

Загорская Н.Н., Арефьева Е.Г., Субботин А.В., Семёнов В.А.,
Короткевич Н.А., Кудрявцева Е.А., Филиппенко М.Л.

Кемеровская областная клиническая больница,
Кемеровская государственная медицинская академия,
г. Кемерово,

Новосибирский государственный университет,
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
г. Новосибирск

СВЯЗЬ ЧАСТОТЫ ОБОСТРЕНИЙ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА С АЛЛЕЛЬНЫМИ ВАРИАНТАМИ ГЕНА IL18

Проведен молекулярно-генетический анализ образцов крови 129 пациентов с различными формами рассеянного склероза, проживающих в Кемеровской области и проходивших лечение в неврологическом отделении ГБУЗ «Кемеровская областная клиническая больница» в 2008-2010 гг. При статистической обработке полученных данных проводился поиск возможной ассоциации различных клинических характеристик заболевания с отдельными аллельными вариантами генов TNF α , IL-18, KIF1B(rs10492972), CD40 (rs6074022). Выявлена связь обнаружения аллельного варианта CC гена IL18 с уменьшением частоты обострений заболевания. Полученные данные в дальнейшем могут быть использованы для прогнозирования течения рассеянного склероза.

Ключевые слова: рассеянный склероз; частота обострений; генетический анализ; интерлейкин 18; Кемеровская область.

Zagorskaya N.N., Arefyeva E.G., Subbotin A.V., Semenov V.A.,
Korotkevich N.A., Kudryavtseva E.A., Philippenko M.L.

SBIH Kemerovo Regional Clinical Hospital,

SBEI HBPE Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo,

SBEI HBPE Novosibirsk State University,

Chemical biology and fundamental medicine Institution of the Siberian Department of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

CORRELATION BETWEEN MULTIPLE SCLEROSIS EXACERBATION FREQUENCY WITH ALLEL VARIANTS OF THE IL18 GENE

There was performed a molecular-genetic analysis of blood samples of 129 patients with different forms of multiple sclerosis who live in Kemerovo region and were treated in neurology department of SIH Kemerovo regional clinical hospital in 2008-2010 years. With the further statistical processing of the data received we tried to find out possible correlation of different clinical disease characteristics with allele variants of TNF α , IL-18, KIF1B (rs10492972), CD40 (rs6074022) genes. Correlation between presence of CC allele variant of the IL18 gene and reduction of exacerbation frequency was observed. The results obtained can be used for prognosis of multiple sclerosis clinical course.

Key words: multiple sclerosis; exacerbation frequency; genetic analysis; interleukin 18; Kemerovo region.

В настоящее время активно изучается связь генотипа с восприимчивостью к рассеянному склерозу (РС) в рамках гипотезы о мультифакторной этиологии данного заболевания [1-5]. Практическим аспектом данной проблемы является разработка прогнозирования течения РС на основе генетического анализа. В исследованиях многих авторов выявляется ассоциация отдельных аллелей полиморфных генов с различными клиническими признаками болезни [6-9].

Цель настоящей работы — совершенствование прогнозирования течения РС с использованием методов генетической диагностики. Изучалась ассоциация различных вариантов аллелей генов TNF α , IL-18, KIF1B(rs10492972), CD40 (rs6074022) с клиническими проявлениями заболевания в популяции пациентов, проживающих в Кемеровской области.

Корреспонденцию адресовать:

ЗАГОРСКАЯ Наталья Николаевна.

650066, г. Кемерово, пр. Октябрьский, 22,
ГБУЗ Кемеровская областная клиническая больница.

Тел.: 8 (3842) 39-64-22; +7-913-402-69-26.

E-mail: n_zagorskaya@mail.ru

Выбор указанных генетических маркеров для исследования обусловлен их значимостью в патогенезе РС. Цитокинам отводится ведущая роль в развитии и регуляции аутоиммунного воспалительного процесса при РС [10]. Ранее проведенные исследования [11] показали увеличение выработки как провоспалительных (к группе которых относятся, в частности, IL18 и ФНО α), так и противовоспалительных цитокинов при данном заболевании. Активное участие в развитии процессов воспаления принимает также лимфоцитарный клеточный рецептор CD40 [12]. Белок KIF1B, являющийся членом семейства кинезинов и необходимый для роста аксонов и синтеза миелина у позвоночных [13], изучался в связи с наличием в патогенезе рассеянного склероза сочетания процессов воспаления и дегенерации. Процесс дегенерации составляет основу необратимого повреждения аксонов, следствием которого является стойкая утрата трудоспособности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе в исследование включены пациенты, проходившие лечение в неврологическом от-

делении ГУЗ «Кемеровская областная клиническая больница» в 2008-2010 гг. Всего обследованы 129 пациентов. Молекулярно-генетические исследования образцов крови осуществлялись в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

Проводился анализ клинических данных больных: пол, возраст, рост, вес (индекс массы тела), сроки установления диагноза и его соответствие критериям Мак Дональда, длительность и тип течения заболевания, синдром дебюта, балл по шкале EDSS и оценка поражения каждой из функциональных систем в баллах, скорость прогрессирования (n баллов EDSS в год), продолжительность первой ремиссии, наличие РС у родственников первой линии, наличие других системных аутоиммунных заболеваний, а также сахарного диабета (указывался тип) у пациента и родственников первой линии, курение и регулярное употребление поливитаминов.

Исследование проводилось в соответствии с нормами Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г.

Достоверный диагноз рассеянного склероза установлен в соответствии с критериями Мак Дональда в 81,4 % случаев; кроме того, использовались диагностические критерии Позера. Из числа пациентов исследование аллельных генов по KIF1B(rs10492972) проведено у 129 человек, по CD40 (rs6074022) — у 127, по TNF α — у 81, по IL-18 — у 74 человек.

При проведении статистической оценки полученных данных использовался пакет программ Statistica 6.1 (лицензия № BXX006B092218FAN11). Статистическое распределение величин в исследуемой популяции не является нормальным, что послужило осно-

ванием для использования при описании выборки следующих показателей: медиана, 25-я и 75-я перцентиль.

Возраст обследованных находился в пределах от 17 до 73 лет (медиана составила 33 года, 25-я и 75-я перцентиль — 26 лет и 42 года, соответственно). Возраст дебюта заболевания в выборке колебался от 12 до 53 лет, медиана составила 26 лет, 25-я перцентиль — 20 лет, 75-я перцентиль — 31 год.

Соотношение мужчины/женщины составило 1 : 3,3. Максимальная продолжительность заболевания составила 44 года; минимальная — до нескольких дней. Медиана равна 6 годам, 25-я перцентиль — 1,85 года, 75-я перцентиль — 11 годам.

Балл по шкале EDSS у обследованных находился в пределах от 1,5 до 9 (медиана — 3,5 балла, перцентиль 0,25 — 3, перцентиль 0,75 — 4,5 балла). При расчете скорости прогрессирования в баллах EDSS в год в исследование включались пациенты, стаж заболевания у которых составлял не менее 3-х лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ превалирования различных неврологических синдромов в дебюте заболевания. В большинстве случаев в дебюте РС наблюдались симптомы поражения пирамидной системы — у 34 пациентов (26,4 %). У 33 пациентов (25,6 %) отмечались зрительные нарушения, у 23 (17,8 %) — мозжечковые, у 22 (17,1 %) — сенсорные, в 10 случаях (7,8 %) — стволовые, в 2 (1,6 %) — нарушения функции тазовых органов, в 1 случае (0,8 %) в дебюте заболевания наблюдался синдром психических нарушений.

При анализе течения заболевания частота встречаемости различных типов распределилась следую-

Сведения об авторах:

ЗАГОРСКАЯ Наталья Николаевна, врач, отделение неврологии, ГБУЗ «КОКБ», г. Кемерово, Россия.

АРЕФЬЕВА Елена Геннадьевна, канд. мед. наук, зав. отделением неврологии, ГБУЗ «КОКБ», г. Кемерово, Россия.

СУББОТИН Анатолий Васильевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, ГБОУ ВПО «КемГМА» Минздравсоцразвития России, г. Кемерово, Россия. E-mail: koknd@mail.ru

СЕМЕНОВ Владимир Александрович, доктор мед. наук, профессор, кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, ГБОУ ВПО «КемГМА» Минздравсоцразвития России, г. Кемерово, Россия.

КОРОТКЕВИЧ Надежда Андриановна, ведущий специалист по неврологии ДОЗН КО, ГБУЗ «КОКБ», г. Кемерово, Россия.

КУДРЯВЦЕВА Екатерина Алексеевна, аспирант, ГБОУ ВПО «НГУ», г. Новосибирск, Россия.

ФИЛИППЕНКО Максим Леонидович, канд. биол. наук, зав. группой фармакогеномики, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

Information about authors:

ZAGORSKAYA Natalia Nikolayevna, doctor, neurology department, Kemerovo regional clinical hospital, Kemerovo, Russia.

AREFYEVA Elena Gennadyevna, candidate of medical sciences, head of neurology department, Kemerovo regional clinical hospital, Kemerovo, Russia.

SUBBOTIN Anatoly Vasilyevich, doctor of medical sciences, professor, head of neurology, neurosurgery and medical genetics chair, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia. E-mail: koknd@mail.ru

SEменов Vladimir Alexandrovich, doctor of medical sciences, professor, neurology, neurosurgery and medical genetics chair, Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia.

КОРОТКЕВИЧ Nadezhda Andrianovna, the leading expert in neurology of Kemerovo Region Healthcare Department, Kemerovo regional clinical hospital, Kemerovo, Russia.

КУДРЯВТSEVA Ekaterina Alexeyevna, post-graduate student, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

PHILIPPENKO Maxim Leonidovich, candidate of biological sciences, head of Pharmacogenomics laboratory, Institution of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Department of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

щим образом: рецидивирующе-ремиттирующий тип — 73 пациента (63,5 %), вторично-прогрессирующий — 36 (31,3 %), первично-прогрессирующий — 6 (5,2 %). Случаи клинического дебюта РС были исключены из расчёта в связи с неопределённостью дальнейшего типа течения. Приведенные данные в целом похожи на ранее описанные в литературе [1], где указывалось, что, помимо классического ремиттирующего рассеянного склероза, в большинстве случаев переходящего во вторичное прогрессирование, у 10-15 % наблюдается первично-прогрессирующий тип течения.

Частота обострений РС составила от 0,1 до 3,3 раз в год. Медиана составила 1,0, 25-я перцентиль — 0,5, 75-я перцентиль — 2,0. Данный показатель оценивался у 96 пациентов. При этом рассматривались случаи с рецидивирующе-ремиттирующим и вторично-прогрессирующим типом течения с сохранёнными обострениями.

Скорость прогрессирования заболевания — особенно важный в прогностическом плане показатель. Её зависимость от различных факторов активно изучается в многочисленных исследованиях, проводимых в мире в настоящее время [1]. В нашей работе, при расчёте описательных статистических показателей, она находилась в пределах от 0,08 до 1,63 баллов EDSS в год, медиана — 0,46, 25-я перцентиль — 0,28, 75-я перцентиль — 0,63 балла EDSS в год. Пациентов с низкой скоростью прогрессирования не более 0,3 баллов EDSS в год было 25 (29,4 %), со средней скоростью прогрессирования — от 0,3 до 0,7 баллов EDSS в год — 45 (52,9 %), с высокой скоростью — более 0,7 баллов EDSS в год — 15 (17,7 %).

При расчёте длительности первой ремиссии из анализа исключались случаи с клиническим дебютом заболевания и с первично-прогрессирующим типом течения. Всего данный показатель оценивался у 108 пациентов. Максимальная продолжительность РС составила 21 год, минимальная — 0,25 года, медиана — 2 года, перцентиль 0,25 — 0,96 года, перцентиль 0,75 — 4,13 года. Данный показатель включен в наше исследование, поскольку является прогностически значимым для течения рассеянного склероза, что подтверждено рядом ранее проведенных в мире исследований [14], где отмечена связь между короткой первой ремиссией (менее 1 года) и увеличением риска более быстрого прогрессирования заболевания.

Соответственно цели исследования, на заключительном этапе проведен расчёт вероятности возможной ассоциации каждого из таких приведенных показателей, как пол, возраст и синдром дебюта, тип течения, скорость прогрессирования заболевания, длительность первой ремиссии, частота обострений в год с различными вариантами аллелей генов TNF α , IL-18, KIF1B(rs10492972) и CD40(rs6074022). В большинстве случаев статистически значимой связи не получено. Она наблюдалась только при анализе соотношения частоты обострений с вариантами гена IL18 ($p < 0,05$).

Различия в группах пациентов с генотипами GG, GC и CC по IL-18 по частоте обострений были выявлены с помощью медианного теста. При дальнейшем анализе с применением поправки Бонферрони проведено попарное сравнение групп. При этом получены следующие значимые различия по критерию Вальда-Вольфовица: в группе пациентов с гомозиготным генотипом CC обострения возникали реже, чем в группе с гетерозиготным генотипом GC.

При сравнении пациентов с генотипами CC и GG по данному признаку статистически значимых отличий не выявлено. При этом выявляется аналогичная тенденция: в группе больных с генотипом CC среднее значение частоты обострений ниже, чем в группе с генотипом GG. При проведении дальнейших расчётов проведено укрупнение групп: сравнивались пациенты, имеющие генотип CC с пациентами объединённой группы GG и GC, а также пациенты с генотипом GG с объединённой группой GC и CC. При этом статистически значимых отличий не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведения исследования получена связь между частотой обострений РС и присутствием различных аллельных вариантов гена IL-18. В группе пациентов с гомозиготным генотипом обострения заболевания возникали реже, чем в группе с гетерозиготным генотипом GC. Полученные данные свидетельствуют о возможной протективной роли аллельного варианта CC гена IL18 в отношении возрастания частоты обострений при рассеянном склерозе, и в последующем могут быть использованы во врачебной практике для разработки критериев прогнозирования течения РС.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания /Е.И. Гусев, И.А. Завалишин, А.Н. Бойко. — М.: Миклош, 2004. — 540 с.
2. Genetic variation in the KIF1B locus influences susceptibility to multiple sclerosis /Y.S. Aulchenko, I.A. Hoppenbrouwers, S.V. Ramagopalan et al. //Nat. Genet. — 2008. — V. 40, N 12. — P. 1402-1403.
3. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study /D.A. Hafler, A. Compston, S. Sawcer et al. //N. Engl. J. Med. — 2007. — V. 357, N 9. — P. 851-862.
4. Minagar, A. Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis /A. Minagar, J.S. Alexander //Mult. Scler. J. — 2003. — V. 9. — P. 540-549.
5. Replication of KIAA0350, IL2RA, RPL5 and CD58 as multiple sclerosis susceptibility genes in Australians /J.P. Rubio, J. Stankovich, J. Field et al. //Genes Immun. — 2008. — V. 9, N 7. — P. 624-630.
6. Association and linkage of juvenile MS with HLA-DR2 (15) in Russians /A.N. Boiko, E.I. Gusev, M.A. Sudomoina et al. //Neurology. — 2002. — V. 58. — P. 658-660.
7. Association of a null mutation in the CNTF gene with early onset of multiple sclerosis /R. Giess, M. Maurer, R. Linker et al. //Arch. Neurol. — 2002. — V. 59. — P. 407-409.

8. CD95 polymorphisms are associated with susceptibility to MS in women. A population-based study of CD95 and CD95L in MS /O.H. Kantarci, D.D. Hebrink, S.J. Achenbach et al. //J. Neuroimmunol. – 2004. – V. 146. – P. 162-170.
9. Kantor, R. A mutated CCR5 gene may have favorable prognostic implications in MS /R. Kantor, M. Bakhanashvili, A. Achiron //Neurology. – 2003. – V. 61. – P. 238-240.
10. Link, H. The cytokine storm in multiple sclerosis /H. Link //Mult. Scler. – 1998. – V. 4. – P. 12-15.
11. Использование методов внутриклеточного определения цитокинов для мониторинга активности патологического процесса при рассеянном склерозе /А.Н. Бойко, Л.М. Ханукова, Б.В. Пинегин и др. //Матер. VIII Всерос. съезда неврологов. – Казань, 2001. – С. 57.
12. CD40/CD40L interaction induces E-selectin dependent leukocyte adhesion to human endothelial cells and inhibits endothelial cell migration /D. Urban, U. Thanabalasingam, D. Stibenz et al. //Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2011. – V. 404, N 1. – P. 448-452.
13. Kif1b is essential for mRNA localization in oligodendrocytes and development of myelinated axons /D.A. Lyons, S.G. Naylor, A. Scholze et al. //Nat. Genet. – 2009. – V. 41. – P. 854-858.
14. A clinical and laboratory study of benign multiple sclerosis /A.J. Thompson, M. Hutchinson, J. Brazil et al. //Q. J. Med – 1986. – P. 69-80.

