

*На правах рукописи*

**АРБУЗОВА ЕЛЕНА ЕВГЕНЬЕВНА**

**ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ  
*KIF1B, ZFHX4, ZFAT, STARD13* И *CIT* НА КЛИНИЧЕСКИЕ  
ПРОЯВЛЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА В ПЕРМСКОМ КРАЕ**

14.01.11 – нервные болезни

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Пермь 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

**Научный руководитель:**

Профессор кафедры неврологии и медицинской генетики  
ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера  
Минздрава России,  
доктор медицинских наук, доцент

**Селянина Наталия Васильевна**

**Официальные оппоненты:**

Профессор кафедры неврологии  
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный  
медицинский университет» Минздрава России,  
доктор медицинских наук, профессор

**Бахтиярова Клара Закиевна**

Руководитель центра рассеянного склероза  
АО «Медико-санитарная часть «Нефтяник»,  
доктор медицинских наук

**Сиверцева Стелла Анатольевна**

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Новосибирск)

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ года в 10 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.067.01 при ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (г. Пермь, ул. Петропавловская, 26) и на сайте [www.psmu.ru](http://www.psmu.ru), с авторефератом на сайтах [www.psmu.ru](http://www.psmu.ru) и [www.vak.minobrnauki.gov.ru](http://www.vak.minobrnauki.gov.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ года.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

**Мудрова Ольга Александровна**

## Общая характеристика работы

**Актуальность исследования.** Рассеянный склероз (РС) представляет собой демиелинизирующее дегенеративное аутоиммунное заболевание центральной нервной системы и является актуальной социально-экономической проблемой ввиду значительной распространенности и высокой вероятности инвалидизации людей трудоспособного возраста (Compston A., Coles A., 2008). За прошедшие десятилетия отмечен рост показателей распространенности РС во всем мире (Бойко А.Н., Кукель Т.М., Лысенко М.А., и др. 2013), причина которого заключается не только в истинном повышении заболеваемости, но и в совершенствовании методов диагностики, увеличении количества случаев РС у детей и подростков, а также его диагностике в различных этнических группах (Малкова Н.А., 2005; Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Эрдман В.В., и др., 2019). Пермский край является регионом со средним уровнем распространенности РС: 44,4 случая на 100 тыс. населения по данным на 2017 год. В настоящее время РС считается мультифакторной патологией, в патогенезе которого одну из ведущих ролей играет генетическая предрасположенность к заболеванию (Бойко А.Н., Гусев Е.И., 2012). Наиболее значимыми в отношении предрасположенности к РС являются полиморфизмы гена HLA DRB15:01, участвующие в презентации связанных с ЦНС аутоантигенов (Kular L., Liu Y., Ruhrmann S., et al., 2018) и ассоциированные не только с развитием РС, но и с его ранним дебютом (Prineas J.W., Parratt J.D., 2012). Однако в многочисленных исследованиях выявлено более 200 не-HLA-однонуклеотидных полиморфизмов (Single nucleotide polymorphism-SNP), ассоциированных с развитием и течением РС (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, 2019; Заплахова О.В., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., и др., 2018). Многие полиморфизмы показывают противоречивые результаты в отношении развития РС, например полиморфизм 10492972 гена *KIF1B*, (Aulchenko Y.S., Hoppenbrouwers I.A., Ramagopalan S.V., et al. 2008; Gourraud P., 2011), и их роль в патогенезе РС доказана лишь на некоторых популяциях. Особое внимание отводится поиску генетических маркеров, ассоциированных с эффективностью препаратов, изменяющих течение РС (ПИТРС). Установлено влияние ряда полиморфизмов генов с положительным ответом на лечение ПИТРС: *ZFHX4* (rs11787532), *STARD13* (rs9527281), *CIT* (rs7308076), *ZFAT* (rs733254) (Comabella M., Craig D.W., Morcillo-Suárez C., et al., 2009).

**Степень разработанности темы.** Результаты исследований этиопатогенеза РС определяют генетические факторы как одни из основных факторов предрасположенности к заболеванию (Waubant E., 2019). Однако, учитывая неоднородность генетического разнообразия в различных популяциях (Бойко А.Н., 2012), диктует необходимость проведения исследований или подтверждения ранее полученных данных на различных выборках, в том

числе и в Российской Федерации. Основными генетическими факторами риска развития РС являются гены локуса HLA (Moutsianas L., 2015), однако и другие, не связанные с данным локусом гены показывают ассоциации с развитием РС. Более того, ряд однонуклеотидных полиморфизмов генов оказывает влияние на эффективность лечения ПИТРС в некоторых выборках (Comabella M., Craig D.W., Morcillo-Suárez C., et al., 2009). Наша гипотеза: ряд однонуклеотидных полиморфизмов генов, не участвующих в иммунорегуляции, таких как rs10492972 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*), ассоциирован с развитием и прогрессированием рассеянного склероза, а также оказывает влияние на клинические проявления заболевания в зависимости от вида получаемой ПИТРС.

**Цель** – оценить роль однонуклеотидных полиморфизмов ряда 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 рассеянного склероза в группе больных в Пермском крае;
3. Провести множественный анализ частоты встречаемости аллелей изучаемых полиморфизмов и выявить ассоциации аллелей, связанные с риском развития рассеянного склероза и выраженностью его проявлений;
4. Выявить клиничко-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 клиничко-генетическое исследование больных РС на территории Пермского края, выявлены ассоциации аллелей, их комбинаций и генотипов 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 не-HLA-однонуклеотидных полиморфизмов; могут внести вклад в разработку персонализированных программ генетического консультирования родственников больных РС, а также могут служить основой для разработки методики персонализированной терапии РС, на основании чего разработан патент «Способ прогнозирования течения РС у больных, получающих препараты интерферона-бета». 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 T,G,T,C,A можно ожидать более высокую скорость прогрессирования при назначении препаратов интерферона-бета. На основе полученных данных разработаны рекомендации для врачей центра Рассеянного склероза Пермского края по использованию молекулярно-генетического исследования больных рассеянным склерозом с целью персонализированного назначения препаратов, изменяющих течение рассеянного склероза.

**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 методологическими характеристиками работы являются целостность, комплексность, системность, объективность и валидность.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. В популяции Пермского края выявлены ассоциации аллели T однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B*, аллели T rs9527281 (*STARD13*) и аллели C rs7308076 (*CIT*), генотипа A/C и аллели C rs733254 (*ZFAT*), а также комбинации аллелей T,G,G,C,C полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFHX4*), 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 Т rs10492972 (*KIF1B*) и аллель G rs9527281 (*STARD13*), а также аллельные комбинации С,G,G,C,C и Т,G,T,C,A.

3. Степень неврологического дефицита у больных, получающих препараты интерферона-бета зависела от наличия сочетания аллелей Т,G,T,C,A и Т,C,G,C,A полиморфизмов rs10492972 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFH4*), rs9527281 (*STARD13*), rs7308076 (*CIT*), rs733254 (*ZFAT*), а в группе, получающих глатирамера ацетат – от сочетаний Т,G,G,C,A и С,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, практические рекомендации, подготовлены материалы к публикации.

**Степень достоверности результатов исследования.** На достоверность полученных результатов указывают достаточная мощность исследования, научный дизайн, репрезентативная выборка, использование современных объективных клинических и лабораторных методов исследования; статистическая обработка материала проведена с применением актуальных статистических программ, которые рекомендуются для научных, в том числе генетических исследований.

**Апробация работы.** 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, 2019г.) и международного (V конгресс Европейской академии неврологии, г.Осло, 2019г.) уровней.

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

**Внедрение результатов исследования.** Способ прогнозирования скорости прогрессирования рассеянного склероза у больных, получающих терапию препаратами интерферона-бета используется в качестве дополнительного критерия для дифференцированного назначения препаратов «первой линии» ПИТРС больным рассеянным склерозом в лечебно-профилактической работе Центра рассеянного склероза ГБУЗ ПК «Ордена «Знак почета» Пермская краевая клиническая больница» (главный врач - А.В. Касатов). Результаты диссертационной работы применяются для интерпретации показателей полимеразной цепной реакции в режиме реального времени при исследовании однонуклеотидных полиморфизмов генов *KIF1B*, *ZFHX4*, *ZFAT*, *STARD13* и *CIT* у больных рассеянным склерозом в лаборатории иммуногенетики ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (директор - В.Б. Алексеев). По итогам работы подготовлены методические рекомендации по генетическому исследованию больных РС. Результаты научного исследования используются в учебном процессе на кафедрах неврологии и медицинской генетики (зав. кафедрой – проф. Ю.В. Каракулова) и факультетской терапии №2, профпатологии и клинической лабораторной диагностики (зав. кафедрой – проф. Н.Н. Малютина) ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России при чтении лекций и проведения практических занятий со студентами лечебного и медико-профилактического и факультетов, в том числе на английском языке, а также ординаторами и курсантами.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.11 - нервные болезни, в области исследований п.1 «Нейрогенетика, наследственные и дегенеративные заболевания нервной системы», п.4 «Демиелинизирующие заболевания нервной системы», п.20 «Лечение неврологических больных и нейрореабилитация».

**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, профессор И.П.Корюкина) в соответствии с планом и этическими нормами, изложенными в 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. академика Е.А.Вагнера Минздрава России (протокол №4 от 24.04.19.).

### **Основное содержание работы**

Проведено простое одномоментное исследование по типу «случай-контроль» 206 пациентов на базе центра рассеянного склероза и неврологического отделения ГБУЗ ПК «Ордена «Знак почета» Пермская краевая клиническая больница» с установленным диагнозом G35. – Рассеянный склероз (согласно критериям McDonald, 2010) в возрасте от 18 до 70 лет (медиана возраста составила 39,0 [32,0; 48,0] лет), 70 мужчин и 136 женщин. 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. Критерии исключения: демиелинизирующее заболевание нервной системы, не соответствующее критериям McDonald (2010), наличие первично-прогрессирующего типа течения РС, сопутствующая онкологическая патология, дегенеративные заболевания ЦНС, беременность; отказ пациента от участия в исследовании.

По типу течения РС пациенты распределились следующим образом: 83,98% (n=173) человека имели рецидивирующе-ремиттирующий тип течения, у 16,02% (n=33) установлен вторично-прогрессирующий тип РС. Медиана возраста дебюта составила 32 [22; 35] года. Длительность РС с момента первых симптомов составила в среднем 10 [6;14] лет.

Большинство участников исследования (116 человек (56,31%)) получали инъекции препаратов интерферона-бета1а и интерферона-бета1b в виде препаратов Ребиф®, Генфаксон®, Синновекс®, Бетаферон®, Инфибета®, Экставиа®, 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.



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.

Дизайн исследования (Рисунок 1) 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.

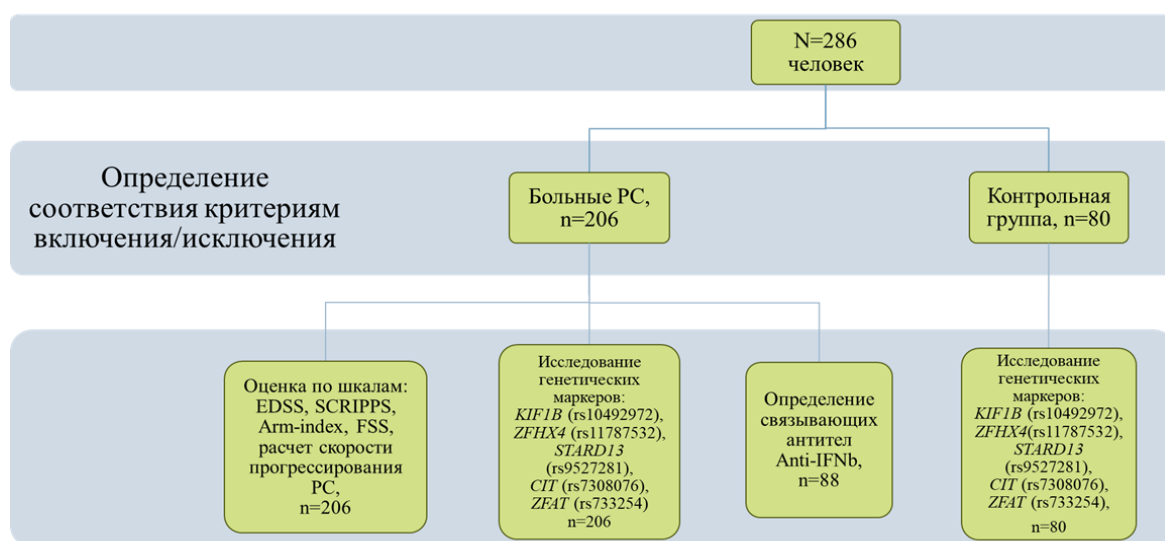


Рисунок 1. Дизайн исследования

**Методы 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 с использованием Шкалы функциональных систем Kurtzke, Расширенной шкалы инвалидизации Expanded Disability Status Scale (EDSS), Шкалы неврологического статуса Scripps, Шкалы оценки функции рук Arm-index, Опросника тяжести астении Fatigue Severity Score (FSS). Скорость прогрессирования РС рассчитывалась как отношение балла EDSS к длительности заболевания (в годах). Данные MPT, проведенной в лечебных учреждениях Пермского края, использованы лишь в качестве подтверждающего критерия РС.

Генотипирование образцов ДНК венозной крови 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).

Исследование концентрации связывающих антител к препаратам интерферона-бета (Anti-IFN $\beta$ ) проведен у 88 пациентов, получающих препараты интерферона методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) с использованием стандартного набора тест-систем фирмы Cloud-Clone Corp., США. Лабораторные исследования проводились на базе лаборатории иммуногенетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

**Статистическая обработка результатов.** Расчет мощности исследования проведен по формуле расчета 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. Мощность объема выборки для каждого из полиморфизмов рассчитана с учетом их характеристик при помощи он-лайн калькулятора GAS Power Calculator. 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.

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

### **Результаты и обсуждение**

На момент участия в исследовании 96,12% больных РС предъявляли жалобы со стороны различных функциональных систем, характерные для заболевания: нарушения движений, слабость в конечностях (72,81%, n=150), нарушения координации (68,93%, n=142), дисфункция тазовых органов (69,9% n=144), общая слабость и повышенная утомляемость (54,85%, n=113). В структуре неврологической симптоматики на момент дебюта заболевания преобладали координаторные (30,58%), двигательные (29,1%) и чувствительные (26,21%)

симптомы, с меньшей частотой встречались нарушения функции черепных нервов (15,04%), утомляемость (7,3%), тазовые дисфункции (2,4%).

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), стволовые нарушения (89,8%, n=185). Наименее часто встречались зрительные симптомы (48,54%, n=100). Медиана шкалы EDSS у больных в целом составила 4 [3; 5,5] балла. Средний балл по шкале оценки функции рук Arm-index оказался равен 1 [1;2], что соответствует минимально выраженным симптомам, не мешающим выполнению ни одной из функций. Степень утомляемости по опроснику FSS характеризовалась средним уровнем (4,33 [2,55; 5,44] балла). В группе женщин показатель уровня астении оказался достоверно выше ( $3,9 \pm 1,7$  балла), чем в группе мужчин ( $3,42 \pm 1,71$  балла),  $p=0,03$ ). Медиана значения шкалы Scripps у больных РС составила 62 [51; 79] балла. В группе больных с вторично-прогрессирующим типом течения РС закономерно показатели указанных клинических шкал оказались выше, чем при рецидивирующе-ремиттирующем (таблица 1).

Медиана скорости прогрессирования РС оказалась равной 0,42 [0,28; 0,67] баллам/год, не отличаясь в группах, выделенных в зависимости от типа течения РС и пола.

При проведении корреляционного анализа выяснилось, что значение балла шкалы неврологического статуса Scripps ожидаемо обратно пропорционально значению балла шкалы EDSS ( $R=-0,87$ ,  $p=0,000$ ), Arm-index ( $R=-0,70$ ,  $p=0,000$ ), FSS ( $R=-0,43$ ,  $p=0,000$ ), а также обратно пропорционально возрасту пациентов ( $R=-0,42$ ,  $p=0,000$ ). Получена статистически значимая связь между большинством показателей поражения функциональных систем по шкале Kurtzke. Значение балла Arm-index закономерно коррелировало с показателем EDSS ( $R=0,70$ ,  $p=0,00000$ ), а также выраженностью поражения функциональных систем, в большей степени – пирамидной ( $R=0,65$ ,  $p=0,000$ ) и координаторной ( $R=0,76$ ,  $p=0,000$ ) по Kurtzke.

Таблица 1. Показатели клинических шкал Kurtzke, EDSS, Arm-index, FSS, Scripps РС в группах, выделенных по типу течения.

Шкалы	ППРС, сред. (баллы)	ВППРС, сред.(баллы)	Значение p
Зрительная ФС (Kurtzke)	0,81±0,98	0,97±1,01	0,464
Функции ствола ГМ (Kurtzke)	1,58±0,8	2,54±0,66	0,000
Пирамидная ФС (Kurtzke)	2,33±1,01	3,64±0,69	0,000
ФС мозжечка (Kurtzke)	2,02±0,89	2,73±0,63	0,000
Чувствительная ФС (Kurtzke)	1,67±1,01	2,24±1,06	0,004
Функции тазовых органов (Kurtzke)	1,31±1,01	2,33±0,89	0,000

Корковые функции (Kurtzke)	0,95±0,79	1,69±0,73	0,000
Способность к передвижению (Kurtzke)	1,86±2,24	7,18±2,95	0,000
EDSS	3,76±1,44	6,28±0,96	0,000
Arm-index	1,12±0,74	1,93±0,82	0,000
FSS	3,89±1,77	4,89±1,31	0,003
Scripps	45,51±10,9	67,4±17,03	0,000

Таким образом, исследуемая когорта 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. При вторично-прогрессирующем типе течения РС констатировано достоверно более выраженное проявление неврологического дефицита практически по всем изучаемым параметрам.

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.

В результате генотипирования установлено достоверное преобладание аллели Т однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена *KIF1B* в группе больных РС (OR=3,78, 95%CI 2,19-6,52, p=0,000), а также превалирование 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 2).

Таблица 2. 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.

Генотипирование по полиморфизму rs9527281 (*STARD13*) выявило преобладание аллели G как в группе больных, так и в контрольной группе. Альтернативная аллель T достоверно чаще встречалась в группе больных РС (OR=2,67, 95%CI 1,44-4,93, p=0,001). Гетерозиготный генотип G/T, как и вариантный генотип T/T rs9527281 достоверно чаще встречался в группе здоровых лиц по кодоминантной и доминантной моделям наследования (Таблица 3).

Таблица 3. 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.

Аллель C полиморфизма rs7308076 гена *CIT* чаще встречалась в группе больных лиц, и явилась ассоциированной с развитием РС (OR=1,93, 95%CI 1,15-3,26, p=0,01). Генотипы rs7308076 (*CIT*) не показали достоверной связи с заболеванием или его отсутствием.

Исследование по полиморфному маркеру rs733254 гена *ZFAT* выявило преобладание аллели A как в группе больных РС (70,25%), так и в группе контроля (98,75%). Получена связь между наличием аллели C (OR=60,67, 95%CI 14,42-255,16, p=0,000), генотипа C/A rs733254 и наличием заболевания (Таблица 4). Модель наследования данного полиморфизма не определена ввиду отсутствия в выборке вариантной гомозиготы.

Таблица 4. 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.

Аллели и генотипы полиморфизма rs11787532 (*ZFHX4*) не показали значимых различий в группе больных РС и группе здоровых лиц.

С тяжестью инвалидизации по шкале EDSS оказалась ассоциирована аллель Т rs10492972 (*KIF1B*) ( $p=0,02$ ), в большей степени – за счет влияния аллели на выраженность пирамидной симптоматики ( $p=0,03$ ).

Несмотря на протективную роль аллели С rs10492972, в группе мужчин с РС она была ассоциирована с повышением скорости прогрессирования РС ( $p=0,03$ ).

Генотипы полиморфизма rs10492972 не оказали существенного влияния на степень выраженности неврологического дефицита.

Со скоростью прогрессирования РС оказалась ассоциирована и аллель G rs9527281 *STARD13* ( $p=0,02$ ). Но в группе мужчин на значение скорости прогрессирования большее влияние оказала аллель Т ( $p=0,04$ ).

**Множественный анализ частоты встречаемости аллелей исследуемых генотипов** (возможные сочетания аллелей определялись автоматически в программе SNPstats (Institut Català d’Oncologia, Испания).

Выявлено влияние сочетания аллелей С,G,T,C,A и Т,G,G,C,C полиморфизмов изучаемых генов на наличие РС (Таблица 5). Сочетание С,G,T,C,A ассоциировано с меньшим риском развития РС ( $OR=0,15$ , 95%CI 0,03-0,8,  $p=0,026$ ), а сочетание Т,G,G,C,C – с большим ( $OR=130,32$ , 95%CI 9,28-1827,43,  $p=4e-04$ ).

Таблица 5. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей и его ассоциации с наличием рассеянного склероза

№	rs10492972 ( <i>KIF1B</i> )	rs11787532( <i>ZFHX4</i> )	rs9527281 ( <i>STARD13</i> )	rs7308076 ( <i>CIT</i> )	rs733254 ( <i>ZFAT</i> )	Частота встречаемости и общая, %	Частота встречаемости в группе больных РС, %	Частота встречаемости в группе контроля, %	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 6).

Таблица 6. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных рассеянным склерозом и его ассоциации с уровнем инвалидизации по EDSS

№	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 7).

Таблица 7. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных рассеянным склерозом и его ассоциации с уровнем инвалидизации по шкале Scripps

№	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	13,58	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)	0,0044
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.

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). Установлено, что сочетания аллелей T,G,G,C,A (OR=0,91, 95%CI 0,01 – 1,81); T,G,G,T,C (OR=0,74, 95%CI 0,12 – 1,37); C,G,T,C,A (OR=0,91, 95%CI 0,21 – 1,60) и C,C,T,C,A (OR=2,50, 95%CI 1,34 – 3,66) ассоциированы со зрительными нарушениями в группе мужчин с РС, а сочетания T,G,T,T,A (OR=1,60, 95%CI 0,49 – 2,70); T,C,G,C,A (OR=1,35, 95%CI 0,16 – 2,54); T,G,T,C,C (OR=2,14, 95%CI 0,82 – 3,46) – в группе больных женщин, p=0,37. 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. То же сочетание полиморфизмов (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 8).

Таблица 8. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных рассеянным склерозом и его ассоциации с выраженностью поражения пирамидной системы по шкале Kurtzke

№	rs10492972 (KIF1B)	rs11787532 (ZFHX4)	rs9527281 (STARD13)	rs7308076 (CIT)	rs733254 (ZFAT)	Частота встречаемости и 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 (OR=0,95, 95% CI 0,39 – 1,5, p= 0,001) и C,G,G,C,C, (OR=0,76, 95% CI 0,07 – 1,46, p= 0,032) а также T,G,G,T,C (OR=0,5, 95% CI 0,02 - 0,98, p= 0,04) и C,C,T,C,A (OR=0,81, 95% CI 0,05 – 1,58, p= 0,037) показали достоверную связь с лучшим состоянием координаторной



системы у больных РС. 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,  $p=0,021$ .

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.

Выявлено большое количество сочетаний аллелей полиморфизмов rs10492982, rs11787532, rs9527281, rs7308076, rs733254, показавшие ассоциации с выраженностью нарушений тазовых органов (таблица 9).

Таблица 9. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных рассеянным склерозом и его ассоциации с выраженностью тазовых нарушений по шкале Kurtzke

№	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
8	C	G	G	C	C	4,03	1,49 (0,85 - 2,13)	0,0001
9	C	G	G	C	A	4,01	1,19 (0,47 - 1,92)	0,001
10	T	C	T	C	A	3,64	1,13 (0,36 - 1,91)	0,004
11	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 10).

Таблица 10. Множественный анализ частоты встречаемости аллелей у больных рассеянным склерозом и его ассоциации со степенью ограничения передвижения по шкале EDSS

№	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	13,68	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 (OR=1,62, 95%CI 0,68 – 2,56, p=0,001) и T,G,G,T,C (OR=1,5, 95%CI 0,76 – 2,23, p=0,0001) показали достоверную связь с высоким уровнем астении по шкале FSS, а сочетание C,G,T,T,A (OR=-1,87, 95%CI -3,26 - -0,47, p=0,008), встречающееся лишь в 1,9% случаев – с более низким.

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 (OR=6,36, 95%CI 1,65 – 11,08, p=0,008); C,G,T,T,A (OR=13,25, 95%CI 5,17 – 21,34, p=0,001); T,G,T,C,C (OR=16,31, 95%CI 7,19 – 25,44, p=0,000) ассоциированы с более поздним возрастом дебюта РС, а сочетание T,G,G,T,A (OR=-8,39, 95%CI -15,1 - -1,69, p=0,014), напротив, с более ранним.

**Клинико-генетические ассоциации у больных рассеянным склерозом, получающих различные виды ПИТРС.** Клинико-генетических ассоциаций генотипов rs10492972 гена *KIF1B*, rs11787532 гена *ZFHX4*, rs9527281 гена *STARD13* в зависимости от получаемой терапии в исследовании не получено. Исключение из этого ряда составляет генотип T/T *STARD13*, который был ассоциирован с выраженностью пирамидной симптоматики у пациентов, принимающих другие виды ПИТРС (OR=-2,71, 95%CI -4,86 - -0,55, p=0,031).

Установлено, что генотип C/C rs7308076 гена *CIT* ассоциирован с менее выраженными пирамидными нарушениями у больных, получающих терапию глатирамера ацетатом

(OR=0,66, 95%CI 0,08 – 1,24, p=0,026), генотип C/T – у лиц, получающих терапию препаратами интерферона-бета (OR=0,45, 95%CI 0,03 – 0,87), p=0,026). С более выраженным поражением пирамидной системы ассоциирован генотип C/C в группе лиц, не получающих ПИТРС (OR=1,41, 95%CI 0,32 – 2,50, p=0,026).

У лиц, получающие другие ПИТРС, выявлена ассоциация генотипа A/A rs733254 гена *ZFAT* с выраженностью зрительных нарушений (OR=1,62, 95%CI 0,25 – 2,99, p=0,026).

В группах пациентов, получающих препараты "первой линии" (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 C/C rs7308076 *CIT* с меньшей выраженностью пирамидной симптоматики, такая же связь установлена и для генотипа T/C (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 изучаемых генов установлено, что сочетание T,G,T,C,A, а также реже встречающееся 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).

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 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 сочетания 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).

**Влияние связывающих антител к препаратам Интерферона-бета на эффективность терапии.** У всех обследованных пациентов обнаружены связывающие

антитела в концентрации от 2,135 до 200 пг/мл, что соответствовало оптической плотности 0,055 [0,051; 0,062] (медиана значения концентрации связывающих антител у всех обследованных больных составила 5,47 [3,9; 12,9] пг/мл). Из 88 обследованных положительные пробы (с оптической плотностью более 1,2) выявлены лишь у 5 человек, получающих терапию интерферонами в среднем 6 [4;7] лет и имеющих умеренную степень инвалидизации (медиана EDSS 4,0 [3,0; 5,5], медиана Scripps 61 [48; 66]).

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

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

Выявлено, 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 11).

Таблица 11. 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. Отсутствие корреляции связывающих антител с большинством показателей клинического статуса, а также скоростью прогрессирования РС, может говорить о несущественном влиянии связывающих антител на действие препарата.

## 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 рассеянного склероза. Генотип А/С и аллель С однонуклеотидного полиморфизма rs733254 гена *ZFAT* связаны с развитием рассеянного склероза, 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 рассеянного склероза 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 рассеянного склероза наибольшее влияние имеет аллель G rs9527281 (*STARD13*).

3. Комбинация аллелей однонуклеотидных полиморфизмов rs10492982 гена *KIF1B*, rs11787532 гена *ZFH4*, rs9527281 гена *STARD13*, rs7308076 гена *CIT*, rs733254 гена *ZFAT* Т,G,G,C,C ассоциирована с риском развития рассеянного склероза и выраженностью стволовых нарушений. На степень неврологического дефицита и скорость прогрессирования рассеянного склероза 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 препаратов, изменяющих течение рассеянного склероза, не зависит от генотипов и аллелей полиморфизмов rs10492982 (*KIF1B*), rs11787532 (*ZFH4*), 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 рассеянного склероза в группе больных, получающих препараты интерферона-бета. Ряд аллельных сочетаний (Т,G,G,C,C; С,С,G,C,A; С,G,G,C,A; Т,G,G,T,C и С,С,T,C,A) оказывает влияние на титр связывающих антител к препаратами интерферона-бета, который не имеет клинико-лабораторных корреляций. В группе больных, принимающих глатирамера ацетат со степенью неврологического дефицита ассоциированы сочетания аллелей Т,G,G,C,A и С,G,T,C,A, но без влияния на скорость прогрессирования рассеянного склероза.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным рассеянным склерозом 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 T,G,T,C,A 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Арбузова Е.Е. Исследование патогенеза рассеянного склероза как основа его таргетной терапии/ Байдина Т.В., Куклина Е.М., Селянина Н.В., Трушников Т.Н., Сурякова Н.В., Данченко И.Ю., Арбузова Е.Е.// Пермский медицинский журнал. - 2018. - №1. - С.27-32. DOI: 10.17816/pmj35127-32 (из перечня ВАК).
2. Арбузова Е.Е. Влияние однонуклеотидного полиморфизма rs7308076 гена CIT на выраженность клинических проявлений рассеянного склероза/ Селянина Н.В., Арбузова Е.Е., Кривцов А.В. // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29115> (дата обращения: 29.08.2019) (из перечня ВАК).
3. Арбузова Е.Е. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов генов белков «цинковых пальцев» на течение рассеянного склероза/ Арбузова Е.Е., Селянина Н.В., Кривцов А.В.// Российский неврологический журнал. - 2019. - №3.- С.19-23. <https://doi.org/10.30629/2658-7947-2019-24-3-19-23> (из перечня ВАК - дата приема 25.05.19).
4. Арбузова Е.Е Влияние однонуклеотидного полиморфизма rs733254 гена ZFAT на течение рассеянного склероза/Арбузова Е.Е., Селянина Н.В.// Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. - 2019. - Т.119, №5. - С.28-29. (из перечня ВАК).
5. Арбузова Е.Е. Эпидемиологические и клинические характеристики рассеянного склероза в Пермском крае/Арбузова Е.Е., Селянина Н.В.//Сборник материалов межрегиональной конференции "Неврологические чтения в Перми". - 2017.- С. 14-20.
6. Е.Е. Арбузова. Влияние однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 гена kif1b на течение рассеянного склероза в группах пациентов, получающих различные виды терапии/Е.Е. Арбузова, Н.В. Селянина//Сборник материалов межрегиональной конференции с международным участием "Неврологические чтения в Перми". - 2018. - С. 13-17.

7. Арбузова Е.Е. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов гена Kif1B на риск развития рассеянного склероза в Пермском крае/Арбузова Е.Е., Селянина Н.В.// Сборник научных трудов межрегиональной научно-практической конференции неврологов и нейрохирургов, Киров. - 2018. - С. 6-9.
8. Селянина Н.В. Влияние однонуклеотидных полиморфизмов гена kif1b на терапевтическую эффективность у больных рассеянным склерозом в Пермском крае/ Селянина Н.В., Арбузова Е.Е.//Здоровье, демография, экология фино-угорских народов.-2018. - №4. -С. 64-66.
9. Арбузова Е.Е. Влияние однонуклеотидного полиморфизма rs10492972 C>T гена Kif1B на риск развития рассеянного склероза. Молодая наука – практическому здравоохранению : тезисы докладов 91-й итоговой научно-практической конференции студентов, ординаторов, аспирантов, молодых ученых (до 35 лет) ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера / ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России. – Пермь : Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та. 2018. - С. 215-216.
10. E. Arbuzova. Influence of some SNPs on the course of multiple sclerosis in people treated with Interferon-β in Perm krai, Russia/ E. Arbuzova N. Selyanina// Abstracts of the 5th Congress of the European Academy of Neurology. European journal of neurology.-Volume 26, Supplement 1, June 2019 . <https://ipp-ean19.netkey.at/index.php?p=recorddetail&rid=0b997877-e8cb-4c81-b430-62cb80c3a24b&t=browsesessions#ipp-record-dd5f3951-85ba-4898-9699-76e36e16835f>

#### **Справка о приоритете изобретения:**

№2019108392 от 22.03.2019 Способ прогнозирования скорости прогрессирования рассеянного склероза у больных, получающих терапию препаратами интерферона-бета / Арбузова Е.Е., Селянина Н.В, Кривцов А.В.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

- ВПРС – вторично прогрессирующий рассеянный склероз
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
- РРРС – рецидивирующе-ремиттирующий рассеянный склероз
- РС – рассеянный склероз
- Anti-IFNβ (анти-IFNβ) – антитела к препаратам интерферона-бета
- CI – confidence interval, доверительный интервал
- CIT – citron rho-interacting serine/threonine kinase

EDSS – Expanded disability status scale

FSS – Fatigue Severity Score

HLA – Human Leukocyte Antigens

*KIF1B* – Kinesin family member 1B

OR – odds ratio, отношение шансов

REGARD – Rebif vs Glatiramer Acetate in Relapsing MS Disease

*STARD13* – StAR Related Lipid Transfer Domain Containing 13

*ZFAT* – zinc finger gene in AITD susceptibility region

*ZFHX4* – Zinc Finger Homeobox