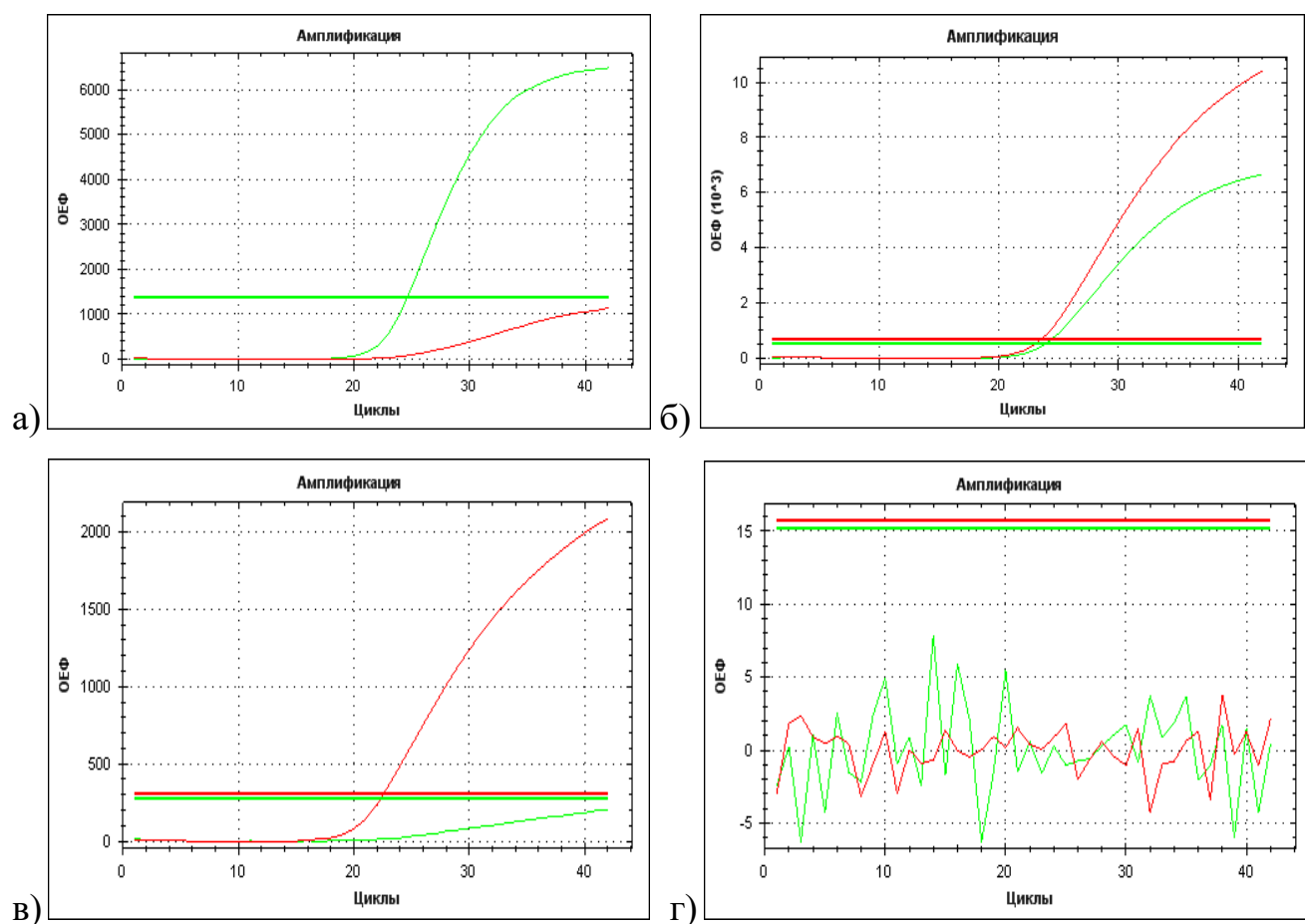


Рисунок 4. Детекция генотипов rs10492972, пример. а) гомозигота,

б) гетерозигота, в) вариантная гомозигота, г) ошибка генотипирования.

Для определения связи аллели с клиническими характеристиками, в случае гетерозиготного генотипа определяли числовое значение соотношения номеров пороговых циклов амплификации по каналам FAM и VIC (HEX). Для полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, если $Cq_1/Cq_2 \leq 1,047$, то преобладала аллель Т, если $Cq_1/Cq_2 > 1,047$, то доминировала аллель С. Для полиморфизма rs11787532 гена *ZFHX4*, если $Cq_1/Cq_2 \leq 1,017$, то преобладала аллель G, если $Cq_1/Cq_2 > 1,017$, то

доминировала аллель С. Для полиморфизма rs9527281 гена *STARD13*, если $Cq1/Cq2 \leq 0,894$, то преобладающей являлась аллель Т, если $Cq1/Cq2 > 0,894$ – аллель G. Для полиморфизма rs7308076 гена *CIT*, если $Cq1/Cq2 \leq 0,957$ – доминировала аллель Т, если $Cq1/Cq2 > 0,957$ – аллель С. Для полиморфизма rs733254 гена *ZFAT*, если $Cq1/Cq2 \leq 1,033$, то доминировала аллель С, если $Cq1/Cq2 > 1,033$, то преобладающей являлась аллель А.

2.3.2. Исследование концентрации связывающих антител к препаратам интерферона-бета

Исследование концентрации связывающих антител к препаратам интерферона-бета (Anti-IFN β) проведено у 88 пациентов, получающих препараты интерферона. Выборка пациентов для исследования Anti-IFN β из общего количества была проведена с помощью метода случайных чисел.

Уровень связывающих антител к препаратам интерферона-бета в сыворотке крови пациентов исследовался методом прямого иммуноферментного анализа (ИФА) с применением стандартного набора тест-систем фирмы Cloud-Clone Corp., США. Пробоподготовку осуществляли путем забора венозной крови в стандартную вакуумную пробирку, которую отстаивали в течение 20 минут при комнатной температуре, затем подвергали центрифугированию в течение 15 мин на скорости 2000 об/мин. Полученная сыворотка помещалась в пробирку Eppendorf. Прямой иммуноферментный анализ проводили с использованием тест-систем для количественного подсчета связывающих антител к препаратам интерферона-бета (Anti-IFN β) в сыворотке периферической крови (Instruction manual, 12th Edition. Cloud-Clone Corp., USA).

Перед проведением исследования подготовлена серия Стандартов с концентрацией Anti-IFN β от 0 до 200 нг/мл. Образцы сыворотки и серия Стандартов добавлялись в определенные лунки планшета для ИФА. Добавлялся ферментативный субстрат, ТМБ, проводилась инкубация 20 минут при температуре 37°C. При инкубации лунки, содержащие Anti-IFN β , изменяли цвет на синий. Затем в каждую лунку добавлялся Стоп-реагент, фиксировали изменение

окраски с синей на желтую. Оптическая плотность регистрировалась фотометрическим методом на длине волны 450 ± 10 нм. Концентрацию Anti-IFN β в образцах рассчитывали в соответствии со стандартной калибровочной кривой, построенной по результатам анализа с серией Стандартов (Рисунок 5). Полученное количественное содержание Anti-IFN β выражалось в нг/мл.

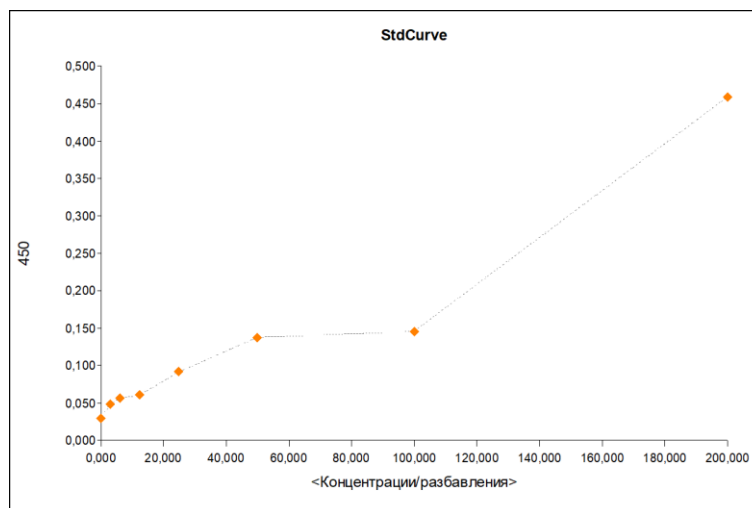


Рисунок 5. Калибровочная кривая результата ИФА на связывающие антитела к интерферону-бета (Anti-IFN β antibodies).

Исследование проведено одномоментно во всех образцах. До момента лабораторного анализа образцы сывороток хранились при температуре ниже -20°C . Температурный режим сохранялся во время хранения и транспортировки. Отклонений от методики проведения лабораторной части исследования не было.

Лабораторные исследования проводились на базе лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения». Выражаем благодарность заведующему лабораторией Кривцову Александру Владимировичу и генетику Мазуниной Алене Александровне за помощь в проведении исследования.

2.4. Характеристика контрольной группы

Контрольную группу составляли 29 (36,25%) относительно здоровых мужчин и 51 (63,75%) женщина ($n=80$ человек), без неврологических жалоб, а также не имеющих родственников с диагнозом РС. Медиана возраста составила

22,0 [21,0; 28,5] года. Критериями включения в группу контроля помимо отсутствия указаний на наличие неврологических жалоб, родственников с диагнозом РС, явились: возраст от 18 лет, отсутствие клинических признаков соматических, неврологических и психических заболеваний. Все обследуемые группы контроля подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с этическим стандартом пересмотренного варианта Хельсинской декларации 2002 г. по проведению биомедицинских исследований на людях [76]. У здоровых лиц группы контроля определялись те же генетические маркеры в образце ДНК, полученном из крови, взятой из кубитальной вены.

2.5. Статистические методы исследования

С целью подтверждения репрезентативности выборки проведен расчет мощности исследования с использованием следующих методов: по формуле расчета при условии известной численности генеральной совокупности [23], при помощи статистической программы MedCalc® 15.8 Portable исходя из половых, возрастных характеристик генеральной совокупности, а также длительности РС по данным регистра больных РС в Пермском крае [23]. Мощность объема выборки для каждого из полиморфизмов рассчитана с учетом их характеристик при помощи онлайн калькулятора GAS Power Calculator (http://csg.sph.umich.edu/abecasis/gas_power_calculator/index.html).

При известной численности генеральной совокупности больных с РС в Пермском крае 1200 и доле мужчин в ней 31,6 % расчёт объёма выборки проведён по формуле:

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot P \cdot Q}{N \cdot \Delta^2 + t^2 \cdot P \cdot Q}$$

где n – минимальный объём выборки, N – объём генеральной совокупности, t – коэффициент достоверности 1,96 (при уровне достоверности исследования 95 %) , P – доля признака в совокупности (%), $Q = 100 - P$, Δ – предельная ошибка выборки 10 %.

$$n = \frac{1200 \cdot 1,96^2 \cdot 31,6 \cdot (100 - 31,6)}{1200 \cdot 10^2 + 31,6 \cdot (100 - 31,6)} = 78$$

Также произведён расчёт мощности в программе MedCalc® 15.8 Portable:

1. при стандартном уровне ошибки I типа $\alpha = 0,05$ (альфа, значимость) и уровне ошибки II типа $\beta = 0,20$ (бета, 1–мощность); при доле мужчин в группе больных с РС до 32 % при нулевой гипотезе (доля мужчин и женщин одинакова) 50 % минимальный объём выборки должен составить 59 единиц наблюдения.

2. при стандартном уровне ошибки I типа $\alpha = 0,05$ (альфа, значимость) и уровне ошибки II типа $\beta = 0,20$ (бета, 1–мощность); при среднем возрасте больных с РС $43,0 \pm 11,6$ года при нулевой гипотезе 40,0 (средний возраст не превысит 40 лет) минимальный объём выборки должен составить 120 единиц наблюдения.

3. при стандартном уровне ошибки I типа $\alpha = 0,05$ (альфа, значимость) и уровне ошибки II типа $\beta = 0,20$ (бета, 1–мощность); при средней длительности заболевания РС $7,6 \pm 5,2$ года при нулевой гипотезе 6,0 (средняя длительность не менее 6 лет) минимальный объём выборки должен составить 85 единиц наблюдения.

Таким образом, взятый нами объём выборки больных с РС в 206 чел. со средним возрастом 39 лет и долей мужчин 33,9 % обеспечивает необходимый уровень достоверности 95 %.

Для определения мощности исследования с учетом характеристик каждого из полиморфизмов, использован он-лайн калькулятор GAS Power Calculator. Для расчета мощности заданы параметры: Cases = 206 человек, Controls = 80 человек, Significance level <0,05, Prevalence – 0,0004 (44 случая РС на 100 тыс. населения в Пермском крае). Показатели Disease allele frequency, определяемая как частота минорного аллеля, и показатель отношения шансов, введены по данным литературного поиска, а также базы данных dbSNP NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

Для полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, при отношении шансов 1,35 [31] и частоте мутантной аллели С 32,5%, мощность исследования равна 0,4 (Рисунок 6).

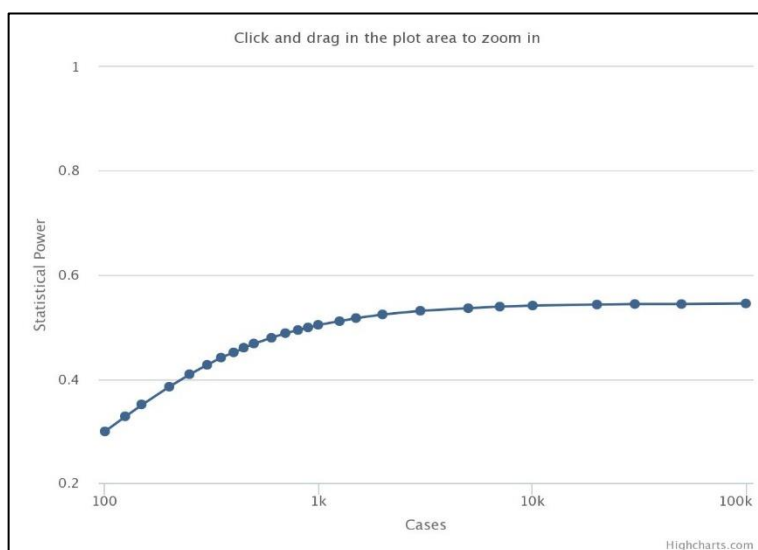


Рисунок 6. Зависимость мощности исследования от объема выборки для однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*

Для полиморфизма rs11797532 гена *ZFNХ4*, при отношении шансов 2,3 [52] и частоте мутантной аллели С 35,2%, мощность равна 0,99 (Рисунок 7).

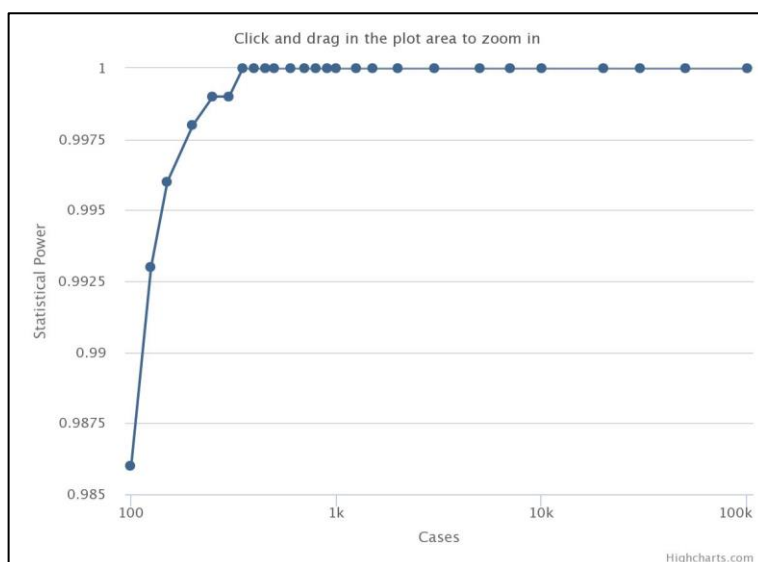


Рисунок 7. Зависимость мощности исследования от объема выборки для однонуклеотидного полиморфизма rs11797532 гена *ZFNХ4*

Для полиморфизма rs9527281 гена *STARD13*, при отношении шансов 2,0 [52] и частоте мутантной аллели G 33,6%, мощность равна 0,97 (Рисунок 8).

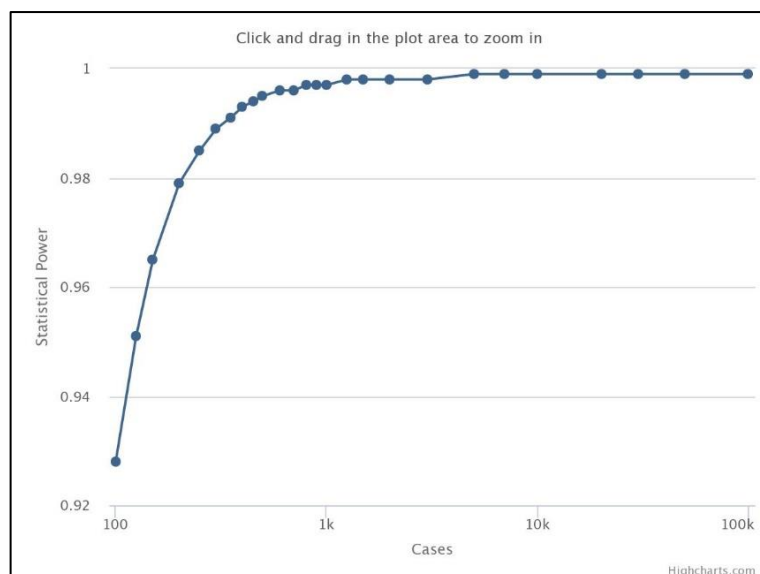


Рисунок 8. Зависимость мощности исследования от объема выборки для однонуклеотидного полиморфизма rs9527281 гена *STARD13*

Для полиморфизма rs7308076 гена *CIT*, при отношении шансов 2,4 [52] и частоте мутантной аллели С 63%, мощность равна 0,99 (Рисунок 9).

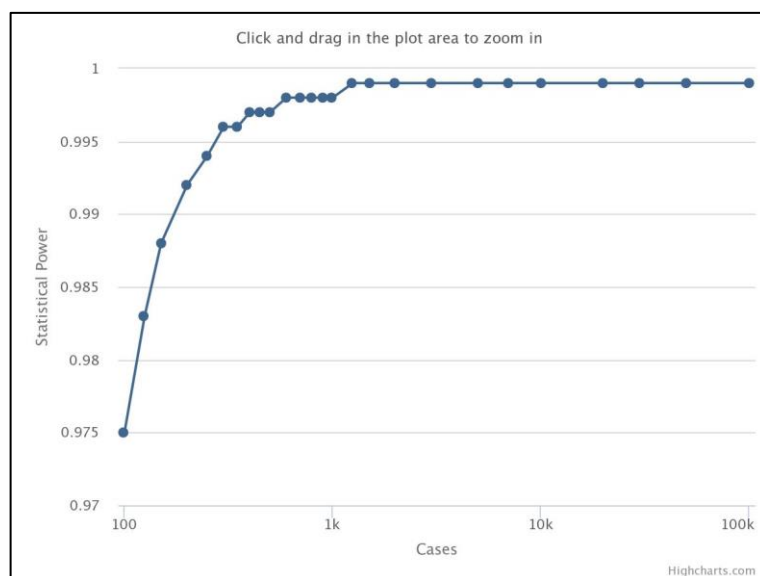


Рисунок 9. Зависимость мощности исследования от объема выборки для однонуклеотидного полиморфизма rs7308076 гена *CIT*

Для полиморфизма rs733254 гена *ZFAT*, при отношении шансов 2,1 [52] и частоте мутантной аллели А 38,2%, мощность равна 0,99 (Рисунок 10).

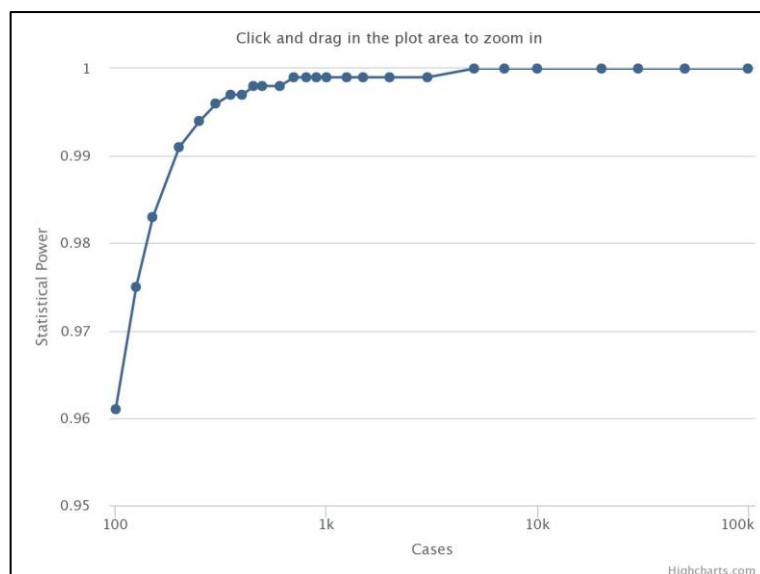


Рисунок 10. Зависимость мощности исследования от объема выборки для однонуклеотидного полиморфизма rs733254 гена *ZFAT*.

Математическая обработка количественных статистических параметров осуществлялась с использованием программного пакета Statistica 10,0 (Statsoft, США). Использовались методы описательной статистики, с расчетом значения медианы и квартилей. Для оценки нормальности распределения использован критерий Шапиро-Уилка. Для оценки взаимосвязи показателей в одной выборке использовали коэффициент корреляции Спирмена. Для сравнения двух независимых групп использован U-критерий Манна-Уитни, в случае множественного сравнения - H-критерий Краскелла-Уоллиса [11, 18].

Анализ ассоциаций количественных признаков с генотипом, а также множественный анализ частоты встречаемости аллелей проведен при помощи программного обеспечения SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания) [165].

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез считался равным 0,05.

ГЛАВА 3. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

На момент участия в исследовании 96,12% больных РС предъявляли жалобы со стороны различных функциональных систем, характерные для заболевания (Рисунок 11). В структуре жалоб преобладали нарушения движений, слабость в конечностях (72,81%, n=150), нарушения координации (68,93% n=142), нарушения тазовых органов (69,9% n=144), общая слабость и повышенная утомляемость (54,85% n=113).

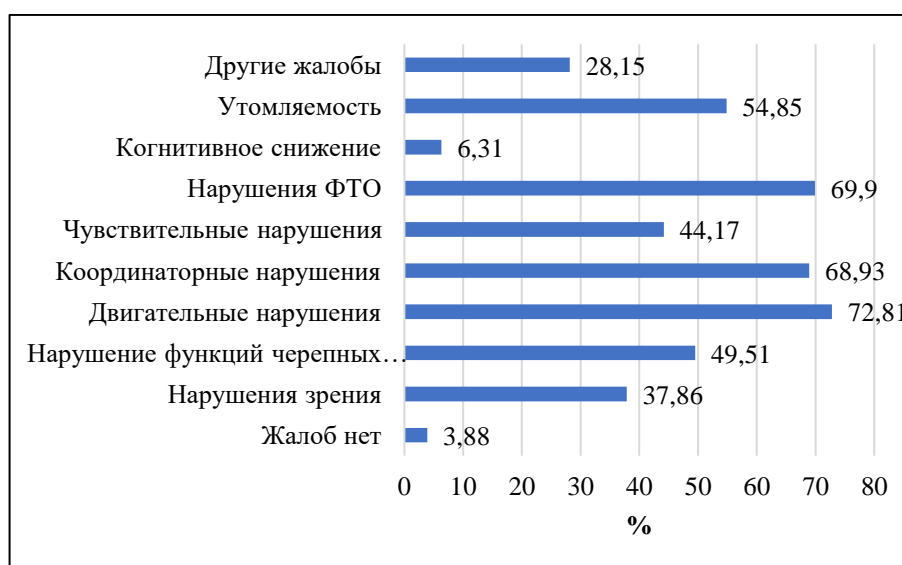


Рисунок 11. Структура жалоб больных РС на момент участия в исследовании, % (n=206).

В группах мужчин и женщин также с одинаковой частотой ($p > 0,05$) преобладали двигательные, тазовые нарушения, нарушения координации (Рисунок 12).

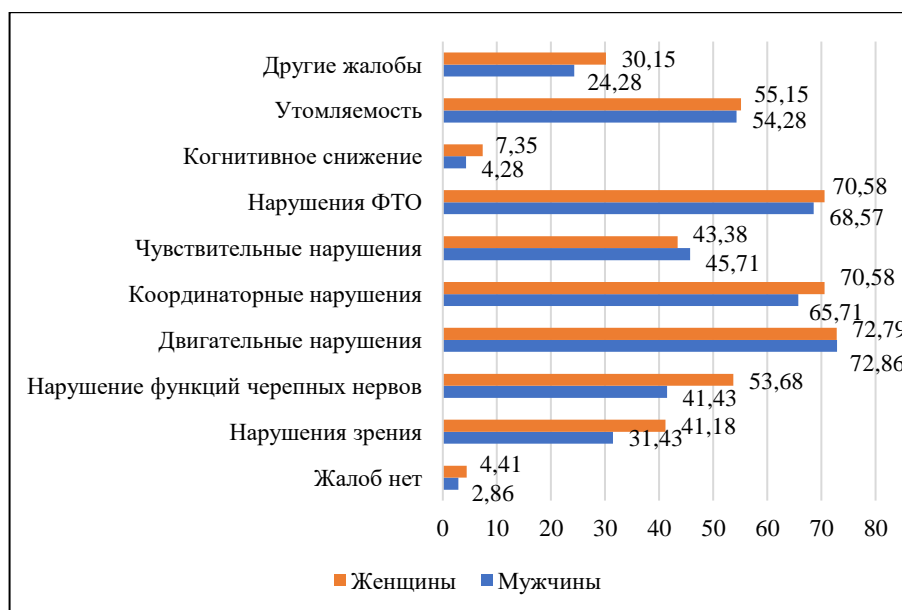


Рисунок 12. Структура жалоб больных РС на момент участия в исследовании в группах по половому признаку, % (n=206).

В структуре неврологической симптоматики на момент дебюта заболевания преобладали координаторные (30,58%), двигательные (29,1%) и чувствительные (26,21%) нарушения (Рисунок 13). Достоверных различий в структуре симптоматики дебюта РС в группах по полу выявлено не было ($p > 0,05$).

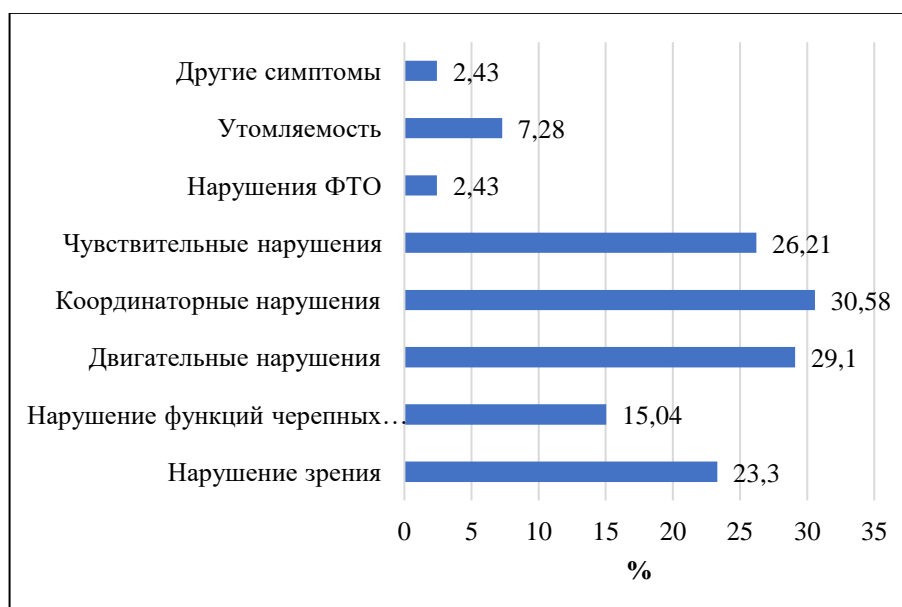


Рисунок 13. Структура симптоматики в дебюте РС, % (n=206).

При обследовании больных РС по шкале функциональных систем Kurtzke в неврологическом статусе преобладали нарушения со стороны функциональной

системы движения (96,60%, n=199), координации (95,14%, n=196), стволые нарушения (89,8%, n=185). Наименее часто встречались зрительные симптомы (48,54%, n=100) (Рисунок 14).



Рисунок 14. Структура поражения функциональных систем по шкале Kurtzke, % (n=206).

В группах, выделенных по полу, достоверных различий в значениях шкалы Kurtzke не определялось (Таблица 1).

Таблица 1. Структура поражения функциональных систем по шкале Kurtzke в группах, выделенных по половому признаку.

| Функциональная система | Муж, среднее значение | Жен, среднее значение | Значение p |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|------------|
| Зрительная ФС | 0,78±0,97 | 0,87±0,99 | 0,619 |
| Функции ствола ГМ | 1,71±1,04 | 1,74±0,86 | 0,935 |
| Пирамидная ФС | 2,40±0,97 | 2,62±1,13 | 0,119 |
| ФС мозжечка | 2,13±0,88 | 2,14±0,89 | 0,894 |
| Чувствительная ФС | 1,873±0,91 | 1,71±1,09 | 0,312 |
| Функции тазовых органов | 1,47±1,06 | 1,47±1,06 | 0,996 |
| Коровые функции | 1,01±0,81 | 1,10±0,84 | 0,539 |
| Способность к передвижению | 2,31±2,86 | 2,92±3,15 | 0,303 |

По типу течения РС достоверное преобладание балла практически по всем функциональным системам имело место при вторично прогредиентном типе течения РС, за исключением зрительной функции (Таблица 2).

Таблица 2. Структура поражения функциональных систем по шкале Kurtzke в группах, выделенных по типу течения (жирным шрифтом выделены достоверные различия).

| Функциональная система | РРРС, сред. | ВПРС, сред. | Значение p |
|----------------------------|-------------|-------------|--------------|
| Зрительная ФС | 0,81±0,98 | 0,97±1,01 | 0,464 |
| Функции ствола ГМ | 1,58±0,8 | 2,54±0,66 | 0,000 |
| Пирамидная ФС | 2,33±1,01 | 3,64±0,69 | 0,000 |
| ФС мозжечка | 2,02±0,89 | 2,73±0,63 | 0,000 |
| Чувствительная ФС | 1,67±1,01 | 2,24±1,06 | 0,004 |
| Функции тазовых органов | 1,31±1,01 | 2,33±0,89 | 0,000 |
| Корковые функции | 0,95±0,79 | 1,69±0,73 | 0,000 |
| Способность к передвижению | 1,86±2,24 | 7,18±2,95 | 0,000 |

В группах, распределенных в зависимости от вида получаемой ПИТРС достоверных различий по шкале Kurtzke выявлено не было.

Получена статистически значимая связь между большинством показателей поражения функциональных систем по рассматриваемой шкале (Таблица 3), что подтверждает множественную локализацию демиелинизирующего процесса.

Таблица 3. Корреляционные связи выраженности поражения функциональных систем по шкале Kurtzke. Достоверные различия выделены жирным шрифтом.

| | Зрительная ФС | Функции ствола ГМ | Пирамидная ФС | ФС мозжечка | Чувствительная ФС | Функции тазовых органов | Корковые функции | Способность к передвижению |
|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Зрительная ФС | 1,0 | 0,138 p=0,047 | 0,251 p=0,000 | 0,192 p=0,006 | 0,131 p=0,061 | 0,216 p=0,002 | 0,084 p=0,232 | 0,203 p=0,003 |
| Функции ствола ГМ | 0,138 p=0,047 | 1,0 | 0,617 p=0,000 | 0,624 p=0,000 | 0,452 p=0,000 | 0,534 p=0,000 | 0,459 p=0,000 | 0,664 p=0,000 |
| Пирамидная ФС | 0,251 p=0,000 | 0,617 p=0,000 | 1,0 | 0,711 p=0,000 | 0,545 p=0,000 | 0,661 p=0,000 | 0,494 p=0,000 | 0,794 p=0,000 |
| ФС мозжечка | 0,192 p=0,006 | 0,624 p=0,000 | 0,711 p=0,000 | 1,0 | 0,513 p=0,000 | 0,621 p=0,000 | 0,469 p=0,000 | 0,759 p=0,000 |
| Чувствительная ФС | 0,131 p=0,061 | 0,452 p=0,000 | 0,545 p=0,000 | 0,513 p=0,000 | 1,0 | 0,485 p=0,000 | 0,353 p=0,000 | 0,572 p=0,000 |
| Функции тазовых органов | 0,216 p=0,002 | 0,534 p=0,000 | 0,661 p=0,000 | 0,621 p=0,000 | 0,485 p=0,000 | 1,0 | 0,532 p=0,000 | 0,693 p=0,000 |
| Корковые функции | 0,084 p=0,232 | 0,459 p=0,000 | 0,494 p=0,000 | 0,469 p=0,000 | 0,353 p=0,000 | 0,532 p=0,000 | 1,0 | 0,497 p=0,000 |
| Способность к передвижению | 0,203 p=0,003 | 0,664 p=0,000 | 0,794 p=0,000 | 0,759 p=0,000 | 0,572 p=0,000 | 0,693 p=0,000 | 0,497 p=0,000 | 1,0 |

Медиана шкалы EDSS у больных в целом составила 4 [3; 5,5] балла. В группах по половому признаку достоверных различий балла EDSS не отмечалось (U=4449, p=0,44).

При вторично прогрессирующем типе течения РС (Рисунок 15) достоверно зарегистрирован более высокий балл EDSS (6,28±0,96), чем при рецидивирующе-ремиттирующем (3,76±1,44) (U=451,0; p=0,000).

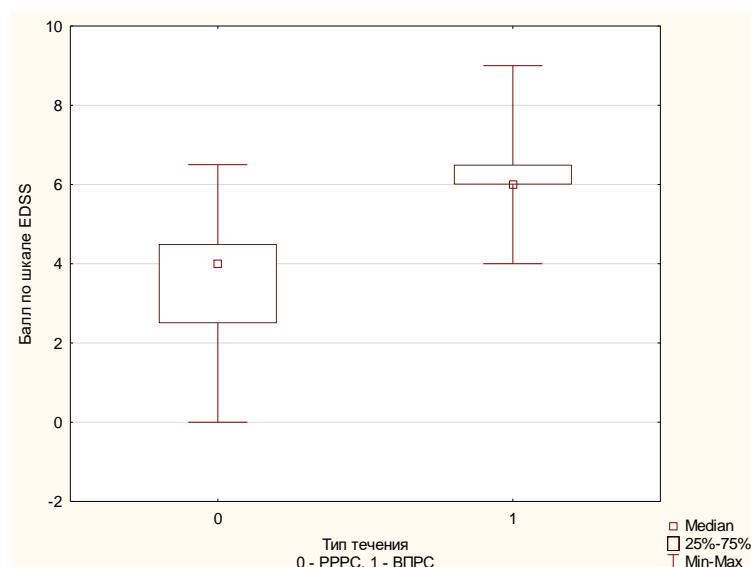


Рисунок 15. Значение балла EDSS в зависимости от типа течения РС.

Скорость прогрессирования заболевания в среднем характеризовалась умеренным темпом. Медиана скорости прогрессирования РС составила 0,42 [0,28;0,67] балла/год. Достоверных различий скорости прогрессирования в группах по полу ($U=4530$, $p=0,57$), типу течения РС ($U=2597$, $p=0,41$) (Рисунок 16) и принимаемому препарату ($H=4,67$, $p=0,32$) отмечено не было.

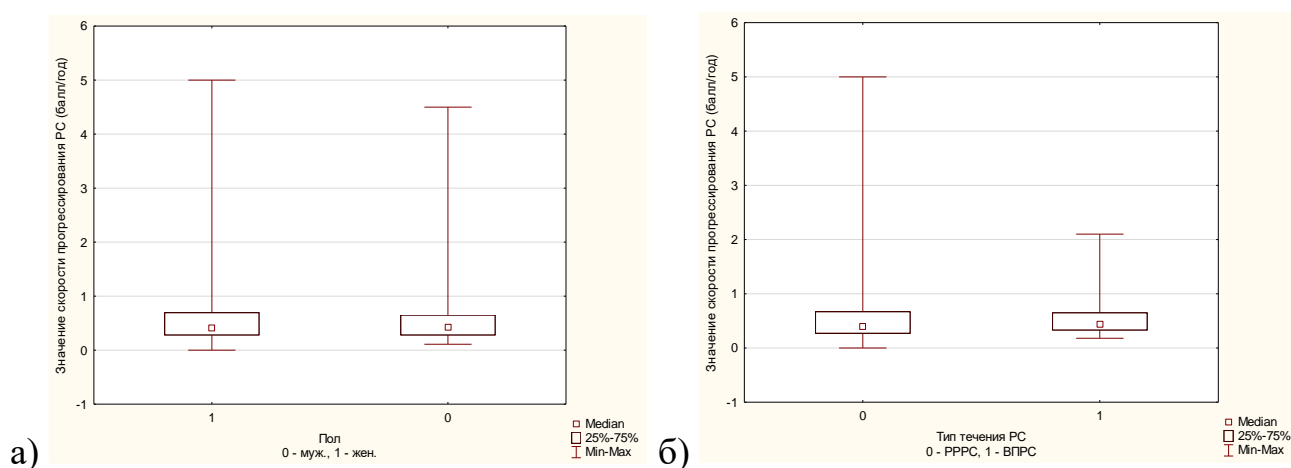


Рисунок 16. Значение скорости прогрессирования РС а) в зависимости от пола б) от типа течения

Средний балл по шкале оценки функции рук Arm-index оказался равен 1 [1;2], что соответствует минимально выраженным симптомам в одной или обеих руках, не мешающих выполнению ни одной из функций. В группах, выделенных по полу ($U=4575$, $p=0,65$) и в зависимости от получаемого препарата ($H=4,39$, $p=0,35$)

достоверных различий в значении данной шкалы не выявлено. При вторично прогрессивном течении РС балльное значение Arm-index оказалось достоверно выше ($1,93 \pm 0,82$), чем в группе РРРС ($1,12 \pm 0,74$) ($U=1352,5$, $p=0,000$) (Рисунок 17).

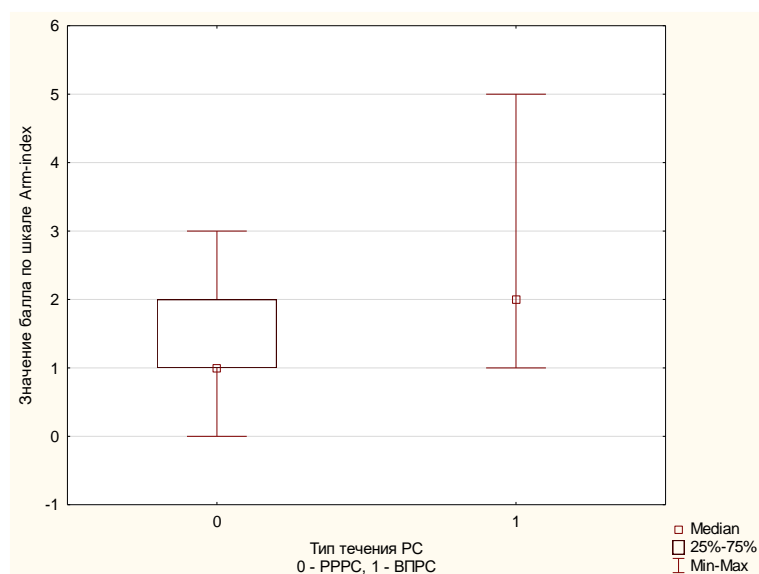


Рисунок 17. Значение балла по шкале функции рук Arm index в зависимости от типа течения РС.

Значение балла Arm-index закономерно коррелировало с показателем EDSS ($R=0,70$, $p=0,000$), а также выраженностью поражения функциональных систем, в большей степени – пирамидной ($R=0,65$, $p=0,00000$) и координаторной ($R=0,76$, $p=0,000$).

Степень утомляемости по опроснику FSS характеризовалась средним уровнем ($4,33$ [$2,55$; $5,44$]). В группе женщин, как отображено на Рисунке 18, показатель уровня астении оказался достоверно выше ($3,9 \pm 1,7$), чем в группе мужчин ($3,42 \pm 1,71$), ($U=3917,5$, $p=0,03$).

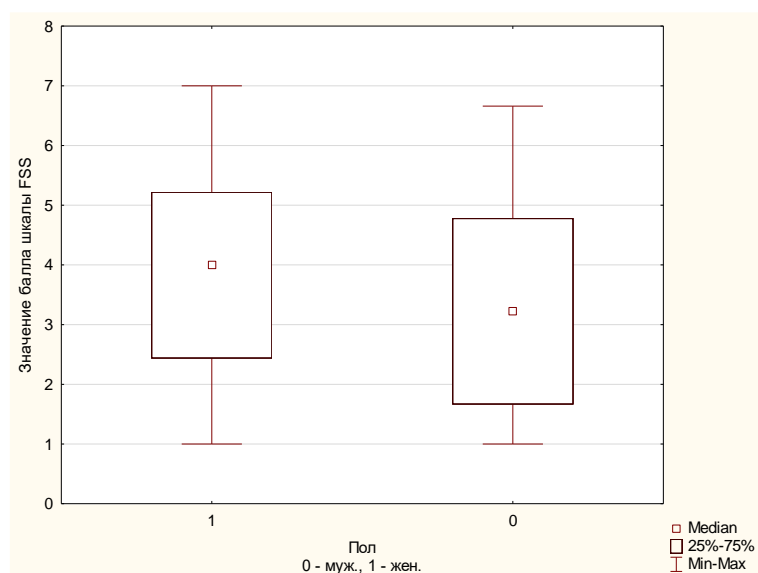


Рисунок 18. Значение шкалы FSS в зависимости от пола.

При анализе показателей шкалы FSS в зависимости от типа течения РС был получен достоверно более высокий средний балл в группе ВПРС ($4,89 \pm 1,31$), чем в группе РРРС ($3,89 \pm 1,77$), ($U=1926,5$, $p=0,003$) (Рисунок 19), что коррелирует с выраженностью поражения корковых ($R=0,45$, $p=0,000$), пирамидных ($R=0,39$, $p=0,000$), тазовых ($R=0,41$, $p=0,000$) функций по оценке шкалы Kurtzke, а также с общим баллом EDSS ($R=0,44$, $p=0,000$).

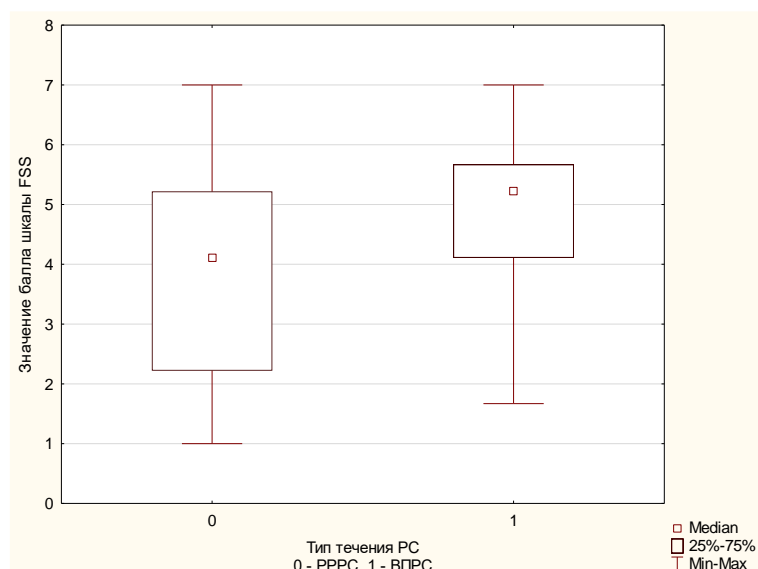


Рисунок 19. Значение шкалы FSS в зависимости от типа течения РС.

Медиана значения шкалы Scripps у больных РС составила 62 [51; 79] балла. В группе РРРС результат Scripps оказался достоверно выше ($67,4 \pm 17,03$), чем в

группе ВПРС ($45,51 \pm 10,9$), ($U=809,5$, $p=0,000$). В группах по полу ($U=4719$, $p=0,92$), а также принимаемому препарату ($H=4,73$, $p=0,31$) значимых различий показателя не получено. При проведении корреляционного анализа выяснилось, что значение балла шкалы неврологического статуса Scripps ожидаемо обратно пропорционально значению балла шкалы EDSS ($R=-0,87$, $p=0,000$) (Рисунок 20), Arm-index ($R=-0,70$, $p=0,000$), FSS ($R=-0,43$, $p=0,000$), а также обратно пропорционально возрасту пациентов ввиду неуклонного прогрессирования заболевания ($R=-0,42$, $p=0,000$).

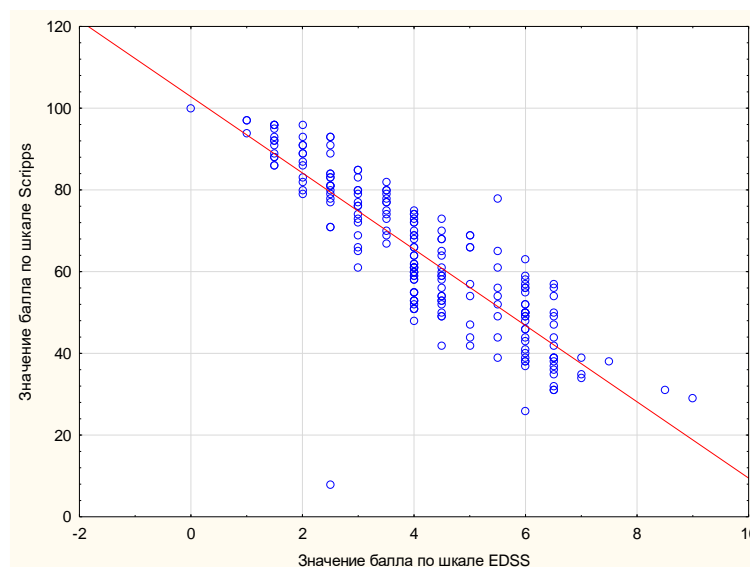


Рисунок 20. Зависимость значения EDSS и Scripps

Таким образом, исследуемая группа больных РС характеризовалась умеренной степенью инвалидизации, имела умеренную скорость прогрессирования РС. Балльная оценка по Kurtzke, EDSS, Arm-index, FSS, Scripps, а также их корреляционные взаимосвязи явились объективными критериями, отражающими имеющуюся неврологическую симптоматику. В группах пациентов, разделенных по половому признаку, не отмечено существенной разницы неврологического статуса за исключением выраженности астении, которая была повышена у женщин. При вторично-прогрессирующем типе течения РС констатировано достоверно более выраженное проявление неврологического дефицита практически по всем изучаемым параметрам.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

4.1. Результаты генотипирования

Из 206 обследуемых больных при генотипировании не получено результата у двух человек по полиморфизмам rs10492972 (*KIF1B*) и rs7308076 (*CIT*); у одного человека по полиморфизмам rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs733254 (*ZFAT*). В группе контроля нерезультативного генотипирования не было.

У обследованных лиц обнаружено следующее распределение аллелей rs10492972 (*KIF1B*): Т – 67,6%, С – 32,4%; rs11787532 (*ZFHX4*): G – 79,47%, Т – 20,53%; rs9527281 (*STARD13*): G – 51,93%, Т – 48,07%; rs7308076 (*CIT*): С – 65,84%, Т – 34,16%; rs733254 (*ZFAT*): А – 78,52%, С – 11,48%.

4.1.1. Результаты генотипирования по полиморфизму rs10492972 (*KIF1B*).

При генотипировании группы больных РС получено следующее распределение генотипов: Т/Т – 49,02%, С/Т – 41,67%, вариантный генотип С/С встречался в 9,31% случаев. В группе контроля преобладал гетерозиготный генотип С/Т (76,25%), генотип Т/Т найден у 23,75% обследуемых. Вариантный генотип С/С в группе контроля обнаружен не был (Рисунок 21).

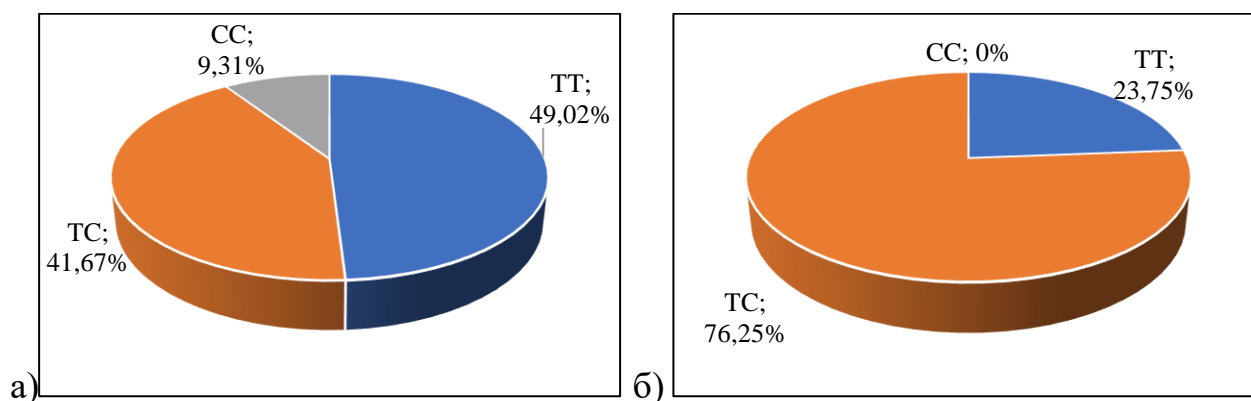


Рисунок 21. Распределение генотипов rs10492972 гена *KIF1B* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

Распределение аллелей показало следующий результат: в группе больных преобладала аллель Т (76,47%), в группе контроля – аллель С (53,75%) (Рисунок 22).

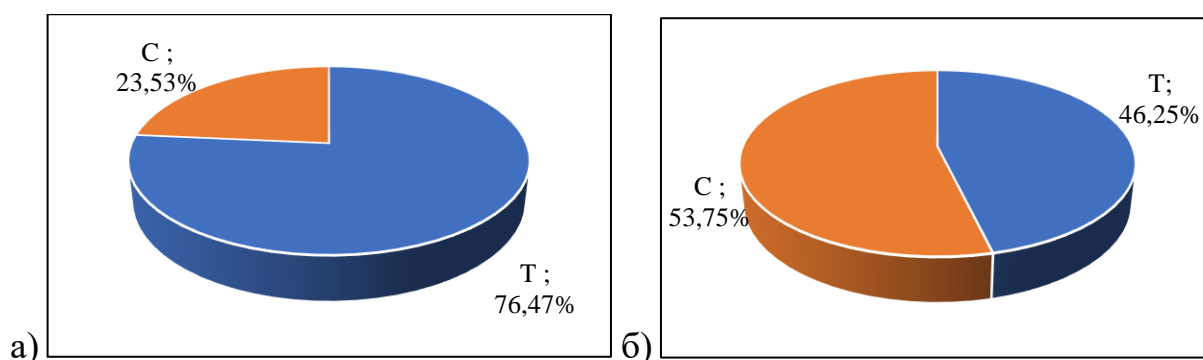


Рисунок 22. Распределение доминирующих аллелей rs10492972 гена *KIF1B* в группе а) больных и б) здоровых лиц

При анализе клинико-генетических ассоциаций выявлено достоверное преобладание генотипа С/Т в группе здоровых лиц (OR=0,26 95%CI 0,15-0,48, $p=0,0001$) по кодоминантной и сверхдоминантной моделям наследования (таблица 4).

Таблица 4. Ассоциация носительства генотипов полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B* с наличием рассеянного склероза

| Модель наследования | Генотип | Контрольная группа, n (%) | Исследуемая группа, n (%) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|---------------------------|---------------------------|------------------|---------------|
| Кодоминантная | Т/Т | 19 (23,8%) | 100 (49%) | 1,00 | 0,0001 |
| | С/Т | 61 (76,2%) | 85 (41,7%) | 0,26 (0,15-0,48) | |
| | С/С | 0 (0%) | 19 (9,3%) | NA (0,00-NA) | |
| Доминантная | Т/Т | 19 (23,8%) | 100 (49%) | 1,00 | 0,0001 |
| | С/Т-С/С | 61 (76,2%) | 104 (51%) | 0,32 (0,18-0,58) | |
| Рецессивная | Т/Т-С/Т | 80 (100%) | 185 (90,7%) | 1,00 | 3e-04 |
| | С/С | 0 (0%) | 19 (9,3%) | NA (0,00-NA) | |
| Сверх-доминантная | Т/Т-С/С | 19 (23,8%) | 119 (58,3%) | 1,00 | 0,0001 |
| | С/Т | 61 (76,2%) | 85 (41,7%) | 0,22 (0,12-0,40) | |

OR – отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

В группах, выделенных по полу, не отмечено преобладания того или иного генотипа как среди больных РС, так и у здоровых лиц.

При помощи использования критерия χ^2 установлена связь аллели Т однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 (*KIF1B*) с наличием заболевания (OR=3,78, 95%CI 2,19-6,52, $p=0,000$).

4.1.2. Результаты генотипирования по полиморфизму rs11787532 (ZFHX4).

При генотипировании по полиморфизму rs11787532 (ZFHX4) в группе больных РС установлено, что наиболее часто встречался генотип G/G (63,41%), вариантный генотип C/C выявлен лишь у 4,39% больных; доля гетерозиготного генотипа G/C составила 32,2%. В группе контроля получено схожее распределение генотипов: G/G – 63,75%, G/C – 31,25%, C/C – 5% (Рисунок 23).

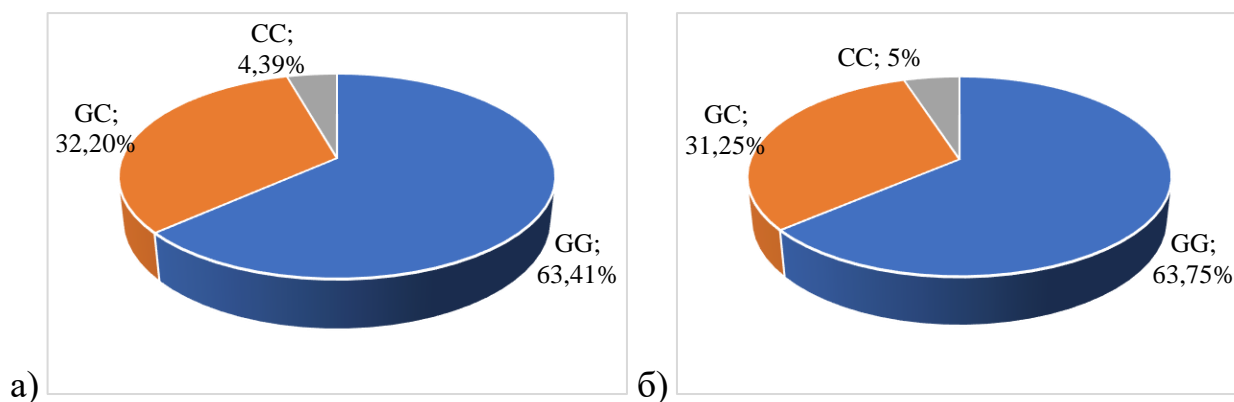


Рисунок 23. Распределение генотипов rs11787532 гена ZFHX4 в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

В группе больных РС и группе здоровых одинаково часто доминировала аллель G ($p=0,19$) (Рисунок 24).

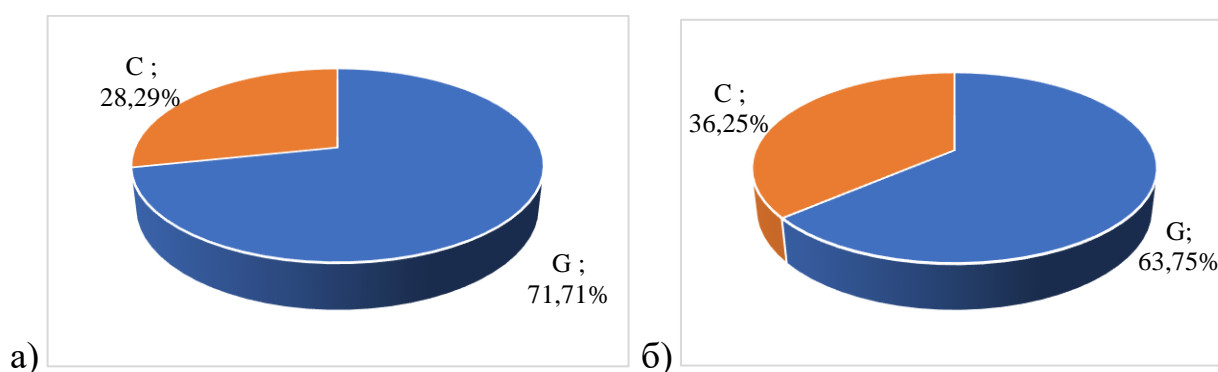


Рисунок 24. Распределение доминирующих аллелей rs11787532 гена ZFHX4 в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

Достоверных различий распределения генотипов rs11787532 в группе больных и контрольной группе достоверно не выявлено (Таблица 5).

Таблица 5. Ассоциация носительства генотипов полиморфизма rs11787532 гена *ZFNХ4* с наличием рассеянного склероза

| Модель наследования | Генотип | Контрольная группа, n (%) | Исследуемая группа, n (%) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|---------------------------|---------------------------|------------------|------|
| Кодоминантная | G/G | 51 (63,8%) | 130 (63,4%) | 1,00 | 0,97 |
| | G/C | 25 (31,2%) | 66 (32,2%) | 1,04 (0,59-1,82) | |
| | C/C | 4 (5%) | 9 (4,4%) | 0,88 (0,26-2,99) | |
| Доминантная | G/G | 51 (63,8%) | 130 (63,4%) | 1,00 | 0,96 |
| | G/C-C/C | 29 (36,2%) | 75 (36,6%) | 1,01 (0,59-1,74) | |
| Рецессивная | G/G-G/C | 76 (95%) | 196 (95,6%) | 1,00 | 0,83 |
| | C/C | 4 (5%) | 9 (4,4%) | 0,87 (0,26-2,92) | |
| Сверх-доминантная | G/G-C/C | 55 (68,8%) | 139 (67,8%) | 1,00 | 0,88 |
| | G/C | 25 (31,2%) | 66 (32,2%) | 1,04 (0,60-1,82) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Не установлено различий генотипов среди больных и здоровых лиц в группах, выделенных по полу ($p > 0,05$).

4.1.3. Результаты генотипирования по полиморфизму rs9527281 (*STARD13*).

При генотипировании по полиморфному маркеру rs9527281 и в группе больных, и в группе контроля получено преобладание гетерозиготного генотипа G/T (Рисунок 25).

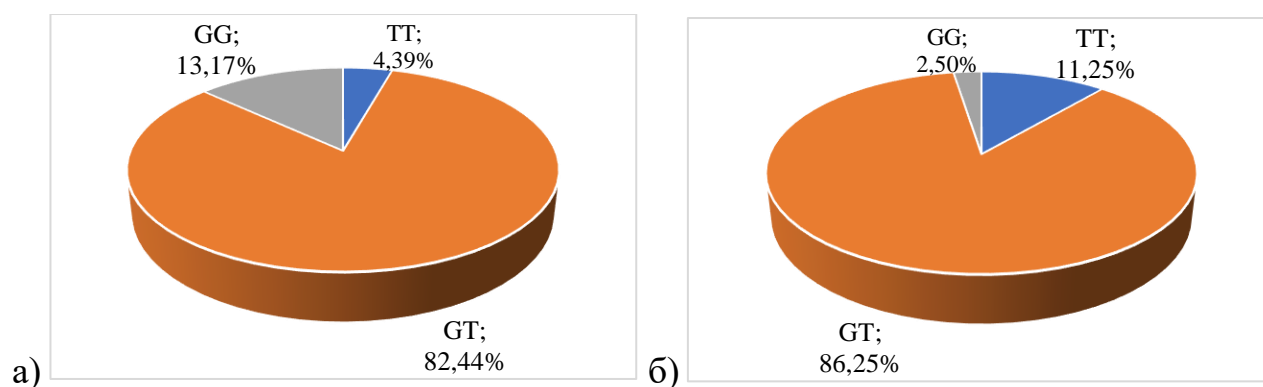


Рисунок 25. Распределение генотипов rs19527281 гена *STARD13* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

Установлено, что гетерозиготный генотип G/T, как и вариантный генотип T/T достоверно чаще встречается в группе здоровых по кодоминантной и доминантной моделям наследования (Таблица 6).

Таблица 6. Ассоциация носительства генотипов полиморфизма rs9527281 гена *STARD13* с наличием рассеянного склероза

| Модель наследования | Генотип | Контрольная группа, n (%) | Исследуемая группа, n (%) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|---------------------------|---------------------------|------------------|--------------|
| Кодоминантная | G/G | 2 (2,5%) | 27 (13,2%) | 1,00 | 0,002 |
| | G/T | 69 (86,2%) | 169 (82,4%) | 0,18 (0,04-0,78) | |
| | T/T | 9 (11,2%) | 9 (4,4%) | 0,07 (0,01-0,41) | |
| Доминантная | G/G | 2 (2,5%) | 27 (13,2%) | 1,00 | 0,003 |
| | G/T-T/T | 78 (97,5%) | 178 (86,8%) | 0,17 (0,04-0,73) | |
| Рецессивная | G/G-G/T | 71 (88,8%) | 196 (95,6%) | 1,00 | 0,042 |
| | T/T | 9 (11,2%) | 9 (4,4%) | 0,36 (0,14-0,95) | |
| Сверх-доминантная | G/G-T/T | 11 (13,8%) | 36 (17,6%) | 1,00 | 0,43 |
| | G/T | 69 (86,2%) | 169 (82,4%) | 0,75 (0,36-1,55) | |

OR –отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

При распределении аллелей выявлено преобладание аллели G в группе больных РС (60%) и в группе здоровых (80%) (Рисунок 25), а аллель T достоверно чаще обнаружена в группе больных в сравнении с группой контроля (OR=2,667, 95%CI 1,44-4,93, p=0,001).

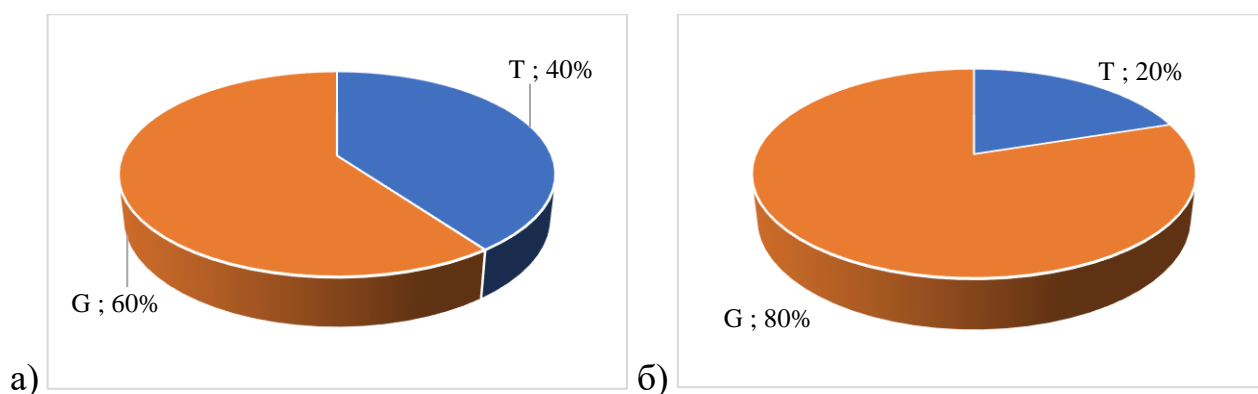


Рисунок 25. Распределение доминирующих аллелей rs19527281 гена *STARD13* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

В отдельных группах мужчин и женщин не получено достоверных данных связи генотипа или аллели с заболеванием ($p=0,36$).

4.1.4. Результаты генотипирования по полиморфизму rs7308076 (*CIT*).

Из всей когорты обследованных по полиморфизму rs7308076 (*CIT*) наибольшую долю составили больные с генотипом С/Т (48,05%), как и в группе контроля (50%). Наименее часто в обеих группах выявлялся генотип Т/Т (11,28% и 6,25% соответственно) (Рисунок 26).

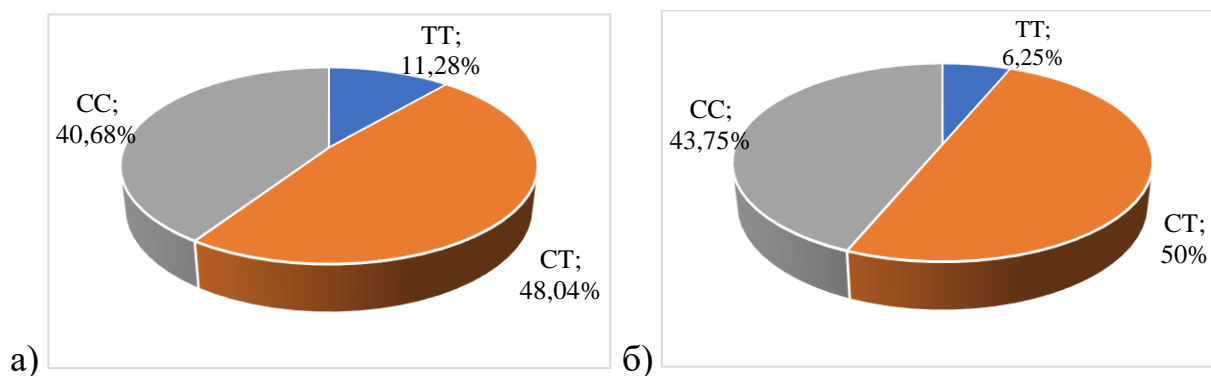


Рисунок 26. Распределение генотипов rs7308076 гена *CIT* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

В группе больных РС чаще доминировала аллель С, в группе здоровых, напротив, аллель Т (Рисунок 27). Установлено, что аллель С достоверно связана с наличием РС (OR=1,93, 95% CI 1,15-3,26, $p=0,01$).

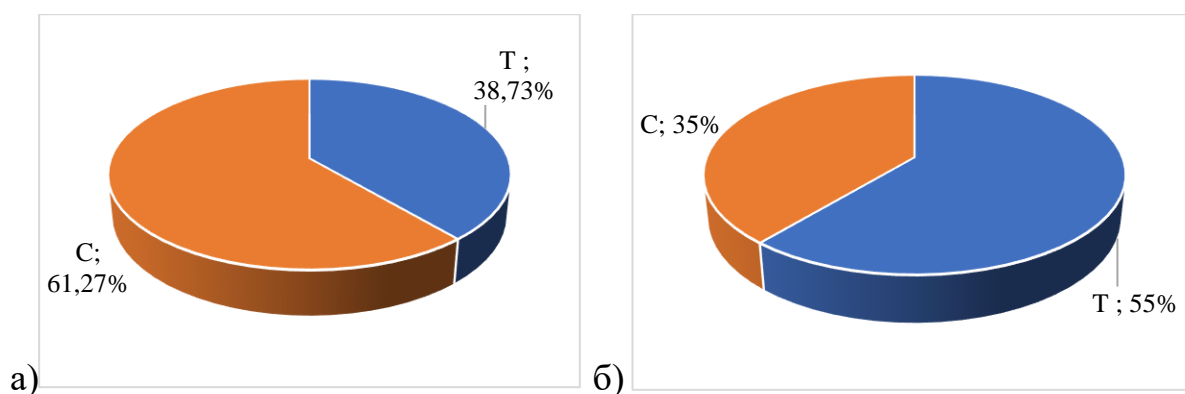


Рисунок 27. Распределение аллелей rs7308076 гена *CIT* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

Достоверных различий генотипов rs7308076 гена *CIT* в группе наблюдения и контроля не отмечалось (Таблица 7).

Таблица 7. Ассоциация носительства генотипов полиморфизма rs7308076 гена *CIT* с наличием рассеянного склероза

| Модель наследования | Генотип | Контрольная группа, n (%) | Исследуемая группа, n (%) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|---------------------------|---------------------------|------------------|------|
| Кодоминантная | C/C | 35 (43,8%) | 83 (40,7%) | 1,00 | 0,41 |
| | C/T | 40 (50%) | 98 (48%) | 1,03 (0,60-1,77) | |
| | T/T | 5 (6,2%) | 23 (11,3%) | 1,94 (0,68-5,51) | |
| Доминантная | C/C | 35 (43,8%) | 83 (40,7%) | 1,00 | 0,64 |
| | C/T-T/T | 45 (56,2%) | 121 (59,3%) | 1,13 (0,67-1,91) | |
| Рецессивная | C/C-C/T | 75 (93,8%) | 181 (88,7%) | 1,00 | 0,18 |
| | T/T | 5 (6,2%) | 23 (11,3%) | 1,91 (0,70-5,20) | |
| Сверх-доминантная | C/C-T/T | 40 (50%) | 106 (52%) | 1,00 | 0,77 |
| | C/T | 40 (50%) | 98 (48%) | 0,92 (0,55-1,55) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

4.1.5. Результаты генотипирования по полиморфизму rs733254 (ZFAT).

Исследование по полиморфному маркеру rs733254 гена *ZFAT* показало следующее распределение генотипов у больных РС: А/А – 40,49%, А/С – 59,51%. Вариантный генотип С/С не был выявлен (Рисунок 28). В группе пациентов преобладала аллель А (70,25%). В группе контроля выявлено также преобладание аллели А (98,75%) и генотипа А/А (97,5%). В остальных случаях также обнаружен гетерозиготный генотип А/С, гомозигота С/С выявлена не была, (рисунок 28, 29).

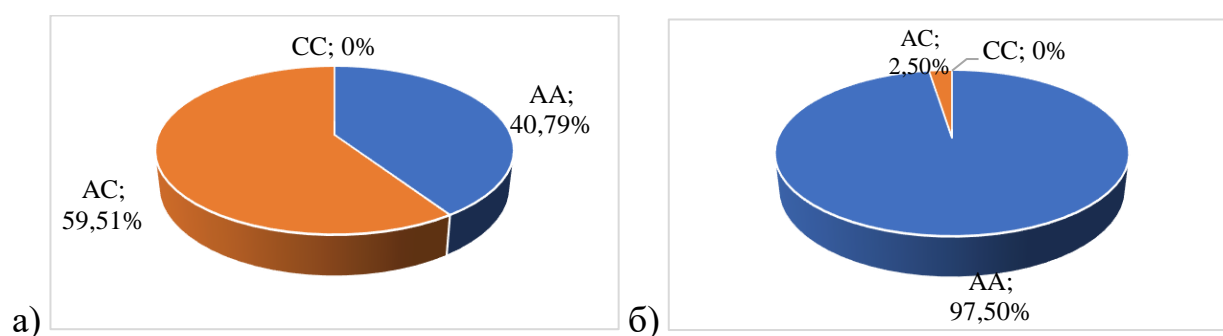


Рисунок 28. Распределение генотипов rs733254 гена *ZFAT* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

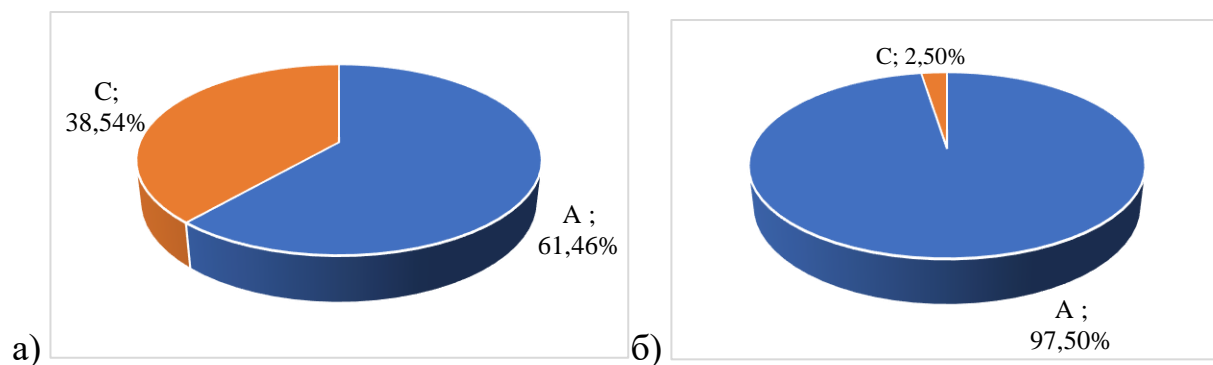


Рисунок 29. Распределение аллелей rs733254 гена *ZFAT* в группе а) больных и б) здоровых лиц, %

Установлено, что в группе больных РС достоверно чаще встречается генотип С/А rs733254, в сравнении с группой контроля (OR 60,67; 95% CI 14,42 – 255,16, $p=0,0001$) (Таблица 8). Модель наследования данного полиморфизма не определена ввиду отсутствия в выборке вариантной гомозиготы.

Таблица 8. Ассоциация носительства генотипов полиморфизма rs733254 гена *ZFAT* с наличием рассеянного склероза

| Модель наследования | Генотип | Контрольная группа, n (%) | Исследуемая группа, n (%) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------|
| ----- | A/A | 78 (97,5%) | 83 (40,5%) | 1,00 | 0,0001 |
| | A/C | 2 (2,5%) | 122 (59,5%) | 60,67 (14,42-255,16) | |

OR –отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Аллель С достоверно чаще встречается у больных РС, по сравнению с группой здоровых лиц (OR=24,45, 95%CI 5,83-102,33, p=0,000).

4.2 Клинико-генетические ассоциации у больных РС

4.2.1. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом rs10492972 *KIF1B*.

В группе больных РС выявлено достоверное увеличение балла EDSS у лиц с доминирующей аллелью Т (U=2949,5, p=0,02), и, соответственно, снижение балла шкалы Scripps (p=0,03) (Рисунок 30) как у мужчин, так и у женщин без достоверной разницы между ними (p=0,29, p=0,05). Статистической зависимости балла Arm-index, FSS от наличия какой-либо из аллелей установлено не было.

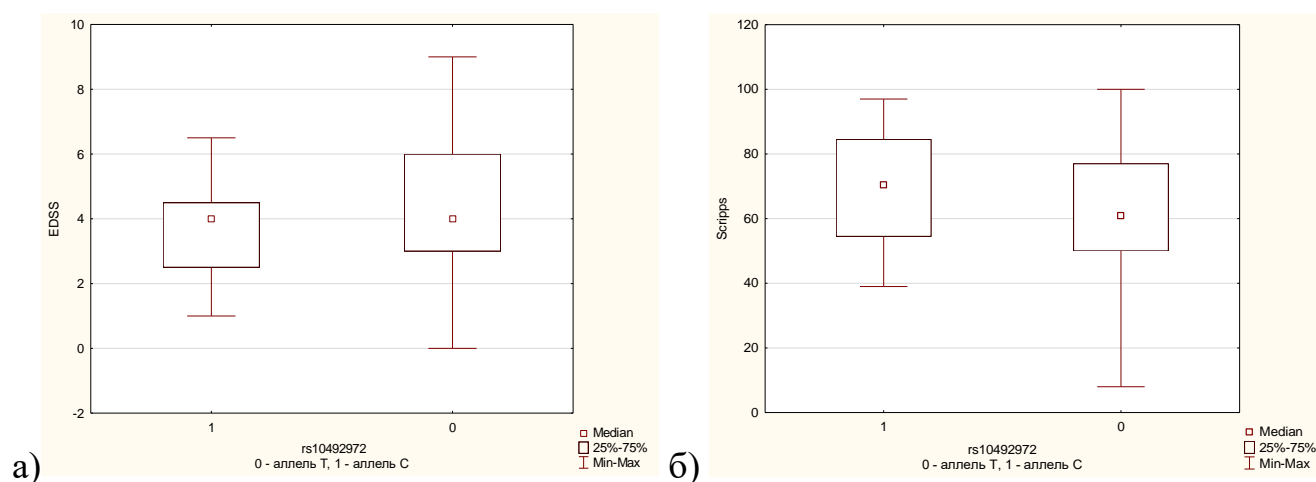


Рисунок 30. Балльная оценка по шкалам EDSS (а) и Scripps (б) в зависимости от доминирующей аллели rs10492972 гена *KIF1B*

Генотипы полиморфизма rs10492972 не показали достоверной связи с тяжестью инвалидизации по EDSS как в общей выборке (Таблица 9), так и в группах, выделенных по полу ($p=0,95$). С выраженностью неврологического дефицита по шкале Scripps ассоциаций генотипов также не получено ($p>0,05$).

Таблица 9. Ассоциации генотипов rs10492972 *KIF1B* с тяжестью инвалидизации по шкале EDSS.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|-------------------------|------|
| Кодоминантная | T/T | 100 | 4,18 | 0,00 | 0,31 |
| | C/T | 85 | 4,28 | 0,09 (-0,39 - 0,57) | |
| | C/C | 19 | 3,63 | -0,55 (-1,37 - 0,26) | |
| Доминантная | T/T | 100 | 4,18 | 0,00 | 0,91 |
| | C/T-C/C | 104 | 4,16 | -0,03 (-0,49 - 0,43) | |
| Рецессивная | T/T-C/T | 185 | 4,23 | 0,00 | 0,14 |
| | C/C | 19 | 3,63 | -0,60 (-1,38 - 0,19) | |
| Сверх-доминантная | C/C-T/T | 119 | 4,1 | 0,00 | 0,46 |
| | C/T | 85 | 4,28 | 0,18 (-0,29 - 0,64) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

По шкале Kurtzke ни один из генотипов не был ассоциирован с выраженностью нарушения функции зрения, функций ствола ГМ, пирамидными, мозжечковыми, чувствительными нарушениями, дисфункцией тазовых органов, а также способностью к передвижению ($p>0,05$).

Ассоциация генотипов rs10492972 *KIF1B* с выраженностью корковых нарушений представлена в Таблице 10, из которой следует, что генотипы C/C И C/T ассоциированы с меньшей выраженностью корковых нарушений по доминантной и кодоминантной моделям наследования.

Таблица 10. Ассоциации генотипов rs10492972 *KIF1B* с выраженностью корковых нарушений.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение (по Kurtzke) | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|-------------------------------|---------------------|--------------|
| Кодоминантная | T/T | 100 | 0,92 | 0,00 | 0,024 |
| | C/T | 85 | 1,25 | 0,33 (0,09 - 0,56) | |
| | C/C | 19 | 1,16 | 0,24 (-0,16 - 0,64) | |
| Доминантная | T/T | 100 | 0,92 | 0,00 | 0,007 |
| | C/T-C/C | 104 | 1,23 | 0,31 (0,09 - 0,53) | |
| Рецессивная | T/T-C/T | 185 | 1,07 | 0,00 | 0,66 |
| | C/C | 19 | 1,16 | 0,09 (-0,30 - 0,48) | |
| Сверх-доминантная | C/C-T/T | 119 | 0,96 | 0,00 | 0,013 |
| | C/T | 85 | 1,25 | 0,29 (0,06 - 0,52) | |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

У больных РС не отмечено достоверных различий значения скорости прогрессирования при доминировании той или иной аллели ($p=0,22$). Однако в группе мужчин аллель С была ассоциирована с повышением скорости прогрессирования РС ($p=0,03$) (Рисунок 31).

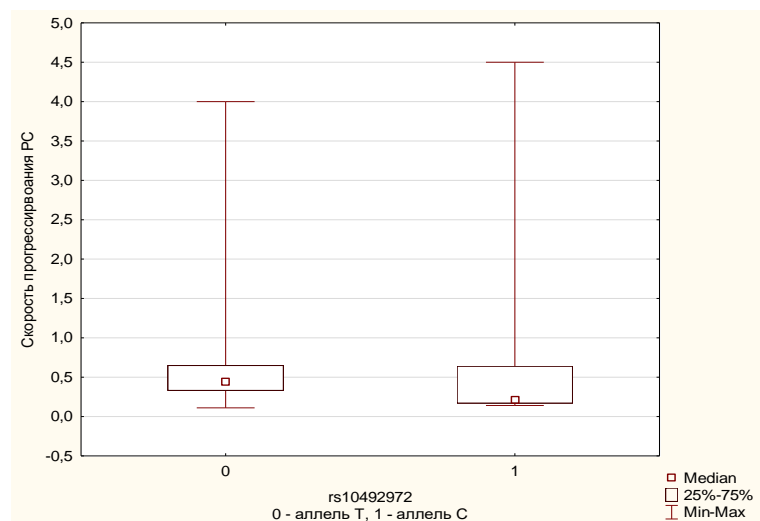


Рисунок 31. Значение скорости прогрессирования РС в зависимости от доминирующей аллели rs10492972 гена *KIF1B* в группе мужчин.

В группе больных аллель Т также ассоциирована с выраженностью поражения пирамидной системы по шкале Kurtzke ($p=0,03$) (Рисунок 32), однако не установлено ассоциации в зависимости от пола ($p>0,05$).

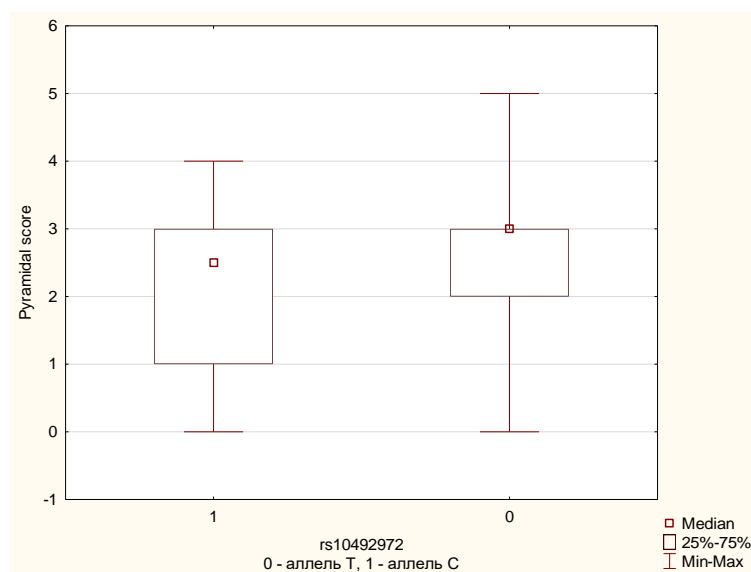


Рисунок 32. Выраженность пирамидной симптоматики (по Kurtzke) в зависимости от доминирующей аллели rs10492972 гена *KIF1B* у больных РС.

В группе больных РС не установлено ассоциации генотипов с выраженностью астении по FSS, степенью дисфункции рук по Arm-index, а также с возрастом дебюта и скоростью прогрессирования заболевания.

4.2.2. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом rs11787532 ZFNХ4.

В зависимости от доминирующей аллели у больных РС не выявлено достоверных различий по показателям EDSS ($p=0,5$), FSS ($p=0,84$), Arm-index ($p=0,32$), Scripps ($p=0,82$), а также скорости прогрессирования ($p=0,16$).

В группах мужчин и женщин также не выявлено разницы показателей клинического статуса в зависимости от преобладающей аллели ($p>0,05$).

Генотипы полиморфизма не показали влияние на тяжесть инвалидизации по шкале EDSS в общей выборке (Таблица 11), и в зависимости от пола ($p=0,59$).

Таблица 11. Ассоциации генотипов rs11787532 гена *ZFHX4* с выраженностью инвалидизации по EDSS.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|-------------|----------|------------------------|----------------------|------|
| Кодоминантная | G/G | 130 | 4,18 | 0,00 | 0,78 |
| | G/C | 66 | 4,07 | -0,12 (-0,61 - 0,38) | |
| | C/C | 9 | 4,44 | 0,26 (-0,86 - 1,38) | |
| Доминантная | G/G | 130 | 4,18 | 0,00 | 0,77 |
| | G/C- C/C | 75 | 4,11 | -0,07 (-0,54 - 0,40) | |
| Рецессивная | G/G- G/C | 196 | 4,15 | 0,00 | 0,6 |
| | C/C | 9 | 4,44 | 0,30 (-0,81 - 1,41) | |
| Сверх-доминантная | G/G- C/C | 139 | 4,2 | 0,00 | 0,95 |
| | G/C | 66 | 4,07 | -0,13 (-0,62 - 0,35) | |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

По шкале Kurtzke генотипы не были ассоциированы с выраженностью нарушения функции зрения, функций ствола ГМ, пирамидными, мозжечковыми, чувствительными нарушениями, дисфункцией тазовых органов, корковыми нарушениями, дистанцией передвижения ($p > 0,05$).

Достоверных связей генотипов полиморфизма rs11787532 со значением балла FSS, Arm-index, Scripps получено не было ($p > 0,05$). Влияния генотипа на возраст дебюта и скорость прогрессирования РС также не получено ($p > 0,05$).

4.2.3. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом rs9527281

STARD13

Преобладающая в группе больных РС аллель G была ассоциирована со скоростью прогрессирования заболевания в общей выборке ($p = 0,02$). В группе мужчин аллель T имела ассоциацию с более высоким значением скорости прогрессирования РС ($p = 0,04$) (Рисунок 33).

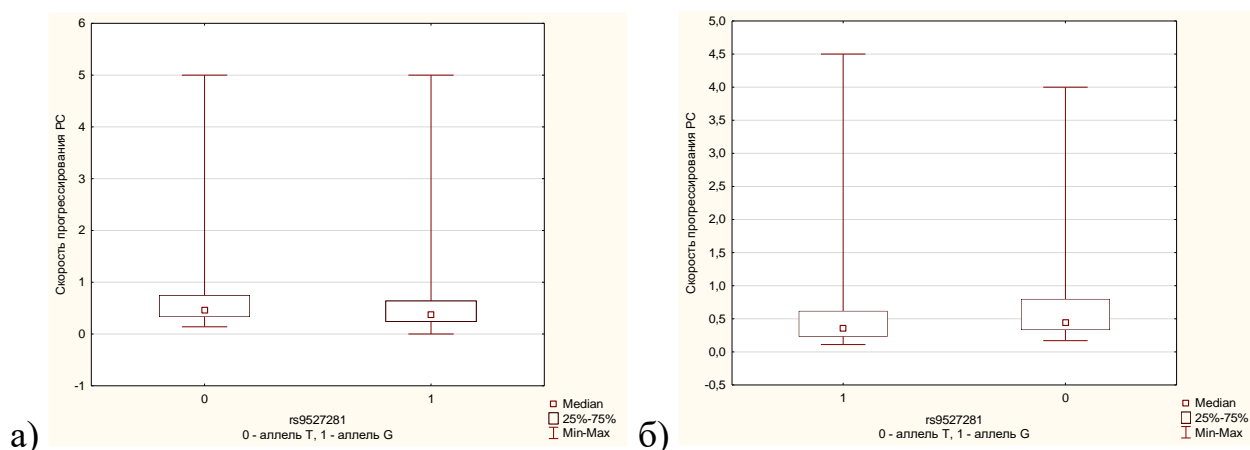


Рисунок 33. Значение скорости прогрессирования РС в зависимости от доминирующей аллели rs9527281 гена *STARD13* а) в общей выборке; б) в группе мужчин

В группе мужчин аллель Т также показала достоверную связь с выраженностью астении по опроснику FSS ($p=0,01$) (Рисунок 34). У женщин с РС данной ассоциации не получено ($p>0,05$).

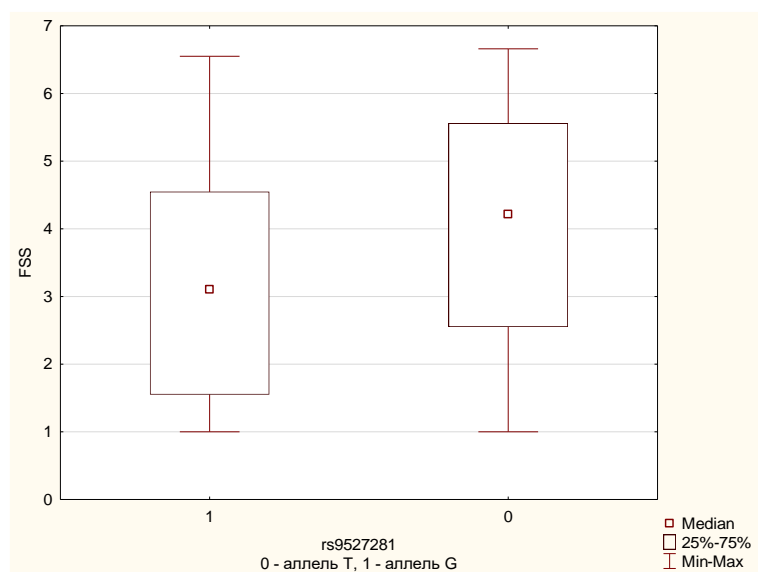


Рисунок 34. Выраженность астении у мужчин с РС по опроснику FSS в зависимости от доминирующей аллели rs9527281 гена *STARD13*

Генотипы rs9527281 достоверно не ассоциированы с балльной оценкой EDSS (Таблица 12).

Таблица 12. Ассоциации генотипов rs9527281 гена *STARD13* с выраженностью инвалидизации по EDSS.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|-------------------------|------|
| Кодоминантная | G/G | 27 | 3,89 | 0,00 | 0,49 |
| | G/T | 169 | 4,22 | 0,33 (-0,34 - 1,01) | |
| | T/T | 9 | 3,78 | -0,11 (-1,36 - 1,14) | |
| Доминантная | G/G | 27 | 3,89 | 0,00 | 0,37 |
| | G/T-T/T | 178 | 4,2 | 0,31 (-0,36 - 0,98) | |
| Рецессивная | G/G-G/T | 196 | 4,18 | 0,00 | 0,48 |
| | T/T | 9 | 3,78 | -0,40 (-1,51 - 0,71) | |
| Сверх-доминантная | G/G-T/T | 36 | 3,86 | 0,00 | 0,24 |
| | G/T | 169 | 4,22 | 0,36 (-0,23 - 0,96) | |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

По шкале Kurtzke генотипы не были ассоциированы с выраженностью нарушения функции зрения, функций ствола ГМ, пирамидными нарушениями, мозжечковыми нарушениями, чувствительными нарушениями, нарушениями ФТО, корковыми нарушениями, дистанцией передвижения ($p > 0,05$).

Не установлено ассоциаций генотипа с выраженностью астении по FSS, дисфункцией рук по Arm-index ($p > 0,05$). Влияния генотипа на возраст дебюта заболевания и скорость прогрессирования не установлено.

4.2.4. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом rs7308076 *CIT*.

Исследование по полиморфизму rs7307076 гена *CIT* не показало значимых различий определенной доминирующей аллели с показателями неврологического статуса по EDSS ($p = 0,12$), Arm-index ($p = 0,34$), FSS ($p = 0,52$), Scripps ($p = 0,23$), по скорости прогрессирования заболевания ($p = 0,82$).

Генотипирование также не дало значимых результатов в отношении связи генотипов с баллом EDSS (Таблица 13).

Таблица 13. Ассоциации генотипов rs7308076 гена *CIT* с выраженностью инвалидизации по EDSS.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|----------------------|------|
| Кодоминантная | G/G | 83 | 4,16 | 0,00 | 0,84 |
| | G/T | 98 | 4,18 | 0,02 (-0,47 - 0,51) | |
| | T/T | 23 | 3,96 | -0,21 (-0,97 - 0,56) | |
| Доминантная | G/G | 83 | 4,16 | 0,00 | 0,93 |
| | G/T-T/T | 121 | 4,14 | -0,02 (-0,49 - 0,44) | |
| Рецессивная | G/G-G/T | 181 | 4,17 | 0,00 | 0,55 |
| | T/T | 23 | 3,96 | -0,22 (-0,94 - 0,50) | |
| Сверх-доминантная | G/G-T/T | 106 | 4,12 | 0,00 | 0,78 |
| | G/T | 98 | 4,18 | 0,07 (-0,39 - 0,52) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Генотипы не были ассоциированы с выраженностью дисфункций ни по одному из имеющихся параметров шкалы Kurtzke, с выраженностью симптомов астении по шкале FSS, выраженностью дисфункции рук, возрастом дебюта и скоростью прогрессирования РС ($p>0,05$).

4.2.5. Клинико-генетические ассоциации с полиморфизмом rs733254 ZFAT

В проведенном исследовании не отмечено влияния аллелей rs733254 *ZFAT* на выраженность клинических проявлений РС, скорость его прогрессирования, возраст дебюта как в общей выборке, так и в группах по половому признаку ($p>0,05$).

Не установлено значимой клинико-генетической связи генотипов с баллом EDSS (Таблица 14), а также шкалы неврологического дефицита Scripps.

Таблица 14. Ассоциации генотипов rs733254 гена *ZFAT* с выраженностью инвалидизации по EDSS.

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|----------------------|-----|
| ----- | A/A | 83 | 4,28 (0,18) | 0,00 | 0,4 |
| | A/C | 122 | 4,08 (0,15) | -0,20 (-0,66 - 0,26) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

По шкале Kurtzke генотипы не были ассоциированы с выраженностью нарушения функции зрения, выраженностью нарушений функций ствола ГМ, с пирамидными нарушениями, мозжечковыми нарушениями, чувствительными нарушениями, дистанцией передвижения ($p > 0,05$).

Установлена ассоциация генотипа A/C с меньшей выраженностью тазовых и корковых нарушений (Таблица 15,16).

Таблица 15. Ассоциации генотипов rs733254 гена *ZFAT* с выраженностью тазовых нарушений (по Kurtzke).

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|-----------------------|--------------|
| ----- | A/A | 83 | 1,66 | 0,00 | 0,025 |
| | A/C | 122 | 1,33 | -0,33 (-0,63 - -0,04) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Таблица 16. Ассоциации генотипов rs733254 гена *ZFAT* с выраженностью корковых нарушений (по Kurtzke).

| Модель наследования | Генотип | n (абс.) | Среднее значение, балл | OR (95% CI) | p |
|---------------------|---------|----------|------------------------|-----------------------|--------------|
| ----- | A/A | 83 | 1,23 | 0,00 | 0,021 |
| | A/C | 122 | 0,96 | -0,27 (-0,50 - -0,04) | |

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Генотипы rs733254 гена *ZFAT* не были ассоциированы с выраженностью нарушения функции рук по arm-index ($p=0,56$), выраженностью астении ($p=0,81$), с возрастом дебюта и скоростью прогрессирования РС ($p=0,44$; $p=0,89$ соответственно).

ГЛАВА 5. СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ АЛЛЕЛЕЙ НА КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Риск развития заболеваний, в особенности, мультифакторных, как правило может быть обусловлен не одним геном или однонуклеотидными полиморфизмом, а их комбинацией. Полиморфизмы генов могут компенсировать или потенцировать эффекты друг друга, в связи с чем проведен множественный анализ частоты встречаемости аллелей полиморфизмов rs10492972 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) и их ассоциации с наличием РС и выраженностью его проявлений по изучаемым шкалам. Все возможные сочетания аллелей определялись автоматически в программе SNPstats (Institut Català d'Oncologia, Испания).

Выявлено влияние сочетания аллелей С,Г,Т,С,А и Т,Г,Г,С,С изучаемых генов на наличие РС (Таблица 17). Сочетание С,Г,Т,С,А ассоциировано с меньшим риском РС (OR=0,15, 95% CI 0,03-0,8, p=0,026), а сочетание Т,Г,Г,С,С – с большим (OR=130,32, 95% CI 9,28-1827,43, p=4e-04).

Таблица 17. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей и его ассоциации с наличием РС.

| № | rs10492972 (<i>KIF1B</i>) | rs11787532 (<i>ZFHX4</i>) | rs9527281 (<i>STARD13</i>) | rs7308076 (<i>CIT</i>) | rs733254 (<i>ZFAT</i>) | Частота встречаемости общая, % | Частота встречаемости в группе больных РС, % | Частота встречаемости в группе контрол я, % | OR (95% CI) | P |
|---|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|--|---|--|--------------|
| 1 | T | G | G | C | A | 14,14 | 10,52 | 7,39 | 1,00 | --- |
| 2 | C | G | T | C | A | 13,26 | 4,07 | 10,17 | 0,15 (0,03 - 0,80) | 0,026 |
| 3 | T | G | T | C | A | 10,02 | 11,07 | 17,22 | 1,70 (0,26 - 11,33) | 0,58 |
| 4 | T | G | T | T | A | 9,47 | 10,26 | 17,03 | 1,28 (0,19 - 8,64) | 0,8 |
| 5 | T | G | G | C | C | 8,15 | 12,08 | NA | 130,32 (9,29 - 1827,43) | 4e-04 |

OR – отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Сочетание аллелей T,G,T,C,A встречающееся в 10,9% случаев, а также реже встречающиеся сочетания C,G,G,C,C (4,37%), T,C,G,C,A (3,43%), C,G,G,C,A (3,11%) в полиморфизмах rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 показали ассоциацию с более высоким уровнем инвалидизации по шкале EDSS (Таблица 18).

Таблица 18. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с уровнем инвалидизации по EDSS (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | P |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|-------------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | T | T | A | 13,19 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | G | C | C | 12,24 | NA (NA - NA) | NA |
| 3 | T | G | T | C | A | 10,97 | 1,78 (0,86 - 2,69) | 0,0001 |
| 4 | C | G | G | C | C | 4,37 | 2,32 (1,4 - 3,25) | 0,0001 |
| 5 | T | C | G | C | A | 3,43 | 2,2 (1,1 - 3,29) | 0,0001 |
| 6 | C | G | G | C | A | 3,11 | 1,37 (0,23 - 2,5) | 0,019 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Те же сочетания (T,G,T,C,A и T,C,G,C,A), а также T,G,G,T,C; C,G,T,C,A и T,G,G,T,A в полиморфизмах rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 ассоциированы с меньшим баллом шкалы неврологического статуса Scripps, что также свидетельствует о более тяжелом поражении нервной системы (Таблица 19).

Таблица 19. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с уровнем инвалидизации по шкале Scripps (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (<i>KIF1B</i>) | rs11787532 (<i>ZFHX4</i>) | rs9527281 (<i>STARD13</i>) | rs7308076 (<i>CIT</i>) | rs733254 (<i>ZFAT</i>) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | P |
|---|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|--|--------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 13,58 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | T | T | A | 11,83 | -2,27 (-13,45 - 8,92) | 0,69 |
| 3 | T | G | G | C | A | 10,73 | -7,38 (-16,6 - 1,83) | 0,12 |
| 4 | T | G | T | C | A | 9,47 | -13,66 (-26,99 - -0,34) | 0,045 |
| 5 | T | G | G | T | C | 8,88 | -14,99 (-25,28 - -4,69) | 0,004 |
| 6 | C | G | T | C | A | 8,28 | -13,98 (-24,64 - -3,32) | 0,01 |
| 7 | T | C | G | C | A | 4,77 | -13,11 (-24,33 - -1,9) | 0,022 |
| 8 | T | G | G | T | A | 1,69 | -18,46 (-36,64 - -0,29) | 0,047 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Ассоциации сочетаний аллелей полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) с выраженностью поражения функциональных систем по шкале Kurtzke представлены в Таблицах 20-28.

Сочетания аллелей полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,T,C и T,C,G,C,A ассоциированы с лучшим состоянием функциональной системы зрения по шкале Kurtzke (OR= -0,62, 95% CI -1,18 - -0,06, p=0,029; OR=-0,69, 95% CI -1,32 - -0,05, p=0,033 соответственно)(Таблица 20).

Таблица 20. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью зрительных нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|--------------------|--|--|--------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 12,21 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | G | T | C | 10,27 | -0,62 (-1,18 - -0,06) | 0,029 |
| 3 | T | C | G | C | A | 5,35 | -0,69 (-1,32 - -0,05) | 0,033 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Установлено, что сочетания аллелей T,G,G,C,A; T,G,G,T,C; C,G,T,C,A и C,C,T,C,A ассоциированы со зрительными нарушениями в группе мужчин с РС, а сочетания T,G,T,T,A; T,C,G,C,A; T,G,T,C,C – в группе больных женщин, $p=0,37$ (Таблица 21).

Таблица 21. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью зрительных нарушений по шкале Kurtzke в зависимости от пола (показаны только значимые результаты).

| № | Сочетание аллелей | Частота встречаемости в группе больных РС, % | Мужчины OR (95% CI) | Женщины OR (95% CI) |
|----------------|-------------------|--|---------------------------|---------------------------|
| 1 | TGGCA | 11,5 | 0,91 (0,01 - 1,81) | 0,82 (-0,28 - 1,92) |
| 2 | TGGTC | 10,3 | 0,74 (0,12 - 1,37) | -0,06 (-1,21 - 1,09) |
| 3 | CGTCA | 9,49 | 0,91 (0,21 - 1,60) | 1,04 (-0,10 - 2,18) |
| 4 | TGTTA | 7,55 | -0,11 (-0,82 - 0,61) | 1,60 (0,49 - 2,70) |
| 5 | TCGCA | 4,83 | -0,16 (-0,94 - 0,62) | 1,35 (0,16 - 2,54) |
| 6 | TGTCC | 2,76 | -0,19 (-1,09 - 0,71) | 2,14 (0,82 - 3,46) |
| 7 | CCTCA | 2,7 | 2,50 (1,34 - 3,66) | 0,36 (-0,87 - 1,59) |
| p=0,037 | | | | |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Сочетание T,G,G,T,C ассоциировано также с меньшей выраженностью стволовых нарушений по шкале Kurtzke (OR=0,97 95% CI 0,58 – 1,36, p=0,001). Реже встречающиеся сочетания T,C,G,C,A; C,G,G,C,C; C,G,G,C,A; T,G,G,T,A; T,G,G,C,C показали связь с более выраженными стволовыми симптомами в общей выборке (Таблица 22).

Таблица 22. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью стволовых нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--|-------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | T | C | A | 11,72 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | G | T | C | 9,53 | 0,97 (0,58 - 1,36) | 0,0001 |
| 3 | T | C | G | C | A | 4,4 | 1,2 (0,7 - 1,71) | 0,0001 |
| 4 | C | G | G | C | C | 3,17 | 1,13 (0,57 - 1,69) | 0,0001 |
| 5 | C | G | G | C | A | 3 | 1,15 (0,56 - 1,74) | 0,0001 |
| 6 | T | G | G | T | A | 2,07 | 1,56 (0,89 - 2,23) | 0,0001 |
| 7 | T | G | T | C | C | 1,81 | 1,82 (1,05 - 2,59) | 0,0001 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

То же сочетания полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,T,C, а также сочетания C,G,G,C,C и C,C,T,C,A ассоциированы с лучшим функциональным состоянием пирамидной системы, а сочетания T,C,G,C,A и T,G,G,T,A показали ассоциации с тяжестью пирамидной симптоматики (Таблица 23).

Таблица 23. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью поражения пирамидной системы по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|-------------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | T | C | A | 12,01 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | G | T | C | 8,86 | 0,82 (0,32 - 1,32) | 0,001 |
| 3 | T | C | G | C | A | 5,08 | 1,29 (0,73 - 1,85) | 0,0001 |
| 4 | C | G | G | C | C | 4,87 | 0,88 (0,29 - 1,48) | 0,004 |
| 5 | C | C | T | C | A | 4,16 | 0,96 (0,26 - 1,66) | 0,007 |
| 6 | T | G | G | T | A | 2,41 | 1,19 (0,35 - 2,02) | 0,005 |

OR – отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Ассоциированные с тяжестью инвалидизации сочетания исследуемых полиморфизмов T,G,T,C,A и C,G,G,C,C, а также T,G,G,T,C и T,C,T,C,A показали достоверную связь с лучшим состоянием координаторной системы у больных РС (Таблица 24).

Таблица 24. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью мозжечковых нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|-------------------------------------|--------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 12,1 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | T | C | A | 10,57 | 0,95 (0,39 - 1,5) | 0,001 |
| 3 | T | G | G | T | C | 8,39 | 0,5 (0,02 - 0,98) | 0,04 |
| 4 | C | C | T | C | A | 2,84 | 0,81 (0,05 - 1,58) | 0,037 |
| 5 | C | G | G | C | C | 2,5 | 0,76 (0,07 - 1,46) | 0,032 |

OR – отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Сочетание аллелей T,G,G,T,C ассоциировано с выраженностью мозжечковых нарушений у мужчин с РС. В группе женщин аллели полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,C,C; C,G,G,T,A; C,G,G,C,A; T,C,T,C,A ассоциированы с менее выраженным поражением системы координации, p=0,021 (Таблица 25).

Таблица 25. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью координаторных нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | Сочетание аллелей | Частота встречаемости в группе больных РС, % | Мужчины OR (95% CI) | Женщины OR (95% CI) |
|----------------|-------------------|--|---------------------------|------------------------------|
| 1 | TGGCA | 11,41 | 0,00 | -0,54 (-1,56 - 0,48) |
| 2 | TGGCC | 9,53 | 0,00 (0,00 - Inf) | -1,97 (-3,19 - -0,76) |
| 3 | TGGTC | 8,2 | 0,78 (0,13 - 1,43) | -1,08 (-2,17 - 0,02) |
| 4 | CGGTA | 6,52 | -0,10 (-0,90 - 0,71) | -1,61 (-2,69 - -0,52) |
| 5 | CGGCA | 2,8 | 1,13 (-0,10 - 2,36) | -1,47 (-2,66 - -0,29) |
| 6 | TCTCA | 2,55 | -1,18 (-2,44 - 0,07) | -1,31 (-2,43 - -0,19) |
| 7 | CCGCA | 1,94 | -0,17 (-1,77 - 1,43) | -1,96 (-3,17 - -0,75) |
| 8 | CCGCC | 1,46 | -0,47 (-1,63 - 0,69) | -2,11 (-3,47 - -0,75) |
| p=0,021 | | | | |

OR –отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Аллели C,G,T,C,A; T,G,G,T,C; C,G,G,C,A полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 ассоциированы с меньшей выраженностью поражения чувствительной системы (Таблица 26).

Таблица 26. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью сенсорных нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--|--|--------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 13,95 | 0,00 | --- |
| 2 | C | G | T | C | A | 9,57 | 0,68 (0,14 - 1,22) | 0,013 |
| 3 | T | G | G | T | C | 7,33 | 0,63 (0,13 - 1,14) | 0,014 |
| 4 | C | G | G | C | A | 2,88 | -1,01 (-1,77 - -0,26) | 0,009 |
| 5 | T | C | T | T | A | 1,67 | 1,35 (0,31 - 2,39) | 0,011 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Большое количество сочетаний аллелей полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254, показавшие ассоциации с выраженностью нарушений тазовых органов, представлены в Таблице 27.

Таблица 27. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью тазовых нарушений по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | P |
|----|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--|-------------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | T | T | A | 13,52 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | G | C | C | 12,92 | NA (NA - NA) | NA |
| 3 | T | G | T | C | A | 11,12 | 1,63 (1,09 - 2,17) | 0,0001 |
| 4 | T | G | G | C | A | 9,12 | 0,84 (0,36 - 1,33) | 0,001 |
| 5 | C | G | T | C | A | 6,47 | 1,09 (0,36 - 1,81) | 0,003 |
| 6 | T | C | G | C | A | 6,13 | 1,1 (0,59 - 1,6) | 0,0001 |
| 7 | T | G | G | T | C | 6,12 | 1,29 (0,74 - 1,83) | 0,0001 |
| 9 | C | G | G | C | C | 4,03 | 1,49 (0,85 - 2,13) | 0,0001 |
| 10 | C | G | G | C | A | 4,01 | 1,19 (0,47 - 1,92) | 0,001 |
| 11 | T | C | T | C | A | 3,64 | 1,13 (0,36 - 1,91) | 0,004 |
| 12 | C | G | T | T | A | 3,63 | 1 (0,22 - 1,77) | 0,012 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

При оценке выраженности корковых дисфункций по шкале Kurtzke лишь одно сочетание – C,G,T,C,A – продемонстрировало статистически значимую связь (OR=0,72, 95% CI 0,19 – 1,25, p<0,008).

Сочетания аллелей изучаемых полиморфизмов, ассоциированные со степенью инвалидизации, достоверно связаны со степенью ограничения передвижения, как одного из самых значимых слагаемых общей оценки по шкале EDSS (Таблица 28).

Таблица 28. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации со степенью ограничения передвижения по шкале Kurtzke (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | P |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|-------------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 13,68 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | T | C | A | 10,69 | 2,4 (1,01 - 3,8) | 0,001 |
| 3 | C | G | G | C | C | 4,21 | 5,77 (4,39 - 7,16) | 0,0001 |
| 4 | C | G | G | C | A | 2,8 | 2,84 (0,87 - 4,81) | 0,005 |
| 5 | T | G | G | T | A | 2,76 | 2,91 (0,78 - 5,05) | 0,008 |
| 6 | T | C | G | C | A | 1,93 | 6 (3,96 - 8,03) | 0,0001 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Сочетания аллелей T,G,T,C,A и T,G,G,C,C показали достоверную связь с высоким уровнем астении по шкале FSS, а сочетание C,G,T,T,A, встречающееся лишь в 1,9% случаев – с более низким (Таблица 29).

Таблица 29. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью астении по шкале FSS (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | P |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---|--|---------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 13,82 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | T | C | A | 9,81 | 1,62 (0,68 - 2,56) | 0,001 |
| 3 | T | G | G | T | C | 9,29 | 1,5 (0,76 - 2,23) | 0,0001 |
| 4 | C | G | T | T | A | 1,99 | -1,87 (-3,26 - -0,47) | 0,009 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

С лучшими показателями функции рук оказались ассоциированы сочетания T,G,T,C,A; T,G,G,C,C; T,C,G,C,A, а также ряд других, показанных в Таблице 30.

Сочетание аллелей T,G,T,C,A ассоциировано с меньшей скоростью прогрессирования РС в общей выборке (OR=0,49, 95%CI 0,05 – 0,93, p=0,03). Сочетания C,G,T,T,A и C,G,G,C,C показали ассоциации с более высокой скоростью прогрессирования РС, но менее, чем в 1% случаев (OR=2,08, 95%CI 1,32 – 2,84, p<0,0001; OR=2,58, 95%CI 1,56 – 3,615, p=0,0001 соответственно).

Установлено, что сочетания аллелей T,C,G,C,A; C,G,T,T,A; T,G,T,C,C ассоциированы с более поздним возрастом дебюта РС, а сочетание T,G,G,T,A, напротив, с более ранним, что представлено в Таблице 31.

Таблица 30. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с выраженностью нарушения функции рук по шкале Arm-index (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|--------------------|---|-------------------------------------|---------------|
| 1 | T | G | G | C | C | 12,56 | 0,00 | --- |
| 2 | T | G | T | C | A | 9,8 | 0,83 (0,39 - 1,26) | 2e-04 |
| 3 | T | G | G | T | C | 9,42 | 0,65 (0,29 - 1,02) | 0,0005 |
| 4 | T | C | G | C | A | 4,45 | 0,58 (0,08 - 1,09) | 0,023 |
| 5 | T | G | G | T | A | 2,48 | 0,67 (0,06 - 1,29) | 0,033 |
| 6 | C | G | G | C | A | 2,37 | 0,77 (0,18 - 1,37) | 0,011 |

OR –отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Таблица 31. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных РС и его ассоциации с возрастом дебюта заболевания (показаны только значимые результаты).

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости в группе больных РС, % | OR (95% CI) | p |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|--------------------|---|--|---------------|
| 1 | T | G | T | C | A | 11 | 0,00 | --- |
| 2 | T | C | G | C | A | 5,45 | 6,36 (1,65 - 11,08) | 0,008 |
| 3 | C | G | T | T | A | 2,17 | 13,25 (5,17 - 21,34) | 0,001 |
| 4 | T | G | T | C | C | 2,08 | 16,31 (7,19 - 25,44) | 0,0005 |
| 5 | T | G | G | T | A | 1,86 | -8,39 (-15,1 - -1,69) | 0,014 |

OR –отношение шансов, 95%CI – доверительный интервал.

Таким образом, установлено значимое влияние сочетания аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,C,C с риском развития РС, а также в группе больных – с выраженностью стволовых нарушений.

Сочетание аллелей C,G,T,C,A помимо протективного действия в отношении РС, ассоциировано с лучшим состоянием сенсорных и корковых функций в группе больных РС.

С большей выраженностью инвалидизации по шкале EDSS ассоциированы сочетания аллелей C,G,G,C,C, преимущественно влияющее на тяжесть стволовых, тазовых нарушений, а также ограничение передвижения. Данные аллели обуславливают повышенную скорость прогрессирования РС в группе наблюдения.

Комбинация аллелей T,G,T,C,A, также ассоциированная с тяжестью инвалидизации за счет тазовых нарушений и астении, показала сочетание с меньшей скоростью прогрессирования РС в группе выборки.

Степень выраженности инвалидизации за счет стволовых, пирамидных и тазовых нарушений обусловлена сочетанием аллелей T,C,G,C,A, которое также показало связь с более поздним возрастом дебюта РС.

Сочетание аллелей T,G,G,T,C полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 положительно влияющее на функции зрения, ствола, движения, чувствительности, но ассоциированное с более выраженными тазовыми нарушениями и астенией, не влияет на общую степень инвалидизации.

ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ У БОЛЬНЫХ РС, ПОЛУЧАЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ПИТРС

Учитывая ранее показанную связь однонуклеотидных полиморфизмов с эффективностью терапии интерферонами-бета, проведен клинико-генетический анализ в зависимости от получаемого пациентами лечения.

6.1. Клинико-генетические ассоциации rs10492972 гена *KIF1B* в зависимости от получаемой терапии.

Не обнаружено ассоциаций генотипа с выраженностью инвалидизации по шкале EDSS ($p=0,77$) (Таблица 32).

Не установлено также ассоциации генотипов с выраженностью поражения нервной системы по шкале неврологического статуса Scripps ($p=0,35$).

Не установлено ассоциаций генотипов rs10492972 гена *KIF1B* с выраженностью поражения системы зрения ($p=0,65$), ствола головного мозга ($p=0,48$), пирамидной ($p=0,34$), координаторной ($p=0,77$), чувствительной системы ($p=0,79$), нарушениями ФТО ($p=0,93$), корковыми нарушениями ($p=0,88$) в зависимости от получаемого препарата.

Ни один из генотипов не оказал существенного влияния на выраженность астении по опроснику FSS ($p=0,53$), выраженность нарушения функции рук ($p=0,57$).

Таблица 32. Ассоциации генотипов rs10492972 гена *KIF1B* с выраженностью инвалидизации по EDSS в зависимости от вида получаемой терапии

| Препарат | Генотип | N | Среднее значение | OR (95% CI) |
|------------------------|---------|----|------------------|----------------------|
| Интерферон-бета 1a, 1b | T/T | 52 | 4,37 (0,25) | 0,00 |
| | T/C | 51 | 4,25 (0,21) | -0,12 (-0,77 - 0,53) |
| | C/C | 11 | 3,55 (0,55) | -0,82 (-1,91 - 0,27) |
| Глагирамера ацетат | T/T | 17 | 3,88 (0,39) | -0,48 (-1,40 - 0,44) |
| | T/C | 16 | 4,66 (0,51) | 0,29 (-0,65 - 1,23) |
| | C/C | 2 | 4 (0) | -0,37 (-2,73 - 2,00) |
| Натализумаб | T/T | 18 | 3,5 (0,39) | -0,87 (-1,76 - 0,03) |
| | T/C | 8 | 3,94 (0,59) | -0,43 (-1,68 - 0,82) |
| | C/C | 2 | 3,5 (0,5) | -0,87 (-3,23 - 1,50) |
| Другие ПИГРС | T/T | 3 | 4,17 (0,44) | -0,20 (-2,15 - 1,75) |
| | T/C | 5 | 4,3 (0,64) | -0,07 (-1,60 - 1,47) |
| | C/C | 1 | 2 (---) | -2,37 (-5,68 - 0,95) |
| Без ПИГРС | T/T | 10 | 5 (0,61) | 0,63 (-0,50 - 1,77) |
| | T/C | 5 | 3,9 (0,29) | -0,47 (-2,00 - 1,07) |
| | C/C | 3 | 4,33 (0,93) | -0,03 (-1,98 - 1,92) |

p=0,77

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

6.2. Клинико-генетические ассоциации rs11787532 гена *ZFHX4* в зависимости от получаемой терапии.

При делении пациентов по виду получаемой терапии, не установлено влияния генотипов на степень инвалидизации по шкалам EDSS ($p=0,55$) и Scripps ($p=0,56$).

Генотипы полиморфизма rs11787532 также не показали ассоциаций с выраженностью поражения отдельных функциональных систем в зависимости от вида получаемой терапии: $p=0,51$ для системы зрения, $p=0,68$ для функций ствола головного мозга, $p=0,7$ для пирамидной системы, $p=0,89$ для системы координации, $p=0,54$ для чувствительной системы, $p=0,22$ для тазовых функций, $p=0,63$ для корковых нарушений.

В группах по терапии не установлено влияния генотипа на выраженность астении ($p=0,67$), а также на дисфункцию рук ($p=0,8$).

6.3. Клинико-генетические ассоциации rs9527281 гена *STARD13* в зависимости от получаемой терапии.

В группах пациентов, получающих различные ПИТРС, генотипы полиморфизма не оказали влияние на выраженность инвалидизации по EDSS и Scripps (Таблица 33,34).

Таблица 33. Ассоциации генотипов rs9527281 гена *STARD13* с выраженностью инвалидизации по EDSS в зависимости от вида получаемой терапии

| Препарат | Генотип | N | Среднее значение | OR (95% CI) |
|------------------------|---------|----|------------------|----------------------|
| Интерферон-бета 1а, 1b | G/G | 17 | 3,97 (0,38) | 0,00 |
| | G/T | 93 | 4,24 (0,18) | 0,27 (-0,59 - 1,12) |
| | T/T | 5 | 4,5 (0,27) | 0,53 (-1,11 - 2,17) |
| Глатирамера ацетат | G/G | 4 | 4,88 (0,83) | 0,90 (-0,89 - 2,70) |
| | G/T | 28 | 4,27 (0,36) | 0,30 (-0,70 - 1,29) |
| | T/T | 3 | 3,17 (0,44) | -0,80 (-2,83 - 1,22) |
| Натализумаб | G/G | 2 | 2,75 (1,25) | -1,22 (-3,64 - 1,19) |
| | G/T | 26 | 3,69 (0,31) | -0,28 (-1,29 - 0,73) |
| | T/T | 0 | --- | --- |
| Другие ПИГРС | G/G | 0 | --- | --- |
| | G/T | 8 | 4,25 (0,41) | 0,28 (-1,11 - 1,66) |
| | T/T | 1 | 2 (---) | -1,97 (-5,30 - 1,35) |
| Без ПИГРС | G/G | 4 | 3,12 (0,38) | -0,85 (-2,64 - 0,95) |
| | G/T | 14 | 5 (0,42) | 1,03 (-0,14 - 2,20) |
| | T/T | 0 | --- | --- |

p=0,25

OR –отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал

Таблица 34. Ассоциации генотипов rs9527281 гена *STARD13* с выраженностью инвалидизации по шкале Scripps в зависимости от вида получаемой терапии

| Препарат | Генотип | N | Среднее значение | OR (95% CI) |
|------------------------|---------|----|------------------|------------------------|
| Интерферон-бета 1a, 1b | G/G | 17 | 65,76 (4,49) | 0,00 |
| | G/T | 93 | 63,96 (1,87) | -1,81 (-11,14 - 7,52) |
| | T/T | 5 | 54,8 (2,22) | -10,96 (-28,96 - 7,03) |
| Глагирамера ацетат | G/G | 4 | 59,75 (4,8) | -6,01 (-25,67 - 13,64) |
| | G/T | 28 | 62,79 (3,96) | -2,98 (-13,86 - 7,90) |
| | T/T | 3 | 72 (6,35) | 6,24 (-15,92 - 28,39) |
| Натализумаб | G/G | 2 | 84 (12) | 18,24 (-8,21 - 44,68) |
| | G/T | 26 | 68,35 (2,9) | 2,58 (-8,45 - 13,61) |
| | T/T | 0 | --- | --- |
| Другие ПИГРС | G/G | 0 | --- | --- |
| | G/T | 8 | 63,12 (4,02) | -2,64 (-17,81 - 12,53) |
| | T/T | 1 | 89 (---) | 23,24 (-13,16 - 59,64) |
| Без ПИГРС | G/G | 4 | 59,25 (18,44) | -6,51 (-26,17 - 13,14) |
| | G/T | 14 | 56,79 (4,76) | -8,98 (-21,75 - 3,79) |
| | T/T | 0 | --- | --- |

p=0,25

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Не отмечено значимого влияния генотипа на эффективность терапии по выраженности зрительных ($p=0,3$), стволовых ($p=0,42$), координаторных ($p=0,23$), чувствительных ($p=0,56$), тазовых ($p=0,074$) и корковых ($p=0,09$) нарушений.

Установлено, что генотип Т/Т у пациентов, получающих другие виды ПИТРС ассоциирован с меньшей выраженностью пирамидной симптоматики (Таблица 35).

Таблица 35. Ассоциации генотипов rs9527281 гена *STARD13* с выраженностью пирамидной симптоматики в зависимости от получаемой терапии

| Препарат | Генотип | N | Среднее | OR (95% CI) |
|------------------------|---------|----|-------------|------------------------------|
| Интерферон-бета 1a, 1b | G/G | 17 | 2,71 (0,24) | 0,00 |
| | G/T | 93 | 2,51 (0,12) | -0,20 (-0,75 - 0,35) |
| | T/T | 5 | 3,2 (0,2) | 0,49 (-0,57 - 1,56) |
| Глатирамера ацетат | G/G | 4 | 2,25 (0,48) | -0,46 (-1,62 - 0,71) |
| | G/T | 28 | 2,64 (0,21) | -0,06 (-0,71 - 0,58) |
| | T/T | 3 | 2 (0,58) | -0,71 (-2,02 - 0,61) |
| Нагализумаб | G/G | 2 | 1,5 (0,5) | -1,21 (-2,77 - 0,36) |
| | G/T | 26 | 2,31 (0,15) | -0,40 (-1,05 - 0,26) |
| | T/T | 0 | --- | --- |
| Другие ПИТРС | G/G | 0 | --- | --- |
| | G/T | 8 | 2,88 (0,3) | 0,17 (-0,73 - 1,07) |
| | T/T | 1 | 0 (---) | -2,71 (-4,86 - -0,55) |
| Без ПИТРС | G/G | 4 | 2,25 (0,25) | -0,46 (-1,62 - 0,71) |
| | G/T | 14 | 3 (0,3) | 0,29 (-0,46 - 1,05) |
| | T/T | 0 | --- | --- |

p=0,031

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Получаемая ПИТРС не влияла на ассоциацию генотипов и выраженность астении ($p=0,3$) и нарушение функции рук ($p=0,57$).

6.4. Клинико-генетические ассоциации rs7308076 гена *CIT* в зависимости от получаемой терапии.

Не установлено влияния генотипов полиморфизма rs7308076 на эффективность той или иной терапии по шкалам EDSS и Scripps ($p=0,1$; $p=0,6$).

Не выявлено ассоциаций генотипов с выраженностью поражения системы зрения ($p=0,98$), ствола головного мозга ($p=0,59$), координаторной ($p=0,4$), чувствительной системы ($p=0,2$), нарушениями ФТО ($p=0,31$), корковыми нарушениями ($p=0,46$) в зависимости от получаемой терапии.

Установлено, что генотип С/С rs7308076 ассоциирован с менее выраженными пирамидными нарушениями у больных, получающих терапию глатирамера ацетатом, генотип С/Т – у лиц, получающих терапию препаратами интерферона-бета. С более выраженным поражением пирамидной системы ассоциирован генотип С/С в группе лиц, не получающих ПИТРС (Таблица 36).

Таблица 36. Ассоциации генотипов rs7308076 гена *CIT* с выраженностью пирамидной симптоматики в зависимости от получаемой терапии

| Препарат | Генотип | N | Среднее | OR (95% CI) |
|------------------------|---------|----|-------------|---------------------------|
| Интерферон-бета 1a, 1b | C/C | 44 | 2,34 (0,18) | 0,00 |
| | C/T | 57 | 2,79 (0,15) | 0,45 (0,03 - 0,87) |
| | T/T | 13 | 2,31 (0,26) | -0,03 (-0,69 - 0,63) |
| Глапирамера ацетат | C/C | 18 | 3 (0,23) | 0,66 (0,08 - 1,24) |
| | C/T | 13 | 2,08 (0,31) | -0,26 (-0,92 - 0,39) |
| | T/T | 4 | 2 (0,41) | -0,34 (-1,43 - 0,75) |
| Натализумаб | C/C | 13 | 2,15 (0,22) | -0,19 (-0,85 - 0,47) |
| | C/T | 14 | 2,29 (0,22) | -0,06 (-0,70 - 0,59) |
| | T/T | 1 | 3 (---) | 0,66 (-1,45 - 2,77) |
| Другие ПИТРС | C/C | 4 | 2,25 (0,75) | -0,09 (-1,18 - 1,00) |
| | C/T | 4 | 2,75 (0,63) | 0,41 (-0,68 - 1,50) |
| | T/T | 1 | 3 (---) | 0,66 (-1,45 - 2,77) |
| Без ПИТРС | C/C | 4 | 3,75 (0,48) | 1,41 (0,32 - 2,50) |
| | C/T | 10 | 2,4 (0,34) | 0,06 (-0,67 - 0,79) |
| | T/T | 4 | 3 (0) | 0,66 (-0,43 - 1,75) |

p=0,026

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Не установлено ассоциаций генотипа с балльной оценкой по шкалам FSS (p=0,19) и Arm-index (p=0,25) в зависимости от принимаемой ПИТРС.

6.5. Клинико-генетические ассоциации rs733254 гена *ZFAT* в зависимости от получаемой терапии.

Не выявлено ассоциаций генотипа с выраженностью инвалидизации по шкалам EDSS ($p=0,077$), Scripps ($p=0,76$), с выраженностью астении ($p=0,024$), а также дисфункцией рук ($p=0,68$) в зависимости от вида лечения.

Не установлено ассоциаций генотипов с выраженностью стволовых ($p=0,28$), пирамидных ($p=0,26$), координаторных ($p=0,99$), чувствительных ($p=0,51$), тазовых ($p=0,66$), корковых ($p=0,28$) нарушений в зависимости от получаемой терапии.

У лиц, получающие другие ПИТРС, выявлена ассоциация генотипа A/A с выраженностью зрительных нарушений ($OR=1,62$, 95%CI 0,25 – 2,99, $p=0,045$) (Таблица 37).

Таблица 37. Ассоциации генотипов rs733254 гена *ZFAT* с выраженностью зрительных нарушений в зависимости от получаемой терапии

| | | p=0,045 | | | | |
|------------------------|---------|----------------|------------------|---------------------------|--|--|
| Препарат | Генотип | N | Среднее значение | OR (95% CI) | | |
| Интерферон-бета 1а, 1b | A/A | 58 | 0,88 (0,12) | 0,00 | | |
| | A/C | 57 | 0,93 (0,15) | 0,05 (-0,30 - 0,41) | | |
| | C/C | 0 | --- | --- | | |
| Глатирамера ацетат | A/A | 12 | 1 (0,35) | 0,12 (-0,48 - 0,72) | | |
| | A/C | 23 | 0,78 (0,19) | -0,10 (-0,57 - 0,37) | | |
| | C/C | 0 | --- | --- | | |
| Натализумаб | A/A | 4 | 0,25 (0,25) | -0,63 (-1,61 - 0,35) | | |
| | A/C | 24 | 0,5 (0,18) | -0,38 (-0,84 - 0,08) | | |
| | C/C | 0 | --- | --- | | |
| Другие ПИТРС | A/A | 2 | 2,5 (0,5) | 1,62 (0,25 - 2,99) | | |
| | A/C | 7 | 0,14 (0,14) | -0,74 (-1,50 - 0,02) | | |
| | C/C | 0 | --- | --- | | |
| Без ПИТРС | A/A | 7 | 1,14 (0,34) | 0,26 (-0,50 - 1,02) | | |
| | A/C | 11 | 0,91 (0,28) | 0,03 (-0,60 - 0,66) | | |
| | C/C | 0 | --- | --- | | |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Таким образом, установлено, что при отсутствии ПИТРС, генотип C/C rs7308076 (*CIT*) существенно влияет на степень поражения пирамидной системы, без влияния на общую оценку инвалидизации. Это же генотип ассоциирован с меньшей выраженностью пирамидной симптоматики в группе лиц, получающих

глатирамера ацетат. Генотип С/Т rs7308076 также показал ассоциацию с менее выраженной пирамидной симптоматикой в группе больных, получающих препараты интерферона.

Установлена связь генотипа Т/Т rs9527281 *STARD13* с лучшим состоянием пирамидной системы, а также генотипа А/А rs733254 *ZFAT* – с более выраженной зрительной дисфункцией в группе больных, получающих ПИТРС в виде препаратов Финголимод и Терифлуномид. Ввиду малой численности группы (9 человек), данные результаты требуют подтверждения на большей выборке, а также отдельного сравнения групп по препаратам.

6.6. Клинико-генетические ассоциации у больных РС при лечении ПИТРС «первой линии».

Учитывая то, что основными стартовыми препаратами для лечения РС являются препараты интерферона-бета и глатирамера ацетат [4], проведен сравнительный анализ ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с выраженностью клинических проявлений в группах больных, получающих данные препараты (n=151), с целью создания персонализированных рекомендаций по выбору терапии.

В группах пациентов, получающих препараты интерферона и глатирамера ацетат, не отмечено достоверных различий показателей клинического статуса.

Однако, при оценке каждой функциональной системы по шкале Kurtzke выявлено, что в группе больных, получающих глатирамера ацетат, помимо ранее выявленной ассоциации генотипа С/С rs7308076 *CIT* с меньшей выраженностью пирамидной симптоматики, такая же связь установлена и для генотипа Т/С (OR=-0,71, 95% CI -1,38- -0,05, p=0,009). Генотип G/C rs11787532 *ZFHX4* в той же группе больных ассоциирован с менее выраженной тазовой дисфункцией (OR=-0,96, 95% CI -1,72- -1-0,20, p=0,021).

При множественном анализе частоты встречаемости аллелей однонуклеотидных полиморфизмов генов *KIF1B* (rs10492972), *ZFHX4*

(rs11787532), *STARD13* (rs9527281), *CIT* (rs7308076), *ZFAT* (rs733254) установлено, что сочетание T,G,T,C,A, а также реже встречающиеся сочетания T,C,G,C,A, ассоциированные с выраженностью инвалидизации по EDSS в общей выборке, влияли на значение скорости прогрессирования в группе больных, принимающих препараты интерферона-бета (OR=1,07, 95% CI 0,62-1,52, p=0,004 для сочетания T,G,T,C,A).

Ранее продемонстрированные ассоциации данных аллельных комбинаций с выраженностью поражения отдельных функциональных систем по шкале Kurtzke в общей выборке не показали различий в группах по виду получаемой терапии (p>0,05).

В группе больных, получающих глатирамера ацетат, сочетание аллелей полиморфизмов rs10492972, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,T,C,A ассоциировано с более грубым поражением пирамидной системы по шкале Kurtzke (OR=2,07, 95% CI 0,83 – 3,31, p=0,03), и корковыми нарушениями (OR=1,03, 95% CI 0,13 – 1,94, p=0,001).

Сочетание аллелей T,G,G,T,C, показавшее влияние на многие функциональные системы в общей выборке, достоверно связано с более высоким баллом инвалидизации по шкале EDSS в группе больных, получающих препараты интерферона (OR=1,53, 95% CI 0,28-2,79, p=0,046). В той же группе больных сочетание T,G,T,C,C ассоциировано с меньшим уровнем инвалидизации (OR=-2,12, 95% CI -4- -0,23, p=0,046). В группе больных, принимающих глатирамера ацетат, на выраженность инвалидизации оказало влияние сочетание аллелей T,G,G,C,A (OR=3,14, 95% CI 0,81-5,47, p=0,046). Сочетание C,G,T,C,A, установленное как протективное в отношении РС, в группе больных, принимающих глатирамера ацетат также оказалось ассоциировано со степенью инвалидизации (OR=4,01, 95% CI 1,79-6,23, p=0,046).

В группах больных, получающих интерферона и глатирамера ацетат не установлено связи аллельных сочетаний с выраженностью астении и дисфункцией рук ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные результаты можно использовать как дополнительные критерии выбора ПИТРС, особенно значимым из которых является влияние аллельных сочетаний на скорость прогрессирования РС (Справка о приоритете изобретения №2019108392 от 22.03.19 «Способ прогнозирования скорости прогрессирования рассеянного склероза у больных, получающих терапию препаратами интерферона-бета»).

6.7. Влияние связывающих антител к препаратам Интерферона-бета на эффективность терапии.

У всех обследуемых пациентов обнаружены связывающие антитела в концентрации от 2,135 до 200 пг/мл. Медиана значения концентрации связывающих антител у всех обследованных больных составила 5,47 [3,9; 12,9] пг/мл, что соответствовало оптической плотности 0,055 [0,051; 0,062]. В группе мужчин среднее значение концентрации составило 5,467 [3,903; 12,903], в группе женщин – 5,467 [3,903; 12,802].

Не выявлено достоверной разницы концентраций связывающих антител в группах, выделенных по половому признаку ($p = 0,84$).

Положительными на наличие связывающих антител считались сыворотки, где оптическая плотность была более 1,2 [184]. Из 88 обследованных положительные пробы выявлены лишь у 5 человек, получающих терапию интерферонами в среднем 6 [4;7] лет и имеющих умеренную степень инвалидизации (медиана EDSS 4 [3; 5,5], медиана Scripps 61 [48; 66]).

Уровень антител не коррелировал с показателями клинического статуса, как в общей выборке (Таблица 38), так и в группах, выделенных по половому признаку.

Таблица 38. Корреляция титра связывающих антител с показателями клинического статуса в общей выборке.

| Показатель | Коэффициент корреляции Спирмена, R | p |
|---------------------------|------------------------------------|------|
| Длительность заболевания | -0,156649 | 0,14 |
| Скорость прогрессирования | 0,092150 | 0,39 |
| EDSS | -0,112987 | 0,29 |
| Arm-index | -0,022956 | 0,83 |
| FSS | -0,049252 | 0,65 |
| Scripps | 0,088445 | 0,41 |

Установлена лишь слабая обратная связь между титром антител и выраженностью зрительных нарушений по шкале Kurtzke ($R=-0,25$, $p=0,018$).

Генотипы однонуклеотидных полиморфизмов rs10492972 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) не влияли на уровень титра антител ($p>0,05$).

Отмечено, что сочетание аллелей полиморфизмов rs10492972, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,C,C; C,C,G,C,A; C,G,G,C,A ассоциированы с более низким титром связывающих антител, а сочетания T,G,G,T,C и редко встречающееся (<1%) сочетание C,C,T,C,A – с высоким (Таблица 39).

Таблица 39. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей и их ассоциации с концентрацией связывающих антител к препаратам интерферона-бета.

| № | rs10492972 (KIF1B) | rs11787532 (ZFHX4) | rs9527281 (STARD13) | rs7308076 (CIT) | rs733254 (ZFAT) | Частота встречаемости, % | OR (95% CI) | p |
|---|--------------------|--------------------|---------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|--------|
| 1 | T | G | G | C | C | 13,84% | -16,99 (-32,6 - -1,38) | 0,034 |
| 2 | C | C | G | C | A | 5,41% | -18,04 (-35,11 - -0,96) | 0,04 |
| 3 | C | G | G | C | A | 5,39% | -23,69 (-41,83 - -5,55) | 0,011 |
| 4 | T | G | G | T | C | 3,65% | 23,2 (1,72 – 44,67) | 0,036 |
| 5 | C | C | T | C | A | 0,67% | 181,93 (145,9 – 217,95) | 0,0001 |

OR – отношение шансов, 95% CI – доверительный интервал.

Таким образом, комбинация аллелей T,G,G,T,C, показавшая ассоциацию с выраженностью инвалидизации по шкале EDSS в группе больных, получающих препараты интерферона, также связана с повышением титра связывающих антител, что может говорить о снижении эффективности интерферонотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассеянный склероз на сегодняшний день является одной из самых распространённых неврологических патологий среди лиц молодого возраста, приводящих к прогрессирующей инвалидизации. Территория РФ по риску распространённости РС не является однородной. Так, наибольшая распространённость заболевания зарегистрирована в северных регионах [21], наименьшая – на территориях с преобладанием тюркских народов [7]. Пермский край характеризуется средним риском по распространённости заболевания [8] с показателем 44,4 на 100 тыс. населения.

В основе патогенеза РС, по данным Emmanuelle Waubant et al. [178] помимо аутоиммунных процессов, наибольшее значение имеют генетические особенности, а также экзогенные факторы. Исследования генетики РС проводятся в большом объеме на различных выборках. В последние годы появляются работы, направленные на поиск генетических маркеров, регулирующих ответ на терапию ПИТРС с целью формирования персонифицированного подхода к лечению. Однако данные фармакогеномных исследований значительно разнятся. Идентифицировано более 200 генов-кандидатов, функционально не относящихся к регуляции иммунитета, однако лишь некоторые из них показали ассоциации на разных выборках [101]. Это диктует необходимость дальнейшего изучения проблемы, репликации данных крупномасштабных исследований на различные популяции. Для подтверждения существующих результатов фармакогеномики проведено данное исследование, направленное на выявление клинико-генетических ассоциаций, в том числе в зависимости от вида получаемой терапии.

В исследовании установлены характеристики полиморфизмов (распределение аллелей и генотипов) на выборке больных РС и здоровых лиц на территории Пермского края, как региона со средним риском по распространённости РС [8], проанализированы ассоциации генетических маркеров и их сочетаний с развитием РС и выраженностью его проявлений, а также влияние генотипов полиморфизмов и сочетаний аллелей на эффективность терапии.

Исследуемую выборку преимущественно представляли больные с рецидивирующе-ремиттирующим типом течения РС (83,98%). Группа наблюдения характеризовалась умеренной степенью инвалидизации, с преимущественным поражением пирамидной, координаторной систем, стволовыми нарушениями: медиана EDSS составила 4,17 [3; 5,5] балла, Scripps – 62 [51; 79]. Дисфункция рук характеризовалась в среднем минимальными нарушениями (медиана 1 [1;2] балл) и коррелировала с показателем EDSS ($R=0,70$, $p=0,000$) и степенью поражения пирамидной ($R=0,65$, $p=0,000$) и координаторной функциональных систем ($R=0,76$, $p=0,000$).

Скорость прогрессирования РС в среднем характеризовалась умеренным темпом, составляя в среднем 0,42 [0,28;0,67] балла/год. Уровень утомляемости также характеризовался как средний (4,33 [2,55; 5,44] балла), с достоверным преобладанием в группе женщин ($p=0,03$).

Закономерно отмечено, что при вторично-прогрессирующем типе течения РС отмечалось достоверно более выраженное проявление неврологического дефицита практически по всем изучаемым параметрам.

Для исследования генотипических характеристик больных РС нами были отобраны пять однонуклеотидных полиморфизмов генов, не связанных с локусами HLA – комплекса. Их ассоциации с риском развития РС имели противоречивый характер (rs10492972 гена *KIF1B*), либо мало изучены (rs11787532 гена *ZFHX4*, rs9527281 гена *STARD13*, rs7308076 гена *CIT*, rs733254 гена *ZFAT*). Полиморфизмы rs11787532, rs9527281, rs7308076 и rs733254 в крупномасштабном исследовании показали достоверное влияние на эффективность терапии препаратами интерферона-бета [58].

На первом этапе исследования изучена распространенность полиморфизмов на выборке Пермского края. Ранее в России изучалась распространенность полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B* как в группе больных РС, так и у здоровых лиц [10, 22, 113]. Распространенность остальных исследуемых полиморфизмов генов в Российской Федерации ранее не изучалась.

Установлено, что распространенность некоторых исследуемых полиморфизмов в Пермском крае имела существенные различия с распространенностью на других территориях, согласно базе данных dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>).

Распределение аллелей полиморфизма rs10492972 (*KIF1B*), с преобладанием аллели Т (67,6%) в исследуемой выборке имело схожие характеристики, что в общемировой популяции, и существенно не отличалось от характеристик в других регионах. Аллель G rs11787532 гена *ZFHX4*, преобладающая в исследуемой выборке (79,47%), также наиболее часто встречается в большинстве мировых популяций, имеет противоположное значение в сравнении с популяцией африканского географического региона. Распределение аллелей полиморфизма rs9527281 гена *STARD13* показало противоположные к общемировым данные: в исследуемой выборке наиболее часто встречалась вариантная аллель G (51,93%), при том, что в мировой популяции нормальной считается аллель Т, отмечаемая у 66,4% лиц. Результаты генотипирования полиморфизма rs7308076 гена *CIT* показали распределение аллелей, схожее в мировыми данными: наиболее часто встречалась вариантная аллель С как в исследуемой группе (65,84%), так и в популяциях других географических регионов (63%) [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>]. Аллель А rs733254 гена *ZFAT*, как наиболее часто встречающаяся в выборке Пермского края (78,52%), согласно общемировым данным [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>], является вариантной и встречается в 28-44% случаев. Наиболее схожее распределение аллелей имеется в популяции восточно-азиатского региона (аллель С – 45,1%, аллель А – 54,9% [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>]), что может говорить как о недостаточном объеме выборки для оценки общепопуляционного распределения, так и об особенностях российской популяции (на примере Пермского края).

Большой диапазон частоты встречаемости полиморфизмов на различных территориях диктует необходимость изучения распространенности полиморфизмов, влияющих на развитие РС и эффективность его лечения, в

различных регионах с целью прогнозирования заболевания и создания персонализированных программ лечения.

При анализе распределения генотипов и аллелей в группе больных РС и контрольной группе установлено одинаковое распределение для полиморфизма rs11787532 (*ZFHX4*). Распределение генотипов полиморфизма rs7308076 (*CIT*) достоверно не отличалось в группах больных и здоровых лиц. Установлено, что наличие доминирующей аллели С rs7308076 достоверно чаще встречается в группе больных РС (OR=1,93, 95% CI 1,15-3,26, p=0,01).

Выявлено преобладание генотипа С/Т гена *KIF1B* в группе здоровых лиц (OR=0,26, 95% CI 0,15-0,48, p=0,0001) по кодоминантной и сверхдоминантной моделям наследования, а также достоверное преобладание аллели Т в группе больных (OR=3,78, 95% CI 2,19-6,52, p=0,000), что опровергает ранее опубликованные данные по влиянию аллели С на развитие РС [81].

Генотипирование по полиморфному маркеру rs9527281 (*STARD13*) показало связь генотипов G/Т и Т/Т с отсутствием РС, что установлено впервые на выборке Российской Федерации (на примере Пермского края). Однако доминирующая аллель Т достоверно чаще встречалась в группе больных РС (OR=2,67, 95% CI 1,44-4,93, p=0,001).

Исследование по полиморфизму rs733254 (*ZFAT*) не выявило наличия гомозиготного генотипа С/С ни в одной из групп. Установлена связь гетерозиготного генотипа А/С (OR=60,67, 95% CI 14,42 – 255,16, p=0,0001) и аллели С (OR=60,67, 95% CI 14,42-255,16, p=0,000) с наличием РС.

В группе больных РС установлено влияние аллели Т rs10492972 (*KIF1B*) на выраженность инвалидизации по шкале EDSS (p=0,02), и шкалы Scripps (p=0,03), в большей степени за счет пирамидных нарушений (p=0,03). Генотипы С/С и С/Т rs10492972 ассоциированы с меньшей выраженностью корковых нарушений по доминантной (p=0,024) и кодоминантной (p=0,007) моделям наследования. Установлена ассоциация генотипа А/С rs733254 (*ZFAT*) с меньшей выраженностью тазовых (p=0,025) и корковых (p=0,021) нарушений. Аллели и генотипы остальных полиморфизмов не показали достоверного влияния на степень неврологического

дефицита по шкалам EDSS, Scripps, выраженность астении по FSS, а также тяжесть поражения каждой из функциональных систем. При распределении больных по половому признаку, достоверных клинико-генетических ассоциаций также не было выявлено.

На значение скорости прогрессирования РС наибольшее влияние имела аллель G rs9527281 (*STARD13*) ($p=0,02$). У больных РС мужчин установлено влияние аллели T rs9527281 (*STARD13*) и аллели C rs10492972 (*KIF1B*) на повышение скорости прогрессирования ($p=0,04$, $p=0,03$ соответственно). Ни один из генотипов изучаемых полиморфизмов не продемонстрировал влияния на скорость прогрессирования РС.

При делении пациентов на группы в зависимости от получаемого препарата, не выявлено влияния генотипов или аллелей на показатели инвалидизации по изучаемым шкалам, а также на скорость прогрессирования РС. Установлен лишь факт существенного влияния генотипа C/C rs7308076 (*CIT*) на степень поражения пирамидной системы, без влияния на общую оценку инвалидизации в группе больных, не получающих ПИТРС. Этот же генотип оказался ассоциирован с меньшей выраженностью пирамидной симптоматики в группе лиц, получающих глатирамера ацетат. Генотип C/T rs7308076 также показал ассоциацию с менее выраженной пирамидной симптоматикой в группе больных, получающих препараты интерферона.

На этапе анализа множественной частоты встречаемости аллелей определены их сочетания, указывающие на риск развития РС, а также выраженность его проявлений. Установлено значимое влияние сочетания аллелей однонуклеотидных полиморфизмов T (rs10492982 гена *KIF1B*), G (rs11787532 гена *ZFHX4*), G (rs9527281 гена *STARD13*), C (rs7308076 гена *CIT*), C (rs733254 гена *ZFAT*) с риском развития РС, а также с выраженностью стволовых нарушений в группе больных. Аллельная комбинация C,G,T,C,A показала протективное действие в отношении РС, а в случае заболевания была ассоциирована с лучшим состоянием сенсорных и корковых функций.

На выраженность инвалидизации, в большей степени за счет влияния на стволовые и тазовые функции, а также скорость прогрессирования РС, оказало влияние сочетание аллелей С,G,G,C,C. Комбинация T,G,T,C,A, также ассоциированная с выраженностью неврологического дефицита, показала сочетание с меньшей скоростью прогрессирования РС, что, вероятно, связано с большей длительностью заболевания.

На выраженность стволовых, пирамидных и тазовых нарушений значимое влияние оказало сочетание аллелей T,C,G,C,A полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254, которое также показало связь с более поздним возрастом дебюта РС.

Аллельная комбинация T,G,G,T,C полиморфизмов положительно влияющая на функции зрения, ствола, движения, чувствительности, но ассоциированная с более выраженными тазовыми нарушениями и астенией, не оказала влияния на общий балл инвалидизации, однако в группе больных, получающих препараты интерферона-бета достоверно ассоциирована с повышением балла EDSS (OR=1,53, 95% CI 0,28-2,79, p=0,046).

Особое внимание уделено выявлению клинико-генетических ассоциаций в группах больных, получающих препараты интерферона-бета и глатирамера ацетат, как наиболее часто назначаемых ПИТРС «первой линии». Установлено, что сочетание аллелей T,G,T,C,A, показавшее положительное влияние на скорость течения РС в общей выборке, было ассоциировано с ее повышением в группе больных, принимающих интерферонотерапию (OR=1,07, 95% CI 0,62-1,52, p=0,0041). Реже встречающаяся комбинация T,C,G,C,A, также ассоциированная с выраженностью инвалидизации по EDSS в общей выборке, влияла и на значение скорости прогрессирования в данной группе.

В группе больных, получающих глатирамера ацетат имеет значение сочетание аллелей T,G,T,C,A, которое ассоциировано с более грубыми пирамидными (OR=2,07, 95% CI 0,83 – 3,31, p=0,03) и корковыми нарушениями (OR=1,03, 95% CI 0,13 – 1,94, p=0,001). Сочетание аллелей T,G,G,C,A влияло на общую степень выраженности неврологического дефицита по EDSS (OR=3,14,

95% CI 0,81-5,47, $p=0,046$), но не оказывало влияния на выраженность поражения каждой из функциональных систем. Установленное протективное в отношении развития РС сочетание C,G,T,C,A, в группе больных, принимающих глатирамера ацетат, оказалось воздействующим на выраженность неврологического дефицита (OR=4,01, 95% CI 1,79-6,23, $p=0,046$).

В качестве дополнительной оценки эффективности терапии препаратами интерферона-бета определяли титр связывающих антител, который был обнаружен у всех обследованных больных, но истинно положительные пробы выявлены лишь у 5 человек, имеющих умеренную степень инвалидизации. Уровень связывающих антител не коррелировал с большинством показателей клинического статуса, а также скоростью прогрессирования РС, что может говорить о несущественном влиянии связывающих антител на действие препарата [64]. Выявлено, что аллельные комбинации полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254 T,G,G,C,C; C,C,G,C,A и C,G,G,C,A ассоциированы с более низким титром связывающих антител, а T,G,G,T,C и C,C,T,C,A – с высоким.

Таким образом, выявленные ассоциации генов, не связанных с HLA-комплексом, подтверждают главенствующую на сегодняшний день теорию мультифакторности этиологии РС [178], то есть данные полиморфизмы сами по себе не могут обусловить развитие РС, но могут определять предрасположенность к его развитию или прогрессированию.

Полученные результаты могут явиться основанием для проведения дальнейших исследований по выявлению генетических факторов риска и прогрессирования РС, разработки методических рекомендаций по генетическому консультированию для врачей-неврологов и специалистов по РС, а также в качестве дополнительных критериев выбора ПИТРС (Справка о приоритете изобретения №2019108392 от 22.03.19 «Способ прогнозирования скорости прогрессирования рассеянного склероза у больных, получающих терапию препаратами интерферона-бета»).

ВЫВОДЫ

1. Генотип С/Т полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, а также генотипы G/Т и Т/Т полиморфизма rs9527281 гена *STARD13* являются протективными в отношении развития РС. Генотип А/С и аллель С однонуклеотидного полиморфизма rs733254 гена *ZFAT* связаны с развитием РС, как и аллель Т rs10492972 (*KIF1B*), аллель С rs7308076 (*CIT*), аллель Т rs9527291 (*STARD13*).

2. Изучаемые нами однонуклеотидные полиморфизмы не оказывают значимого влияния на выраженность клинических проявлений РС и скорость прогрессирования, за исключением аллели Т rs10492972 (*KIF1B*), при доминировании которой регистрируется более высокий балл EDSS, преимущественно за счет пирамидных нарушений. На значение скорости прогрессирования РС наибольшее влияние имеет аллель G rs9527281 (*STARD13*).

3. Комбинация аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs10492982 гена *KIF1B*, rs11787532 гена *ZFHX4*, rs9527281 гена *STARD13*, rs7308076 гена *CIT*, rs733254 гена *ZFAT* Т,G,G,C,C ассоциирована с риском развития РС и выраженностью стволовых нарушений. На степень неврологического дефицита и скорость прогрессирования РС значимое влияние оказывают сочетания аллелей С,G,G,C,C и Т,G,T,C,A. Другие аллельные комбинации связаны со степенью поражения тех или иных функциональных систем без значимого влияния на общий балл EDSS.

4. Степень инвалидизации больных, получающих разные виды ПИТРС, не зависит от генотипов и аллелей полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*). Однако сочетания аллелей Т,G,T,C,A и Т,C,G,C,A, ассоциированы с более высокой скоростью прогрессирования РС в группе больных, получающих препараты интерферона-бета. Ряд аллельных сочетаний (Т,G,G,C,C; С,C,G,C,A; С,G,G,C,A; Т,G,G,T,C и С,C,T,C,A) оказывает влияние на титр связывающих антител к препаратами интерферона-бета, который не имеет клиничко-лабораторных корреляций. В группе больных, принимающих глатирамера ацетат со степенью

неврологического дефицита ассоциированы сочетания аллелей T,G,G,C,A и C,G,T,C,A, но без влияния на скорость прогрессирования РС.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным РС показано проведение генетического исследования перед назначением ПИТРС.
2. Исследование больных по полиморфным маркерам rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) рекомендовано в качестве дополнительного критерия выбора ПИТРС «первой линии»: при наличии у больного сочетания аллелей Т, G, Т, С, А можно ожидать более высокую скорость прогрессирования при назначении препаратов интерферона-бета.
3. Расчет соотношения циклов амплификации для определения доминирующей аллели в случае обнаружения гетерозиготного генотипа однонуклеотидных полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*) может быть использован врачами лабораторной диагностики для интерпретации результатов ПЦР.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АТФ – аденозинтрифосфат
- ВПСР – вторично прогрессирующий рассеянный склероз
- ГЭБ – гемато-энцефалический барьер
- ИЛ – интерлейкин
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
- РПСР – рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз
- РС – рассеянный склероз
- ФНО-альфа – фактор некроза опухолей альфа
- ФС – функциональная система
- ЭДТА – Этилендиаминтетрауксусная кислота
- ADAR – adenosine deaminase RNA specific
- Anti-IFN β (анти-IFN β) – антитела к препаратам интерферона-бета
- CI – confidence interval, доверительный интервал
- CIT – citron rho-interacting serine/threonine kinase
- CIT-K – цитронкиназа-K
- EBNA – Эпштейн-Барр ядерный антиген
- EBV – Эпштейн-Барр вирус
- EDSS – Expanded disability status scale
- FSS – Fatigue Severity Score
- GALC – galactocerebrosidase
- GRIK2 – glutamate ionotropic receptor kainate type subunit 2
- GRM3 – glutamate metabotropic receptor 3
- GRN – granulin precursor
- GSTP1 – glutathione S-transferase pi 1
- GWAS – Genome-wide association study

HDAC7 – histone deacetylase 7

HLA – Human Leukocyte Antigens

IFNAR2 – interferon alpha and beta receptor subunit 2

KIF1B – Kinesin family member 1B

MBP – myelin basic protein

miRNAs – микро РНК

NLRP8 – Nod-like receptor family pyrin domain containing 8

NOS2 – nitric oxide synthase 2

NQO1 – NAD(P)H quinone dehydrogenase 1

OAS3 – 2'-5'-oligoadenylate synthetase 3

OR – odds ratio, отношение шансов

PRF1 – Perforin-1

PRISMS – Prevention of Relapses and disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis

PRKRA – protein activator of interferon induced protein kinase EIF2AK2

REGARD – Rebif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease

SCG10 – superior cervical ganglion10

SLC9A9 – solute carrier family 9 member A9

STARD13 – StAR Related Lipid Transfer Domain Containing 13

TBXAS1 – thromboxane A synthase 1

TrkA - тропомиозин-рецепторная киназа А

TYK2 – tyrosine kinase 2

UVRAG – UV radiation resistance associated

ZAK – sterile alpha motif and leucine zipper containing kinase AZK

ZFAT – zinc finger gene in AITD susceptibility region

ZFHX4 – Zinc Finger Homeobox

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алифирова, В.М. Клинические рекомендации по применению препарата терифлуномид/ В.М. Алифирова, К.З. Бахтиярова, А.Н. Белова [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116, № 10-2. – С. 98-104.
2. Бисага, Г.Н. Параметры клеточного иммунитета и цитокинового статуса у больных рассеянным склерозом/ Г.Н. Бисага, Н.М. Калинина, С.Б. Акимов, Н.И.// Медицинская иммунология. 2002. – Т.4, №4-5. – С. 637-644.
3. Бойко, А.Н. Выбор оптимального препарата для патогенетического лечения рассеянного склероза: современное состояние проблемы (обзор литературы)/ А.Н. Бойко, О.В. Бойко, Е.И. Гусев// Журнал неврологии и психиатрии им.С.С. Корсакова. – 2014. – Т.10, №2. – С. 77-91.
4. Бойко, А.Н., Гусев Е.И. Достижения в изучении проблем рассеянного склероза (обзор)/ А.Н. Бойко, Е.И. Гусев// Доктор. Ру. – 2012. – №5. – С.9-15.
5. Гончарова, З.А. Клинико-эпидемиологическая характеристика рассеянного склероза (проспективное 20-летнее исследование). Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.01.11./ Гончарова Зоя Александровна. – Иваново, 2013. – 40 с.
6. Гусев, Е.И., Гехт А.Б. Рассеянный склероз. Клинические рекомендации. [Электронный ресурс]. – 2018 – Режим доступа: https://www.ructrims.org/files/Клинические_рекомендации_РС_Проект_2018.pdf
7. Гусев, Е.И. Эпидемиологические характеристики рассеянного склероза в России/ Е.И. Гусев, И.А. Завалишин, А.Н. Бойко [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова (Рассеянный склероз). – 2002 – Т.102, №2. – С. 3—5.
8. Желнин, А.В. Эпидемиологические и клинические особенности рассеянного склероза в Пермском крае/ А.В. Желнин// Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013 – Т.9, №1. – С. 69–71.
9. Киселев, И.С. Генетика и эпигенетика первично-прогрессирующего рассеянного склероза как особой агрессивной формы заболевания/ И.С. Киселев, О.Г. Кулакова, М.Р. [и др.]// Молекулярная диагностика. – 2017 – №2. – С. 64-65.

10. Коробко, Д.С. Влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза/ Д.С. Коробко, Н.А. Малкова, Е.В. Булатова [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2013 – Т.113, №2. – С.10-16.
11. Кочетов, А.Г., Лянг О.В., Масенко В.П., Жиров И.В., и др. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников/ А.Г.Кочетов – М.: РКНПК, 2012. – 42 с.
12. Назаров, В.Д. Методы определения связывающих и нейтрализующих антител к препаратам интерферона-бета/ В.Д. Назаров, С.В. Лапин, Е.А. Суркова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т.61, №10. – С. 710-714.
13. Пажигова, З.Б. Распространенность рассеянного склероза в мире (обзорная статья)/ З.Б. Пажигова, С.М. Карпов, П.П. Шевченко, Н.И. Бурнусус// International Journal of Experimental Education. – 2014. – №1. – С. 78-82.
14. Попова, Е.В. Окрелизумаб в лечении первично-прогрессирующего рассеянного склероза/ Е.В.Попова// Медицинский совет. – 2018. – №11. – С. 77-78.
15. Попова, Е.В. Первично-прогрессирующий рассеянный склероз: современное состояние проблемы своевременной постановки диагноза/ Е.В. Попова, А.Н. Бойко, М.А. Барабанова [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017 – Т.10, №2. – С. 35-40.
16. Попова, Е.В. Результаты рандомизированного открытого многоцентрового сравнительного исследования переносимости и безопасности препарата Гилениа (Финголимод) у пациентов с ремиттирующим рассеянным склерозом (ГИМН)/ Е.В. Попова, А.Н. Бойко, О.В. Бойко// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, №2-2. – С. 45-50.
17. Попова, Е.В. Полиморфные варианты генов иммунного ответа как факторы риска развития первично-прогрессирующего рассеянного склероза/ Е.В. Попова, И.С. Киселев, А.Н. Бойко [и др.]// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т.117, №2. – С.14-21.

18. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica/ О.Ю.Реброва – М., МедиаСфера, 2002. – 312с.
19. Смагина, И.В. Рассеянный склероз в Алтайском крае: результаты проспективного эпидемиологического исследования/ И.В. Смагина, Е.Ю. Ельчанинова, С.А. Ельчанинова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2019. – Т119, №2. – С.7-11.
20. Степанов, В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонифицированная медицина/ В.А. Степанов// Acta Naturae. – 2010. – Т.4, №7. – С.18-34.
21. Столяров, И.Д. Рассеянный склероз, диагностика, лечение, специалисты/ И.Д.Столяров, А.Н.Бойко – СПб., Эльби-СПб, 2008. – 320с.
22. Ханох, Е.В.Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностей его течения в русской этнической группе/ Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А., и др.// Бюллетень СО РАМН. – 2011 – Т.31, №1. – С.113-118.
23. Шелудько, В.С. Теоретические основы медицинской статистики (статистические методы обработки и анализа материалов научно-исследовательских работ): Метод. рекомендации. Изд. 3-е, исправл. и доп./ В.С. Шелудько, Г.И. Девяткова. – ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России // – Пермь, 2016. – 80 с.
24. Шмидт Т.Е. Рассеянный склероз: руководство для врачей. 5-е изд./ Т.Е.Шмидт, Н.Н.Яхно – М.: МЕДпресс-информ, 2016. – 272 с.
25. Abulaizi, A. Identification of pelvic organ prolapse risk susceptibility gene SNP locus in Xinjiang women/ A. Abulaizi, A. Abula, G. Ababaikeli [et al.]// Int Urogynecol J. – 2019. – Vol.20, №278. – P.1-8
26. Agostini, S. HLA alleles modulate EBV viral load in multiple sclerosis/ S. Agostini, R. Mancuso, F.R. Guerini [et al.]// J Transl Med. – 2018. - №16. – P. 80.

27. Albor, C. Ethnicity and prevalence of multiple sclerosis in east London/ C. Albor, T. du Sautoy, N. Kali Vanan [et al.]// *Multiple Sclerosis Journal*. – 2017. – Vol. 23, №1 – P. 36-42.
28. Alexoudi, A. Possible Implication of GSTP1 and NQO1 Polymorphisms on Natalizumab Response in Multiple Sclerosis/ A. Alexoudi, S. Zachaki, C. Stavropoulou [et al.] // *Ann Clin Lab Sci*. – 2016 – Vol. 46, №6. – P 586-591.
29. Alter, M. Genetic association of multiple sclerosis and HL-A determinants/ M. Alter, M. Harshe, V.E., Anderson [et al.]// *Neurology*. – 1976 – Vol. 26, №1. – P. 31-6.
30. Amato, M.P.ECTRIMS focused workshop/ M.P. Amato, T. Derfuss, B. Hemmer [et al.]// *Mult Scler*. – 2017. – Vol.24, №5. – P.590-603
31. Aulchenko, Y.S. Genetic variation in the KIF1B locus influences susceptibility to multiple sclerosis/ Y.S. Aulchenko, I.A. Hoppenbrouwers, S.V. Ramagopalan [et al.]// *Nat Genet*. – 2008 – Vol. 40, №12. – P.1402–1403.
32. Baarnhielm, M. Fatty fish intake is associated with decreased occurrence of multiple sclerosis/ M. Baarnhielm, T. Olsson, L. Alfredsson// *Mult Scler*. – 2014. - № 20. – P. 726–732.
33. Basit, S. CIT, a gene involved in neurogenic cytokinesis, is mutated in human primary microcephaly/ S. Basit, K.M. Al-Harbi, S.A.M. Alhijji [et al.]// *Hum Genet*. – 2016. – №135 – P.1199.
34. Batchelor, J.R. Histocompatibility antigens and their relevance to multiple sclerosis/ J.R. Batchelor// *British Medical Bulletin*. – 1977 – Vol.30, №1. – P. 72–77.
35. Berer, K. Gut microbiota from multiple sclerosis patients enables spontaneous autoimmune encephalomyelitis in mice/ K. Berer, L.A.Gerdes, E. Cekanaviciute [et al.]// *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2017. – №114. – P.10719–10724.
36. Bianchi, F.T. Of rings and spines: The multiple facets of Citron proteins in neural development/ F.T. Bianchi, M. Gai, G.E. Berto, F. Di Cunto// *Small GTPases*. – 2017. - № 29. – P.1-9.
37. Binder, M.D. ANZgene Common and Low Frequency Variants in MERTK Are Independently Associated with Multiple Sclerosis Susceptibility with Discordant

- Association Dependent upon HLA-DRB1*15:01/ M.D.Binder, A.D. Fox, D. Merlo [et al.]// *Status PLoS Genet.* – 2016. - №12. – p. e1005853.
38. Bjornevik, K. Polyunsaturated fatty acids and the risk of multiple sclerosis/ K. Bjornevik, T. Chitnis, A. Ascherio, K.L. Munger// *Mult Scler.* – 2017. - №23. – P. 1830–1838.
39. Bourguiba-Hachemi, S. ZFAT gene variant association with multiple sclerosis in the Arabian Gulf population: A genetic basis for gender-associated susceptibility/ S. Bourguiba-Hachemi, T.K. Ashkanani, F.J. Kadhem [et al.]// *Mol Med Rep.* -2016 – Vol. 14, №4. – P. 3543–3550.
40. Bray, G.L. A multicenter study of recombinant factor VIII (recombinate): safety, efficacy, and inhibitor risk in previously untreated patients with hemophilia A. The Recombinate Study Group// G.L.Bray, E.D. Gomperts, S. Courter [et al.]// *Blood.* – 1994. - №83. – P. 2428-2435.
41. Brookes, A.J. The essence of SNPs (Review)/ A.J. Brookes// *Gene.* – 1999. - №243 – P. 177-186.
42. Bsteh, G. Long term clinical prognostic factors in relapsing-remitting multiple sclerosis: insights from a 10-year observational study/ G. Bsteh, R. Ehling, A. Lutterotti [et al.]// *PLoS ONE.* – 2016. - №11. – P. e0158978.
43. Buck, D. Effect of HLA-DRB1 alleles and genetic variants on the development of neutralizing antibodies to interferon beta in the BEYOND and BENEFIT trials/ D. Buck, T. Andlauer, W. Igl [et al.]// *Multiple sclerosis journal.* – 2019. – Vol.25, №4. – P.565-573.
44. Butzkueven, H. TYSABRI Observational Program (TOP) Investigators. Efficacy and safety of natalizumab in multiple sclerosis: interim observational programme results/ H. Butzkueven, L. Kappos, F. Pellegrini [et al.]// *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2014. – Vol.85,№11. – P.1190-7.
45. Byun, E. Genome-Wide Pharmacogenomic Analysis of the Response to Interferon Beta Therapy in Multiple Sclerosis/ E. Byun, S.J. Caillier, X. Montalban [et al.]// *Arch Neurol.* – 2008. – Vol.65, №3. – P. 337-344.

46. Cazzullo, C.L. Multiple sclerosis immunogenetics. A possible correlation with human leukocyte HL-A antigens/ C.L. Cazzullo, E. Smeraldi// *Arzneimittelforschung*. – 1975. – Vol.25, №11. – P.1826-8.
47. Chen, J.H. Effects of interactions between environmental factors and KIF1B genetic variants on the risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese cohort/ J.H. Chen, Y.Y. Wang, W.B. Lv [et al.]// *World J Gastroenterol*. – 2016. – Vol. 22, №16. – P. 4183–4190.
48. Chen, L. Inhibition of miR-9-5p suppresses prostate cancer progress by targeting StarD13/ L. Chen, W. Hu, G. Li [et al.]// *Cell Mol Biol Lett*. – 2019. - №24. – P. 20.
49. Chen, S. KIF1B promotes glioma migration and invasion via cell surface localization of MT1-MMP/ S. Chen, M. Han, W.Chen [et al.]// *Oncology Reports*. – 2016. - №35. – P. 971-977.
50. Chudnovsky, Y. ZFH4 interacts with the NuRD core member CHD4 and regulates the glioblastoma tumor-initiating cell state/ Y. Chudnovsky, D. Kim, S. Zheng [et al.]// *Cell Rep*. – 2014. – Vol.6, №2. – P. 313–324.
51. Clarelli, F. Pharmacogenetic study of long-term response to interferon- β treatment in multiple sclerosis/ F. Clarelli, G. Liberatore, M. Sorosina [et al.]// *The Pharmacogenomics Journal*. – 2017, - №7. – P. 84–91.
52. Comabella, M. Genome-wide Scan of 500 000 Single-Nucleotide Polymorphisms Among Responders and Nonresponders to Interferon Beta Therapy in Multiple Sclerosis/ M. Comabella, D.W. Craig, C. Morcillo-Suárez [et al.]// *Arch Neurol*. – 2009. Vol.66, №8. – P. 972–978.
53. Comi, G. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging--measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group/ G. Comi, M. Filippi, J.S. Wolinsky// *Ann Neurol*. – 2001. – Vol.49, №3. – P. 290-7.
54. Compston, A. Multiple sclerosis/ A. Compston, A. Coles// *Lancet*. – 2008. - №373. – P. 1502-1517.

55. Corey, A. Interferon Beta and Glatiramer Acetate Therapy.// Corey A. McGraw, F.D.// Neurotherapeutics. – 2013. – Vol.10, №1. – P. 2–18.
56. Correale, J. The role of microglial activation in disease progression/ J. Correale// Mult Scler. – 2014. - №20. – P.1288–1295.
57. Cotte, S. ABC-transporter gene-polymorphisms are potential pharmacogenetic markers for mitoxantrone response in multiple sclerosis/ S. Cotte, N. von Ahsen, N. Kruse [et al.]// Brain. 2009. – Vol. 132, №9. – P. 2517-30.
58. Coyle, P.K. Pharmacogenetic Biomarkers to Predict Treatment Response in Multiple Sclerosis: Current and Future Perspectives/ P.K. Coyle// Mult Scler Int. - 2017. –6198530.
59. Doi, K. ZFAT is a critical molecule for cell survival in mouse embryonic fibroblasts/ K. Doi, T. Fujimoto, M. Koyanagi [et al.]// Cell Mol Biol Lett. – 2011. – Vol.16, №1. – P. 89–100.
60. Doi, K. Zfat Is Indispensable for the Development of Erythroid Cells in the Fetal Liver/ K. Doi, T. Tsunoda, M. Koyanagi [et al.]// Anticancer Res. – 2019. – Vol.39, №8. – P. 4495-4502.
61. Doi, K. Review: The Roles of ZFAT in Thymocyte Differentiation and Homeostasis of Peripheral Naive T-Cells/ K. Doi, S. Ishikura, S. Shirasawa// Anticancer Res. – 2014. – Vol.34, №8. – P. 4489-4495.
62. Dong, Z. Leptin-mediated regulation of MT1-MMP localization is KIF1B dependent and enhances gastric cancer cell invasion/ Z. Dong, X. Xu, L. Du [et al.]// Carcinogenesis. – 2013. - №34. – P.974–983.
63. Drerup, C.M. Kif1B Interacts with KBP to Promote Axon Elongation by Localizing a Microtubule Regulator to Growth Cones/ C.M. Drerup, S. Lusk, A. Nechiporuk // J Neurosci. – 2016. – Vol.36, №26. – P. 7014–7026.
64. Durelli, L. Anti-interferon antibodies in multiple sclerosis. Molecular basis and their impact on clinical efficacy/ L. Durelli, A.Ricci// Front Biosci. – 2004. – №9. – P. 2192-2204.

65. Durr, F.E., Wallace R.E., Citarella R.V. Molecular and biochemical pharmacology of mitoxantrone/ F.E. Durr, R.E. Wallace, R.V. Citarella// *Cancer treatment reviews*. – 1983. №10 Suppl.B. – P. 3–8.
66. Ebers, G. C. A twin consensus in MS/ G.C. Ebers// *Mult Scler*. – 2005. - №11. – P.497-9.
67. Ebers, G.C. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis/ G.C. Ebers// *Lancet*. – 1998. – Vol.352, №9139. – P.1498—504.
68. Eising, E. A set of regulatory genes co-expressed in embryonic human brain is implicated in disrupted speech development/ E. Eising, A. Carrion-Castillo, A. Vino [et al.]// *Mol Psychiatry*. – 2019. – Vol.24, №7. – P.1065-1078.
69. El-Sitt, S. DLC2/StarD13 plays a role of a tumor suppressor in astrocytoma/ S. El-Sitt, B.D. Khalil, S. Hanna [et al.]// *Oncol Rep*. – 2012. – Vol.28, №2. – P. 511-8.
70. Esposito, F. A pharmacogenetic study implicates SLC9a9 in multiple sclerosis disease activity/ F. Esposito, M. Sorosina, L. Ottoboni [et al.]// *Ann Neurol*. – 2015. - №78. – P.115–127.
71. Evenepoel, L. KIF1B and NF1 are the most frequently mutated genes in paraganglioma and pheochromocytoma tumors/ L. Evenepoel, R. Helaers, L. Vroonen, S. Aydin// *Society for Endocrinology*. – 2017. – Vol.24, №8. – P.57-61.
72. Farrell, R.N. Neutralising Antibodies to Interferon Beta in Multiple Sclerosis/ R.N. Farrell. – London, UK, 2010 – 260p.
73. Fell, S.M. Neuroblast differentiation during development and in neuroblastoma requires KIF1B β -mediated transport of TRKA/ S.M. Fell, S. Li, K. Wallis [et al.]// *Genes Dev*. – 2017. – Vol.31, №10. – P. 1036–1053.
74. Fineberg, S.E. Immunogenicity of recombinant DNA human insulin/S.E. Fineberg, J.A. Galloway, N.S. Fineberg [et al.]// *Diabetologia*. – 1983. - №25. – P. 465-469.
75. Fujikura, K. Kif14 Mutation Causes Severe Brain Malformation and Hypomyelination/ K. Fujikura, T. Setsu, K. Tanigaki [et al.]// *PLoS ONE*. – 2013. - Vol.8, №1. – P.e53490.

76. General Assembly of the World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects/ General Assembly of the World Medical Association.// *J. Am. Coll. Dent.* – 2014. - №3. – P.14-18.
77. George, M.F. Multiple sclerosis risk loci and disease severity in 7,125 individuals from 10 studies/ M.F. George, F.B. Briggs, X. Shao [et al.]// *Neurol Genet.* – 2016. - № 2. – P. e87.
78. Gneiss, C. Comparative study of four different assays for the detection of binding antibodies against interferon- β / C. Gneiss, M. Brugger, A. Millonig [et al.]// *Mult. Scler.* – 2008. - №14. – P. 830–836.
79. Gonsette, R.E. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: when and how to treat?/ R.E. Gonsette// *Journal of the Neurological Sciences.* – 2003. – Vol.206, №2. – P. 203 – 208.
80. Goschel, H. Botulinum A toxin therapy: neutralizing and nonneutralizing antibodies--therapeutic consequences/ H. Goschel, K. Wohlfarth, J. Frevert [et al.]// *Exp Neurol.* – 1997. - №147. – P.96-102.
81. Gourraud, P. and IMSGC When is absence of evidence, evidence of absence? Use of Equivalence-Based Analyses in Genetic Epidemiology and a Conclusion for the KIF1B rs 10492972*C Allelic Association in multiple sclerosis/ P. Gourraud and IMSGC// *Genet Epidemiol.* – 2011. – Vol.35, №6. – P. 568-571.
82. Grey Née Cotte, S. Lack of efficacy of mitoxantrone in primary progressive Multiple Sclerosis irrespective of pharmacogenetic factors: a multi-center, retrospective analysis/ S. Grey Née Cotte, A. Salmen Née Stroet, N. von Ahsen [et al.]// *Neuroimmunol.* – 2015. - №278. – P.277-9.
83. Gruneberg, U. KIF14 and citron kinase act together to promote efficient cytokinesis/ U. Gruneberg, R. Neef, X. Li [et al.]// *The Journal of Cell Biology.* – 2006. – Vol.172, №3. – P. 363-372.
84. Guo, X. Displacement of Bax by BMF Mediates STARD13 3'UTR-Induced Breast Cancer Cells Apoptosis in an miRNA-Dependent Manner/ X.Guo, C. Xiang, Z. Zhang// *Mol. Pharmaceutics.* – 2018. – Vol.15, №1. – P. 63-71.

85. Happ, H. 8q21.11 microdeletion in two patients with syndromic peters anomaly/ H. Happ, K.F. Schilter, E. Weh [et al.]// *Am J Med Genet A.* – 2016. – Vol.170, №9. – P. 2471–2475.
86. Harding, B.N. Mutations in Citron Kinase Cause Recessive Microlissencephaly with Multinucleated Neurons/ B.N. Harding, A. Moccia, S. Drunat [et al.]// *Am J Hum Genet.* – 2016. – Vol.99, №2. – P. 511–520.
87. Hassani, A. Epstein-Barr virus is present in the brain of most cases of multiple sclerosis and may engage more than just B cells/ A. Hassani, J.R. Corboy, S. Al-Salam, G. Khan// *PLoS ONE/* - 2018. - №13. – P. e0192109.
88. He, D. Teriflunomide for multiple sclerosis/ D. He , C. Zhang, X. Zhao [et al.]// *Cochrane Database of Systematic Reviews.* – 2016. №3. – Art. No.: CD009882.
89. Hedstrom, A.K. Smoking and multiple sclerosis susceptibility/ A.K. Hedstrom, J. Hillert, T. Olsson, L. Alfredsson// *Eur J Epidemiol.* – 2013. - №28. – P.867–874.
90. Hedstrom, A.K. Organic solvents and MS susceptibility: interaction with MS risk HLA genes/ A.K. Hedstrom, O. Hossjer, M. Katsoulis [et al.]// *Neurology.* – 2018. - №91. – P.e455–e462.
91. Hedstrom, A.K. The interaction between smoking and HLA genes in multiple sclerosis: replication and refinement/ A.K. Hedstrom, M. Katsoulis, O. Hossjer [et al.]// *Eur J Epidemiol.* – 2017. №32. – P.909–919.
92. Hemmi, K. A homeodomain-zinc finger protein, ZFHx4, is expressed in neuronal differentiation manner and suppressed in muscle differentiation manner/ K. Hemmi, D. Ma, Y. Miura [et al.]// *Biol Pharm Bull.* – 2006. – Vol.29, №9. – P. 1830-5.
93. Hewlett, S. Celia Almeida Measures of fatigue: Bristol Rheumatoid Arthritis Fatigue Multi-Dimensional Questionnaire (BRAf MDQ), Bristol Rheumatoid Arthritis Fatigue Numerical Rating Scales (BRAf NRS) for Severity, Effect, and Coping, Chalder Fatigue Questionnaire (CFQ), Checklist Individual Strength (CIS20R and CIS8R), Fatigue Severity Scale (FSS), Functional Assessment Chronic Illness Therapy (Fatigue) (FACIT-F), Multi-Dimensional Assessment of Fatigue (MAF), Multi-Dimensional Fatigue Inventory (MFI), Pediatric Quality Of Life (PedsQL) Multi-Dimensional Fatigue Scale, Profile of Fatigue (ProF), Short Form 36 Vitality Subscale (SF-36 VT), and Visual

- Analog Scales (VAS)/ S. Hewlett, E. Dures// *Arthritis Care & Research*. – 2011. – Vol.63, S11. – P. 263-286
94. Heydarpour, P. Potential impact of air pollution on multiple sclerosis in Tehran, Iran/ P. Heydarpour, H. Amini, S. Khoshkish [et al.]// *Neuroepidemiology*. – 2014. - №43. – P.233–238.
95. Hoare, S. Higher intake of omega-3 polyunsaturated fatty acids is associated with a decreased risk of a first clinical diagnosis of central nervous system demyelination: results from the Ausimmune Study/ S. Hoare, F. Lithander, I. van der Mei [et al.]// *Mult Scler*. – 2016. - №22. – P. 884–892.
96. Hočevar, K. Pharmacogenomics of Multiple Sclerosis: A Systematic Review/ K. Hočevar, S. Ristić, B. Peterlin// *Front Neurol*. – 2019. - №10. – P.134.
97. Hoepner, R. Efficacy and Side Effects of Natalizumab Therapy in Patients with Multiple Sclerosis/ R. Hoepner, S. Faissner, A. Salmen [et al.]// *J Cent Nerv Syst Dis*. – 2014. - № 6. – P. 41–49.
98. Hughes, S.E. Predictors and dynamics of postpartum relapses in women with multiple sclerosis/ S.E.Hughes, T. Spelman, O.M. Gray [et al.]// *Mult Scler*. - 2014. - №20. – P. 739–746.
99. Inoue, N. Associations between autoimmune thyroid disease prognosis and functional polymorphisms of susceptibility genes, CTLA4, PTPN22, CD40, FCRL3, and ZFAT, previously revealed in genome-wide association studies/ N. Inoue, M. Watanabe, H. Yamada [et al.]// *J Clin Immunol*. – 2012. – Vol.32, №6. – P. 1243-52.
100. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium Low-Frequency and Rare-Coding Variation Contributes to Multiple Sclerosis Risk/ International Multiple Sclerosis Genetics Consortium// *Cell*. – 2018. - Vol.175, №6. – P. 1679-1687.
101. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. Low frequency and rare coding variation contributes to multiple sclerosis risk/ International Multiple Sclerosis Genetics Consortium// *Cell*. – 2019. – Vol.178, №1. – P. 262.
102. Islam, T. Differential twin concordance for multiple sclerosis by latitude of birthplace/ T. Islam, W.J. Gauderman, W. Cozen [et al.]// *Ann Neurol*. – 2006. - №60. – P. 56-64.

103. Ivanova, S. Do binding antibodies predict neutralizing antibody development in multiple sclerosis patients?/ S. Ivanova, R. Skrobanska, V. Kolyovska// C. R. Acad. Bulg. Sci. – 2018. – Vol.71, №8. – P.1139-1146.
104. Jeanjean, M. NO₂ and PM₁₀ are associated with the occurrence of multiple sclerosis relapses. Evidence from seasonal multi-pollutant analyses/ M. Jeanjean, M.A. Bind, J. Ozone Roux [et al.]// Environ Res. – 2018. - №163. – P. 43–52.
105. Jokubaitis, V.G. Predictors of long-term disability accrual in relapse-onset multiple sclerosis/ V.G. Jokubaitis, T. Spelman, T. Kalincik [et al.]// Ann Neurol. – 2016. - №80. – P. 89–100.
106. Khan, O. Three times weekly glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis/ O. Khan, P. Rieckmann, A. Boyko [et al.]// Ann Neurol. – 2013. – Vol. 73, №6. – P. 705-713.
107. Kieseier, BC. The mechanism of action of interferon- β in relapsing multiple sclerosis/ B.C. Kieseier// CNS Drugs. – 2011. – Vol. 25, №6. – P. 491-502.
108. Kivisäkk, P. Neutralizing and binding anti-interferon-beta (IFN-beta) antibodies: a comparison between IFN-beta-1a and IFN-beta-1b treatment in multiple sclerosis/ P. Kivisäkk, G.V. Alm, S. Fredrikson, H. Link// Eur J Neurol. – 2000. - №7. – P. 27-34;
109. Kleinewietfeld, M. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells/ M. Kleinewietfeld, A. Manzel, J. Titze [et al.]// Nature. – 2013. - №496. – P. 518–522.
110. Kong, X.W. Loss of function of KIF1B impairs oocyte meiotic maturation and early embryonic development in mice/ X.W. Kong, D.H. Wang, C.J. Zhou [et al.]// Mol Reprod Dev. – 2016. – Vol.83, №11. – P. 1027-1040.
111. Koyanagi, M. ZFAT expression in B and T lymphocytes and identification of ZFAT-regulated genes/ M. Koyanagi, K. Nakabayashia, T. Fujimoto [et al.]// Genomics. – 2008. – Vol. 91, №5. – P. 451-457.
112. Koziol, J.A. Responsiveness of the Scripps Neurologic Rating Scale During a Multiple Sclerosis Clinical Trial/ J.A. Koziol, A. Lucero, J.C. Sipe, J. S. Romine, E. Beutler// Can. J. Neurol. Sci. – 1999. - №26. – P. 283-289

113. Kudryavtseva, E.A. Polymorphic locus rs10492972 of the KIF1B gene association with multiple sclerosis in Russia: Case control study/ E.A. Kudryavtseva, A.S. Rozhdestvenskii, A.V. Kakulya [et al.]// *Molecular Genetics and Metabolism*. – 2011. - №104. – P. 390–394.
114. Kuhle, J. A 10-year follow-up of the European multicenter trial of interferon β -1b in secondary-progressive multiple sclerosis/ J. Kuhle, M. Hardmeier, G. Disanto [et al.]// *Multiple Sclerosis Journal*. – 2016. – Vol.22, №4. – P. 533-543.
115. Kular, L. DNA methylation as a mediator of HLA-DRB1*15:01 and a protective variant in multiple sclerosis/ L. Kular, Y. Liu, S. Ruhrmann [et al.]// *Nat Commun*. – 2018. - №9. – P. 2397.
116. Kurtzke, J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis/ J.F. Kurtzke// *Neurology*. – 1983. – Vol.33, №11. – P.1444-52.
117. Laity, J.H., Lee B.M., Wright P.E. Zinc finger proteins: new insights into structural and functional diversity/ J.H. Laity, B.M. Lee, P.E. Wright// *Curr Opin Struct Biol*. – 2001. – Vol.11, № 1. – P.39-46.
118. Lau, A.Y. Prevalence of neutralising antibodies to interferon-beta and clinical response in Chinese patients with relapsing multiple sclerosis/ A.Y. Lau, W.K. Ip, C. Au [et al.]// *Mult Scler J Exp Transl Clin*. – 2017. – Vol.3, №4. – P. 2055217317733485.
119. Laursen, J.H. Association between age at onset of multiple sclerosis and vitamin D level-related factors/ J.H. Laursen, H.B. Sondergaard, P.S. Sorensen [et al.]// *Neurology*. – 2016. - №86. – P. 88–93.
120. Lin, R. Association between multiple sclerosis risk-associated SNPs and relapse and disability—a prospective cohort study/ R. Lin, B.V. Taylor, S. Simpson [et al.]// *Mult Scler*. – 2014. - №20. – P. 313–321.
121. Lin, R. Novel modulating effects of PKC family genes on the relationship between serum vitamin D and relapse in multiple sclerosis/ R. Lin, B.V. Taylor, S. Simpson [et al.]// *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2014. - №85. – P. 399–404.
122. Lu, N. Whole-exome sequencing to identify novel mutations of nevoid basal cell carcinoma syndrome in a Chinese population/ N. Lu, J. Wang, B. Zhu [et al.]// *Cancer Biomark*. – 2017. – Vol. 21, №1. – P. 161-168.

123. Lyons, D.A. Kif1b is essential for mRNA localization in oligodendrocytes and development of myelinated axons/ D.A. Lyons, S.G. Naylor, A. Scholze, W.S. Talbot// *Nat Genet.* – 2009. – Vol. 41, №7. – P. 854-858.
124. Martinelli-Boneschi, F. Lack of replication of KIF1B gene in an Italian primary progressive multiple sclerosis cohort/ F. Martinelli-Boneschi, F. Esposito, D. Scalabrini [et al.]// *Eur J Neurol.* – 2010. – Vol.17, №5. – P. 740-5.
125. Martinelli-Boneschi, F. Mitoxantrone for multiple sclerosis/ F. Martinelli Boneschi, L. Vacchi, M. Rovaris [et al.]// *Cochrane Database Syst Rev.* – 2013. - №5: CD002127.
126. Meng, D. Citron kinase (CIT-K) promotes aggressiveness and tumorigenesis of breast cancer cells in vitro and in vivo: preliminary study of the underlying mechanism/ D. Meng, Q., L. Feng [et al.]// *Clin Transl Oncol.* – 2019 – Vol. 216 №7. – P. 910-923.
127. Mikol, D.D. Comparison of subcutaneous interferon beta-1a with glatiramer acetate in patients with relapsing multiple sclerosis (the REbif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease [REGARD] study): a multicentre, randomised, parallel, open-label trial/ D.D. Mikol, F. Barkhof, P. Chan [et al.]// *The Lancet Neurology.* – 2008. – Vol. 7, №10. – P. 903-914.
128. Miyake, S. Gut environmental factors and multiple sclerosis/ S. Miyake, T. Yamamura// *J Neuroimmunol.* – 2019. -№329. – P. 20–23.
129. Moawia, A. Mutations of KIF14 cause primary microcephaly by impairing cytokinesis/ A. Moawia, R. Shaheen, S. Rasool, S.S.Waseem// *Ann Neurol.* – 2017. – Vol. 82, №4. – P. 562-577.
130. Monzani, F. Discordant effect of IFN-beta1a therapy on anti-ifn antibodies and thyroid disease development in patients with multiple sclerosis/ F. Monzani, G. Meucci, N. Caraccio [et al.]// *J Interferon Cytokine Res.* – 2002. - №22. – P. 733-81.
131. Moutsianas, L. International IBD Genetics Consortium (IIBDGC) Class II HLA interactions modulate genetic risk for multiple sclerosis/ L. Moutsianas, L. Jostins, A.H. Beecham [et al.]// *Nat. Genet.* – 2015. - №47. – P. 1107-1113.

132. Munger, K.L. Vitamin D Status During Pregnancy and Risk of Multiple Sclerosis in Offspring of Women in the Finnish Maternity Cohort/ K.L. Munger, J. Aivo, K. Hongell [et al.]// *JAMA Neurol.* – 2016. - №73. – P. 515–519.
133. Nagaraja, G. M. Chromosome 13q12 encoded Rho GTPase activating protein suppresses growth of breast carcinoma cells, and yeast two-hybrid screen shows its interaction with several proteins/ G.M. Nagaraja, R.P. Kandpal// *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2004. - №313. – P. 654-665.
134. Nakashima, M. Genome-wide linkage analysis and mutation analysis of hereditary congenital blepharoptosis in a Japanese family/ M. Nakashima, M. Nakano, A. Hirano [et al.]// *J Hum Genet.* – 2008. – Vol. 53, №1. – P. 34-41.
135. Nasrallah, A. Effect of StarD13 on colorectal cancer proliferation, motility and invasion/ A. Nasrallah, B. Saykali, S. Al Dimassi [et.al.]// *Oncology Reports.* – 2014. - №31. – P. 505-515.
136. Nicodemus, K.K. Evidence of statistical epistasis between DISC1, CIT and NDEL1 impacting risk for schizophrenia: biological validation with functional neuroimaging/ K.K. Nicodemus, J.H. Callicott, R.G. Higier [et al.]// *Hum Genet.* – 2010. - №127. – P. 441.
137. Nielsen, N.M. Neonatal vitamin D status and risk of multiple sclerosis: a population-based case-control study/ N.M. Nielsen, K.L. Munger, N. Koch-Henriksen [et al.]// *Neurology.* – 2017. - №88. – P. 44–51.
138. Nylander, A. Multiple Sclerosis (Review)/ A. Nylander, D.A. Hafler// *Journal of Clinical Investigations.* – 2012. – Vol.122, №4. – P. 1180-1188
139. O’Gorman, C. Modelling genetic susceptibility to multiple sclerosis with family data/ C. O’Gorman, R. Lin, J. Stankovich, S.A. Broadley// *Neuroepidemiology.* – 2013. - № 40. – P. 1-12.
140. O’Connor, P. International Natalizumab Trial Group. Relapse rates and enhancing lesions in a phase II trial of natalizumab in multiple sclerosis/ P. O’Connor, D. Miller, K. Riester [et al.]// *Mult Scler.* – 2005. – Vol.11, №5. – P. 568-72.

141. Olsson, T. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis/ T. Olsson, L.F. Barcellos, L. Alfredsson// *Nat Rev Neurol.* – 2017. - №13. – P. 25–36.
142. Palacios, N. Exposure to particulate matter air pollution and risk of multiple sclerosis in two large cohorts of US nurses/ N. Palacios, K.L. Munger, K.C. Fitzgerald [et al.]// *Environ Int.* – 2017. - №109. – P. 64–72.
143. Palomares, M. Characterization of a 8q21.11 microdeletion syndrome associated with intellectual disability and a recognizable phenotype/ M. Palomares, A. Delicado, E. Mansilla [et al.]// *Am J Hum Genet.* – 2011. – Vol. 89, №2. – P. 295–301.
144. Perini, P. The clinical impact of interferon beta antibodies in relapsing-remitting MS/ P. Perini, M. Calabrese, G. Biasi, P. Gallo// *J Neurol.* – 2004. - №251. – P. 305-9
145. Pilutti, L.A. Weight status and disability in multiple sclerosis: an examination of bi-directional associations over a 24-month period/ L.A. Pilutti, E. McAuley, R.W. Motl// *Mult Scler Relat Disord.* – 2012. - №1. – P.139–144.
146. Polman, C.H. Recommendations for clinical use of data on neutralising antibodies to interferon-beta therapy in multiple sclerosis/ C.H. Polman, A. Brtolotto, F. Deisenhammer [et al.]// *Lancet Neurol.* – 2010. – Vol. 9, №7. – P. 740—50.
147. Poorolajal, J. Effect of smoking on multiple sclerosis: a meta-analysis/ J. Poorolajal, M. Bahrami, M. Karami, E. Hooshmand// *J Public Health (Oxf).* – 2017. - № 39. – P. 312–320.
148. Prineas, J.W. Oligodendrocytes and the early multiple sclerosis lesion/ J.W. Prineas, J.D. Parratt// *Ann Neurol.* – 2012. - № 72. – P. 18–31.
149. PRISMS Study Group, the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. PRISMS-4: Long-term efficacy of interferon- β -1a in relapsing MS/ PRISMS Study Group, the University of British Columbia MS/MRI Analysis Group// *Neurology.* – 2001. – Vol. 56, №12. – P. 1628-1636.
150. PRISMS Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis/ PRISMS Study Group// *Lancet.* – 1998. - № 352. – P. 1498–504.

151. Pucci, E. Natalizumab for relapsing remitting multiple sclerosis/ E. Pucci, G. Giuliani, A. Solari [et al.]// *Cochrane Database Syst Rev.* – 2011. - № 10. – Art. No.: CD007621.
152. Qing, T. Somatic mutations in ZFH4 gene are associated with poor overall survival of Chinese esophageal squamous cell carcinoma patients/ T. Qing, S. Zhu, S. Suo [et al.]// *Sci Rep.* – 2017. – Vol.7, №1. – P. 4951.
153. Racke, M.K. The mechanism of action of glatiramer acetate treatment in multiple sclerosis/ M.K. Racke, A.E. Lovett-Racke, N.J. Karandikar// *Neurology.* – 2010. – Vol. 74, №1. – P. S25-S30.
154. Ross, C.J. A pharmacogenetic signature of high response to Copaxone in late-phase clinical-trial cohorts of multiple sclerosis/ C.J. Ross, F. Towfic, J. Shankar [et al.]// *Genome Med.* – 2017. – Vol. 9, №1. – P.50.
155. Rotstein, D.L. Evaluation of no evidence of disease activity in a 7-year longitudinal multiple sclerosis cohort/ D.L. Rotstein, B.C. Healy, M.T. Malik [et al.]// *JAMA Neurology.* – 2015. - №72. – P. 152–8.
156. Rudick, R.A. Natalizumab plus Interferon Beta-1a for Relapsing Multiple Sclerosis/ R.A. Rudick, W.H. Stuart [et al.]// *N Engl J Med.* – 2006. - № 354. – P. 911-923
157. Sawcer, S. Multiple sclerosis genetics/ S. Sawcer, R.J.M. Franklin, M. Ban// *Lancet Neurol.* – 2014. - №13. – P. 700-709.
158. Schaefer, B.A. Genetic Modifiers of White Blood Cell Count, Albuminuria and Glomerular Filtration Rate in Children with Sickle Cell Anemia/ B.A. Schaefer, J.M. Flanagan, O.A. Alvarez [et al.]// *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, №10. – P. e0164364.
159. Seog, D.H. Sorting Nexin 17 Interacts Directly with Kinesin Superfamily KIF1Bbeta Protein/ D.H. Seog, J. Han// *Korean J Physiol Pharmacol.* – 2008. – Vol. 12, №4. – P. 199–204.
160. Shaheen, R. Mutations in CIT, encoding citron rho-interacting serine/threonine kinase, cause severe primary microcephaly in humans/ R. Shaheen, A. Hashem, G.M. Abdel-Salam [et al.]// *Hum Genet.* – 2016. – Vol. 135, №10. – P. 1191-7.

161. Shahkarami, M.A. Neutralizing antibodies in multiple sclerosis patients on weekly intramuscular Avonex and biosimilar interferon beta-1a (CinnoVex): comparing results of measurements in two different laboratories/ M.A. Shahkarami, B. Vaziri, S. Salami [et al.]// *J Immunol Methods*. – 2013. – Vol.388, №1-2. – P. 46-8.
162. Shi, T.Y. Polymorphisms in the kinesin-like factor 1 B gene and risk of epithelial ovarian cancer in Eastern Chinese women/ T.Y. Shi, Z. Jiang, R. Jiang [et al.]// *Tumor Biol*. – 2015. - № 36. – P. 6919.
163. Shirasawa, S. SNPs in the promoter of a B cell-specific antisense transcript, SAS-ZFAT, determine susceptibility to autoimmune thyroid disease/ S. Shirasawa, H. Harada, K. Furugaki [et al.]// *Hum Mol Genet*. -2004. - №13. – P. 2221-2231.
164. Sokratous, M. Deciphering the role of DNA methylation in multiple sclerosis: emerging issues/ M. Sokratous, E. Dardiotis, Z. Tsouris [et al.]// *Auto Immun Highlights*. – 2016. - №7. – P. 12.
165. Solé, X. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies/ X. Solé, E. Guinó, J. Valls [et al.]// *Bioinformatics*. – 2006. - №15. – P. 1928-1929.
166. Sørensen, P.S Guidelines on use of anti-IFN- β antibody measurements in multiple sclerosis: report of an EFNS Task Force on IFN- β antibodies in multiple sclerosis/ P.S. Sørensen, F. Deisenhammer, P. Duda [et al.]// *European Journal of Neurology*. – 2005. - № 12. – P. 817–827.
167. Stacey, S.N. New basal cell carcinoma susceptibility loci/ S.N. Stacey, H. Helgason, S.A. Gudjonsson [et al.]// *Nat Commun*. – 2015. - № 6. – P. 6825.
168. Su, M. Meta-analysis of the correlation between the rs17401966 polymorphism in kinesin family member 1B and susceptibility to hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma/ M. Su, J. Guo, J. Huang// *Clin Mol Hepatol*. – 2017. – Vol. 23, №2. – P. 138–146.
169. Sundqvist, E. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: interaction with HLA/ E. Sundqvist, P. Sundstrom, M. Linden [et al.]// *Genes Immun*. – 2012. - №13 – P. 14–20.
170. Tao, C. Higher latitude is significantly associated with an earlier age of disease onset in multiple sclerosis/ C. Tao, S. Simpson Jr., I. van der Mei [et al.]// *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2016. - № 87. - P. 1343–1349.

171. Thompson, A.J. Multiple sclerosis/ A.J. Thompson, S.E. Baranzini, J. Geurts [et al.]// *Lancet*. – 2018. - № 391 – P. 1622–1636.
172. Tong, H. Transcriptomic analysis of gene expression profiles of stomach carcinoma reveal abnormal expression of mitotic components/ H. Tong, J. Wang, H. Chen [et al.]// *Life Sci*. – 2017. - №170. – P. 41-49.
173. Traboulsee, A. Effect of interferon beta-1a subcutaneously three times weekly on clinical and radiological measures and no evidence of disease activity status in patients with relapsing–remitting multiple sclerosis at year 1/ A. Traboulsee A, D.K.B. Li1, M. Cascione [et al.]// *BMC Neurology*. – 2018. - №18. – P. 143
174. Tsunoda, T. Roles of ZFAT in Haematopoiesis, Angiogenesis and Cancer Development/ T. Tsunoda, S. Shirasawa// *Anticancer Res*. – 2013. – Vol.33, №7. – P. 833-7.
175. Vallbracht, A. Interferon-neutralizing antibodies in a patient treated with human fibroblast interferon./ A. Vallbracht, J. Treuner, B. Flehmig [et al.]// *Nature*. – 1981. - № 289. – P. 496-497.
176. Vercellino, M. Progranulin genetic polymorphisms influence progression of disability and relapse recovery in multiple sclerosis/ M. Vercellino, C. Fenoglio, D. Galimberti [et al.]// *Mult Scler*. – 2016. - № 22. – P. 1007–1012.
177. Vermersch, P. Teriflunomide versus subcutaneous interferon beta-1a in patients with relapsing multiple sclerosis: a randomised, controlled phase 3 trial/ P. Vermersch, A. Czlonkowska, L.M. Grimaldi [et al.]// *Mult Scler*. – 2014. - №20. – P. 705–716.
178. Waubant, E. Environmental and genetic risk factors for MS: an integrated review/ E. Waubant, R. Lucas, E.Mowry [et al.]// *Ann Clin Transl Neurol*. – 2019. – №6. – P. 1905-1922.
179. Weber, F. Single-nucleotide polymorphisms in HLA- and non-HLA genes associated with the development of antibodies to interferon- β therapy in multiple sclerosis patients/ F. Weber, S. Cepok, C. Wolf [et al.]// *The Pharmacogenomics Journal*. – 2012. - №12. – P. 238–245.

180. Wencel-Warot, A. The cross-reactivity of binding antibodies with different interferon beta formulations used as disease-modifying drugs in multiple sclerosis patients/ A. Wencel-Warot// *Medicine*. – 2016. - №95. – P.45.
181. Westerlind, H. Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden/ H. Westerlind, R. Ramanujam, D. Uvehag [et al.]// *Brain*. – 2014. - № 137. – P. 770-778.
182. Xu, Z. Dimethyl fumarate for multiple sclerosis/ Z. Xu, F. Zhang, F. Sun [et al.]// *Cochrane Database Syst Rev*. – 2015. - № 4. – CD011076.
183. Yadav, V. Low-fat, plant-based diet in multiple sclerosis: a randomized controlled trial/ V. Yadav, G. Marracci, E. Kim [et al.]// *Mult Scler Relat Disord*. – 2016. - №9. – P. 80–90.
184. Zare, N. Antibodies to Interferon beta in Patients with Multiple Sclerosis Receiving CinnoVex, Rebif, and Betaferon/ N. Zare, S.H. Zarkesh-Esfahani, M. Gharagozloo, V. Shaygannejad// *Neuroscience J Korean Med Sci*. – 2013. - №28. – P. 1801-1806.
185. Zhang, H. STARD13 promotes hepatocellular carcinoma apoptosis by acting as a ceRNA for Fas/ H. Zhang, F. Wang, Y. Hu// *Biotechnol Lett*. – 2017. – Vol. 39, №2. – P. 207-217.
186. Zhang, H. Genome-wide association study identifies 1p36.22 as a new susceptibility locus for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B virus carriers/ H. Zhang, Y. Zhai, Z. Hu [et al.]// *Nat Genet*. – 2010. – Vol. 42, №9. – P. 755-8.
187. Zhao, C. Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bbeta/ C. Zhao, J. Takita, Y. Tanaka [et al.]// *Cell*. – 2001. – Vol. 105, №5. – P. 587-97.
188. Zhou, Y. Variation within MBP gene predicts disease course in multiple sclerosis/ Y. Zhou, S. Simpson Jr, J.C. Charlesworth [et al.]// *Brain Behav*. – 2017. - № 7. – P. e00670.