

На правах рукописи

Галиуллин Тимур Рифович

**КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАССЕЯННОГО
СКЛЕРОЗА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН НА ОСНОВАНИИ 20-
ЛЕТНЕГО ПРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

3.1.24. Неврология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Пермь, 2021

Работа выполнена на кафедре неврологии в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор - член – корр. РАН, д.м.н., профессор Павлов Валентин Николаевич).

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор
кафедры неврологии ФГБОУ
ВО БГМУ Минздрава России

Бахтиярова Клара Закиевна

Научный консультант:

Кандидат медицинских наук, научный сотрудник
ИБГ УФИЦ РАН, доцент кафедры медицинской генетики
и фундаментальной медицины ИДПО
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Тимашева Янина Римовна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой неврологии и
нейрохирургии с курсом дополнительного профессионального образования
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Алтайский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Смагина Инна Вадимовна

Старший научный сотрудник отделения неврологии,
доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии факультета
усовершенствования врачей Государственного бюджетного
учреждения здравоохранения Московской области
«Московский областной
научно-исследовательский клинический
институт им. М. Ф. Владимирского»

Якушина Татьяна Игоревна

Ведущая организация: Казанская государственная медицинская академия - филиал
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия
непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения
Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2021 года в ____ : ____ часов на заседании
Диссертационного совета 21.2.052.01 при ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера
Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А.
Вагнера Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26) и на сайтах
www.psma.ru, www.vak.minobrnauki.gov.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Шулятникова Оксана Александровна

Общая характеристика работы

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Рассеянный склероз (РС) – хроническое воспалительное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, при котором происходят нейродегенеративные процессы, приводящие к атрофическим изменениям в головном мозге и развитию стойкой нетрудоспособности [Fisher E. et al., 2008]. Несмотря на многочисленные исследования, этиология заболевания остается неясной. Полагают, что РС является мультифакторным заболеванием, возникающим в результате комплексного взаимодействия инфекционных, генетических и средовых факторов [Belbasis L. et al., 2015]. Недостаток информации об этиопатогенетических механизмах развития РС, неравномерность заболеваемости в различных регионах и этнических группах, частое поражение лиц молодого возраста с высокой инвалидизацией трудоспособного населения определяет актуальность исследований в этой области [Шмидт Т.Е. и др., 2016; Гусев Е.И. и др., 2002].

Проводимые в недавнем времени глобальные эпидемиологические исследования выявили значительное увеличение распространенности РС, что может отражать как истинное увеличение заболеваемости, так и влияние медико-социальных факторов – урбанизация, ухудшение экологической обстановки, а также увеличение продолжительности жизни пациентов благодаря улучшению возможностей патогенетического и симптоматического лечения и повышению качества диагностики. Клинические проявления и течение РС в различных географических регионах и этнических группах имеют свои, еще недостаточно изученные особенности [Шмидт Т.Е. и др., 2016; Гусев Е.И. и др., 2002; Малкова Н.А. 2006; Nylander A. et al., 2012; Melcon M. O. et al., 2014].

В настоящее время идёт активное изучение молекулярно-генетических основ наследственной предрасположенности к РС. РС относят к заболеваниям, имеющим аутоиммунное происхождение, поэтому особое внимание уделяется маркерам, расположенным в области генов иммунного ответа. Одним из вариантов генетического исследования является анализ ассоциаций с заболеванием полиморфных ДНК-маркеров, расположенных в областях генов, продукты которых предположительно задействованы в патогенезе РС (гены-кандидаты). Другим вариантом изучения является широкомасштабный скрининг маркеров, расположенных по всему геному (GWAS – genome-wide association studies). Применение чипов высокой плотности даёт возможность выявлять новые области генома, связанные с заболеванием. Ведущие ученые сходятся во мнении, что результаты, полученные в GWAS, необходимо верифицировать на различных популяционных группах [Sawcer S. et al., 2014].

Степень разработанности темы

В РФ проведено небольшое количество крупномасштабных многолетних проспективных исследований РС, описывающих закономерности его естественной динамики [Ходос Х. Г., 1980; Малкова Н.А, 2006; Бухникашвили Н. А. 1997; Егорова Г., и др., 2005; Карнаух В. Н., 2011; Гончарова З. А. и др., 2009; Смагина И. В. и др., 2019]. Генетические исследования РС в России немногочисленны, полученные результаты противоречивы, плохо воспроизводятся в последующих работах и характеризуются наличием выраженных межэтнических различий. Широкая вариабельность клинических проявлений РС, географические и этнические особенности распространённости свидетельствуют о необходимости проведения региональных клинико-эпидемиологических и клинико-генетических исследований. Республика Башкортостан привлекает особое внимание исследователей вследствие своего уникального географического положения и этнического состава, сочетающего в себе европейский и азиатский компоненты. Многообещающим подходом к повышению эффективности профилактики и лечения РС является идентификация генетических этноспецифических факторов риска развития РС и индивидуализация оценки риска.

Цель исследования

Изучение патоморфоза рассеянного склероза за 20-летний период наблюдения, оценка вклада в формирование наследственной предрасположенности к рассеянному склерозу полиморфных маркеров риска, выявленных в результате проведенных полногеномных ассоциативных исследований, в трёх этнических группах Республики Башкортостан для реализации персонифицированного подхода в ведении пациентов.

Задачи исследования

1. Описать клинические проявления рассеянного склероза, охарактеризовать варианты течения и исходы заболевания на основании многолетнего наблюдения за больными.
2. Выявить клинико-генетические характеристики, значимые для прогноза скорости прогрессирования и инвалидизации больных рассеянным склерозом.
3. Осуществить генотипирование больных рассеянным склерозом и практически здоровых лиц группы контроля по полиморфным сайтам генов:
 - антигена дифференцировки Т-лимфоцитов (*CD6*, rs17824933),
 - антигена *CD40* (*CD40*, rs6074022),
 - антигена *CD58* (*CD58*, rs2300747),
 - антигена *CD86* (*CD86*,rs9282641),
 - фактора транскрипции *SRY-box 8* (*SOX8*, rs2744148),
 - фактора транскрипции *ZBTB46* (*ZBTB46*,rs6062314),

- бета-маннозидазы (*MANBA*,rs228614),
 - члена А семейства 16 лектиноподобных доменов С-типа (*CLEC16A*,rs12708716),
 - рибосомальной протеин S6 киназы В1 (*RPS6KB1*, rs180515),
 - длинной некодирующей РНК (вариант транслокации плазмцитомы 1, *PVT1*, rs759648).
4. Выполнить анализ ассоциаций полиморфных локусов исследуемых генов с рассеянным склерозом с учетом этнической и половой принадлежности.
 5. Осуществить анализ ассоциаций полиморфных сайтов изучаемых генов с клиническими проявлениями у больных рассеянным склерозом.
 6. Проанализировать роль межгенных взаимодействий исследуемых полиморфных локусов в формировании предрасположенности к рассеянному склерозу.
 7. Оценить предиктивные возможности аллельных вариантов исследуемых генов для прогнозирования развития рассеянного склероза.

Научная новизна

В рамках настоящей работы впервые выполнено проспективное комплексное клинико-генетическое исследование, позволившее оценить динамику клинических характеристик рассеянного склероза и исходы заболевания за 20-летний период. Определены особенности и тенденции течения рассеянного склероза у жителей Республики Башкортостан, что в совокупности с данными по другим регионам может пролить свет на механизмы распространения, а возможно, и этиопатогенеза заболевания. Проанализирована изменчивость клинической картины рассеянного склероза в Республике Башкортостан за 20 лет.

Впервые в выборке представителей трёх этнических групп, проживающих на территории Республики Башкортостан (башкиры, русские и татары), проведено изучение молекулярно-генетических основ рассеянного склероза с использованием полиморфных локусов генов *CD6*, *CD40*, *CD58*, *CD86*, *SOX8*, *ZBTB46*, *MANBA*, *CLEC16A*, *RPS6KB1* и *PVT1*. Выявлены этноспецифические и гендерспецифические ассоциации с рассеянным склерозом полиморфных маркеров генов *CD6* (rs17824933), *CD40* (rs6074022), *CD58* (rs2300747), *CD86* (rs9282641), *RPS6KB1* (rs180515), *CLEC16A* (rs12708716), *PVT1* (rs759648) и *ZBTB46* (rs6062314). Благодаря проведенному анализу межгенных взаимодействий обнаружены комбинации генотипов и/или аллелей исследуемых полиморфных локусов, ассоциированные с развитием рассеянного склероза в исследуемых группах, в составе которых представлены все изученные генетические варианты, в том числе для которых не найдено ассоциаций с рассеянным склерозом по данным индивидуального анализа. Установлена ассоциация полиморфизма генов *CD58* (rs2300747), *CD40* (rs6074022), *PVT1* (rs759648) с прогрессированием рассеянного склероза.

В результате проведенного исследования получены новые знания о роли полиморфизма генов дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека (*CD6*, *CD40*, *CD58*, *CD86*), факторов транскрипции (*SOX8* и *ZBTB46*), бета-маннозидазы (*MANBA*), домена лектина С-типа (*CLEC16A*), рибосомальной протеин S6 киназы B1 (*RPS6KB1*) и гена длинной некодирующей РНК (*PVT1*) в формировании предрасположенности к развитию РС.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные, полученные по итогам проведенного исследования, значимы для популяционно-генетической характеристики этнических групп, проживающих на территории Российской Федерации, расширяют представления о роли полиморфизма исследуемых генов в формировании предрасположенности к многофакторным заболеваниям, способствуют углубленному пониманию этиологии и патогенеза рассеянного склероза, открывают новые возможности для конкретизации устоявшихся концепций развития заболевания и для появления новых гипотез. Полученные данные могут послужить основой для проведения дальнейших исследований по генетике рассеянного склероза. Созданная на основании результатов исследования прогностическая модель может применяться в рамках персонализированной медицины для выделения групп повышенного риска возникновения заболевания среди женщин русской этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан.

Данные, полученные в результате проведенного 20-летнего проспективного исследования и дающие представление о тенденциях развития рассеянного склероза в Республике Башкортостан с 2000 по 2020 год, позволяют органам системы здравоохранения проводить целенаправленную работу по оказанию персонализированной специализированной помощи больным рассеянным склерозом в рамках перехода к высокоэффективной инновационной медицине.

Полученные сведения о закономерностях клинического течения рассеянного склероза, прогностических факторах прогрессирования и исходов заболевания дают возможность неврологам специализированного центра рассеянного склероза Республики Башкортостан проводить дифференцированную терапию и применять различную тактику ведения пациентов в зависимости от наблюдаемого варианта течения заболевания.

Методология и методы исследования

При подготовке диссертационной работы использовалась стандартная методология ассоциативных исследований дизайна «случай-контроль»; в качестве кандидатных были отобраны аллельные варианты генов, для которых были идентифицированы ассоциации с заболеванием в ходе выполнения полногеномных исследований. Выборка для исследования формировалась в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских

исследований с участием человека в качестве субъекта. Анализировались сведения, содержащиеся в историях болезни и полученные в ходе анкетирования, а также клинических и лабораторно-инструментальных исследований. Молекулярно-генетический анализ проводился с применением современных методов. Выделение тотальной геномной ДНК производилось методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование выполнялось методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Подбор праймеров и ферментов осуществлялся при помощи стандартных программ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием прикладных программ IBMSPSSStatistics 22, Arlequin V. 3.5.2.2, APSampler V. 3.6.0.

Положения, выносимые на защиту

1. Особенности клинической картины рассеянного склероза в начале заболевания и через 10 лет после дебюта обладают прогностической значимостью в отношении прогрессирования заболевания. Высокий риск прогрессирования связан с мужским полом, поздним возрастом начала заболевания, преобладанием в дебюте двигательных нарушений.

2. Рассеянный склероз в группе башкир чаще, чем в других этнических группах, характеризуется полисимптомным дебютом с преобладанием двигательных нарушений.

3. В этнической группе башкир с повышенным риском рассеянного склероза значимо ассоциированы генотипы *PVT1* rs759648*A/C (OR=2.29), *CD6* rs17824933*G/G (OR=4.78) и *CD40* rs6074022*C/C (OR=4.55), а с пониженным – генотип *CLEC16A* rs12708716*A/G (OR=0.48). У русских маркером повышенного риска рассеянного склероза является аллель *CD86* rs9282641 G (OR=1.97), маркером пониженного риска – аллель A (OR=0.51). В этнической группе татар предрасполагающий к развитию рассеянного склероза эффект проявляют аллели *CD86* rs9282641*G (OR=2.02), *PVT1* rs759648*C (OR=1.43) и *ZBTB46* rs6062314*T (OR=2.26), а протективный – аллели *PVT1* rs759648*A (OR=0.70) и *ZBTB46* rs6062314*C (OR=0.44) и *CD86* rs9282641*A (OR=0.49).

4. У мужчин в этнической группе башкир маркером предрасположенности к рассеянному склерозу является генотип *CD40* rs6074022*C/C (OR=11.09), в группе русских – генотип *CD58* rs2300747*A/G (OR=2.03) и *RPS6KB1* rs180515*C/C (OR=2.56). У женщин в этнической группе русских повышенный риск развития рассеянного склероза ассоциирован с аллелем *CD86* rs9282641*G (OR=2.58), в группе татар – с аллелем *PVT1* rs759648*C (OR=1.55).

5. Предрасполагающими в отношении прогрессирования рассеянного склероза являются генотипы *CD58* rs2300747* A/A (OR=2.32) и *CD40* rs6074022*T/T (OR=3.26), протективным – генотип *PVT1* rs759648*A/C (OR=0.39).

6. Повышенный риск рассеянного склероза у мужчин в этнической группе русских ассоциирован с сочетанием *RPS6KBI*rs180515*C/C + *PVT1*rs759648*C (OR=7.96), в группе татар *RPS6KBI*rs180515*C + *CLEC16A*rs12708716*G/G + *CD58*rs2300747*G (OR=14.88); в группе башкир пониженный риск заболевания был связан с комбинацией *SOX8*rs2744148*A+*CD40*rs6074022*T (OR=0.06). Среди женщин в этнической группе русских протективный эффект в отношении рассеянного склероза демонстрировало сочетание *SOX8*rs2744148*A+*MANBA*rs228614*A + *CD86*rs9282641*A+ *CD58*rs23000747*A/A (OR=0.07), в группе татар – *MANBA*rs228614*A/A + *PVT1*rs759648*A + *CD40*rs6074022*C(OR=0.1), у женщин из этнической группы башкир повышенный риск рассеянного склероза ассоциирован с сочетанием *SOX8*rs2744148*G+ *RPS6KBI*rs180515*C+ *CD58*rs23000747*G(OR=10.38).

7. Оптимальная предиктивная модель рассеянного склероза для женщин из этнической группы русских включает генотипы полиморфного маркера *CD86*rs9282641, а также сочетания генотипов *RPS6KBI*rs180515 +*CD40*rs6074022 и *CLEC16A*rs12708716 + *MANBA*rs228614.

Степень достоверности

Исследование выполнено на этнически однородных выборках больных рассеянным склерозом и практически здоровых лиц группы контроля без признаков нейродегенеративных и аутоиммунных заболеваний, сопоставимой с группой пациентов по полу и возрасту. Для достижения цели исследования использовались адекватные поставленным задачам современные методы молекулярно-генетического и статистического анализа.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы IBMSPSSv.22. Проверку соответствия наблюдаемого распределения генотипов и аллелей исследуемых маркеров теоретически ожидаемому согласно закону Харди-Вайнберга осуществляли с использованием теста Фишера. Оценка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки значимости различий, которые подчиняются закону нормального распределения, применялся t-критерий Стьюдента. Для оценки значимости различий, не подчиняющихся закону нормального распределения, применялся U- критерий Манна-Уитни. Для оценки значимости различий трех независимых групп применяли критерий Краскелла-Уоллиса. Среднее арифметическое и стандартное отклонение M(SD) рассчитывалось для количественных данных, имеющих нормальное распределение. Медиана, первый и третий квартили (Me [Q1;Q3]) рассчитывались для количественных данных, не имеющих нормального распределения. Сравнение частот генотипов и аллелей в группах больных и контроля проводили при

помощи точного двустороннего критерия Фишера. Относительный риск заболевания вычисляли как показатель соотношения шансов (OR – oddsratio). Различия считали значимыми при $P < 0.05$.

Апробация результатов работы

Результаты диссертационной работы были представлены на 3-м Конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза РОКИРС (Конгресс РОКИРС/RUCTRIMS) (Екатеринбург, 2018), XI Всероссийском съезде неврологов и IV конгрессе Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (Санкт-Петербург, 2019), 4-м Конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза РОКИРС «Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания» (Нижний Новгород, 2020), VII Международном неврологическом форуме совместно с XXIV Университетскими неврологическими чтениями, (Уфа, 2020), Межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Активный рассеянный склероз» (Ростов-на-Дону, 2021), IX Международной школе молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика 21 века – от исследования геномов к генетическим технологиям» (2021), IX съезде Российского общества медицинских генетиков (Москва, 2021), 49-м Европейском съезде математической генетики (Париж, 2021), «Нейрофорум 2021 к 75-летию Научного Центра Неврологии» (Москва, 2021), XVI Всероссийская конференция "Нейроиммунология" (Санкт-Петербург, 2021).

Личный вклад автора

Автором совместно с научными руководителями были поставлены цель и задачи и разработан дизайн исследования. Изучение литературы по теме диссертации, получение основных результатов исследования, подготовка рукописи были осуществлены автором лично. Подготовка результатов исследования к опубликованию проводилась автором совместно с сотрудниками лаборатории физиологической генетики ИБГ УФИЦ РАН.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедрах неврологии и медицинской генетики и фундаментальной медицины ИДПО ФГБОУ ВО Башкирского государственного медицинского университета Минздрава России при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами лечебного, педиатрического факультетов и ординаторами, а также при ведении пациентов с рассеянным склерозом в Республиканском Центре рассеянного склероза в РКБ им. Г.Г.Куватова г.Уфы.

Публикации

По результатам исследования опубликовано 15 работ, отражающих основные положения диссертации, в числе которых 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, 1 – в журнале, индексируемом в базе данных SCOPUS.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа «Клинико-генетическая характеристика рассеянного склероза в Республике Башкортостан на основании 20-летнего проспективного исследования» соответствует формуле специальности 3.1.24. Неврология, область исследования соответствует пунктам 1 и 3, отрасли наук: медицинские науки. В диссертации исследована динамика клинических показателей у больных рассеянным склерозом на протяжении 20-летнего периода наблюдения, изучен вклад в формирование наследственной предрасположенности к рассеянному склерозу полиморфных маркеров риска заболевания, выявленных в результате проведения полногеномных ассоциативных исследований, в трёх этнических группах населения Республики Башкортостан.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа обладает традиционной структурой и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, выводы и библиографический список. Текст диссертации представлен на 195 страницах, включает 22 таблицы и 26 рисунков. Библиографический список содержит 272 ссылки на работы отечественных и зарубежных авторов.

Материалы, дизайн и методы исследования

Работа выполнялась в соответствии с этическими принципами проведения исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Получено разрешение этического комитета ИБГ УФИЦ РАН и ГБОУ ВО БГМУ на проведение исследования; всеми участниками исследования было предоставлено добровольное информированное согласие на участие в исследовании в письменном виде. Для несовершеннолетних участников исследования согласие было получено от их родителей или иных законных представителей. Группа больных РС была составлена из 644 пациентов, не состоявших в родстве друг с другом, и принадлежащих к этническим группам башкир (n=97), русских (n=283) и татар (n=264), с достоверным диагнозом РС по критериям С. Poseret al. (1983) и McDonald (2001, 2010 г.), средний возраст - 39.88 ± 10.45 лет, проходивших обследование и лечение в Республиканской клинической больнице имени Г.Г. Куватова (г. Уфа) в период с 2000 по 2020 г.г. Средний возраст манифестации в группе больных был равен 27.75 ± 8.73 годам, средняя продолжительность заболевания составляла 13.2 ± 9.36 лет. Соотношение женщин и

мужчин среди пациентов было 2:1. Клиническая характеристика выборки больных РС, принявших участие в исследовании, отображена в таблице 1.

В группу контроля были включены 1408 практически здоровых индивидов, башкиры (n=231), русские (n=490) и татары (n=687), не состоящие в родстве друг с другом, без симптомов РС и других аутоиммунных или нейродегенеративных заболеваний, в возрасте от 18 до 65 лет (средний возраст составил 37.76 ± 10.88 лет).

Критерии отнесения больных РС к группе исследования были следующими: достоверный диагноз РС по критериям С. Poser et al. (1983) и McDonald (2001, 2010 г.); продолжительность заболевания не менее года; добровольное информированное письменное согласие на участие в исследовании. Критерием исключения из группы больных был отказ участвовать в исследовании. Формирование группы контроля осуществлялось на основании соответствия группе больных РС по возрасту (сопоставимость календарного возраста представителей контрольной группы возрасту начала заболевания у пациентов) и полу, отсутствие клинических признаков неврологических и/или аутоиммунных заболеваний. Критериями исключения из группы контроля были: наличие нейродегенеративных и аутоиммунных заболеваний (в том числе у родственников по данным семейного анамнеза), отказ принимать участие в исследовании.

Таблица 1 – Клиническая характеристика группы пациентов с рассеянным склерозом

Параметры	Башкиры	Русские	Татары
Возраст (M±SD), лет	40.28±9.86	40.6±9.77	40.89±9.75
Пол (% женщин)	66.0	66.8	66.7
Возраст начала заболевания (M±SD), лет	27.93±7.76	27.64±8.9	27.53±8.89
Продолжительность заболевания (M±SD), лет	12.4±8.65	13.17±9.53	13.36±9.93
Типы течения РС (%):			
– РРС	30.1	36.9	43.7
– ППРС	15.1	10.2	15.6
– ВПРС	54.8	52.9	40.7
Клинические проявления (%):			
– Расстройства чувствительности	16.5	17.1	12
– Глазодвигательные расстройства	6.5	4.9	4.4
– Двигательные расстройства	23.1	35	29.8
– Нарушения координации	22	18.6	18.7
– Сочетанные двигательные расстройства и нарушения координации	12.1	4.2	6.4

– ретробульбарный неврит	4.4	2.7	2.8
– симптомы поражения черепных нервов	4.4	3.1	6
– прочие	11	14.4	19.9
EDSS (M±SD)	4.9±2.39	4.41±1.56	4.46±1.77
Скорость прогрессирования (M±SD), балл/год	0.74±1.05	0.73±1.09	0.69±0.89

Примечание (здесь и далее): M - среднее значение, SD - стандартное отклонение, EDSS - шкала инвалидизации (ExpandedDisabilityStatusScale).

Результаты исследования и их обсуждение

В клинико-генетическое исследование в 2000 г. было включено 247 пациентов, из них 123 (49.8%) русских, 98 (39.7%) татар, 26 (10.5%) башкир, не состоящих в родстве между собой. Соотношение женщин и мужчин -2:1 (166:81). Средний возраст пациентов на момент включения в исследование был равен 38.4±9.9 годам. Возраст на момент включения в исследование в группе русских составил 39.2±10.2 лет, татар – 37.2±10.2 лет, башкир– 39.3±6.6лет (P=0,77). Средний возраст дебюта РС в общей выборке составил 28.4±9.0 лет, среди русских – 28.4±8.6 лет, среди татар– 28.2±9.7 лет, среди башкир– 29.8±9.3 лет (P=0.67). Вторично-прогрессирующее течение наблюдалось у 127 пациентов (51.4%), ремиттирующий РС– у 95 пациентов (38.5%) и первично-прогрессирующий – у 25 (10.1%). Средний балл EDSS на момент включения в исследование составил 4.08±1.4. В группе башкир чаще, чем в других группах, наблюдался полисимптомный дебют с преобладанием двигательных нарушений, что является изначально неблагоприятным прогностическим критерием (рисунок 1). На момент включения в исследование скорость прогрессирования в группе башкир составила 0.57 [0.39;1.2] балл/год, что статистически значимо выше, чем в группе русских 0.42 [0.27; 0.79] (P=0.04, U=1202) и незначимо выше, чем в группе татар 0.45 [0.25;1] (P=0.39, U=1120).

За 20-летний период завершили исследование 152 человека, из них 77 русских (62.7%), 60 татар (61.2%), 15 башкир (58%). Умерло 95 (38.5%) человек – 46 человек (37.3%) в группе русских, 38 в группе татар (38.8%), 11 в группе башкир (42%). На момент завершения исследования (выжившие пациенты) в 2020 г. средний возраст больных составил 50.9±10.9 лет. Средний балл EDSS на момент завершения исследования составил 5.4±2.24. На сегодняшний день в неврологическом статусе доминирует полиморфная симптоматика в различной степени моторных нарушений (от пирамидной недостаточности до глубоких парезов), ствольные и мозжечковые нарушения, расстройства чувствительности и нарушение функции тазовых органов.

За весь период наблюдения скорость прогрессирования замедлилась во всех группах и на момент завершения исследования (через 20 лет) составила у всех исследуемых 0.25±0.1

баллов/год. В группе башкир скорость прогрессирования снизилась до 0.24 ± 0.06 балла/год, что статистически незначимо ниже, чем в группе татар 0.25 ± 0.12 балла/год ($P=0.33$, $U=350$) и в группе русских – 0.249 ± 0.12 балла/год ($P=0.17$, $U=407$). Таким образом, за 20-летний период наблюдения наибольший темп нарастания неврологического дефицита был отмечен в группе татар, а наименьший - в группе башкир ($U=413$, $P=0.9$), однако расчет скорости прогрессирования за весь период исследования проводился только у пациентов, закончивших исследование (умершие исключены), а в группе башкир было наибольшее количество смертей к окончанию периода наблюдения.

До достижения возраста 16 лет заболело 20 человек (8%), из них 7 русских, 11 татар, 2 башкир. Средний возраст дебюта в этой подгруппе составил 12.6 ± 3.3 лет, средний возраст включения в исследование – 29.2 ± 9.6 лет, завершили исследование 9 человек (5 татар, 3 русских, 1 башкир), умерло 11 человек. Высокая ранняя смертность среди пациентов с дебютом РС в детском возрасте коррелирует с литературными данными [Чухловина М.Л., Гузева В.И., 2011]. Распределение по полу было следующим: 11 мальчиков, 9 девочек.

Длительность заболевания с момента первых клинических симптомов до постановки диагноза (показатель «дебют-диагноз»), составила 10.3 ± 8 лет. Показатель «дебют-диагноз» среди пациентов, диагноз которым был выставлен до 2004 г. (до появления МРТ в регионе), составил 11.7 ± 8.8 лет, а в группе пациентов, диагноз которым был выставлен после 2004 г., 8.55 ± 6.6 лет. Таким образом, с появлением МР-томографа время установления диагноза достоверного РС значительно сократилось ($P=0.001$, $U=5797$).

В ходе исследования выделены три группы пациентов – 46 человек без увеличения инвалидизации (пациенты без прогрессирования), 106 человек с нарастанием инвалидизации (пациенты с прогрессированием) и группа умерших пациентов, 95 человек.

В группу пациентов без прогрессирования, в которой не зарегистрировано нарастания инвалидизации за период наблюдения, вошли 46 человек – 6 башкир, 20 русских, 20 татар. Ремиттирующий тип течения РС у 32 человек, вторично-прогрессирующий – у 14 человек, пациентов с первично-прогрессирующим течением РС не было выявлено. Средний возраст на момент начала исследования составил 33.3 ± 8.2 года, средний возраст дебюта РС – 26.6 ± 7 лет, интервал «дебют-диагноз» - 6.9 ± 5.3 лет, т.е. диагноз этим пациентам был установлен раньше, чем в общей группе исследуемых (10.3 ± 8 лет) ($P=0.08$, $U=4288$). Неврологический дефицит на момент включения составлял 3.5 ± 0.83 баллов EDSS, через 10 лет – 3.75 ± 0.97 баллов, на момент завершения исследования – 2.8 ± 0.89 . Первым симптомом заболевания в этой группе в 15 случаях (32.6%) были двигательные нарушения, в 12 (26.1%) - чувствительные, у 7 пациентов (15.2%) в дебюте отмечался ретроульбарный неврит, у 6 (13%) – координаторные нарушения, у 4 (8.7%) – глазодвигательные нарушения, и в

2случаях (4.4%) – полисимптомное начало (двигательные+глазодвигательные нарушения, координаторные+глазодвигательные). Скорость прогрессирования на момент включения в исследование составила 0.98 ± 0.9 балл/год ($0.6 [0.35; 1.125]$ балл/год), через 10 лет – 0.24 ± 0.08 ($0.23 [0.18; 0.3]$), на момент завершения исследования – 0.18 ± 0.07 ($0.17 [0.12; 0.21]$). Скорость прогрессирования за весь период исследования в этой группе неуклонно снижалась и статистически значимо замедлилась к концу исследования ($P < 0.001$, $U = 120.5$), составив 0.18 ± 0.07 баллов/год. Минимальное ухудшение неврологического статуса в группе, возможно, связано с началом приема ПИТРС в 2008 г. и эффективностью терапии. ПИТРС в этой группе принимали 43 человека (93,5%), из них 6 пациентов – интерферон В1а, 23 человека – интерферон В1б, 14 человек – глатирамера ацетат.

В группе пациентов с прогрессированием зафиксировано ухудшение неврологического статуса, нарастание инвалидизации разной степени за весь период наблюдения. В этой группе численностью 106 человек – 57 русских (46.7%), 40 татар (40.8%), 9 башкир (35%) – превалировало вторично-прогрессирующее течение РС (72 человека), по 17 человек было с ремиттирующим и первично-прогрессирующим типом течения РС. Средний возраст пациентов на момент начала исследования составил 39.8 ± 9 года, средний возраст дебюта РС – 29.6 ± 9.3 лет. Показатель «дебют-диагноз» равнялся 10.8 ± 8 годам, т.е. диагноз этим пациентам был установлен позже, чем в группе пациентов без прогрессирования, что статистически значимо ($P = 0.005$, $U = 1722$). Неврологический дефицит на момент включения составлял 4.15 ± 1.4 баллов EDSS, через 10 лет – 4.3 ± 1.5 , на момент завершения исследования – 6.5 ± 1.67 , что статистически значимо выше, чем в первой группе (без прогрессирования) ($p < 0.05$, $U = 184$). Первым симптомом заболевания в этой группе наиболее часто (в 42 случаях – 39.6%) были двигательные нарушения, следующими по частоте были чувствительные нарушения (19 человек, 18%), ретробульбарный неврит (19 человек, 18%), координаторные нарушения (10 человек, 9.5%), глазодвигательные (10 человек, 9.5%), цефалгия (1 человек, 0.9%), у 5 человек (4,5%) наблюдался полисимптомный дебют (по 1 – двигательные+глазодвигательные нарушения, двигательные + координаторные, координаторные+глазодвигательные, двигательные+ретробульбарный неврит, двигательные+чувствительные). Скорость прогрессирования на момент включения в исследование в этой группе составила 0.78 ± 0.9 балл/год ($0.48 [0.27; 1]$), а через 10 лет замедлилась до 0.23 ± 0.1 ($0.22 [0.15; 0.3]$) балл/год, однако к 20 году наблюдения (окончание исследования) статистически значимо увеличилась ($P < 0.001$, $U = 2045$) и составила 0.29 ± 0.12 ($0.28 [0.2; 0.36]$) баллов/год. ПИТРС в этой группе принимали 62 человека (58,5%), из них 43 человека – интерферон В1б, 13 человек – интерферон В1а, 6 – глатирамера ацетат. Преобладание в терапии препаратов интерферона обусловлено превалированием пациентов с

прогрессирующими типами течения РС, так как в последнее время только у данных препаратов было в показаниях вторично-прогрессирующее течение РС.

В группе умерших пациентов средний возраст дебюта РС составил 28 ± 9.6 лет, средний возраст на момент включения в исследование – 39.5 ± 10.8 лет. Интервал «дебют-диагноз» в среднем был равен 11.9 ± 9.3 годам, что статистически значимо больше, чем в группе без прогрессирования ($P=0.002$, $U=1508$) и статистически незначимо больше, чем в группе с прогрессированием ($P=0.66$, $U=4859$). Неврологический дефицит на момент включения оценивался в 4.2 ± 1.5 баллов EDSS, через 5 лет – 4.7 ± 1.5 баллов. На момент включения в исследование в группе умерших пациентов у 46 (48.5%) был диагностирован ремиттирующий РС, у 39 человек (41%) – вторично-прогрессирующий, у 9 человек (9.5%) – первично прогрессирующий. ПИТРС принимали 68 человек (71.6%), из них 26 человек (38%) принимали интерферон В1а, 26 человек (38%) – глатирамера ацетат, 16 человек (24%) – интерферон В1б. В группе умерших более чем у половины пациентов доминирующими симптомами дебюта РС были двигательные (27 пациентов, 28.4%) и координаторные нарушения (23 человек, 24.2%). У 16 человек (16.8%) первыми симптомами рассеянного склероза были чувствительные нарушения, у 14 (14.7%) – ретробульбарный неврит, у 10 (10.6%) – глазодвигательные нарушения, у 2 (2.1%) – цефалгия и у 3 (3.2%) – полисимптомное начало. Ранее сообщалось о том, что дебют заболевания с развитием выраженного мозжечково-пирамидного синдрома или симптомов поражения пирамидной системы характерен для злокачественного течения РС (28.54, 58). Скорость прогрессирования в группе умерших на момент начала исследования составляла 0.69 ± 0.8 балл/год (0, 39 [0.24;0.83]), через 10 лет – 0.24 ± 0.1 (0.2 [0.17; 0.3]).

При сравнении трех групп по критерию Краскела-Уоллиса статистически значимых различий по возрасту дебюта, скорости прогрессирования на момент включения в исследование и в первые 10 лет не выявлено. Статистически значимо отличается показатель «дебют-диагноз» - в группе пациентов без прогрессирования он ниже, чем в группе пациентов с прогрессированием ($P=0.005$) и группе умерших ($P=0.002$), свидетельствуя о том, что в группе пациентов без прогрессирования диагноз выставлялся раньше, соответственно раньше начинались мероприятия по профилактике и коррекции обострений. При сравнении группы пациентов без прогрессирования и с прогрессированием, скорость прогрессирования за весь период исследования статистически значимо ниже в первой группе. Вероятно, высокие баллы EDSS (и, соответственно, высокая скорость прогрессирования) на момент включения в исследование связана с частыми обострениями, отсутствием наблюдения у специалиста и отсутствием ПИТРС. Через 10 лет скорость прогрессирования замедлялась, еще через 10 лет в группе пациентов без прогрессирования продолжала замедляться, а вот в группах с прогрессией увеличивается. Таким образом,

основное прогрессирование заболевания пришлось на вторую половину 20-летнего наблюдения, что, вероятно, связано с превалированием дегенеративных процессов и переходом во вторично-прогрессирующую форму течения РС.

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных локусов с рассеянным склерозом

При проведении настоящего исследования выполнялось генотипирование по полиморфным маркерам генов дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека *CD6* (rs17824933), *CD40* (rs6074022), *CD58* (rs2300747), *CD86* (rs9282641), факторов транскрипции *SOX8* (rs2744148) и *ZBTB46* (rs6062314), бета-маннозидазы *MANBA* (rs228614), домена лектина С-типа *CLEC16A* (rs12708716), рибосомальной протеин S6 киназы *B1 RPS6KB1* (rs180515) и гена длинной некодирующей РНК *PVT1* (rs759648). Согласно полученным результатам, наблюдаемые распределения частот генотипов среди представителей группы контроля в этнических группах башкир, русских и татар соответствуют теоретически ожидаемым согласно закону Харди-Вайнберга.

Обнаружено, что у башкир с повышенным риском РС значимо ассоциированы генотипы *PVT1* rs759648*A/C (OR=2.29, 95% CI: 1.24–4.23, $P_{perm}=0.022$), *CD6* rs17824933*G/G (OR=4.78, 95% CI: 1.25–18.23, $P_{perm}=0.02$) и *CD40* rs6074022*C/C (OR=4.55, 95% CI: 1.4–14.83, $P_{perm}=0.019$), тогда как генотип *CLEC16A* rs12708716*A/G (OR=0.48, 95% CI: 0.27–0.85, $P_{perm}=0.044$) ассоциирован с пониженным риском РС. В группе русских выявлена ассоциация с РС полиморфного локуса *CD86* rs9282641: повышенный риск РС ассоциирован с генотипом *CD86* rs9282641*G/G и аллелем *CD86* rs9282641*G (OR=1.99, 95% CI: 0.09–3.65, $P_{perm}=0.049$ и OR=1.97, 95% CI: 1.09–3.55, $P_{perm}=0.041$, соответственно), а пониженный риск – с аллелем *CD86* rs9282641*A (OR=0.51, 95% CI: 0.28–0.92, $P_{perm}=0.041$). В группе татар также отмечалась ассоциация РС с полиморфным вариантом *CD86* rs9282641: как и в группе русских, аллель G был ассоциирован с повышенным (OR=2.02, 95% CI: 1.083.76, $P_{perm}=0.042$), а аллель A – с пониженным риском РС (OR=0.49, 95% CI: 0.26–0.91, $P_{perm}=0.042$). Кроме того, среди татар риск РС был повышен у носителей аллеля *PVT1* rs759648*C (OR=1.43, 95% CI: 1.06–1.93, $P_{perm}=0.036$), генотипа *CD6* rs17824933*G/G (OR=2.67, 95% CI: 1.18–6.03, $P_{perm}=0.025$), а также аллеля T и генотипа T/T полиморфного варианта *ZBTB46* rs6062314 (OR=2.26, 95% CI: 1.23–4.14, $P_{perm}=0.017$ и OR=2.3, 95% CI: 1.23–4.29, $P_{perm}=0.023$, соответственно). Протективный эффект в отношении РС наблюдался у аллелей *PVT1* rs759648*A (OR=0.70, 95% CI: 0.52–0.95, $P_{perm}=0.036$) и *ZBTB46* rs6062314*C (OR=0.44, 95% CI: 0.24–0.81, $P_{perm}=0.017$), а также генотипа *ZBTB46* rs6062314*T/C (OR=0.45, 95% CI: 0.24–0.84, $P_{perm}=0.039$).

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных локусов с рассеянным склерозом в зависимости от пола

Учитывая более частую распространенность РС среди женщин, был проведен анализ ассоциаций исследуемых локусов с РС в трёх этнических группах в зависимости от пола. В этнической группе башкир у мужчин было обнаружено значимое повышение частоты гомозиготного по аллелю *CD40* rs6074022*С генотипа у больных РС по сравнению с контрольной группой (17.86% против 1.92%, $P=0.018$, $P_{perm}=0.028$), что позволяет считать его генотипом риска РС ($OR=11.09$, 95%CI: 1.23–100.37), тогда как среди женщин значимых различий в частоте аллелей или генотипов по полиморфному локусу *CD40* rs6074022 не было выявлено. Таким образом, наблюдавшаяся в общей группе башкир ассоциация полиморфизма *CD40* rs6074022 с РС при проведении анализа с учетом пола была подтверждена лишь у мужчин, а ассоциации с РС полиморфных вариантов *PVT1* rs759648, *CD6* rs17824933, *CLEC16A* rs12708716, идентифицированные в общей группе башкир, не достигали статистической значимости ни среди мужчин, ни среди женщин.

В этнической группе русских при разделении по полу среди мужчин наблюдалось существенное увеличение числа гетерозигот по полиморфному локусу *CD58* rs2300747 в группе пациентов по сравнению с группой контроля (38.16% против 23.31%, $P=0.021$, $P_{perm}=0.030$). Показатель OR по данному генотипу составляет 2.03 (95%CI: 1.13–3.66), что позволяет отнести его к генотипам повышенного риска развития заболевания у мужчин. Аналогичный эффект был отмечен для генотипа *RPS6KBI* rs180515*С/С и аллеля С ($OR=2.56$, 95%CI: 1.23–5.33, и $OR=1.61$, 95%CI: 1.1–2.35, соответственно) при пограничном уровне значимости ($P_{perm}=0.049$). Частота аллеля *RPS6KBI* rs180515*Т была снижена в группе больных РС в сравнении с контрольной (55.36% против 66.67%, $P=0.019$, $P_{perm}=0.049$), что может свидетельствовать о протективной роли данного аллеля в отношении развития заболевания у мужчин ($OR=0.62$, 95%CI: 0.42–0.91). У женщин в этнической группе русских выявляется повышение частоты аллеля *CD86* rs9282641*G среди больных по сравнению с группой контроля (97.48% против 93.75%, $P=0.032$, $P_{perm}=0.049$) и снижение частоты аллеля *CD86* rs9282641*А и генотипа G/A (2.52% против 6.25%, $P=0.032$, $P_{perm}=0.049$, и 5.03% против 12.5%, $P=0.028$, $P_{perm}=0.036$, соответственно). Относительный риск по аллелю А и гетерозиготному генотипу G/A полиморфного локуса *CD86* rs9282641 составил 0.39 и 0.37, соответственно, что позволяет предположить протективный эффект в отношении РС у женщин в этнической группе русских, тогда как аллель *CD86* rs9282641*G является предрасполагающим к РС в данной группе ($OR=2.58$, 95%CI: 1.12 – 5.95). Таким образом, анализ с учетом половой принадлежности позволил установить, что наблюдаемая в общей выборке русских ассоциация полиморфного варианта *CD86* rs9282641 с РС, вероятно, обусловлена влиянием данного локуса на риск РС у женщин, а также идентифицировать в

группе мужчин ассоциацию с РС полиморфных маркеров *CD58* rs2300747 и *RPS6KB1* rs180515, не выявляемую в общей группе.

В этнической группе татар среди женщин наблюдалось повышение частоты аллеля С полиморфного локуса *PVT1* rs759648 у пациентов по сравнению с контрольной группой (28.06% против 20.13%, $P=0.026$, $P_{perm}=0.030$). Относительный риск по аллелю *PVT1* rs759648*С составил 1.55 (95%CI: 1.06–2.27), на основании чего можно сделать заключение, что у носителей аллеля *PVT1* rs759648*С повышены шансы развития РС. Аллель *PVT1* rs759648*А представлен с меньшей частотой в группе женщин с РС в сравнении с группой контроля (71.94% против 79.87%, $P=0.026$, $P_{perm}=0.030$). Величина показателя OR по данному аллелю составила 0.65 (0.44–0.95), таким образом, его можно оценивать как протективный в отношении развития РС у женщин татарской этнической принадлежности. Следует также отметить, что, несмотря на сходство контрольной группы и группы пациентов с РС женщин татарской этнической принадлежности по распределению частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *CD58*, *CD86*, *MANBA*, *CD6*, *SOX8*, *CLEC16A*, *RPS6KB1* и *CD40*, при сопоставлении частот аллелей и генотипов полиморфизма rs6062314 гена *ZBTB46* оказалось, что генотип Т/Т и аллель Т встречались чаще в группе больных РС, чем в контрольной (93.79 против 85.89, $P=0.025$, и 96.9 против 92.94, $P=0.030$, соответственно), различия утрачивали статистическую значимость после введения поправки на множественность сравнений ($P_{perm}=0.051$ и $P_{perm}=0.083$, соответственно). Показатели относительного риска по генотипу Т/Т и аллелю Т составили 2.48 (95%CI: 1.11–5.55) и 2.37 (95%CI: 1.08–5.21). В группе мужчин-татар не выявлено значимых ассоциаций исследуемых полиморфных ДНК-локусов с РС. Таким образом, при проведении анализа с дифференциацией участников исследования по полу, как и в общей выборке татар, в группе женщин была обнаружена ассоциация с РС полиморфизма rs759648 гена *PVT1*. Ассоциаций полиморфных вариантов *CD86* rs9282641 и *CD6* rs17824933, наблюдаемых в общей группе татар, не удалось выявить ни у мужчин, ни у женщин. Ассоциация с РС полиморфного варианта *CD40* rs6074022 в этнической группе башкир наблюдалась только у мужчин, а ассоциации с заболеванием полиморфных вариантов *CD86* rs9282641 в группе русских и *PVT1* rs759648 в группе татар – только у женщин. Выявлены ассоциации с РС генетических маркеров *CD58* rs2300747 и *RPS6KB1* rs180515 в группе русских мужчин, не обнаруживаемые в общей выборке.

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных локусов с рассеянным склерозом в зависимости от прогрессирования заболевания

Потенциальное влияние полиморфизма генов-кандидатов на прогрессирование заболевания оценивали при помощи теста Фишера на основании данных анализа ассоциаций

исследуемых полиморфных локусов с РС в трёх группах пациентов – умерших (95 человек), пациентов без прогрессирования (без нарастания инвалидизации по шкале EDSS, 46 человек) и пациентов с прогрессированием заболевания (с нарастанием инвалидизации по шкале EDSS, 106 человек). Обнаружены значимые различия по частоте генотипа А/А полиморфизма *CD58* rs2300747 между группой умерших и пациентов без прогрессирования заболевания (70.93% против 51.28%, $P=0.043$). Показатель соотношения шансов по данному генотипу составил 2.32 (95%CI: 1.06–5.07). Наблюдались также различия по частоте гетерозиготного генотипа полиморфизма *PVT1* rs759648 между группами умерших и пациентов без прогрессирования, а также между группами пациентов без прогрессирования и пациентов с прогрессированием (26.83% против 48.72%, $P=0.024$, и 48.72% против 28.75%, $P=0.041$, соответственно). Показатель соотношения шансов составил $OR=0.39$, 95%CI: 0.18–0.86 и $OR=0.42$, 95%CI: 0.19–0.93, соответственно, что позволяет отнести данный генотип к протективным в отношении прогрессирования заболевания. При сопоставлении частот генотипов полиморфного варианта rs6074022 гена *CD40* в группах пациентов, выделенных в зависимости от увеличения баллов EDSS, обнаруживаются значимые различия между группами пациентов без прогрессирования и с прогрессированием по частоте генотипов *CD40* rs6074022*Т/Т и *CD40* rs6074022*Т/С (41.46% против 69.77%, $P=0.003$, и 41.46% против 20.93%, $P=0.020$, соответственно). Значение показателя соотношения шансов для генотипа Т/Т составило 3.26 (95%CI: 1.5–7.06), для генотипа Т/С – 0.37 (95%CI: 0.16–0.83). Это свидетельствует о том, что у носителей генотипа *CD40* rs6074022*Т/Т повышены, а у носителей гетерозиготного генотипа – понижены шансы прогрессирования заболевания. Таким образом, для полиморфных маркеров *CD58* rs2300747, *CD40* rs6074022 и *PVT1* rs759648 продемонстрированы ассоциации с прогрессированием РС.

Анализ межгенных взаимодействий изучаемых полиморфных локусов

С использованием алгоритма APSampler были проанализированы межгенные взаимодействия с учетом этнической принадлежности и пола, в результате чего идентифицировано 19 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с РС. Наиболее часто в составе паттернов, ассоциированных с РС, были представлены аллели и генотипы полиморфного локуса rs180515 гена *RPS6KBI* (10 из 19 сочетаний), следующим по частоте встречаемости являлся полиморфный вариант *MANBA* rs228614 (8 сочетаний), затем *PVT1* rs759648 (7), *CD40* rs6074022 (6), *SOX8* rs2744148 (5), *CD58* rs23000747 (5), *CD6* rs17824933 (4), *CD86* rs9282641 (4), *CLEC16A* rs12708716 (3) и *ZBTB46* rs180515 (1). Максимальный риск РС у мужчин в этнической группе русских связан с сочетанием аллеля *RPS6KBI* rs180515*С и генотипа *PVT1* rs759648*С/С А ($OR=23.49$, CI: 2.84–194.26,

$P_{perm}=0.001$), а также сочетанием генотипа *RPS6KB1*rs180515*С/С с аллелем *PVT1*rs759648*С ($OR=7.96$, $CI: 2.12-29.84$, $P_{perm}=0.015$).

Пониженный риск РС в группе русских мужчин ассоциирован с комбинацией *RPS6KB1*rs180515*Т/Т + *MANBA*rs228614*G + *CD40*rs6074022*С ($OR=0.21$, $CI: 0.07-0.63$, $P_{perm}=0.004$). В группе русских женщин выявлено три паттерна, обладающих протективным эффектом в отношении РС, который был наиболее выражен для сочетания *SOX8*rs2744148*А+*MANBA*rs228614*А + *CD86*rs9282641*А+ *CD58*rs23000747*А/А ($OR=0.07$, $CI: 0.009-0.55$, $P_{perm}=0.008$).

В группе женщин-татарок комбинации, ассоциированные с РС, наиболее часто включали в себя аллельные варианты генов *PVT1* и *MANBA*, причём наибольший риск заболевания был связан с четырёхкомпонентным сочетанием *CLEC16A*rs12708716*А/А +*MANBA*rs228614*G +*PVT1* rs759648*С +*CD40* rs6074022*С ($OR=4.43$, $CI: 1.44-13.63$, $P_{perm}=0.047$), а наиболее выраженный протективный эффект наблюдался для сочетания *MANBA*rs228614*А/А + *PVT1*rs759648*А + *CD40*rs6074022*С ($OR=0.1$, $CI: 0.03-0.35$, $P_{perm}=0.001$).

В связи с этим следует отметить, что аллели *CD40*rs6074022*С и *PVT1*rs759648*А в данной группе входили в состав как предрасполагающих, так и протективных в отношении РС сочетаний, а полиморфный локус *MANBA*rs228614 был отмечен в составе сочетания, протективного в отношении развития РС, в виде генотипа *MANBA*rs228614*А/А, тогда как в комбинациях, ассоциированных с повышенным риском РС, были представлены как аллель *MANBA*rs228614*G, так и аллель *MANBA*rs228614*А.

У мужчин-татар было выявлено лишь два сочетания, значимо ассоциированных с РС – *RPS6KB1*rs180515*С + *CLEC16A*rs12708716*G/G + *CD58*rs23000747*G (рисунок 6) и *RPS6KB1* rs180515*Т +*MANBA*rs228614*G +*CD6* rs17824933*G/G, причём оба были связаны с повышенным риском заболевания ($OR=14.88$, $CI: 2.8-79.16$, $P_{perm}=0.016$ и $OR=13.68$, $CI: 1.67-111.96$, $P_{perm}=0.016$, соответственно). В этой группе привлекала внимание амбивалентность эффекта полиморфного локуса *RPS6KB1* rs180515, который являлся составным элементом обоих сочетаний, будучи представленным в одном из них аллелем С, а в другом – аллелем Т.

Аналогичный эффект наблюдался в отношении полиморфного локуса *CD58* rs23000747, который был представлен в составе двух сочетаний, ассоциированных с повышенным риском РС, в группе женщин башкирской этнической принадлежности.

У башкир-мужчин было выявлено одно биаллельное сочетание, обладающее протективным действием в отношении РС – *SOX8* rs2744148*А+*CD40* rs6074022*Т ($OR=0.06$, $CI: 0.006-0.51$, $P_{perm}=0.032$). Следует отметить, что, в отличие от результатов анализа

ассоциаций с РС индивидуальных локусов, в составе сочетаний, ассоциированных с заболеванием, присутствуют аллельные варианты всех исследуемых генов, в том числе и те, для которых не было обнаружено ассоциаций с РС при анализе отдельных полиморфных вариантов (*SOX8* rs2744148 и *MANBA*rs228614). Это позволяет предположить, что исследуемые полиморфные локусы могут оказывать влияние на риск РС в составе комбинированных ДНК-маркеров. Согласно данным анализа межгенных взаимодействий, для исследуемой выборки идентифицированы паттерны генотипов и/или аллелей, ассоциированные с развитием РС в зависимости от этнической принадлежности и пола.

Прогнозирование риска развития рассеянного склероза

Для получения прогностических моделей развития РС в качестве предикторов были использованы исследуемые полиморфные маркеры, как по отдельности, так и их сочетания, с учётом результатов анализа межгенных взаимодействий. Учитывая различия в распространенности РС среди мужчин и женщин, прогностические модели развития РС были построены с учетом половой принадлежности.

В этнической группе русских у женщин в качестве предикторов были выбраны двухкомпонентные сочетания *CLEC16A*rs12708716 + *MANBA*rs228614 и *RPS6KB1*rs180515 + *CD40*rs6074022 и *CD40*rs6074022 + *CLEC16A*rs12708716. По результатам логистического регрессионного анализа получена предиктивная модель из 4 предикторов, обладающая хорошей прогностической значимостью (AUC=0.75, 95%CI: 0.69–0.81, чувствительность 78.2%, специфичность 61.2%). У мужчин в этнической группе русских в качестве предикторов были выбраны комбинации *RPS6KB1*rs180515 + *CD58* rs2300747 и *CLEC16A*rs12708716 + *CD40*rs6074022. По результатам логистического регрессионного анализа получена предиктивная модель из 3 предикторов. Показатель AUC для данной модели составил 0.72 (95%CI: 0.65–0.79), чувствительность - 32.4%, специфичность - 89%. Для женщин из этнической группы башкир в качестве предиктора на основании анализа показателей информационной значимости было выбрано парное сочетание *CD40*rs6074022 + *PVT1*rs759648. Для мужчин из этнической группы башкир в качестве предиктора на основании анализа показателей информационной значимости использовалось сочетание аллельных вариантов генов *CD6*rs17824933 + *CD58*rs2300747. Для женщин из этнической группы татар в качестве предиктора на основании анализа показателей информационной значимости использовалось сочетание аллельных вариантов генов *CD6*rs17824933 + *PVT1*rs759648. Для мужчин из этнической группы татар в результате анализа показателей информационной значимости не было обнаружено информативных предикторов. В общей выборке мужчин (без разделения на этнические группы) к предикторам РС была отнесена комбинация *CLEC16A*rs12708716 + *CD40*rs6074022. В общей выборке женщин (без

разделения на этнические группы) в число предикторов РС были включены локусы *CD58* rs2300747 и *CD6* rs17824933, а также сочетания *RPS6KB1*rs180515 + *CD40*rs6074022 и *CLEC16A*rs180515 + *MANBA*rs228614. Таким образом, при проведении логистического регрессионного анализа с включением в качестве переменных генотипов по исследуемым полиморфным маркерам генов-кандидатов и их наиболее информативных сочетаний, оптимальная предиктивная модель была получена для русских женщин. В модель вошли генотипы полиморфного маркера *CD86* rs9282641, а также комбинаций генотипов *RPS6KB1*rs180515 + *CD40*rs6074022 и *CLEC16A*rs12708716 + *MANBA*rs228614. Предиктивные модели для остальных групп обладали средним прогностическим качеством (женщины из этнической группы башкир, AUC=0.66, общая группа женщин, AUC=0.65, общая группа мужчин, AUC=0.60), либо неудовлетворительным (женщины татарской этнической принадлежности, AUC=0.58).

Выводы

1. Анализ клинической картины и течения рассеянного склероза за период 2000–2020 гг. выявил более высокую скорость прогрессирования заболевания в первые 10 лет болезни со значительным снижением скорости прогрессирования в последующее десятилетие.
2. Риск быстрого прогрессирования рассеянного склероза увеличивают мужской пол, поздний возраст начала заболевания, двигательные нарушения в дебюте. Рассеянный склероз в группе башкир чаще, чем в других этнических группах, характеризуется полисимптомным дебютом с преобладанием двигательных нарушений.
3. В этнической группе башкир с повышенным риском рассеянного склероза значимо ассоциированы генотипы *PVT1* rs759648*A/C, *CD6* rs17824933*G/G и *CD40* rs6074022*C/C, а с пониженным – генотип *CLEC16A* rs12708716*A/G. У русских маркером повышенного риска рассеянного склероза является аллель *CD86* rs9282641 G, маркером пониженного риска – аллель А. В этнической группе татар предрасполагающий к развитию рассеянного склероза эффект проявляют аллели *CD86* rs9282641*G, *PVT1* rs759648*C и *ZBTB46* rs6062314*T, а протективный – аллели *PVT1* rs759648*A и *ZBTB46* rs6062314*C и *CD86* rs9282641*A.
4. У мужчин в этнической группе башкир маркером предрасположенности к рассеянному склерозу является генотип *CD40* rs6074022*C/C, в группе русских – генотип *CD58* rs2300747*A/G и *RPS6KB1* rs180515*C/C. У женщин в этнической группе русских повышенный риск развития рассеянного склероза ассоциирован с аллелем *CD86* rs9282641*G, в группе татар – с аллелем *PVT1* rs759648*C.
5. Предрасполагающими в отношении прогрессирования рассеянного склероза являются генотипы *CD58* rs2300747* A/A и *CD40* rs6074022*T/T, протективным – генотип *PVT1* rs759648*A/C.

6. Повышенный риск рассеянного склероза у мужчин в этнической группе русских ассоциирован с сочетанием *RPS6KB1*rs180515*C/C + *PVT1*rs759648*C, в группе татар *RPS6KB1*rs180515*C + *CLEC16A*rs12708716*G/G + *CD58*rs2300747*G; в группе башкир пониженный риск заболевания был связан с комбинацией *SOX8* rs2744148*A+*CD40* rs6074022*T. Среди женщин в этнической группе русских протективный эффект в отношении рассеянного склероза демонстрировало сочетание *SOX8*rs2744148*A+*MANBA*rs228614*A + *CD86*rs9282641*A+*CD58*rs23000747*A/A, в группе татар – *MANBA*rs228614*A/A + *PVT1*rs759648*A + *CD40*rs6074022*C, у женщин из этнической группы башкир повышенный риск рассеянного склероза ассоциирован с сочетанием *SOX8* rs2744148*G+ *RPS6KB1* rs180515*C+ *CD58* rs23000747*G.

7. Оптимальная предиктивная модель рассеянного склероза для женщин из этнической группы русских включает генотипы полиморфного маркера *CD86* rs9282641, а также сочетания генотипов *RPS6KB1* rs180515 +*CD40* rs6074022 и *CLEC16A* rs12708716 + *MANBA* rs228614.

Практические рекомендации

1. При изучении медико-частотных характеристик и проведении медико-экономического планирования необходимо использовать данные, получаемые в проспективном режиме.

2. С учетом проспективного исследования необходимо выделять категории пациентов, в отношении которых необходимо усовершенствование методов диагностики и лечения. В первую очередь это относится к пациентам с ранним и поздним дебютом заболевания, прогрессирующим течением рассеянного склероза. Расчет эффективности лечения должен проводиться в рамках отдельных клинических подгрупп, что позволяет выделять пациентов с наиболее качественными результатами лечения.

3. При выборе терапии рассеянного склероза необходимо учитывать, что факторами риска быстрого прогрессирования заболевания являются: мужской пол, поздний возраст дебюта, проявления дебюта пирамидными и мозжечковыми нарушениями.

4. В начальном периоде заболевания, с учетом выявленного патоморфоза рассеянного склероза, рекомендовано раннее назначение иммуномодулирующей терапии с целью профилактики инвалидизации и сохранения социальной адаптации, а также динамическое наблюдение больных с проведением комплексной терапии.

5. При дифференциальной диагностике необходимо учитывать, что в группу риска по рассеянному склерозу могут быть отнесены лица с генетической предрасположенностью к этому заболеванию.

6. Для прогнозирования риска развития рассеянного склероза у женщин из этнической группы русских целесообразно использовать предиктивную модель, включающую генотипы

полиморфного маркера *CD86* rs9282641, а также сочетания генотипов *RPS6KB1* rs180515 + *CD40* rs6074022 и *CLEC16A* rs12708716 + *MANBA* rs228614.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Галиуллин, Т.Р. Проспективное 20-летнее клинико-генетическое исследование рассеянного склероза в Республике Башкортостан / Т.Р. Галиуллин, К.З. Бахтиярова, О.В. Заплахова, Н.Ф. Утягулова, И.А. Туктарова, Я.Р. Тимашева // Практическая медицина. - 2020. - Т.16, №5. – С. 50-56.(из перечня ВАК)
2. Утягулова, Н.Ф.Рассеянный склероз у детей в Республике Башкортостан / Н.Ф. Утягулова, Т.Р. Галиуллин, К.З.Бахтиярова // Практическая медицина. – 2020. - Т.16, №5. - С. 68-70.(из перечня ВАК)
3. Галиуллин, Т.Р. Сложности дифференциальной диагностики болезни Лебера и рассеянного склероза (клинический случай) / Т.Р. Галиуллин, А.Р. Рахматуллин, И.В. Галиуллина, К.З. Бахтиярова // Практическая медицина. – 2018. –Т. 16, № 9. -С. 155-160.(из перечня ВАК)
4. Заплахова, О.В. Исследование молекулярно-генетических основ рассеянного склероза в Республике Башкортостан / О.В. Заплахова, Т.Р. Галиуллин, Я.Р. Тимашева, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, К.З. Бахтиярова, О.Е. Мустафина //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2018. -Т. 118, № 8-2. - С. 137.(из перечня ВАК)
5. Тимашева, Я.Р. Анализ ассоциаций с рассеянным склерозом генетических маркеров предрасположенности, выявленных в результате полногеномных исследований / Я.Р. Тимашева, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, В.В. Эрдман, Т.Р. Галиуллин, О.В. Заплахова, К.З. Бахтиярова, О.Е. Мустафина //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 7-2. - С. 54-60.(из перечня ВАК)
6. Timasheva, Ya. R. Analysis of Associations of Genetic Predisposition Markers Identified in Genome-Wide Studies with Multiple Sclerosis /Ya. R. Timasheva, T. R. Nasibullin, I. A. Tuktarova, V. V. Erdman, T. R. Galiullin, O. V. Zaplakhova, K. Z. Bakhtiiarova, O. E. Mustafina// Neuroscience and Behavioral Physiology. – 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11055-021-01074-6>(из перечня SCOPUS)
7. Иванова, Е.В.Экономический ущерб от рассеянного склероза в Уфе / Е.В. Иванова, Л.Р. Шарафутдинова, Т.Р. Галиуллин, К.З. Бахтиярова //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова - 2018. - Т. 118, № 8-2. - С. 139-140.(из перечня ВАК)
8. Иванова, Е.В. Инвалидность у больных рассеянным склерозом в Уфе / Е.В. Иванова, Л.Р. Шарафутдинова, Т.Р. Галиуллин, О.В. Заплахова, К.З. Бахтиярова //Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2018. - Т. 118, № 8-2. - С. 139.(из перечня ВАК)

9. Насибуллин, Т.Р. Ассоциации полиморфных ДНК-маркеров с рассеянным склерозом в этнической группе татар / Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, В.В. Эрдман, Я.Р. Тимашева, О.В. Заплахова, Т.Р. Галиуллин, К.З. Бахтиярова, О.Е. Мустафина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2019. - Т. 119, № 5-2. - С. 62-63.(из перечня ВАК)
10. Галиуллин, Т.Р. Результаты 10-летнего опыта работы регионального центра рассеянного склероза / Т.Р. Галиуллин, К.З. Бахтиярова, О.В. Лютов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2019. - Т. 119, № 5-2. - С. 32-33.(из перечня ВАК)
11. Галиуллин, Т.Р. Клинический случай острого геморрагического лейкоэнцефалита / Т.Р. Галиуллин, Л.Р. Шарафутдинова, Э.Н. Хасанова, Э.Н. Закирова, О.В. Лютов, В.Ф. Туник, К.З. Бахтиярова // Практическая медицина. - 2019. - Т. 17, № 7. - С. 163-166.(из перечня ВАК)
12. Тимашева, Я.Р. Молекулярно-генетическое исследование рассеянного склероза / Я.Р. Тимашева, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова, В.В. Эрдман, Т.Р. Галиуллин, О.В. Заплахова, К.З. Бахтиярова, О.Е. Мустафина // Медицинская генетика. - 2020. - Т. 19, № 4, вып. 213. - С. 80-81.(из перечня ВАК)
13. Бахтиярова, К.З. Рассеянный склероз в старшей возрастной группе в Республике Башкортостан / К.З. Бахтиярова, Л.Р. Шарафутдинова, О.В. Заплахова, Т.Р. Галиуллин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 7-2. - С. 107-108.(из перечня ВАК)
14. Бахтиярова, К.З. AQP4 – IGG- серопозитивный оптиконеуромиелит в Республике Башкортостан / К.З. Бахтиярова, О.В. Лютов, Т.Р. Галиуллин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2020. - Т. 120, № 7-2. - С. 108-109.(из перечня ВАК)
15. Галиуллин, Т.Р. Клинико-генетическое исследование рассеянного склероза в Республике Башкортостан / Т.Р. Галиуллин, О.В. Заплахова, К.З. Бахтиярова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. - Т. 120, № 7-2. - С. 115-116.(из перечня ВАК)

Список использованных сокращений

ПИТРС - препараты, изменяющие течение рассеянного склероза

РС - рассеянный склероз

EDSS - расширенная шкала степени инвалидности РС (Expanded Disability Status Scale)

GWAS - полногеномные исследования ассоциации методом «случай-контроль»

(GenomeWide Association Studies)

Подписано в печать 26.10.2021.
Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 2,0.
Тираж 100 экз. Заказ № 99/2021.
Отпечатано в типографии АмегаPRINT
Адрес: 450080, г.Уфа, ул. Менделеева, 150/4
e-mail: men@amegaprint.ru