

Анализ ассоциаций с рассеянным склерозом генетических маркеров предрасположенности, выявленных в результате полногеномных исследований

© Я.Р. ТИМАСHEВА^{1,2}, Т.Р. НАСИБУЛЛИН¹, И.А. ТУКТАРОВА¹, В.В. ЭРДМАН¹, Т.Р. ГАЛИУЛЛИН³, О.В. ЗАПЛАХОВА³, К.З. БАХТИЯРОВА², О.Е. МУСТАФИНА¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия;

³ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова», Уфа, Россия

Резюме

Цель исследования. Проведение репликативного анализа ассоциаций с рассеянным склерозом генетических маркеров аутоиммунных заболеваний, выявленных в результате полногеномных ассоциативных исследований, в этнически гомогенных группах русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан.

Материал и методы. В группе из 1724 человек (547 пациентов с рассеянным склерозом, 1177 представителей контрольной группы) проведено генотипирование с использованием метода аллель-специфичной ПЦР и ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по полиморфным вариантам rs2069762 гена *IL2*, rs759648 гена *PVT1*, rs1800682 гена *FAS* и rs12708716 гена *CLEC16A*. Анализ ассоциаций изученных генетических маркеров с рассеянным склерозом проводили в программе PLINK методом логистической регрессии с применением аддитивной генетической модели, используя пол в качестве ковариаты.

Результаты. В группе татар нами найдена ассоциация аллеля *PVT1* rs759648*С с рассеянным склерозом ($OR=1,42$, $p=0,023$). При проведении метаанализа результатов исследования в двух этнических группах была подтверждена ассоциация аллеля *PVT1* rs759648*С с заболеванием (модель со случайными эффектами и модель фиксированного эффекта: $OR=1,29$, $p=0,018$).

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии ассоциации между полиморфным вариантом *PVT1* rs759648 и рассеянным склерозом в популяции русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан. Ассоциации с другими изученными полиморфными вариантами в двух исследуемых этнических группах не выявлены.

Ключевые слова: рассеянный склероз, генетический полиморфизм, анализ ассоциаций, полногеномные ассоциативные исследования.

Информация об авторах:

Тимашева Я.Р. — <https://orcid.org/0000-0002-9918-6962>; e-mail: ianina_t@mail.ru

Насибуллин Т.Р. — <https://orcid.org/0000-0001-8823-8678>

Туктарова И.А. — <https://orcid.org/0000-0001-6928-648X>

Эрдман В.В. — <https://orcid.org/0000-0002-1219-3458>

Галиуллин Т.Р. — <https://orcid.org/0000-0002-4558-6119>

Заплахова О.В. — e-mail: fim72@mail.ru

Бахтиярова К.З. — <https://orcid.org/0000-0003-0982-4324>

Мустафина О.Е. — <https://orcid.org/0000-0002-5118-653>

Автор, ответственный за переписку: Тимашева Я.Р. — e-mail: ianina_t@mail.ru

Как цитировать:

Тимашева Я.Р., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Эрдман В.В., Галиуллин Т.Р., Заплахова О.В., Бахтиярова К.З., Мустафина О.Е. Анализ ассоциаций с рассеянным склерозом генетических маркеров предрасположенности, выявленных в результате полногеномных исследований. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(7 вып. 2):54–60. <https://doi.org/10.17116/jnevro202012007254>

The analysis of association between multiple sclerosis and genetic markers identified in genome-wide association studies

© Y.R. TIMASHEVA^{1,2}, T.R. NASIBULLIN¹, I.A. TUKTAROVA¹, V.V. ERDMAN¹, T.R. GALIULLIN³, O.V. ZAPLAKHOVA³, K.Z. BAKHTIAROVA², O.E. MUSTAFINA¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

³G.G. Kuvatov Republic Clinical Hospital, Ufa, Russia

Abstract

Objective. Our aim was to analyse the association with multiple sclerosis of the genetic markers of autoimmune disorders identified in genome-wide association studies in ethnically homogenous groups of Russians and Tatars residing in the Republic of Bashkortostan.

Material and methods. We performed genotyping of the genetic variants rs2069762 in *IL2* gene, rs759648 in *PVT1* gene, rs1800682 in *FAS* gene and rs12708716 in *CLEC16A* gene in the study group consisting of 1724 people (547 patients with multiple sclerosis, 1177 representatives of the control group). We analysed the association of the studied genetic markers with multiple sclerosis using logistic regression under additive genetic model implemented in PLINK program with sex as a covariate.

Results. In the group of Tatars, we detected an association of *PVT1* rs759648* allele with multiple sclerosis (OR=1.42, $p=0.023$). Meta-analysis of the study results in the two ethnic groups we confirmed the association of the *PVT1* rs759648*C allele with the disease (random effects model and fixed effect model: OR=1.29, $p=0.018$).

Conclusion. Our results provide an evidence of an association between multiple sclerosis and the *PVT1* rs759648 allele in the populations of Russian and Tatars from the Republic of Bashkortostan. No association with any other studied polymorphic variant was found in the two ethnic groups.

Keywords: multiple sclerosis, gene polymorphism, analysis of association, genome-wide association studies.

Information about authors:

Timasheva Y.R. — <https://orcid.org/0000-0002-9918-6962>; e-mail: ianina_t@mail.ru

Nasibullin T.R. — <https://orcid.org/0000-0001-8823-8678>

Tuktarova I.A. — <https://orcid.org/0000-0001-6928-648X>

Erdman V.V. — <https://orcid.org/0000-0002-1219-3458>

Galiullin T.R. — <https://orcid.org/0000-0002-4558-6119>

Zaplakhova O.V. — e-mail: fim72@mail.ru

Bakhtiarova K.Z. — <https://orcid.org/0000-0003-0982-4324>

Mustafina O.E. — <https://orcid.org/0000-0002-5118-6533>

Corresponding author: Timasheva Y.R. — e-mail: ianina_t@mail.ru

To cite this article:

Timasheva YaR, Nasibullin TR, Tuktarova IA, Erdman VV, Galiullin TR, Zaplakhova OV, Bakhtiarova KZ, Mustafina OE. The analysis of association between multiple sclerosis and genetic markers identified in genome-wide association studies. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(7 вып 2):54–60. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202012007254>

Рассеянный склероз (РС) — хроническое диссеминированное демиелинизирующее заболевание ЦНС, сопровождающееся прогрессирующей нейроаксональной деградацией. Женщины страдают РС чаще, чем мужчины, причем показатель соотношения числа заболевших женщин к числу мужчин значительно вырос за последние десятилетия (2,3–3,5:1), что отражает повышение заболеваемости РС среди женщин [1]. В Российской Федерации распространенность РС составляет 50 на 100 тыс. населения, а в Республике Башкортостан — 38 на 100 тыс. населения [2, 3].

Принято считать, что РС — это аутоиммунное заболевание, которое развивается в результате реакции Т-лимфоцитов на аутоантигены ЦНС у генетически предрасположенных к заболеванию индивидов [4]. В результате проведения полногеномных ассоциативных исследований (GWAS — Genome-Wide Association Studies) к настоящему времени идентифицировано около 400 генетических вариантов, ассоциированных с РС, большинство из которых является биомаркерами иммунного ответа и воспаления и зачастую ассоциировано с другими аутоиммунными заболеваниями (https://www.ebi.ac.uk/gwas/efotraits/EFO_0003885). Поскольку большинство генетических маркеров, выявленных в результате проведения GWAS, обладает небольшими эффектами, для их обнаружения необходимо увеличение размеров выборок, что достигается благодаря включению в исследование людей из различных этнических групп. Подобная этническая гетерогенность может влиять на результаты исследования, поскольку разные популяции могут различаться по аллельным частотам

полиморфных вариантов и паттернам неравновесного сцепления [5]. Это может приводить к появлению ложноположительных результатов вследствие популяционной стратификации, в связи с чем необходима валидация результатов GWAS на независимых, желательно этнически гомогенных выборках [6].

Цель исследования — проведение репликативного анализа ассоциаций с РС генетических маркеров предрасположенности, выявленных в результате проведения GWAS в группах русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан (Российская Федерация).

Материал и методы

Группа исследования состояла из 1724 человек, русских ($n=773$) и татар ($n=951$) по этнической принадлежности, постоянно проживающих в Республике Башкортостан. Группа пациентов ($n=547$) была сформирована из числа лиц, состоящих на учете в Республиканском центре рассеянного склероза (РЦРС). Диагноз РС устанавливался согласно критериям МакДональда (2017) [7]. Для оценки тяжести неврологического дефицита использовали шкалу инвалидизации EDSS (Expanded Disability Status Scale), для характеристики нарастания неврологического дефицита применяли показатель скорости прогрессирования, который рассчитывали как отношение степени инвалидизации по шкале EDSS в баллах к продолжительности заболевания в годах. Соотношение женщин и мужчин в группе пациентов с РС равнялось двум. Средний возраст пациентов с РС составил $40,46 \pm 9,98$ года (медиана 41 год).

Таблица 1. Номенклатура и хромосомная локализация исследуемых полиморфных локусов, последовательности праймеров, эндонуклеазы рестрикции, номенклатура аллелей и размеры амплифицируемых фрагментов**Table 1. Nomenclature and chromosomal localization of the studied polymorphic loci, primer sequences, restriction endonucleases, nomenclature of alleles and amplified fragments lengths**

Ген	Полиморфизм	Хромосомная локализация	Праймеры, эндонуклеаза рестрикции	Аллели, размеры фрагментов
<i>IL2</i>	rs2069762 -384G>T	4:123377980 5'-UTR	F 5'-tgaaacaggaacacataact-3' R 5'-cccacacttaggtgatagctc-3' G 5'-cacatgttcagtgtatgtttt-3' T 5'-cacatgttcagtgtatgtttt-3'	БК 239 140
<i>PVT1</i>	rs759648	8:129158945 интрон	C 5'-cttcaccacctccaactgc-3' F 5'-atctgccccattgctctgtc-3' R 5'-cctgccccagactctgtttt-3' A 5'-catgtacaaataccacattttgtt-3'	БК 324 С 169 А 197
<i>FAS</i>	rs1800682 -670A/G	10:90749963 интрон	F 5'-tgg cca gga aat aat gag taa cga-3' R 5'- gcc ttg gct aat tgc tgg agt c-3' (<i>Mva</i> I)	А (285) G (184, 101)
<i>CLEC16A</i>	rs12708716	16:11179873 интрон	F 5'-tacctgtgggaagtgcacttg-3' R 5'-gccaaaggaagccaaagtcc-3' G 5'-tgggcagttagggagaatcatg-3' A 5'-tgggcagttagggagaatcata-3'	БК 211 162

Примечание. По данным Консорциума референсного генома человека 37 сборки (GRCh37.p13, https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.25/), БК — внутренний контроль, 5'-UTR — 5' нетранслируемый регион.

Note. According to the data of the Genome Reference Consortium Human build 37 (GRCh37.p13), IC — internal control, 5' — UTR-5' untranslated region.

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с РС**Table 2. Clinical characteristics of the group of patients with multiple sclerosis**

Параметры	Русские (n=283)	Татары (n=264)
Возраст ($M \pm SD$), годы	40,6 $\pm$ 9,77	40,89 $\pm$ 9,75
Пол (% женщин)	66,8	66,7
Возраст начала заболевания ($M \pm SD$), годы	27,64 $\pm$ 8,9	27,53 $\pm$ 8,89
Продолжительность заболевания ($M \pm SD$), годы	13,17 $\pm$ 9,53	13,36 $\pm$ 9,93
Типы течения (%):		
ремиттирующий	36,9	43,7
первично-прогрессирующий	10,2	15,6
вторично-прогрессирующий	52,9	40,7
Клинические симптомы (%):		
расстройства чувствительности	17,1	12
глазодвигательные расстройства	4,9	4,4
двигательные расстройства	35	29,9
нарушения координации	18,6	18,7
сочетанные двигательные и координационные расстройства	4,2	6,4
симптомы поражения черепных нервов	2,7	2,8
ретробульбарный неврит/прочие	14,4	19,9
EDSS ($M \pm SD$), баллы	3	6
Скорость прогрессирования ($M \pm SD$), баллы/год	4,41 $\pm$ 1,56	4,46 $\pm$ 1,77
	0,73 $\pm$ 1,09	0,69 $\pm$ 0,89

В контрольную группу вошли 1177 практически здоровых лиц, не страдавших нейродегенеративными и иными хроническими заболеваниями. Средний возраст представителей группы контроля был равен 37,76 $\pm$ 10,88 года (медиана 38 лет). Принадлежность к той или иной этнической группе устанавливали по результатам анкетирования, которое включало вопросы об этнической принадлежности и месте рождения предков в трех поколениях.

ДНК выделяли из 8 мл цельной венозной крови с использованием стандартного фенольно-хлороформного метода. Генотипирование проводилось при помощи полиме-

разной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с использованием термоциклера T100™ («BioRad», США). Подбор олигонуклеотидных праймеров осуществлялся с применением пакета программ DNASTar v. 5.05 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Перечень анализируемых генетических вариантов, последовательности праймеров, рестриктазы, амплифицируемые фрагменты представлены в табл. 1. Полученные в результате амплификации и рестрикции фрагменты затем разделяли при помощи электрофореза в 2% агарозном геле и иден-

Таблица 3. Результаты анализа ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов с РС в этнической группе русских

Table 3. Results of the analysis of association between the studied polymorphic variants and multiple sclerosis in the Russian ethnic group

Ген, полиморфизм	Генотип	Контроль		Пациенты с РС		P_{HWE}	OR (95% CI)	p
		n	%	n	%			
<i>IL2</i> rs2069762	T/T	139	58,4	107	45,53	0,117	0,94 (0,721,23)	0,668
	G/T	66	27,73	102	43,4			
	G/G	33	13,87	26	11,06			
<i>PVT1</i> rs759648	A/A	176	59,86	126	56,76	0,231	1,16 (0,861,58)	0,336
	C/A	108	36,73	83	37,39			
	C/C	10	3,4	13	5,86			
<i>FAS</i> rs1800682	A/A	106	30,99	70	29,79	0,231	1,05 (0,831,32)	0,677
	G/A	159	46,49	108	45,96			
	G/G	77	22,51	57	24,26			
<i>CLEC16A</i> rs12708716	A/A	148	43,53	116	48,54	0,632	0,86 (0,671,10)	0,218
	G/A	149	43,82	99	41,42			
	G/G	43	12,65	24	10,04			

Примечание. Здесь и в табл. 4: n — численность, p — частота, P_{HWE} — уровень значимости для равновесия Харди—Вайнберга, OR — показатель соотношения шансов для минорного аллеля, 95% CI 95% доверительный интервал для показателя соотношения шансов, P — уровень значимости.

Note. Here and table 4: n — number, p — frequency, P_{HWE} — Hardy—Weinberg significance level, OR — odds ratio for the minor allele, 95% CI 95% confidence interval for the odds ratio, P — significance level. Statistically significant study results ($p < 0.05$) are denoted in bold.

тифицировали с помощью видеогельдокументирующей системы Mega-Bioprint 1100 («Vilber Lourmat», Франция).

Работа выполнялась в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, закрепленными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Все участники предоставили письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics v.21 и PLINK v1.07 [8]. Соответствие наблюдаемого распределения генотипов и аллелей исследуемых маркеров теоретически ожидаемому согласно закону Харди—Вайнберга проверяли при помощи теста Фишера. Ассоциации исследуемых полиморфных вариантов с РС анализировали методом логистической регрессии с применением аддитивной генетической модели, используя пол в качестве ковариаты. Аддитивная модель предполагает, что наличие двух копий аллеля, предрасполагающего к развитию заболевания, оказывает в 2 раза более выраженное влияние на фенотип, чем наличие одной копии. Метаанализ результатов исследования в двух этнических группах проводили с использованием модели со случайными эффектами и модели фиксированного эффекта. Относительный риск заболевания для носителей минорного аллеля вычисляли как показатель соотношения шансов (OR — odds ratio). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Клиническая характеристика группы пациентов с РС в зависимости от этнической принадлежности представлена в табл. 2. Средняя продолжительность заболевания в общей группе пациентов с РС на момент проведения исследования составляла $13,26 \pm 9,72$ года (медиана 12 лет), показатель инвалидизации по шкале EDSS достигал $4,48 \pm 1,54$ балла (от 1 до 8 баллов), скорость прогрессирования неврологического дефицита составила $0,71 \pm 0,99$ балла/год (медиана 0,38 балла/год). В группе русских наиболее часто на-

блюдался вторично-прогрессирующий тип течения заболевания (52,9%), в группе татар преобладал ремиттирующий тип течения (43,7%).

Наблюдаемое распределение частот генотипов исследуемых полиморфных маркеров в контрольной группе как среди русских, так и среди татар соответствовало теоретически ожидаемому согласно закону Харди—Вайнберга (табл. 3, 4). Проведение анализа ассоциаций исследуемых генетических маркеров с РС в группе татар позволило выявить ассоциацию с заболеванием аллеля *PVT1* rs759648*С (OR=1,42, 95%ДИ 1,05—1,92, $p=0,023$) (см. табл. 4). В группе русских ассоциаций исследуемых полиморфных маркеров с РС обнаружено не было. Метаанализ результатов исследования в двух этнических группах подтвердил наличие ассоциации с РС аллеля *PVT1* rs759648*С (модель со случайными эффектами и модель фиксированного эффекта: OR=1,29, $p=0,018$) (табл. 5).

Обсуждение

Мы провели репликативный анализ ассоциаций с РС полиморфных маркеров генов предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям, выявленных в ходе GWAS, в независимых выборках жителей Республики Башкортостан, русских и татар по этнической принадлежности. В результате выполненного исследования нам удалось подтвердить ассоциацию с РС полиморфного маркера *PVT1* rs759648, для которого ранее была продемонстрирована ассоциация с РС в GWAS с участием 41 505 лиц европейского происхождения (14 802 пациентов с РС, 26 703 лиц контрольной группы) [9]. Полученные нами результаты согласуются с данными GWAS в отношении аллеля риска по этому полиморфизму, хотя наблюдаемый нами эффект для аллеля *PVT1* rs759648*С несколько выше, чем тот, который был выявлен в GWAS (OR=1,08, 95%ДИ_{OR} 1,06—1,11, $P=5,05 \cdot 10^{-10}$ GWAS; OR=1,42, $P=0,023$ в группе татар, OR=1,29, $P=0,018$ метаанализ по двум этническим группам). Возможно, наблюдаемое снижение размера эффекта в GWAS обусловлено этнической гетерогенностью

Таблица 4. Результаты анализа ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов с РС в этнической группе татар

Table 4. Results of the analysis of association between the studied polymorphic variants and multiple sclerosis in the Tatar ethnic group

Ген, полиморфизм	Генотип	Контроль		Пациенты с РС		P _{HWE}	OR (95% CI)	p
		n	%	n	%			
IL2 rs2069762	T/T	121	44,81	79	37,26	0,68	1,22 (0,92±1,61)	0,160
	G/T	122	45,19	109	51,42			
	G/G	27	10	24	11,32			
PVT1 rs759648	A/A	165	62,5	111	53,62	1	1,42 (1,05±1,92)	0,023*
	C/A	88	33,33	79	38,16			
	C/C	11	4,17	17	8,21			
FAS rs1800682	A/A	72	26,28	51	23,83	1	1,0 (0,77±1,29)	0,980
	G/A	138	50,36	118	55,14			
	G/G	64	23,36	45	21,03			
CLEC16A rs12708716	A/A	145	54,51	112	51,38	0,417	1,21 (0,90±1,62)	0,202
	G/A	107	40,23	87	39,91			
	G/G	14	5,26	19	8,72			

Таблица 5. Метаанализ результатов исследования в двух этнических группах

Table 5. Metaanalysis of the study results in the two ethnic groups

Ген, полиморфизм	n-пациенты с РС/n-контроль	A1/A2	OR (R)	P (R)	OR (F)	P (F)
IL2 rs2069762	447/608	G/T	1,06	0,659	1,06	0,561
PVT1 rs759648	429/558	C/A	1,29	0,018	1,29	0,018
FAS rs1800682	449/616	G/A	1,03	0,710	1,03	0,710
CLEC16A rs12708716	457/606	G/A	0,99	0,953	0,98	0,796

Примечание. A1 — минорный аллель, A2 — аллель «дикого типа», P (R) — уровень значимости для модели со случайными эффектами; P (F) — уровень значимости для модели фиксированного эффекта; OR (R) — показатель соотношения шансов для модели со случайными эффектами; OR (F) — показатель соотношения шансов для модели фиксированного эффекта. Показатель соотношения шансов рассчитывался для минорного аллеля. Жирным шрифтом выделены результаты, достигавшие уровня статистической значимости ($p < 0,05$).

Note. A1 — minor allele, A2 — wild type allele, P (R) — significance level for the random effects model; P (F) — significance level for the fixed effect model; OR (R) — odds ratio for the random effects model; OR (F) — odds ratio for the fixed effect model. Odds ratio was calculated for the minor allele. Statistically significant results ($p < 0,05$) are denoted in bold.

группы исследования, которая включала жителей 11 стран, в том числе Бельгии, Дании, Финляндии, Франции, Германии, Италии, Норвегии, Швеции, Великобритании, а также представителей белого населения Австралии, Новой Зеландии и Соединенных Штатов Америки [9].

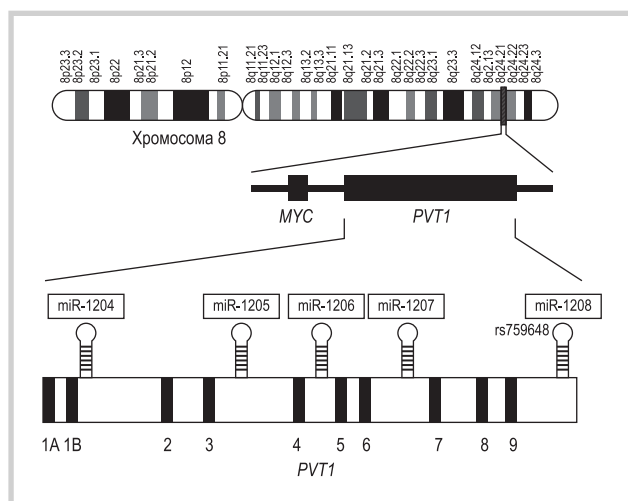
Ранее было обнаружено, что полиморфизм rs759648 влияет на степень STAT1-фосфорилирования у пациентов с РС, получавших терапию интерфероном-бета-1b, что указывает на активацию провоспалительных механизмов [10]. Кроме того, выявлена ассоциация rs759648 с микроструктурными особенностями белого вещества головного мозга [11]. Полиморфный вариант rs759648 находится в локусе *PVT1*, в регионе, где расположены еще несколько ассоциированных с РС полиморфных вариантов, неравновесно сцепленных с данным маркером. В частности, полиморфизм rs1861842, для которого найдена ассоциация с РС у афроамериканцев ($OR=1,30$, 95%ДИ_{OR} 1,14—1,48, $P=8,5 \cdot 10^{-5}$), сцеплен с rs759648 у европейцев ($r^2=0,4$), тогда как у лиц африканского происхождения сила наблюдаемого сцепления значительно снижена ($r^2=0,08$) [12]. Это позволяет предположить, что оба генетических маркера являются tag-SNP (т.е. тесно сцеплены с рядом других полиморфных вариантов, благодаря чему наследуются с ними совместно) у европейцев и отражают наличие в этой области генома функционального полиморфизма, связанного с развитием заболевания. Помимо этого, rs759648 находится в не-

равновесном сцеплении ($r^2=0,6$) с полиморфным вариантом rs2019960 в гене *PVT1*, для которого также обнаружена ассоциация с РС [13, 14].

Ген *PVT1* картирован на длинном плече хромосомы 8 (8q24) и при помощи альтернативного сплайсинга участвует в образовании ряда длинных некодирующих РНК (днкРНК), а также шести микроРНК: miR-1204, miR-1205, miR-1206, miR-1207-5p, miR-1207-3p и miR-1208 (см. рисунок) [15, 16]. ДнкРНК представляют собой транскрипты длиной более 200 п.н., не несущие информации о структуре белка и предположительно играющие важную роль в регуляции транскрипции и процессинге матричной РНК (мРНК), хотя конкретная биологическая роль большинства днкРНК в настоящее время остается неясной [17].

МикроРНК — это малые некодирующие молекулы РНК (размером 20—22 п.н.), которые участвуют в регуляции активности генов, связываясь со специфическими нуклеотидными последовательностями в мРНК и влияя на такие процессы, как пролиферация и дифференцировка клеток и апоптоз. МикроРНК могут модулировать работу иммунной системы, оказывая влияние на активацию иммунокомпетентных клеток, секрецию цитокинов и развитие иммунологической толерантности [18].

Помимо *PVT1*, хромосомный регион 8q24 включает хорошо известный онкоген MYC, причем в опухолевых клетках обнаруживалась совместная амплификация этих



Графическое изображение локуса PVT1.

Graphic representation of the PVT1 locus.

генов [19]. Увеличение количества копий гена *PVT1* отмечается при таких заболеваниях, как рак молочной железы, рак яичников, острый миелолейкоз, лимфогранулематоз, детская злокачественная астроцитома; тем не менее патофизиологические последствия нарушения регуляции локуса *PVT1* до сих пор окончательно неясны [20]. Было обнаружено, что в нормальных клетках в отличие от опухолевых *PVT1* выступает в качестве «ловушки», действуя как конкурентная эндогенная РНК и уменьшая количество микроРНК, доступной для связывания с мРНК [17]. Также продемонстрировано, что *PVT1* индуцирует ангиогенез путем активации *STAT3*-*VEGFA* сигнального пути, приводя тем самым к увеличению проницаемости гематоэнцефалического барьера, в том числе для иммунокомпетентных клеток, что может способствовать развитию РС [21].

Нами не найдено ассоциации других исследуемых маркеров с PC (см. табл. 3, 4). Ранее в GWAS были выявлены ассоциации полиморфных вариантов IL2 rs2069762, FAS rs1800682, CLEC16A rs12708716 с PC, а также другими

аутоиммунными заболеваниями, в том числе с сахарным диабетом 1-го типа, псориазом, болезнью Крона, неспецифическим язвенным колитом, анкилозирующим спондилитом, первичным склерозирующим холангитом [22—28]. Было также обнаружено, что аллель IL2 rs2069762*Т входит в состав сочетаний, ассоциированных с РС у башкир, проживающих в Республике Башкортостан [29]. Промонстрировано, что этот аллель связан с повышенной продукцией ИЛ-2 [30, 31]. Кроме того, аллель IL2 rs2069762*Т сцеплен с аллелем IL2 rs2069772*G, входящим в состав комбинаций, ассоциированных с повышенным риском РС у башкир, русских и татар из Республики Башкортостан [32]. Возможно, отсутствие ассоциаций данных полиморфных вариантов с РС, наблюдаемое в нашем исследовании, связано с влиянием межгенных взаимодействий, для детекции которых требуется проведение полигенного анализа.

Заключение

Нами обнаружена ассоциация полиморфизма *PVT1* rs759648 с РС в группах русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан. Полученные результаты, а также анализ данных литературы позволяют предположить, что участок генома, где расположен ген *PVT1*, является значимым для регуляции функционирования иммунной системы и развития воспаления в ЦНС. Необходимы дальнейшие исследования в этой области, чтобы прояснить роль гена *PVT1* в патогенезе РС.

Финансирование. Исследование частично поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (№17-44-020735р_а) и НИР №АААА-А16-116020350031-4; биологический материал (ДНК) для исследования взят из коллекции биологических материалов человека ИБГ УНЦ РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России; работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК» (ИБГ УФИЦ РАН).

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.**

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Harbo HF, Gold R, Tintoré M. Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013;6(4):237-248. <https://doi.org/10.1177/1756285613488434>
2. Browne P, Chandraratna D, Angood C, et al. Atlas of multiple sclerosis 2013: A growing global problem with widespread inequity. *Neurology*. 2014;83(11):1022-1024. <https://doi.org/10.1212/Wnl.0000000000000768>
3. Бахтиярова К.З., Гончарова З.А. Рассеянный склероз в Республике Башкортостан и Ростовской области: сравнительная эпидемиологическая характеристика. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2014;114(2):5-9. Bakhtiarova KZ, Goncharova ZA. Multiple sclerosis in the Bashkortostan Republic and the Rostov region: a comparative epidemiologic study. *Zhurnal Nevrologii i Psihiatrii im. S.S. Korsakova*. 2014;114(2 Pt 2):5-9. (In Russ.).
4. Friese MA, Schattling B, Fugger L. Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nature Reviews Neurology*. 2014;10(4):225-238. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.37>
5. Bashinskaya VV, Kulakova OG, Boyko AN, Favorov AV, Favorova OO. A review of genome-wide association studies for multiple sclerosis: classical and hypothesis-driven approaches. *Hum Genet*. 2015;134(11):1143-1162. <https://doi.org/10.1007/s00439-015-1601-2>
6. Favorova O, Bashinskaya V, Kulakova O, Favorov A, Boyko A. Genome-wide association study as a method to analyze the genome architecture in polygenic diseases, with the example of multiple sclerosis. *Mol Biol*. 2014;48(4):496-507. <https://doi.org/10.1134/S0026893314040037>
7. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *The Lancet Neurology*. 2018;17(2):162-173. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30470-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30470-2)
8. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet*. 2007;81(3):559-575. <https://doi.org/10.1086/519795>

9. Beecham AH, Patsopoulos NA, Xifara DK, et al. Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet.* 2013;45(11):1353-1360. <https://doi.org/10.1038/ng.2770>
10. Kotelnikova E, Kiani NA, Messinis D, et al. MAPK pathway and B cells overactivation in multiple sclerosis revealed by phosphoproteomics and genomic analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2019;116(19):9671. <https://doi.org/10.1073/pnas.1818347116>
11. Ikram MA, Vernooij MW, Roshchupkin GV, et al. Genetic susceptibility to multiple sclerosis: Brain structure and cognitive function in the general population. *Multiple Sclerosis Journal.* 2016;23(13):1697-1706. <https://doi.org/10.1177/1352458516682104>
12. Isobe N, Madireddy L, Khankhanian P, et al. An ImmunoChip study of multiple sclerosis risk in African Americans. *Brain.* 2015;138(6):1518-1530. <https://doi.org/10.1093/brain/awv078>
13. Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature.* 2011;476(7359):214-219. <https://doi.org/10.1038/nature10251>
14. Sorosina M, Brambilla P, Clarelli F, et al. Genetic burden of common variants in progressive and bout-onset multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal.* 2014;20(7):802-811. <https://doi.org/10.1177/1352458513512707>
15. Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, et al. Amplification of PVT-1 is involved in poor prognosis via apoptosis inhibition in colorectal cancers. *Br J Cancer.* 2014;110(1):164-171. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.698>
16. Huppi K, Volfovsky N, Runfola T, et al. The Identification of MicroRNAs in a Genomically Unstable Region of Human Chromosome 8q24. *Mol Cancer Res.* 2008;6(2):212. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-0105>
17. Conte F, Fiscon G, Chiara M, Colombo T, Farina L, Paci P. Role of the long non-coding RNA PVT1 in the dysregulation of the ceRNA-ceRNA network in human breast cancer. *PLoS One.* 2017;12(2): 56-61. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171661>
18. Mohammed EM. Environmental Influencers, MicroRNA, and Multiple Sclerosis. *Journal of Central Nervous System Disease.* 2020;12:1179573519894955. <https://doi.org/10.1177/1179573519894955>
19. Shtivelman E, Bishop JM. The PVT gene frequently amplifies with MYC in tumor cells. *Mol Cell Biol.* 1989;9(3):1148. <https://doi.org/10.1128/MCB.9.3.1148>
20. Barsotti AM, Beckerman R, Laptchenko O, Huppi K, Caplen NJ, Privet C. p53-Dependent induction of PVT1 and miR-1204. *J Biol Chem.* 2012;287(4):2509-2519. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.322875>
21. Zhao J, Du P, Cui P, et al. LncRNA PVT1 promotes angiogenesis via activating the STAT3/VEGFA axis in gastric cancer. *Oncogene.* 2018;37(30):4094-4109. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0250-z>
22. Plagnol V, Howson JM, Smyth DJ, et al. Genome-wide association analysis of autoantibody positivity in type 1 diabetes cases. *PLoS Genet.* 2011;7(8):e1002216. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002216>
23. Ellinghaus D, Jostins L, Spain SL. Analysis of five chronic inflammatory diseases identifies 27 new associations and highlights disease-specific patterns at shared loci. *Nat. Genet.* 2016;48(5):510-518. <https://doi.org/10.1038/ng.3528>
24. Todd JA, Walker NM, Cooper JD, et al. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet.* 2007;39(7):857-864. <https://doi.org/10.1038/ng2068>
25. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, et al. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet.* 2009;41(6):703-707. <https://doi.org/10.1038/ng.381>
26. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, et al. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007;447(7145):661-678. <https://doi.org/10.1038/nature05911>
27. Zhang YQ, Shen X, Xiao XL, et al. Mitochondrial uncoupler carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone induces vasorelaxation without involving KATP channel activation in smooth muscle cells of arteries. *Br J Pharmacol.* 2016;173(21):3145-3158. <https://doi.org/10.1111/bph.13578>
28. Mero I, Ban M, Lorentzen ÅR, et al. Exploring the CLEC16A gene reveals a MS-associated variant with correlation to the relative expression of CLEC16A isoforms in thymus. *Genes Immun.* 2011;12(3):191-198. <https://doi.org/10.1038/gene.2010.59>
29. Nasibullin T, Tuktarova I, Erdman V, et al. Associations of polymorphic DNA markers with multiple sclerosis in ethnic group of Bashkirs. *Biomics.* 2018;10(3):319-326. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2018-40>
30. Hoffmann SC, Stanley EM, Darrin Cox E, et al. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation.* 2001;72(8):1444-1450. <https://doi.org/10.1097/00007890-200110270-00019>
31. Watanabe Y, Nunokawa A, Shibuya M, Kaneko N, Nawa H, Someya T. Association study of interleukin 2 (IL2) and IL4 with schizophrenia in a Japanese population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2008;258(7):422-427. <https://doi.org/10.1007/s00406-008-0813-z>
32. Timasheva YR, Zaplakhova OV, Nasibullin TR, et al. Association between Allelic Variants of IL2, IL2RA, and IL7R Genes and Multiple Sclerosis. journal article. *Russian Journal of Genetics.* 2019;55(4):487-494. <https://doi.org/10.1134/s1022795419030153>

Поступила 02.04.2020

Received 02.04.2020

Принята в печать 07.04.2020

Accepted 07.04.2020