

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ ICAM-1 и VCAM-1 В
ПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

Научный руководитель – к.м.н., доцент Тимашева Я.Р.^{1,2}

¹*Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии, г. Уфа*

²*Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа*

Инфильтрация иммунных клеток в ЦНС является одним из важнейших событий в развитии рассеянного склероза (РС). Молекулы адгезии, такие как молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) и молекула адгезии сосудистого эпителия 1 (VCAM-1), играют решающую роль в этом процессе и потенциально могут быть ответственны за генетическую предрасположенность к РС. Мы изучили связь РС с генетическими вариантами rs5498 гена ICAM1 и rs3917010 гена VCAM1 в этнических группах русских, татар и башкир (N=1490). В результате проведенного анализа выявлена ассоциация аллеля ICAM1 rs5498*G с повышенным риском РС в группе татар (OR=1.32, 95% CIOR (1.03-1.07, P=0.033)) и пониженным риском РС в группе башкир (OR=0.66, 95%CIOR 0.43-1.01, P=0.069). Аллель VCAM1 rs3917010*C ассоциирован с повышенным риском РС (OR=1.35, 95%CIOR 1.03-1.77, P=0.029), а аллель rs3917010*A с пониженным риском у русских. После введения поправки на множественность, значимая ассоциация с РС сохранялась только для аллеля ICAM1 rs5498*G у татар (PFDR=0.024). Таким образом, ген ICAM1 принадлежит к локусам-кандидатам, которые могут участвовать в восприимчивости и/или тяжести рассеянного склероза.

Ключевые слова: рассеянный склероз, аутоиммунное заболевание, молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), молекула адгезии сосудистого эпителия 1 (VCAM-1).

Vashchenko V.I.¹, Tuktarova I.A.¹, Nasibullin T.R.¹, Timasheva Y.R.^{1,2}

**THE DIAGNOSTIC VALUE OF ADHESIVE MOLECULES ICAM-1 AND VCAM-1 IN
THE PATHOGENESIS OF MULTIPLE SCLEROSIS**

Scientific Advisor – Candidate in Medicine, assistant professor Y.R. Timasheva^{1,2}

¹*Institute of Biochemistry and Genetics is a separate structural unit of the Federal State Budgetary Scientific Institution Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa*

²*Bashkir State Medical University, Ufa*

The infiltration of immune cells into the CNS is one of the most important events in the development of multiple sclerosis (MS). Adhesion molecules such as intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) and vascular epithelial adhesion molecule 1 (VCAM-1) play a critical role in this process and may potentially be responsible for genetic susceptibility to MS. We studied the association of MS with genetic variants rs5498 of the ICAM1 gene and rs3917010 of the VCAM1 gene in the ethnic groups of Russians, Tatars and Bashkirs (N=1490). The analysis revealed an association of the ICAM1 rs5498*G allele with an increased risk of MS in the Tatar group (OR=1.32, 95%CIOR 1.03-1.07, P=0.033) and a reduced risk of MS in the Bashkirs group (OR=0.66, 95%CIOR 0.43-1.01, P=0.069). The VCAM1 rs3917010*C allele is associated with an increased risk of MS (OR=1.35, 95%CIOR 1.03-1.77, P=0.029), and the rs3917010*A allele is associated with a reduced risk in Russians. After adjusting for multiplicity, a significant association with MS remained only for the ICAM1 rs5498*G allele in Tatars (PFDR=0.024). Thus, the ICAM1 gene belongs to candidate loci that may be involved in the susceptibility and/or severity of multiple sclerosis.

Keywords: multiple sclerosis, autoimmune disease, intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1).

Рассеянный склероз (РС) – хроническое воспалительное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, является наиболее частым нетравматическим инвалидизирующим заболеванием, поражающим молодых людей [3]. В последние годы наблюдается неуклонный рост числа заболевших РС, особенно среди молодых женщин. Основная причина РС и механизмы, лежащие в основе этого роста, остаются неясными, хотя сложные взаимодействия генов и окружающей среды почти наверняка играют значительную роль [1].

РС характеризуется наличием демиелинизированных бляшек или мультифокальных воспалительных поражений, вызванных аутореактивными иммунными клетками [2]. Инфильтрация воспалительных клеток в ЦНС считается одним из важнейших событий, приводящих к образованию демиелинизированных бляшек [5]. Иммунные клетки мигрируют через гематоэнцефалический барьер благодаря каскаду событий, которым способствуют молекулы адгезии [9]. Среди них заметную роль играют молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) и молекула адгезии сосудистого эпителия 1 (VCAM-1) [11].

Участие молекул ICAM-1 и VCAM-1 в патогенезе воспаления, а также аутоиммунных заболеваний делает полиморфизмы этих генов кандидатным генетическим фактором риска предрасположенности и/или тяжести рассеянного склероза [10].

Цель работы

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов rs5498 локуса ICAM1 и локуса rs3917010 VCAM1 с рассеянным склерозом в популяциях Волго-Уральского региона.

Материал и методы

В группу исследования вошли представители трех этнических групп из Республики Башкортостан (русские, татары и башкиры): 550 пациентов с РС и 940 практически здоровых лиц, не проявляющих признаков РС и других нейродегенеративных или аутоиммунных заболеваний. Количественное соотношение женщин и мужчин среди пациентов составляло 2:1. Все участники предоставили письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Геномную ДНК выделяли фенольно-хлороформным методом. Генотипирование осуществляли при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) с аллельспецифичными праймерами. Соответствие наблюдаемого распределения генотипов и аллелей теоретически ожидаемому согласно закону Харди-Вайнберга проверяли при помощи критерия χ^2 . Анализ ассоциаций с РС проводился методом логистической регрессии отдельно в группах русских, татар и башкир с использованием пола в качестве ковариаты при аддитивной генетической

модели с помощью программы PLINK 1.09. Ассоциацию с РС оценивали по показателю отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95%CI_{OR}). Сравнение распределения аллелей и генотипов проводили с помощью точного двустороннего теста Фишера. Результаты считали значимыми при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение. Распределение частот генотипов по генетическим вариантам ICAM1 rs5498 и VCAM1 rs3917010 среди контроля во всех трёх этнических группах находилось в соответствии с наличием равновесия законом Харди-Вайнберга. При анализе распределения частот генотипов rs5498 ICAM1 и rs3917010 VCAM1 в популяциях мира обнаружено, что контрольные группы русских, татар и башкир наиболее схожи с популяциями европейского происхождения. Распределение частот генотипов и аллелей в трех этнических группах представлено в табл.1.

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей в трех этнических группах

Башкиры							
VCAM1 rs3917010							
Генотип/ аллель	Контроль		РС		P	OR	95%CI _{OR}
	n	p±s _p (%) CI	n	p±s _p (%) CI			
AA	10	43.48±10.34 23.19 - 65.51	31	39.24±5.49 28.44 - 50.87	0.810	0.84	0.33 - 2.15
AC	12	52.17±10.42 30.59 - 73.18	38	48.1±5.62 36.71 - 59.64	0.815	0.85	0.34 - 2.15
CC	1	4.35±4.25 0.11 - 21.95	10	12.66±3.74 6.24 - 22.05	0.448	3.19	0.39 - 26.34
A	32	69.57±6.78 54.25 - 82.26	100	63.29±3.83 55.27 - 70.81	0.486	0.75	0.37 - 1.52
C	14	30.43±6.78 17.74 - 45.75	58	36.71±3.83 29.19 - 44.73	0.486	1.33	0.66 - 2.7
P _{HWE}	0.619						
ICAM1 rs5498							
AA	44	23.78±3.13 17.84 - 30.58	21	36.21±6.31 23.99 - 49.88	0.088	1.82	0.97 - 3.43
AG	104	56.22±3.65 48.75 - 63.48	30	51.72±6.56 38.22 - 65.05	0.550	0.83	0.46 - 1.5
GG	37	20±2.94 14.49 - 26.5	7	12.07±4.28 4.99 - 23.3	0.240	0.55	0.23 - 1.31
A	192	51.89±2.6 46.67 - 57.09	72	62.07±4.51 52.59 - 70.91	0.069	1.52	0.99 - 2.33
G	178	48.11±2.6 42.91 - 53.33	44	37.93±4.51 29.09 - 47.41	0.069	0.66	0.43 - 1.01
P _{HWE}	0.106						

Русские							
VCAM1 rs3917010							
Генотип/ аллель	Контроль		PC		P	OR	95%CI _{OR}
	n	p±s _p (%) CI	n	p±s _p (%) CI			
AA	159	56.79±2.96 50.76 - 62.67	123	48.43±3.14 42.13 - 54.76	0.057	0.71	0.5 - 1
AC	103	36.79±2.88 31.13 - 42.73	105	41.34±3.09 35.22 - 47.66	0.288	1.21	0.85 - 1.71
CC	18	6.43±1.47 3.85 - 9.97	26	10.24±1.9 6.8 - 14.64	0.118	1.66	0.89 - 3.11
A	421	75.18±1.83 71.38 - 78.7	351	69.09±2.05 64.87 - 73.09	0.029	0.74	0.57 - 0.97
C	139	24.82±1.83 21.3 - 28.62	157	30.91±2.05 26.91 - 35.13	0.029	1.35	1.03 - 1.77
P _{HWE}	0.873						
ICAM1 rs5498							
AA	146	30.23±2.09 26.16 - 34.54	53	28.04±3.27 21.76 - 35.02	0.639	0.9	0.62 - 1.31
AG	251	51.97±2.27 47.41 - 56.5	103	54.5±3.62 47.11 - 61.74	0.606	1.11	0.79 - 1.56
GG	86	17.81±1.74 14.5 - 21.51	33	17.46±2.76 12.33 - 23.64	1	0.98	0.63 - 1.52
A	543	56.21±1.6 53.02 - 59.37	209	55.29±2.56 50.12 - 60.38	0.760	0.96	0.76 - 1.22
G	423	43.79±1.6 40.63 - 46.98	169	44.71±2.56 39.62 - 49.88	0.760	1.04	0.82 - 1.32
P _{HWE}	0.267						
Татары							
VCAM1 rs3917010							
Генотип/ аллель	Контроль		PC		P	OR	95%CI _{OR}
	n	p±s _p (%) CI	n	p±s _p (%) CI			
AA	146	50.87±2.95 44.93 - 56.79	122	56.22±3.37 49.34 - 62.93	0.242	1.24	0.87 - 1.77
AC	114	39.72±2.89 34.02 - 45.64	74	34.1±3.22 27.82 - 40.82	0.227	0.79	0.55 - 1.14
CC	27	9.41±1.72 6.29 - 13.39	21	9.68±2.01 6.09 - 14.41	1	1.03	0.57 - 1.88
A	406	70.73±1.9 66.82 - 74.43	318	73.27±2.12 68.84 - 77.38	0.397	1.13	0.86 - 1.49
C	168	29.27±1.9 25.57 - 33.18	116	26.73±2.12 22.62 - 31.16	0.397	0.88	0.67 - 1.16
P _{HWE}	0.478						

ICAM1 rs5498							
AA	167	37.19±2.28 32.71 - 41.85	42	24.71±3.31 18.42 - 31.89	0.003	0.55	0.37 - 0.82
AG	202	44.99±2.35 40.32 - 49.72	96	56.47±3.8 48.67 - 64.05	0.012	1.59	1.11 - 2.27
GG	80	17.82±1.81 14.39 - 21.68	32	18.82±3 13.25 - 25.52	0.815	1.07	0.68 - 1.69
A	536	59.69±1.64 56.4 - 62.92	180	52.94±2.71 47.48 - 58.35	0.033	0.76	0.59 - 0.98
G	362	40.31±1.64 37.08 - 43.6	160	47.06±2.71 41.65 - 52.52	0.033	1.32	1.03 - 1.7
P _{HWE}	0.170						

В результате проведения анализа ассоциаций с РС генетического варианта rs5498 гена ICAM1 в этнических группах русских, татар и башкир выявлено, что аллель ICAM1 rs5498*G ассоциирован с повышенным риском РС в группе татар (OR=1.32, 95% CIOR(1.03-1.07, P=0.033)) и пониженным риском РС в группе башкир (OR=0.66, 95%CIOR0.43-1.01, P=0.069). После введения поправки на множественность, значимая ассоциация с РС сохранялась только для аллеля ICAM1 rs5498*G у татар (PFDR=0.024).

Таким образом, согласно результатам проведенного нами исследования, генетический вариант rs5498 гена ICAM1 значимо ассоциирован с РС у татар. Данный вариант локализован на С-конце Ig-подобного домена 5, кодируемого экзоном 6 гена ICAM1 и приводит к замене лизина на глутаминовую кислоту в 469 позиции аминокислотной последовательности молекуле предшественника ICAM-1 [15].

ICAM-1 K469E расположен на три основания выше сайта сплайсинга ICAM-1 мРНК, который влияет на паттерны сплайсинга РНК [6]. Этот регион, по-видимому, особенно важен для димеризации ICAM-1 [9]. По сравнению с мономерами ICAM-1, димеры ICAM-1 проявляют повышенное связывание с белком-1, связанным с функцией лимфоцитов, следовательно, аминокислотный обмен может уменьшить димеризацию ICAM-1 и, в свою очередь, привести к снижению связывания с рецептором интегрин, что влияет на функцию ICAM-1 [4]. Так же считается, что Ig-подобный домен 5 влияет на адгезию В-клеток, опосредованную ICAM-1 на поверхности В-клеток [12]. Также было высказано предположение, что димеризация ICAM-1 коррелирует с усиленным связыванием с функцией лимфоцитов-1 (LFA-1) [7,13].

По данным полногеномного ассоциативного исследования (GWAS), проведенного в группе 22435 здоровых женщин европейского происхождения, вариант rs5498 гена ICAM1 ассоциирован с уровнем растворимого ICAM-1, [8]. ICAM-1 опосредует воспаление и способствуют миграции лейкоцитов во время воспаления, тем самым играя решающую роль

в обеспечении прочной адгезии лейкоцитов к эндотелиальным клеткам и соответственно связан с развитием аутоиммунных заболеваний, например, РС [14].

Заключение и выводы

Согласно полученным данным, вариант rs5498 гена ICAM1 связан с повышенным риском развития РС. Данный вариант приводит к замене аминокислот и может иметь значительный функциональный эффект. Необходимы дальнейшие исследования для прояснения роли ICAM-1 в патогенезе РС и разработки информативных прогностических биомаркеров заболевания, что позволит своевременно персонализировать лечение у отдельных пациентов РС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dobson, R., Giovannoni, G. (2018). Multiple Sclerosis - a review. *European Journal of Neurology*. doi:10.1111/ene.13819.
2. Garg, N., Smith, T. W. (2015). An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. *Brain and Behavior*, 5(9), doi:10.1002/brb3.362.
3. Jakimovski, D., Bittner, S., Zivadinov, R., Morrow, S.A., Benedict, R.H., Zipp, F., Weinstock-Guttman, B. (2024). Multiple sclerosis. *Lancet*. 403(10422):183-202. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01473-3.
4. Mi, W., Xia, Y., Bian, Y. (2019). The influence of *ICAM1* rs5498 on diabetes mellitus risk: evidence from a meta-analysis. *Inflammation Research*. doi:10.1007/s00011-019-01220-4.
5. Hauser, S.L., Cree, B.A.C. (2020). Treatment of Multiple Sclerosis: A Review. *Am J Med*. 133(12):1380-1390.e2. doi: 10.1016/j.amjmed.2020.05.049.
6. Nejentsev, S., Laaksonen, M., Tienari, P. J., Fernandez, O., Cordell, H., Ruutinen, J. (2003). Intercellular adhesion molecule-1 K469E polymorphism: study of association with multiple sclerosis. *Human Immunology*, 64(3), 345-349. doi:10.1016/s0198-8859(02)00825-x.
7. Olek, M.J. (2021). Multiple Sclerosis. *Ann Intern Med*. 174(6). doi: 10.7326/AITC202106150.
8. Paré, G., Ridker, P.M., Rose, L., Barbalic, M., Dupuis, J., Dehghan, A. (2011). Genome-wide association analysis of soluble ICAM-1 concentration reveals novel associations at the *NFKB1K*, *PNPLA3*, *RELA*, and *SH2B3* loci. *PLoS Genet*. 7(4). doi: 10.1371/journal.pgen.1001374.
9. Peterson, J. W., Bö, L., Mörk, S., Chang, A., Ransohoff, R. M., Trapp, B. D. (2002). VCAM-1-positive microglia target oligodendrocytes at the border of multiple sclerosis lesions. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 61(6), 539-546. doi:10.1093/jnen/61.6.539/
10. Rodríguez, M.S., Farez, M.F., Quintana, F.J. (2022). The Immune Response in Multiple Sclerosis. *Annu Rev Pathol*. 17:121-139. doi: 10.1146/annurev-pathol-052920-040318.
11. Shawkatová, I., Javor, J., Párnická, Z., Bucová, M., Čopíková-Cudráková, D., Michalík, J. (2017). Analysis of *ICAM1* gene polymorphism in Slovak multiple sclerosis patients. *Folia Microbiologica*, 62(4), 287-293. doi:10.1007/s12223-017-0499-6.
12. Singh, V., Kaur, R., Kumari, P., Pasricha, C. (2023). *ICAM-1* and *VCAM-1*: Gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders. *Clin. Chim. Acta*. 548:117487. doi: 10.1016/j.cca.2023.117487.
13. Ward, M., Goldman, M.D. (2022). Epidemiology and Pathophysiology of Multiple Sclerosis. *Continuum (Minneapolis)*. 28(4):988-1005. doi: 10.1212/CON.0000000000001136.

14. Cheng D, Liang B. (2015). Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) Polymorphisms and Cancer Risk: A Meta-Analysis. Iran J Public Health. 615-24.
15. Iwao, M., Morisaki, H., Morisaki, T. (2004). Single-nucleotide polymorphism g.1548G>A (E469K) in human *ICAM1* gene affects mRNA splicing pattern and TPA-induced apoptosis. Biochemical and Biophysical Research Communications, 317(3), 729–735. doi:10.1016/j.bbrc.2004.03.101

Сведение об авторах статьи:

1. **Ващенко Валерия Игоревна** – аспирант лаборатории физиологической генетики, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71, лит. 1Е.
2. **Тимашева Янина Римовна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, доцент, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71, лит. 1Е.
3. **Туктарова Ильсияр Авхатовна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71, лит. 1Е.
4. **Насибуллин Тимур Русланович** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71, лит. 1Е.