

Клинический и молекулярно-генетический анализ случая семейного рассеянного склероза в Республике Башкортостан

О.В. ЗАПЛАХОВА^{1,2}, Я.Р. ТИМАСHEВА¹, К.З. БАХТИЯРОВА², И.А. ТУКТАРОВА¹, О.Е. МУСТАФИНА¹

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; ²Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Цель исследования. Изучение клинических проявлений рассеянного склероза (РС) и молекулярно-генетических особенностей у членов одной семьи. **Материал и методы.** Обследовали 6 членов семьи (различной степени родства) русской этнической принадлежности. Составлена родословная и проведено генотипирование по полиморфным маркерам генов-кандидатов РС. **Результаты и заключение.** Выявлено накопление в семье аллелей, ассоциированных с аутоиммунными заболеваниями по данным полногеномных исследований (rs1109670*С, rs3129934*Т, rs9523762*G, rs1570538*Т). Считают, что полученные данные подтверждают возможность обусловленности семейных форм РС несколькими генетическими вариантами.

Ключевые слова: рассеянный склероз, семейный случай рассеянного склероза, гены-кандидаты, полногеномные ассоциативные исследования.

Clinical and molecular genetic analysis of a case of familial multiple sclerosis in the Republic of Bashkortostan

O.V. ZAPLAKHOVA, YA.R. TIMASHEVA, K.Z. BAKHTIYAROVA, I.A. TUKTAROVA, O.E. MUSTAFINA

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre of Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia; Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Objective. To investigate clinical manifestations of multiple sclerosis (MS) and the genetic makeup of six affected members of one family. **Material and methods.** Six members of the family of Russian ethnic origin were examined. Pedigree analysis and genotyping of polymorphic markers of candidate genes for multiple sclerosis were performed. **Results and conclusion.** The accumulation of alleles that were associated with autoimmune diseases according to the results of genome-wide association studies (rs1109670*С, rs3129934*Т, rs9523762*G, rs1570538*Т) was found in the family. The results confirm the contribution of several genetic variants to familial forms of MS.

Keywords: multiple sclerosis, familial multiple sclerosis, candidate genes, GWAS.

Введение

Рассеянный склероз (РС) — это хроническое аутоиммунное заболевание, которое характеризуется развитием воспаления, потерей миелина и последующим аксональным повреждением центральной нервной системы (ЦНС) [1]. Принято считать, что возникновение и развитие заболевания обусловлено сочетанием средовых и генетических факторов.

Существование семейных случаев РС свидетельствует о наследственной природе заболевания. Первые упоминания о семейных формах РС встречаются в конце XIX века в работах Ж. Шарко. В середине XX века J. Kurtzke [2] выделил среди пациентов с РС группу с отягощенным семейным анамне-

зом. Случай РС определялся как семейный при наличии у пациента как минимум одного родственника любой степени с данным заболеванием. Семейные варианты заболевания составляют от 2 до 5% всех случаев [3]. На развитие семейной формы РС в значительной мере могут влиять и общие для членов семьи факторы среды (наличие инфекционного агента, особенности питания и пр.), тем более что при семейных случаях РС заболевают чаще всего представители одного поколения. В то же время роль наследственных факторов подтверждают результаты исследований частоты возникновения заболевания у приемных детей пациентов с РС. Риск развития заболевания у таких детей значительно меньше, чем у родных детей больных РС, и практи-

чески равен риску РС в популяции [4]. Результаты исследований с использованием близнецового метода также свидетельствуют о значительной роли генетических факторов в развитии РС. Величина относительного риска заболевания для родственников больных РС в 20—50 раз, а для монозиготных близнецов в 300 раз превышает среднепопуляционный риск [5—7]. Конкордантность по РС у монозиготных близнецов выше, чем у дизиготных (25—30% по сравнению с 3%), в то время как для дизиготных близнецов риск развития РС лишь незначительно превосходит таковой у обычных сиблингов [8, 9]. В ряде работ было продемонстрировано систематическое снижение относительного риска при увеличении генетической дистанции по отношению к пробанду [9, 10].

К настоящему времени нет убедительных данных о клинических различиях семейных и спорадических случаев РС ни по времени дебюта, ни по длительности первой ремиссии, ни по скорости прогрессирования заболевания [11—13]. Отмечается более ранний дебют РС у пациентов с семейными случаями, а также у родственников младших поколений [11—14]. В то же время сходное клиническое течение заболевания прослеживается у родных братьев и сестер, но не у родителей и детей [11]. Общеизвестно, что женщины страдают РС приблизительно в 2 раза чаще, чем мужчины, а при семейных случаях преобладание среди заболевших женщин еще более значительное (в 5—6 раз) [15]. Результаты, полученные в крупном исследовании популяции канадцев, также свидетельствуют о повышенной (в 3,8 раза) частоте передачи РС по материнской линии, что подтверждается сравнениями частот заболеваемости РС у полусибсов по отцу и по матери, а также у родственников второй степени [16—18]. Феномен передачи по материнской линии объясняется взаимодействием предрасполагающих генетических особенностей с факторами, влияющими на организм во время внутриутробного развития, а также материнским эффектом цитоплазмы в результате эпигеномных модификаций [19].

Передача РС по отцовской линии обнаруживается реже [20]. Это объясняют эффектом Картера, который проявляется в том, что у потомков пробандов редко поражаемого пола чаще развивается наследственно обусловленное заболевание вследствие их более высокой генетической отягощенности аллелями риска [21]. Подтверждением возможного влияния эффекта Картера можно считать повышение риска развития РС у сыновей отцов, страдающих этим заболеванием, по сравнению с сыновьями матерей с РС [22]. Встречаются также упоминания о равных рисках развития заболевания у лиц с отягощенной наследственностью по материнской и отцовской линии [22, 23].

В настоящее время актуальным является поиск генов-кандидатов, связанных с развитием семейных

случаев РС. Пока отсутствуют достоверные сведения о различии генетических основ семейных и спорадических форм РС. Результаты анализа ассоциаций с РС полиморфных вариантов генов *IL2RA* и *IL7RA* с учетом наследственной отягощенности в популяции канадцев позволили сделать предположение о неоднородности эффектов исследуемых SNP при семейных и спорадических случаях заболевания [24]. Многообещающим подходом при изучении генетических особенностей семейных случаев РС является метод «генетической нагрузки» («genetic burden»), позволяющий оценить совместный вклад нескольких генетических маркеров, расположенных на одной или разных хромосомах, в формирование предрасположенности к заболеванию. Результаты подобных исследований подтверждают накопление отдельных аллелей риска. В частности, была обнаружена агрегация ассоциированных с развитием РС генотипов полиморфных локусов генов *IL2RA*, *IL7R*, *CD58*, *EVI5*, *KIAA0350* в семьях с множественными случаями РС [25]. В другом исследовании при анализе полиморфных вариантов в 16 генах была также продемонстрирована более высокая встречаемость маркеров предрасположенности к РС у пациентов с наследственной отягощенностью [26].

Изучение семейных форм РС в Республике Башкортостан (РБ) проводится с 2000 г. В 2006 г. было установлено, что 27 из зарегистрированных на тот момент 640 пациентов с РС имели одного родственника и более, страдающего этим заболеванием. Семейный риск повторяемости заболевания составил 2,6%, общий риск повторяемости РС — 4,2% [27]. К 2014 г. общая численность пациентов в регистре Республиканского центра рассеянного склероза (РЦРС) достигла 1145 человек, из них лиц с отягощенной наследственностью по РС — 70 человек в 48 семьях, семейный риск повторяемости — 4,3%, общий риск повторяемости РС — 6,5%. Ранее было показано, что при увеличении времени наблюдения за семьями пациентов с РС (до 35 лет) семейный риск повторяемости может увеличиться до 36% [28]. Аналогичная тенденция прослеживается при анализе семейных случаев РС в РБ.

В настоящем исследовании представлен редкий случай семейной формы РС в регионе — семья русских, в которой заболеванием поражены 6 родственников в разных поколениях.

Цель работы — изучение клинических особенностей течения и поиск полиморфных маркеров генов риска развития РС в семье с несколькими случаями рассеянного склероза.

Материал и методы

Исследование выполнено в соответствии с этическими принципами проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта,

Таблица 1. Тип полиморфизма, последовательности праймеров и номенклатура аллелей полиморфных ДНК-локусов

Ген (хромосомная локализация)	Полиморфизм (локализация)	Праймеры Рестриктаза	Размер фрагментов, п.о.
<i>HLA-DRB1</i> (<i>C6orf10</i>) 6p21.32	rs3129934	F 5'-gcc tca tac caa tcc tgt gct-3'	T 303
	g.32336187T>C интрон	R 5'-ctg agg ctc cct tca gat gc-3' <i>Rsr2I</i>	C 168_135
<i>ASAP2/MBOAT2</i> 2p25.1	rs1109670	F 5'-agc aca gct agg gac gta gg-3'	Аллель 170
	g.9250038C>A межгенный	R 5'-gaa agc ata ggt ccc cct cg-3' A 5'-cgt ctg tta ggc ttt ttc cag ta-3' C 5'-cgt ctg tta ggc ttt ttc cag tc-3'	БК 264
<i>GPC5</i> 13q31.3	rs9523762	F 5'-aca ctt tca gag agc aga ca-3'	G 121
	g.93331886G>A интрон 7	R 5'-ttg gaa ggg aac agg aaa cac a-3' <i>Sse9I</i>	A 56-65
<i>STAT3</i> 17q21.2	rs2293152	F 5'-ggc ccc cat tcc cac atc-3'	C 86_33_1
	g.40481529G>C интрон 13	R 5'-gga gct ccc ctt cac aaa-3' <i>MspI</i>	G 119_1
<i>IL7R</i> 5p13.2	rs10624573	F 5'-act gga ttc att ttg ttt g-3'	I_110
	g.35857481_35857482insAGAAG интрон 1	R 5'-gag gat ata gca ctg gtc a-3'	D_115
<i>IL7R</i> 5p13.2	rs1494558	F 5'-cag ctg cat gtt tgt tcc-3'	T 147_106
	g.35860966T>C (p.Ile66Thr) экзон 2	R 5'-cat att ctt tct ttt gtg g-3' <i>BstXI</i>	I 253
<i>NFKB1</i> 4q24	rs28362491	F 5'-gga ccg cat gac tct atc agc-3'	D 127
	g.103422155_103422158delATTG промотор	R 5'-ccg aat ccc aag ggc tgg ag-3'	I 131
<i>TYK2</i> 19p13.2	rs2304256	F 5'-cca ggc act tgt tgt cct gc-3'	БК 260
	g.10364976C>A (p.Val362Phe) экзон 8	C 5'-agg cca agg ctc aca agg cag-3' R 5'-tgc agg agg tat aaa cgg gc-3' A 5'-agg cca agg ctc aca agg cat-3'	Аллель 147
<i>IL2RA</i> 10p15.1	rs1570538	F 5'-atg ctg aac ttt ttg ata atg t-3'	C 143_138
	g.6053568C>T 3'UTR	R 5'-tct tga ggc cag gag ttt-3' <i>BshNI</i>	T 281
<i>IL2RA</i> 10p15.1	rs12722580	F 5'-ctt aca gct tcc att tta ttt-3'	D 281
	g.6064769_6064841del173 интрон 3	R 5'-act tgt gtt ttg gtc tca gg-3'	I 354
<i>IL2</i> 4q27	rs2069772	F 5'-agc ttc tgt gtt act atc att-3'	G 253
	g.123373133T>C интрон 3	R 5'-tgg ttg ctg tct cat cag-3' <i>VspI</i>	A 167_86
<i>JAK2</i> 9p24.1	rs10974944	F 5'-ctt gca gat gca gaa ccc g-3'	G 202
	g.5070831C>G интрон 12	R 5'-tgc tct taa atc tta acc ccc tt-3' <i>Ksp22I</i>	C 162_40

Примечание. ВК — внутренний контроль, аллель — аллель, идентифицируемый в соответствии с используемым аллельспецифичным праймером.

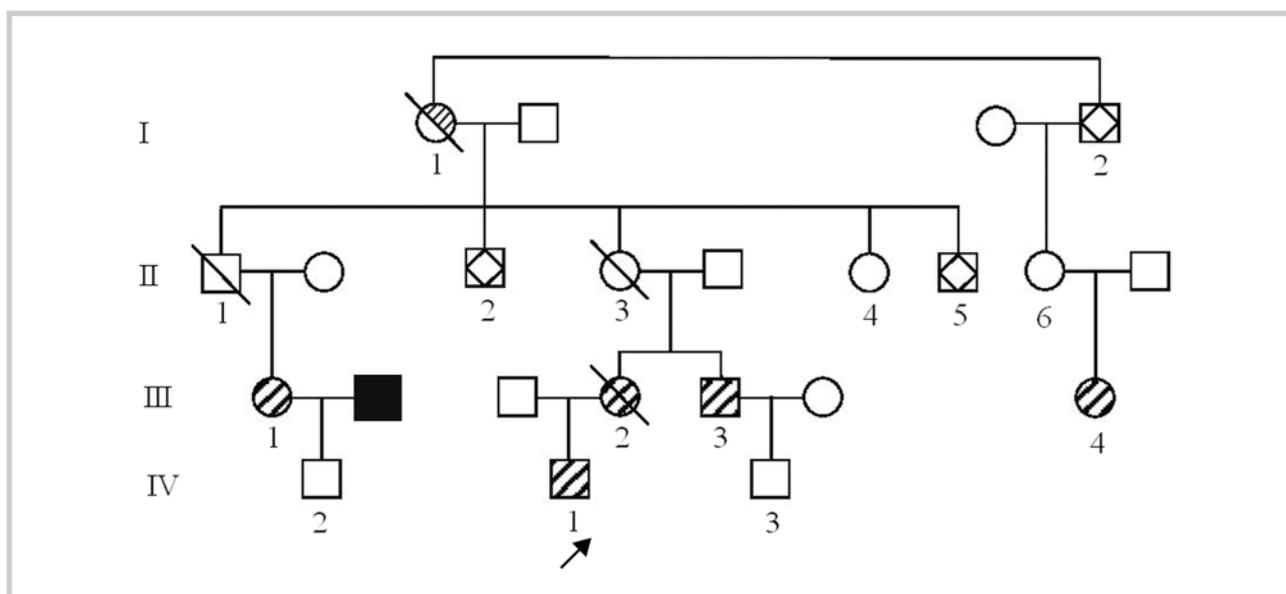
закрепленными в Хельсинкской декларации (2013), письменное информированное добровольное согласие было получено от всех участников.

Группа пациентов была отобрана из числа лиц, состоящих на учете в РЦРС. Диагноз РС устанавливался согласно критериям МакДоналда (2010).

ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции из 4 мл цельной венозной крови [29]. Для молекулярно-генетического анализа были доступны образцы ДНК всех 6 страдающих РС членов семьи, за исключением прабабушки. Генотипирование проводили с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Олигонуклеотидные праймеры подбирали с использованием пакета программ

DNASStar v. 5.05 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>). Перечень маркеров, последовательности праймеров, рестриктазы, амплифицируемые фрагменты представлены в **табл. 1**. Полученные в результате амплификации и рестрикции фрагменты разделяли при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном или 2% агарозном геле и идентифицировали с помощью видеогельдокументирующей системы Mega-Bioprint 1100 («Vilber Lourmat», Франция).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета компьютерных программ IBM SPSS Statistics 21.0. Относительный риск заболевания у носителей определенного аллеля или генотипа вычисляли как показатель соотношения шансов (OR).



Родословная семьи.

↗ — пробанд, ◊ — отсутствует информация, \ — умерший, □ — здоровый мужчина, ○ — здоровая женщина, ▨ — больной, ▩ — вероятное заболевание.

Обозначения: VI-1 — пациент Н. (пробанд) 1981 г.р., III-2 — пациентка Ч. (мать пробанда), 1961 г.р., III-3 — пациент М. (дядя пробанда — родной брат матери), 1965 г.р., III-1 — пациентка Б. (двоюродная тета пробанда со стороны матери, дочь родного брата бабушки пробанда), III-4 — пациентка Ш. 1969 г.р., троюродная тета пробанда со стороны матери, I-1 — прабабушка пробанда со стороны матери, 1916 г.р.

Результаты

Наблюдение членов семьи, страдающих РС, из которых у 2 достоверный диагноз заболевания был установлен впервые, ведется в РЦРС с 2000 г. Были проведены тщательный сбор анамнеза и изучение медицинской документации, что позволило составить родословную (см. рисунок).

Пробанд (IV-1), 1981 года рождения. На момент осмотра (декабрь 2015 г.) предъявлял жалобы на общую слабость и быструю утомляемость. В 2006 г. его в течение 2 нед беспокоила слабость в ногах, которая прошла без лечения. В 2009 г. появились сильное головокружение, рвота, онемение левой половины лица. На МРТ головного мозга были выявлены множественные зоны патологического МР-сигнала в белом веществе больших полушарий мозга перивентрикулярной локализации, из которых несколько накапливали контраст. Пациенту был установлен диагноз РС в стадии обострения. Оценка выраженности неврологического дефицита по шкале EDSS составила 3 балла. Полный регресс неврологической симптоматики наступил после пульс-терапии глюкокортикостероидами (ГКС). В начале 2010 г. появилось головокружение и двоение в глазах. Симптоматика также регрессировала после пульс-терапии ГКС. С 2010 г. по настоящее время пациент получает препараты, изменяющие течение РС (ПИТРС). Обострений заболевания, а также активности процесса по результатам МРТ зафиксиро-

вано не было. Таким образом, в течение 6 лет пациент стабилен на проводимой терапии. В неврологическом статусе выявляются легкая асимметрия лица, оживление сухожильных и периостальных рефлексов, легкая неустойчивость в позе Ромберга при закрытых глазах, интенция при выполнении координационных проб, легкое снижение вибрационной чувствительности в ногах. Билатерально вызывается рефлекс Бабинского. Снижены брюшные рефлексы. Функция тазовых органов не нарушена. Оценка степени тяжести по шкале EDSS составляет 1,5 балла. В общем и биохимическом анализе крови и мочи за время наблюдения за пациентом отклонений выявлено не было.

Мать пробанда (III-2), 1961 года рождения, русская, уроженка Башкортостана. Дебют заболевания произошел в 1989 г. в возрасте 28 лет, при этом отмечались головокружение, шаткость при ходьбе. Диагноз РС установлен в 1990 г. Прогрессирование заболевания началось в 1994 г., через 2 года оценка степени тяжести достигла 6 баллов по шкале EDSS (ходьба с односторонней поддержкой). Способность к самостоятельному передвижению была утрачена в 1998 г. При проведении МРТ головного мозга в 2002 г. выявлены множественные, местами сливающиеся очаги демиелинизации в белом веществе головного мозга, атрофические изменения. Проводилась метаболизирующая и симптоматическая терапия, ПИТРС не получала. С 2004 г. была прикована к постели, потеряв способность к само-

обслуживанию. Смерть наступила в 2008 г. от интеркуррентной инфекции.

Дядя пробанда (III-3), 1965 года рождения. В 1995 г. в возрасте 30 лет в течение 4 нед отмечал двоение в глазах и одностороннее снижение зрения справа. В 2008 г. появились слабость в ногах, выраженная шаткость при ходьбе и периодическое недержание мочи. На МРТ головного мозга выявлены множественные очаги в белом веществе головного мозга супра- и интратенториальной локализации, один очаг в шейном отделе спинного мозга. В клинических и биохимических анализах крови и мочи отклонений не выявлено. Был установлен клинически достоверный диагноз РС. Симптоматика частично регрессировала после курса пульс-терапии ГКС. Последнее обострение было в 2012 г. С 2012 г. пациент принимает 44 мкг интерферон-бета-1 α , на фоне лечения обострений и прогрессирования заболевания не отмечается. В неврологическом статусе выявляются билатеральный горизонтальный нистагм 2-й степени, легкий нижний центральный паразетез, оживление глубоких рефлексов, патологические рефлексы разгибательного типа, неустойчивость в позе Ромберга при открытых глазах, интенция при выполнении координационных проб, умеренное снижение вибрационной чувствительности в ногах, дисфункция тазовых органов (недержание мочи, ежедневные императивные позывы к мочеиспусканию). Передвигается самостоятельно, без поддержки может пройти более 500 м, активен более 12 ч в сутки. Оценка степени тяжести по шкале EDSS составляет 4,5 балла.

Двоюродная тетя пробанда (III-1), 1969 года рождения. Диагноз РС установлен в 1995 г. МРТ головного мозга проведена в 2006 г., выявлены множественные очаги в белом веществе головного мозга супратенториальной локализации, атрофические изменения головного мозга. Оценка степени тяжести по шкале EDSS достигла 6,5 балла в 2009 г. С 2010 г. пациентка проживает в другом регионе, осмотру в настоящее время недоступна. ПИТРС не получала. Имеет сына 1996 года рождения, в настоящее время клинически здорова.

Троюродная тетя пробанда, троюродная сестра матери пробанда, внучка родного брата прабабушки пробанда (III-4), 1959 года рождения. Дебют заболевания произошел в 1997 г. (слабость в правых конечностях, ретробульбарный неврит справа). В анамнезе — черепно-мозговая травма в 1995 г. Наблюдалась с диагнозом «церебральный арахноидит». Прогрессирование заболевания с 2004 г. — центральный умеренный тетрапарез, атактический синдром, дисфункция тазовых органов. В 2007 г. был назначен интерферон-бета-1 β (бетаферон), который пациентка принимала в течение года, но прием прекратила из-за выраженного гриппоподобного синдрома. Самостоятельно не передвигается с 2011 г. Про-

живает в другом регионе с 2011 г., непосредственному осмотру в настоящее время недоступна. В брак не вступала, детей нет.

Прабабушка пробанда (I-1), 1916 года рождения. Имела 5 детей, никто из которых не страдал РС. Возраст начала заболевания не известен. Двигательные нарушения (шаткость при ходьбе, слабость в конечностях) отмечались последние 10 лет жизни. Последние 3 мес жизни не могла передвигаться самостоятельно. Диагноз был установлен клинически. Умерла в 1970 г. в возрасте 54 лет. Причина смерти точно не известна, предположительно — интеркуррентная инфекция. Бабушка пробанда (II-3) умерла в 2009 г. от острого инфаркта миокарда, информацией о двух ее братьях, сестре и их потомках родственники не располагают.

Клинические особенности течения РС в изучаемой семье представлены в **табл. 2** и иллюстрируют описанные в литературе наиболее часто встречающиеся закономерности, такие как передача заболевания по материнской линии, более ранний дебют и доброкачественное течение у представителей младших поколений. Отмечается внутрисемейный клинический полиморфизм дебюта РС. Отсутствие клинических обострений и прогрессирования заболевания, а также активных очагов по данным МРТ у пробанда обусловлено, вероятно, своевременным назначением иммуномодулирующей терапии.

Семейные случаи РС, при которых заболеванием поражаются пять и более членов, встречаются редко. Сообщалось о семье, в которой РС страдали 15 членов в четырех поколениях. Результаты генетического картирования членов этой семьи по гену *HLA-DRB1* не выявили сцепления данного локуса с заболеванием, однако позволили установить, что аллель *DRB1*15* встречался с повышенной частотой у членов семьи, страдавших РС (79% против 38% у здоровых членов семьи и 30% в общей популяции) [30]. Проведение впоследствии анализа сцепления 681 микросателлитного маркера у 82 членов этой семьи не привело к обнаружению каких-либо иных генов, связанных с развитием заболевания [31]. Секвенирование экзона четырех членов этой семьи позволило идентифицировать полиморфизм rs5576244 (миссенс-мутация в экзоне 3 гена *TYK2*), ассоциированный с повышенным риском РС [32].

В настоящем исследовании для анализа были отобраны функционально значимые полиморфные варианты, расположенные в кодирующих или регуляторных областях генов, продукты которых вовлечены в патогенез РС (*TYK2* — ген тирозинкиназы 2, *GPC5* — ген глипикана 5, *JAK2* — ген янус-киназы 2, *STAT3* — ген сигнального белка-трансдуктора и активатора транскрипции 3, *NFKB1* — ген ядерного транскрипционного фактора κ B, *IL7R* — ген альфа-цепи рецептора интерлейкина-7, *IL2RA* — ген аль-

Таблица 2. Характеристика клинического течения РС в изученной семье

Член семьи	Пол	Возраст пациента к периоду манифестации РС, годы	Симптомы в дебюте РС	Тип течения	MPT	Диагноз РС	Терапия ПИТРС
VI-1	м	25	Нарушение координации, диплопия	Ремиттирующее	+	Достоверный	+
III-2	ж	28	Нарушение координации, слабость в ногах	Вторично-прогрессирующее	+	Достоверный	+
III-3	м	30	Диплопия, ретробульбарный неврит	Ремиттирующее	+	Достоверный	+
III-1	ж	26	Двоение в глазах	Вторично-прогрессирующее	+	Достоверный	+
III-4	м	36	Ретробульбарный неврит, гемипарез	Вторично-прогрессирующее	+	Достоверный	+
I-1	ж	<40	Неизвестен	Вторично-прогрессирующее	—	Вероятный	—

Таблица 3. Результаты генотипирования по аллельным вариантам генов-кандидатов аутоиммунных заболеваний

Ген	Аллель риска	OR (ДИ _{OR})	Пациент				
			III-1	III-2	IV-1	III-4	III-3
<i>TYK2</i>	rs2304256*C	1,68 (1,29—2,18) [66]	CC	CC	CC	CC	CC
<i>ASAP2 (DDEF2)</i>	rs1109670*C	1,38 (н.д.) [43]	CC	CC	CC	AC	CC
<i>JAK2</i>	rs10974944*G	2,7 (1,5—4,7) [64]	CG	CC	CC	CG	CC
<i>HLA-DRB1</i>	rs3129934*T	3,0 (1,8—5,0) [50]	CT	CT	CT	CT	CT
<i>NFKB1</i>	rs28362491*D	1,14 (1,00—1,31) [67]	DD	ID	DD	ID	ID
<i>GPC5</i>	rs9523762*G	1,23 (1,12—1,36) [45]	AG	AG	GG	AG	GG
<i>IL2</i>	rs2069772*A	1,51 (1,18—1,95) [39]	GA	GA	AA	GA	GA
<i>IL2RA</i>	rs12722580*D	1,70 (1,04—2,77) [68]	DD	II	II	ID	II
<i>IL2RA</i>	rs1570538*T	1,16 (1,01—1,33) [35]	TT	TT	TT	—	—
<i>IL7R</i>	rs1494558*T	1,52 (1,20—1,92) [68]	TC	TC	CC	TC	TC
<i>IL7R</i>	rs10624573*D	1,78 (1,21,—2,63) [68]	DD	ID	DD	ID	ID
<i>STAT3</i>	rs2293152*G	0,82 (н.д.) [57]	GG	CG	GG	GG	CG

Примечание. Полужирным шрифтом выделены полиморфные варианты, ассоциированные с РС по данным полногеномных исследований (GWAS); OR — показатель соотношения шансов; ДИ_{OR} — доверительный интервал, н.д. — нет данных. Для аллеля rs2069772*A гена *IL2* приведены значения OR в сочетании с rs2069776*T и rs2069762*C. Для аллеля rs12722580*D гена *IL2RA* приведены значения OR при гомозиготном носительстве.

фа-цепи рецептора интерлейкина-2, *IL2* — ген интерлейкина-2), а также полиморфных маркеров, для которых была выявлена ассоциация с РС в результате проведенных ранее GWAS (rs1109670, локализованный в промежутке между генами *DDEF2 (ASAP2)* и *MBOAT2*, и rs3129934, принадлежащий к участку *C6orf10* в области главного комплекса гистосовместимости *HLA-DRB1*) (см. табл. 1).

В табл. 3 представлены генотипы изученных полиморфных локусов в данной семье. У троих членов изученной нами семьи выявлен генотип T/T полиморфного варианта rs1570538 гена *IL2RA*, известного ранее как *CD25*. Известно, что взаимодействие *IL2/IL2RA(CD25)* играет важную роль в регуляции иммунного ответа. Содержание растворимой формы *IL2RA (sIL2RA)* повышено в сыворотке крови больных аутоиммунными и воспалительными заболеваниями [33]. В исследовании F. Matesanz и соавт.

[34] было обнаружено, что генотип T/T полиморфного варианта rs1570538 ассоциирован с РС в популяции испанцев ($n=759$). Поскольку rs1570538 расположен в некодирующей области на 3'-конце, было высказано предположение, что он может оказывать влияние на уровень экспрессии гена *IL2RA* и, следовательно, на количество регуляторных T-лимфоцитов, способствуя развитию аутоиммунной реакции против миелина и других компонентов нейронов, что влияет на прогрессирование и тяжесть заболевания. В расширенной выборке ($n=1725$) были подтверждены первоначально полученные результаты и обнаружено, что аллель rs1570538*C является протективным в отношении развития РС [35].

Был исследован полиморфизм rs12722580, обусловленный делецией фрагмента длиной 73 п.о. в интроне 3 гена *IL2RA*. Данный локус практически

не изучен, сведений об ассоциации его с РС или какими-либо другими заболеваниями в доступной литературе мы не обнаружили. Результаты анализа ассоциаций этого полиморфизма с РС у лиц русской этнической принадлежности, проживающих в РБ (276 больных РС, 342 представителя контрольной группы), продемонстрировали, что генотип D/D является маркером повышенного риска развития РС (OR=1,7, ДИ: 1,04—2,77, $p=0,034$), а гетерозиготный генотип, напротив, обладает протективным действием (OR=0,69, ДИ: 0,50—0,96, $p=0,031$). В исследуемой семье генотип rs12722580*D/D был обнаружен лишь у 1 из заболевших, как и генотип I/D; генотип I/I был идентифицирован у 3 членов семьи, включая пробанда. Таким образом, можно предполагать, что полиморфный вариант rs12722580 гена не является ключевым в определении наследственной предрасположенности к РС в данной семье.

IL2 играет важную роль в развитии иммунного ответа, контролируя процессы пролиферации и апоптоза Т- и В-лимфоцитов, естественных киллерных клеток и фагоцитов. IL2 обнаруживается в очагах демиелинизации головного мозга у больных РС [36]. Нами был изучен полиморфизм rs2069772, обусловленный заменой гуанина на аденин в 4518-й позиции (интрон 3) гена *IL2*. Данных об ассоциации этого локуса с РС нами не обнаружено; тем не менее было продемонстрировано наличие неравновесия по сцеплению ($D'=1,00$) между rs2069772 и rs2069762 (–330T>G), который расположен в промоторе гена *IL2* и оказывает влияние на уровень продукции IL2 в лимфоцитах [37, 38]. В связи с этим было высказано предположение о возможности использования данного SNP в качестве маркера при изучении наследственной предрасположенности к различным заболеваниям, в патогенезе которых принимает участие IL2. В то же время, по данным J. Shi и соавт. [39], в популяциях европейского и азиатского происхождения наблюдается различие в структуре блоков сцепления в данном локусе (у европейцев определяется крупный блок, содержащий исследуемый ген, а у азиатов — более мелкие группы сцепления). В исследуемой семье у пробанда нами был идентифицирован генотип rs2069772*A/A, остальные члены семьи, страдавшие РС, были носителями гетерозиготного генотипа. При проведении анализа ассоциаций данного локуса с РС в трех этнических группах жителей РБ, нами не выявлено связи rs2069772 с развитием заболевания. Таким образом, результаты нашего исследования не позволяют отнести rs2069772 к информативным маркерам РС в изученных этнических группах; однако с учетом наличия в генетической структуре популяций Волго-Уральского региона как европейского, так и азиатского компонентов нельзя исключать возможность существования других полиморфных вариантов гена, ассоциированных с развитием заболевания.

Ген *IL7R* кодирует рецептор IL-7, который взаимодействует с гамма-субъединицей рецептора IL-2 и образует комплекс, связываясь с которым, IL-7 реализует свои биологические эффекты. IL-7 играет фундаментальную роль в созревании Т-лимфоцитов, Т-клеточном гомеостазе, а также развитии и поддержании иммунологической толерантности [40]. У европейцев и жителей США европейского происхождения была выявлена ассоциация с РС полиморфного локуса rs1494558, связанного с заменой Т на С в экзоне 2 гена *IL7R*, приводящей к замещению изолейцина на треонин во внеклеточном домене белка IL7R. Найденная ассоциация, однако, не достигала уровня статистической значимости при введении поправки на множественные сравнения [41]. Данный SNP находится в тесном неравновесном сцеплении ($D'=0,97$) с полиморфизмом rs6897932, локализованным в области сайленсера сплайсинга в экзоне 6 гена *IL7R*, кодирующем мембранно-интегрированный домен рецептора IL-7 [40, 42]. Продемонстрировано, что аллель rs6897932*C связан с увеличением альтернативного сплайсинга и повышенной продукцией растворимой формы рецептора IL-7 [41]. Как следствие, у лиц с генотипом rs6897932*C/C отмечаются более высокие уровни циркулирующего IL-7R [41]. Результаты анализа ассоциаций полиморфизма rs1494558 гена с РС в популяции русских, проживающих в РБ, показали, что риск заболевания повышен у носителей генотипа Т/Т (OR=1,6, ДИ 1,05—2,43), а генотип С/С обладает протективным действием (OR=0,54, ДИ 0,38—0,77). У 4 членов исследуемой семьи обнаружен гетерозиготный генотип, у пробанда — генотип С/С. Протективное действие генотипа rs6897932*C/C может отчасти объяснять доброкачественное течение и отсутствие прогрессирования заболевания у пробанда.

Также нами был изучен полиморфизм rs10624573, связанный с инсерцией фрагмента AGAAG в интроне 1 гена *IL7R*. Все члены исследуемой семьи, страдающие РС, были носителями аллеля rs10624573*D; у 2, включая пробанда, определялся генотип rs10624573*D/D. Тем не менее, поскольку данный локус практически не изучен, сведения о его вкладе в развитие РС или каких-либо других заболеваний отсутствуют, сделать вывод о значении этого полиморфизма для развития заболевания в исследуемой семье не представляется возможным.

Полиморфизм rs1109670 локализован в межгенном пространстве, на расстоянии 250 тыс. п.о. от точки начала транскрипции гена мембраносвязанной доменсодержащей О-ацилтрансферазы 2 (также известной как лизофосфатидилхолин ацилтрансфераза 4) — фермента, участвующего в синтезе компонентов клеточных мембран (фосфолипидов), и на расстоянии 100 тысяч п.о. от гена *ASAP2*, кодирующего белок, содержащий SH3-домен, анкириновый

повтор и домен гомологии плекстрина. Этот белок присутствует в аппарате Гольджи, где он образует комплекс с тирозиновой протеинкиназой 2-бета и контролирует везикулярный транспорт. Ассоциация данного полиморфизма с РС впервые была обнаружена в полногеномном исследовании популяции европейцев, в котором приняли участие 978 пациентов с РС и 883 представителя контрольной группы [43]. Была предпринята попытка воспроизвести полученные результаты у жителей Австрии (883 больных РС и 336 лиц группы контроля), однако обнаруженная ассоциация не достигала уровня статистической значимости при введении поправки на множественное тестирование [44]. Аналогичная попытка репликации полученных результатов в испанской популяции (2863 пациента с РС, 2930 лиц группы контроля) также не увенчалась успехом [45]. Высказана гипотеза, что найденные ассоциации могут объясняться сцеплением с другим локусом, *KIDINS220* (Kinase D-Interacting Substrate, 220 kDa), продукт которого предположительно участвует в развитии РС, оказывая влияние на развитие и регенерацию нервных клеток [46]. В изученной семье 4 из 5 членов, страдающих РС, являлись гомозиготами по аллелю rs1109670*С, 1 был гетерозиготным носителем данного аллеля.

Ассоциация полиморфизма rs9523762 гена *GPC5* с РС была продемонстрирована в полногеномном исследовании популяции американцев (978 больных РС и 883 представителя группы контроля) и подтверждена затем в репликативных исследованиях в популяциях испанцев, афроамериканцев и корейцев [43, 45, 47]. Ген *GPC5* кодирует глипикан 5 — белок, который входит в состав гепарансульфат протеогликана и экспрессируется на поверхности клеток головного мозга. Глипикан 5 взаимодействует с различными факторами роста, влияя на процессы развития и восстановления нейронов. Сообщается о других полиморфных локусах в составе гена *GPC5*, ассоциированных с РС [48]. Нами обнаружено, что все члены исследуемой семьи являются носителями аллеля rs9523762*G, причем у пробанда этот аллель присутствует в гомозиготной форме. Таким образом, наши данные согласуются с результатами других исследований, свидетельствующих, что аллель rs9523762*G связан с повышенным риском РС.

Выявлено носительство аллеля rs3129934*Т у пробанда (VI-1) и всех его родственников, страдающих РС. Этот локус расположен вблизи области HLA класса II. Ассоциация аллеля rs3129934*Т с РС была обнаружена в результате GWAS, проведенного в популяции испанцев, и затем воспроизведена у американцев, итальянцев, а также в смешанной выборке жителей США и Европы [43, 49, 50]. Кроме того, было показано, что rs3129934 находится в неравновесном сцеплении с rs3135388, который также ассоциирован с РС и в свою очередь тесно сцеплен с аллелем

DRB1*1501 [51]. В связи с этим было высказано предположение, что rs3129934, как и rs3135388, выступает в роли tagSNP для DRB1*1501, и, таким образом, найденные ассоциации отражают функциональную значимость локуса HLA-DRB1 для развития РС [50]. Методом семейного анализа AFBAC (affected family-based control) выявлена ассоциация с РС аллеля HLA-DRB1*15 у русских, проживающих в Московской области [52]. Кроме того, полиморфизм rs3129934 сцеплен с rs9267992, аллель А которого ассоциирован со снижением уровня экспрессии гена *HLA-DQA1* [53]. Таким образом, ассоциация rs3129934 с РС, вероятно, обусловлена его сцеплением с локусами главного комплекса гистосовместимости, которые вовлечены в патогенез РС. То обстоятельство, что аллель Т данного полиморфизма обнаруживается у всех членов исследуемой семьи, страдающих РС, дает основания полагать, что rs3129934 является информативным маркером заболевания у русских из РБ, но для подтверждения этой гипотезы необходимы дополнительные исследования.

Было проведено генотипирование по полиморфному маркеру rs2304256, связанному с заменой С на А в экзоне 8 гена *ТУК2*, приводящей к замещению валина на фенилаланин в 362-й позиции аминокислотной последовательности белка тирозинкиназы 2, в домене, отвечающем за взаимодействие с рецептором 1 интерферона-альфа (IFNAR1). Полагают, что полиморфизм rs2304256 может оказывать влияние на функцию белка [54]. Согласно результатам GWAS часто встречающийся аллель С данного локуса ассоциирован с развитием системной красной волчанки и других аутоиммунных заболеваний [54, 55]. Также продемонстрировано, что аллель rs2304256*С входит в состав триплетного сочетания аллелей, которое встречается с повышенной частотой у пациентов с РС, не реагирующих на терапию (non-responders) интерфероном-бета [56]. Мы обнаружили, что все члены изученной семьи были носителями генотипа rs2304256*С/С. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы оценить вклад данного полиморфизма в развитие РС и чувствительность к лекарственной терапии.

Результаты метаанализа данных 7 полногеномных исследований с участием представителей европейских популяций (5545 больных РС, 12 153 лица группы контроля) продемонстрировали наличие ассоциации аллеля rs2293152*G гена *STAT3* с пониженным риском РС (OR=0,82, $p=4,1 \cdot 10^{-8}$) [57]. Тем не менее в дальнейшем не удалось подтвердить найденную ассоциацию в независимой выборке [58]. Все члены исследуемой семьи, страдающие РС, были носителями аллеля rs2293152*G гена *STAT3*; у 3, в том числе пробанда, был обнаружен генотип rs2293152*G/G. Таким образом, требуется проведение дополнительного анализа функциональной роли данного полиморфизма в патогенезе РС.

В исследовании А. Karban и соавт. [59] было продемонстрировано, что аллель D полиморфизма rs28362491, связанный с делецией фрагмента АТТГ в –94 позиции промотора гена *NFKB1*, ассоциирован со сниженной активностью промотора *in vitro*. Были найдены ассоциации rs28362491 с различными аутоиммунными заболеваниями (язвенный колит, системная красная волчанка и т.д.) [59, 60]. Тем не менее в единственном доступном на настоящий момент исследовании, посвященном анализу ассоциаций rs28362491 с РС в иранской популяции, связи данного локуса с развитием заболевания найдено не было [61]. Носительство аллеля rs28362491*D было обнаружено у всех членов исследуемой семьи, пораженных РС, однако отсутствие сведений о роли этого полиморфизма в развитии заболевания не позволяет судить о его вкладе в формирование наследственной предрасположенности к РС в этой семье.

При проведении иммуносупрессивной и иммуномодулирующей терапии РС возрастает риск развития злокачественных новообразований кровяной системы [62, 63]. Продемонстрировано, что аллель С полиморфизма rs10974944 гена *JAK2* ассоциирован с развитием миелопролиферативных новообразований [64]. Нами было установлено, что аллель rs10974944*G в гетерозиготном состоянии обнаруживается у 2 членов исследуемой семьи, 3 были гомозиготами по аллелю rs10974944*С. Дальней-

шее изучение роли данного полиморфизма в популяциях РБ позволит оценить перспективы его применения для оценки безопасности лечения РС.

В изучаемой семье с несколькими случаями РС обнаружено накопление значимых аллелей генов-кандидатов РС: rs1109670*С гена *ASAP2*, rs9523762*G гена *GPC5*, rs10624573*D и rs1494558*I гена *IL7R*, rs2293152*G гена *STAT3*, rs1570538*Т и rs12722580*I гена *IL2RA*, rs2069772*А гена *IL2*. Полученные нами данные подтверждают предположение, что развитие семейных форм заболевания может быть обусловлено действием нескольких генетических вариантов, обладающих выраженным эффектом [65]. Необходимы дальнейшие исследования, включающие длительное наблюдение за пациентами с РС и их семьями, а также изучение молекулярно-генетических особенностей формирования семейных случаев РС в различных популяциях и этнических группах с целью определения прогностической значимости выявленных генетических маркеров для пациентов и их родственников. Анализ молекулярно-генетических особенностей семейных форм, возможно, станет еще одним шагом к пониманию патогенеза РС и прогнозированию индивидуального риска развития заболевания.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Ebers G. Environmental Factors And Multiple Sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2008;7(3):268-277.
http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70042-5
- Kurtzke JF. Familial incidence and geography in multiple sclerosis. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1965;41(2):127-39.
doi: 10.1111/j.1600-0404.1965.tb04286.x
- Гусев Е.И., Демина Т.Л., Бойко А.Н. *Рассеянный склероз*. М.: Нефть и газ; 1997.
- Dyment DA, Yee IM, Ebers GC, Sadovnick AD. Multiple sclerosis in step-siblings: recurrence risk and ascertainment. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2006;77(2):258-259.
doi: 10.1136/jnnp.2005.063008
- Ebers GC, Sadovnick AD, Dyment DA, Yee IM, Willer CJ, Risch N. Parent-of-origin effect in multiple sclerosis: observations in half-siblings. *The Lancet*. 2004;363(9423):1773-1774.
doi: 10.1016/S0140-6736(04)16304-6
- Farrall M. Mapping genetic susceptibility to multiple sclerosis. *The Lancet*. 1996;348(9043):1674-1675.
doi: 10.1016/S0140-6736(05)65817-5
- McElroy JP, Oksenberg JR. Multiple sclerosis genetics. *Advances in Multiple Sclerosis and Experimental Demyelinating Diseases*. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008.
- Ebers GC, Bulman DE, Sadovnick AD, Paty DW, Warren S, Hader W, Murray TJ, Seland TP, Duquette P, Grey T, Nelson R. A population-based study of multiple sclerosis in twins. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(26):1638-1642.
doi: 10.1056/NEJM198612253152603
- Sadovnick AD, Baird PA. The familial nature of multiple sclerosis Age-corrected empiric recurrence risks for children and siblings of patients. *Neurology*. 1988;38(6):990.
doi: http://dx.doi.org/10.1212/WNL.38.6.990
- Robertson NP, Fraser M, Deans J, Clayton D, Walker N, Compston DA. Age-adjusted recurrence risks for relatives of patients with multiple sclerosis. *Brain*. 1996;119(2):449-455.
doi: http://dx.doi.org/10.1093/brain/119.2.449
- Hensiek AE, Seaman SR, Barcellos LF, Oturai A, Eraksoi M, Cocco E, Vecsei L, Stewart G, Dubois B, Bellman-Strobl J, Leone M. Familial effects on the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology*. 2007;68(5):376-383.
doi: http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000252822.53506.46
- Коробко Д.С., Малкова Н.А., Булатова Е.В., Бабенко Л.А., Сазонов Д.В., Соколова Е.А., Филиппенко М.Л. Влияние генетических факторов на фенотипическую экспрессию рассеянного склероза. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова (Рассеянный склероз)*. 2013;113:2:10-16.
- Ebers GC, Yee IM, Sadovnick AD, Duquette P. Conjugal multiple sclerosis: Population-based prevalence and recurrence risks in offspring. *Annals of Neurology*. 2000;48(6):927-931.
doi: 10.1002/1531-8249(200012)48:6<927::AID-ANA14>3.0.CO;2-F
- Romero-Pinel L, Martínez-Yélamos S, Gubieras L, Matas E, Bau L, Kremenichutsky M, Arbizu T. Anticipation of age at onset in familial multiple sclerosis. *European Journal of Neurology*. 2010;17(4):572-5.
- Рассеянный склероз*. Под ред. Гусева Е.И., Завалишина И.А., Бойко А.Н. М.: Реал Тайм; 2011.
- Herrera BM, Ramagopalan SV, Lincoln MR, Orton SM, Chao MJ, Sadovnick AD, Ebers GC. Parent-of-origin effects in MS Observations from avuncular pairs. *Neurology*. 2008;71(11):799-803.
http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000312377.50395.00
- Sadovnick AD, Yee IM, Guimond C, Reis J, Dyment DA, Ebers GC. Age of onset in concordant twins and other relative pairs with multiple sclerosis. *American Journal of Epidemiology*. 2009;170(3):289-296.
doi: 10.1093/aje/kwp143

18. Willer CJ, Dyment DA, Risch NJ, Sadovnick AD, Ebers GC, Canadian Collaborative Study Group. Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(22):12877-12882. doi: 10.1073/pnas.1932604100
19. Hansen T, Skytthe A, Stenager E, Petersen HC, Brønnum-Hansen H, Kyvik KO. Concordance for multiple sclerosis in Danish twins: an update of a nationwide study. *Multiple Sclerosis*. 2005;11(5):504-510. doi: 10.1191/1352458505ms1220oa
20. Kantarci OH, Barcellos LF, Atkinson EJ, Ramsay PP, Lincoln R, Achenbach SJ, De Andrade M, Hauser SL, Weinshenker BG. Men transmit MS more often to their children vs women The Carter effect. *Neurology*. 2006;67(2):305-310. doi.org/10.1212/01.wnl.0000225070.13682.11
21. Carter CO, Evans KA. Inheritance of congenital pyloric stenosis. *Journal of Medical Genetics*. 1969;6(3):233-254. doi: 10.1136/jmg.6.3.233
22. Westerlind H, Ramanujam R, Uvehag D, Kuja-Halkola R, Boman M, Bot-tai M, Lichtenstein P, Hillert J. Modest familial risks for multiple sclerosis: a registry-based study of the population of Sweden. *Brain*. 2014;137(3):770-778. doi: 10.1093/brain/awt356
23. Herrera BM, Ramagopalan SV, Orton S, Chao MJ, Yee IM, Sadovnick AD, Ebers GC. Parental transmission of MS in a population-based Canadian cohort. *Neurology*. 2007;69(12):1208-1212. doi: http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000268486.40851.d6
24. Traboulsee AL, Bernales CQ, Ross JP, Lee JD, Sadovnick AD, Vilariño-Güell C. Genetic variants in IL2RA and IL7R affect multiple sclerosis disease risk and progression. *Neurogenetics*. 2014;15(3):165-169. doi: 10.1007/s10048-014-0403-3
25. D'netto MJ, Ward H, Morrison KM, Ramagopalan SV, Dyment DA, De-Luca GC, Handunnethi L, Sadovnick AD, Ebers GC. Risk alleles for multiple sclerosis in multiplex families. *Neurology*. 2009;72(23):1984-1988. doi: http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181a92c25
26. Gourraud PA, McElroy JP, Caillier SJ, Johnson BA, Santaniello A, Hauser SL, Oksenberg JR. Aggregation of multiple sclerosis genetic risk variants in multiple and single case families. *Annals of Neurology*. 2011;69(1):65-74. doi: 10.1002/ana.22323
27. Бахтиярова К.З., Магжанов Р.В. Рассеянный склероз в этнических группах Республики Башкортостан. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова (Рассеянный склероз)*. 2006;106:3:17-19.
28. Hader WJ, Yee IM. The prevalence of familial multiple sclerosis in saskatoon, Saskatchewan. *Multiple Sclerosis International*. 2014. doi: 10.1155
29. Mathew CG. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA. *Methods in Molecular Biology. Nucleic Acids*. Clifton, NJ: Humana Press; 1984;2:31-34.
30. Dyment DA, Cader MZ, Willer CJ, Risch N, Sadovnick AD, Ebers GC. A multigenerational family with multiple sclerosis. *Brain*. 2002;125(7):1474-1482. http://dx.doi.org/10.1093/brain/awf158
31. Dyment DA, Cader MZ, Herrera BM, Ramagopalan SV, Orton SM, Chao M, Willer CJ, Sadovnick AD, Risch N, Ebers GC. A genome scan in a single pedigree with a high prevalence of multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2008;79(2):158-162. doi: 10.1136/jnnp.2007.122705
32. Dyment DA, Cader MZ, Chao MJ, Lincoln MR, Morrison KM, Disanto G, Morahan JM, De Luca GC, Sadovnick AD, Lepage P, Montpetit A. Exome sequencing identifies a novel multiple sclerosis susceptibility variant in the TYK2 gene. *Neurology*. 2012;79(5):406-411. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182616fc4
33. Maier LM, Lowe CE, Cooper J, Downes K, Anderson DE, Severson C, Clark PM, Healy B, Walker N, Aubin C, Oksenberg JR, Hauser SL, Compston A, Sawcer S, The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, De Jager PL, Wicker LS, Todd JA, Hafler DA. IL2RA Genetic Heterogeneity in Multiple Sclerosis and Type Receptor Production. *PLoS Genetics*. 2009;5(1):1000322. doi: 10.1371/journal.pgen.1000322
34. Matesanz F, Caro-Maldonado A, Fedetz M, Fernández O, Milne RL, Guerrero M, Delgado C, Alcina A. IL2RA/CD25 polymorphisms contribute to multiple sclerosis susceptibility. *Journal of Neurology*. 2007;254(5):682-684. doi: 10.1007/s00415-006-0416-4
35. Alcina A, Fedetz M, Ndagire D, Fernández O, Leyva L, Guerrero M, Abad-Grau MM, Arnal C, Delgado C, Lucas M, Izquierdo G. IL2RA/CD25 gene polymorphisms: uneven association with multiple sclerosis (MS) and type 1 diabetes (T1D). *PLoS One*. 2009;4(1):4137. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0004137
36. Brosnan CF, Cannella B, Battistini L, Raine CS. Cytokine localization in multiple sclerosis lesions Correlation with adhesion molecule expression and reactive nitrogen species. *Neurology*. 1995;45(6)(suppl 6):16-21. doi: http://dx.doi.org/10.1212/WNL.45.6_Suppl_6.S16
37. 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. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*. 2008;258(7):422-427. doi: 10.1007/s00406-008-0813-z
38. Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, Craighead N, DiMercurio BS, Koziol DE, Harlan DM, Kirk AD, Blair PJ. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-cd3/cd28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation*. 2001;72(8):1444-1450. doi: 10.1097/00007890-200110270-00019
39. Shi J, Zhou L, Zhernakova A, Qian J, Zhu F, Sun G, Zhu L, Ma X, Dijkstra G, Wijmenga C, Faber KN. Haplotype-based analysis of ulcerative colitis risk loci identifies both IL2 and IL21 as susceptibility genes in Han Chinese. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2011;17(12):2472-2479. doi: 10.1002/ibd.21652
40. Lundström W, Highfill S, Walsh ST, Beq S, Morse E, Kockum I, Alfredsson L, Olsson T, Hillert J, Mackall CL. Soluble IL7R α potentiates IL-7 bioactivity and promotes autoimmunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(19):1761-1770. doi: 10.1073/pnas.1222303110
41. Gregory SG, Schmidt S, Seth P, Oksenberg JR, Hart J, Prokop A, Caillier SJ, Ban M, Goris A, Barcellos LF, Lincoln R, McCauley JL, Sawcer SJ, Compston DA, Dubois B, Hauser SL, Garcia-Blanco MA, Pericak-Vance MA, Haines JL; Multiple Sclerosis Genetics Group. Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nature Genetics*. 2007;39(9):1083-1091. doi: 10.1038/ng2103
42. Shamim Z, Spellman S, Haagenson M, Wang T, Lee SJ, Ryder LP, Müller K. Polymorphism in the Interleukin-7 Receptor-alpha and Outcome after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation with Matched Unrelated Donor. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2013;78(2):214-220. doi: 10.1111/sji.12077
43. Baranzini SE, Wang J, Gibson RA, Galwey N, Naegelin Y, Barkhof F, Raddue EW, Lindberg RL, Uitdehaag BM, Johnson MR, Angelakopoulou A, Hall L, Richardson JC, Prinjha RK, Gass A, Geurts JGG, Kragt J, Sombeck M, Vrenken H, Qualley P, Lincoln RR, Gomez R, Caillier SJ, George MF, Mousavi H, Guerrero R, Okuda DT, Cree BAC, Green AJ, Waubant E, Goodin DS, Pelletier D, Matthews PM, Hauser SL, Kappos L, Polman CH, Oksenberg JR. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis. *Human molecular genetics*. 2009;18(4):767-778. doi: 10.1093/hmg/ddn388
44. Schmiech MC, Zehetmayer S, Reindl M, Ehling R, Bajer-Kornek B, Leutmezer F, Zebenholzer K, Hotzy C, Lichtner P, Meitinger T, Wichmann HE. Replication study of multiple sclerosis (MS) susceptibility alleles and correlation of DNA-variants with disease features in a cohort of Austrian MS patients. *Neurogenetics*. 2012;13(2):181-187. doi: 10.1007/s10048-012-0316-y
45. Cavanillas ML, Fernandez O, Comabella M, Alcina A, Fedetz M, Izquierdo G, Lucas M, Cenit MC, Arroyo R, Vandenbroeck K, Alloza I. Replication of top markers of a genome-wide association study in multiple sclerosis in Spain. *Genes and Immunity*. 2011;12(2):110-115. doi: 10.1038/gene.2010.52
46. Raistrick CA, Alharbi KK, Day IN, Gaunt TR. Analysis of potential genomic confounding in genetic association studies and an online genomic confounding browser (GCB). *Annals of Human Genetics*. 2011;75(6):723-731. doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00677.x
47. Johnson BA, Wang J, Taylor EM, Caillier SJ, Herbert J, Khan OA, Cross AH, De Jager PL, Gourraud PF, Cree BC, Hauser SL. Multiple sclerosis susceptibility alleles in African Americans. *Genes and Immunity*. 2010;11(4):343-350.

- doi: 10.1038/gene.2009.81
48. Lorentzen ÅR, Melum E, Ellinghaus E, Smestad C, Mero IL, Aarseth JH, Myhr KM, Celius EG, Lie BA, Karlsen TH, Franke A. Association to the Glypican-5 gene in multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmunology*. 2010;226(1):194-197.
doi: 10.1016/j.jneuroim.2010.07.003
 49. Martinelli-Boneschi F, Esposito F, Brambilla P, Lindström E, Lavorgna G, Stankovich J, Rodegher M, Capra R, Ghezzi A, Coniglio G, Colombo B. A genome-wide association study in progressive multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*. 2012;18:1384-1394.
doi: 10.1177/1352458512439118
 50. Comabella M, Craig DW, Camiña-Tato M, Morcillo C, Lopez C, Navarro A, Rio J, Montalban X, Martin R, BiomarkerMS Study Group. Identification of a novel risk locus for multiple sclerosis at 13q31.3 by a pooled genome-wide scan of 500,000 single nucleotide polymorphisms. *PLoS one*. 2008;3(10):3490.
doi.org/10.1371/journal.pone.0003490
 51. Hafler DA, Compston A, Sawcer C, Lander E, Daly MJ, De Jager PL., de Bakker PIW, Gabriel SB., Mirel DB, Ivinson AJ, Pericak-Vance MA, Gregory SG, Rioux JD, McCauley JL, Haines JL, Barcellos LF, Cree B, Oksenberg JR, Hauser SL. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genomewide study. *New England Journal of Medicine*. 2007;357(9):851-862.
doi: 10.1056/NEJMoa073493
 52. Makarycheva OY, Tsareva EY, Sudomoina MA, Kulakova OG, Titov BV, Bykova OV, Gol'tsova NV, Kuzenkova LM, Boyko AN, Favorova OO. Family analysis of linkage and association of HLA-DRB1, CTLA4, TGFBI, IL4, CCR5, RANTES, MMP9 and TIMP1 gene polymorphisms with Multiple Sclerosis. *Acta Naturae*. 2011;3(1):85-92. Ссылка активна на 02.05.16. Доступно по: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3347600/pdf/AN20758251-08-085.pdf>
 53. Handel AE, Handunnetthi L, Berlanga AJ, Watson CT, Morahan JM, Ramagopalan SV. The effect of single nucleotide polymorphisms from genome wide association studies in multiple sclerosis on gene expression. *PLoS One*. 2010;5(4):10142.
doi.org/10.1371/journal.pone.0010142
 54. Tao JH, Zou YF, Feng XL, Li J, Wang F, Pan FM, Ye DQ. Meta-analysis of TYK2 gene polymorphisms association with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases. *Molecular Biology Reports*. 2011;38(7):4663-4672.
doi: 10.1007/s11033-010-0601-5
 55. Sigurdsson S, Nordmark G, Göring HH, Lindroos K, Wiman AC, Sturfelt G, Jönsen A, Rantapää-Dahlqvist S, Möller B, Kere J, Koskenmies S. Polymorphisms in the tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 genes are associated with systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Human Genetics*. 2005;76(3):528-537.
doi: 10.1086/428480
 56. O'Doherty C, Favorov A, Heggarty S, Graham C, Favorova O, Ochs M, Hawkins S, Hutchinson M, O'Rourke K, Vandembroeck K. Genetic polymorphisms, their allele combinations and IFN- β treatment response in Irish multiple sclerosis patients. *Pharmacogenomics*. 2009;10(7):1177-1186.
doi: 10.2217/PGS.09.41
 57. Patsopoulos NA, de Bakker PI. Genome-wide meta-analysis identifies novel multiple sclerosis susceptibility loci. *Annals of Neurology*. 2011;70(6):897-912.
doi: 10.1002/ana.22609
 58. Lill CM, Schjerve BM, Akkad DA, Blaschke P, Winkelmann A, Gerdes LA, Hoffjan S, Luessi F, Dörner T, Li SC, Steinhagen-Thiessen E. Independent replication of STAT3 association with multiple sclerosis risk in a large German case — control sample. *Neurogenetics*. 2012;13(1):83-86.
doi: 10.1007/s10048-011-0305-6
 59. Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CI, Gallegos T, Potter JJ, Bailey-Wilson JE, Silverberg MS, Duerr RH, Cho JH, Gregersen PK, Wu Y. Functional annotation of a novel NFKB1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis. *Human Molecular Genetics*. 2004;13(1):35-45.
doi: 10.1093/hmg/ddh008
 60. Gao M, Wang CH, Sima X, Han XM. NFKB1-94 Insertion/Deletion ATTG Polymorphism Contributes to Risk of Systemic Lupus Erythematosus. *DNA and Cell Biology*. 2012;31(4):611-615.
doi: 10.1089/dna.2011.1389
 61. Zahednasab H, Mesbah-Namina SA, Sahraianb MA, Balood M, Doosti R. Relationship between NF- κ B1-94 ins/del ATTG polymorphism and susceptibility of multiple sclerosis in Iranian MS patients. *Neuroscience Letters*. 2013;545(17):46-49.
doi: 10.1016/j.neulet.2013.04.014
 62. Cattaneo C, Almici C, Borlenghi E, Motta M, Rossi G. A case of acute promyelocytic leukaemia following mitoxantrone treatment of multiple sclerosis. *Leukemia*. 2003;17(5):985-986.
doi: 10.1038/sj.leu.2402887
 63. King KY, Matatal KA, Shen CC, Goodell MA, Swierczek SI, Prchal JT. Comparative long-term effects of interferon α and hydroxyurea on human hematopoietic progenitor cells. *Experimental Hematology*. 2015;43(10):912-918.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2015.05.013>
 64. Trifa AP, Cucuianu A, Petrov L, Urian L, Militaru MS, Dima D, Pop IV, Popp RA. The G allele of the JAK2 rs10974944 SNP, part of JAK2 46/1 haplotype, is strongly associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms. *Annals of Hematology*. 2010;89(10):979-983.
doi: 10.1007/s00277-010-0960-y
 65. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorf LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461(7265):747-753.
doi: 10.1038/nature08494
 66. Hellquist A, Järvinen TM, Koskenmies S, Zucchelli M, Orsmark-Pietras C, Berglund L, Panelius J, Hasan T, Julkunen H, D'Amato MA, Saarialho-Kere U. Evidence for genetic association and interaction between the TYK2 and IRF5 genes in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology*. 2009;36(8):1631-1638.
doi: 10.3899/jrheum.081160
 67. Cen H, Zhou M, Leng RX, Wang W, Feng CC, Li BZ, Zhu Y, Yang XK, Yang M, Zhai Y, Zhang M. Genetic interaction between genes involved in NF- κ B signaling pathway in systemic lupus erythematosus. *Molecular Immunology*. 2013;56(4):643-648.
doi: 10.1016/j.molimm.2013.07.006
 68. Хусайнова А.Н., Заплахова О.В. Исследование молекулярно-генетических основ предрасположенности к рассеянному склерозу. II Всероссийская школа-конференция молодых ученых Уфимского научного центра РАН и Волго-Уральского региона «Биомика — наука XXI века». Сентябрь 27—29, 2011; Уфа. Ссылка активна на 02.05.16. Доступно по: <http://biomics.ru/engine/download.php?id=41>