УДК 616.832-004.2-036.17; 575.174.015.3

ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА (ОБЗОР)

Денис Сергеевич КОРОБКО[1], Надежда Алексеевна МАЛКОВА[1,2]

[1] *ГБУЗ НСО Государственная Новосибирская областная клиническая больница*
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

[2] *ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России*
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Доказано, что рассеянный склероз (РС) является полигенным мультифакториальным заболеванием. Проведен обзор литературных источников, посвященных последним достижениям изучения полиморфизмов генов цитокинов в патогенезе РС и перспективам практического применения полученных данных. Проанализированы оригинальные статьи и обзоры, в которых представлены результаты полногеномных исследований ассоциаций и мощных исследований по методу «ген-кандидат». Описана биологическая роль упоминаемых воспалительных цитокинов и ассоциации полиморфных маркеров с заболеванием. При этом кроме вопроса о факторах, предрасполагающих к развитию РС, активно исследуются варианты генов, определяющие конкретный клинический фенотип и исход болезни.

Ключевые слова: рассеянный склероз, полиморфизмы генов цитокинов, SNP, генотипирование, GWAS, ген *CD40*, ген *TNF*α, ген *IL18*.

Рассеянный склероз (РС) – хроническое иммуноопосредованное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся воспалением, демиелинизацией с формированием очагов преимущественно в белом веществе головного мозга, что часто приводит к прогрессирующей дегенерации [34]. РС относится к группе аутоиммунных заболеваний, при которых в организме присутствует аберрантный иммунный ответ против собственных структур. Так, в частности, при РС первичной мишенью деструктивного процесса является миелиновая оболочка [61].

Существование генетической предрасположенности к РС стало очевидным уже в начале 50-х годов XX века после обнаружения семейных форм заболевания, которые составляют от 2 до 5 %. Другим доказательством роли наследственности при РС послужили результаты эпидемиологических исследований, при которых выявлена разная частота РС в различных этнических группах, проживающих на одной территории [35].

В России наиболее масштабное, основанное на едином методологическом подходе, исследование эпидемиологии РС было проведено в Сибири и на Дальнем Востоке в 1981–1984 гг. под руководством профессора А.П. Иерусалимского [6]. Благодаря этому мы имеем достоверные данные о распространенности РС в азиатском регионе в то время, что можно использовать при описании динамики эпидемиологических показателей.

Величина относительного риска заболевания, т. е. преобладание вероятности заболеть над вероятностью остаться здоровым, в 20–50 раз выше для родственников больных РС, чем в популяции в целом [42].

Подверженность РС, как и другим мультифакториальным болезням, определяется сочетанием вариантов генов, отдельные эффекты которых в отношении патологии могут быть невелики, и многосторонним взаимодействием с диапазоном различных факторов окружающей среды [16].

Большое значение имеет определенный набор аллелей генов главного комплекса гистосовместимости, располагающегося на шестой хромосоме [79]. Однако наряду с системой *HLA* генетический контроль иммунного ответа определяют также гены цитокинов – растворимых регуляторных факторов [2, 19, 25, 44].

Наиболее распространенным и доступным подходом в генетике аутоиммунных болезней является исследование генов-кандидатов, их ассоциаций с клиническими фенотипами. *Гены-кандидаты* определяются как гены, продукты которых играют роль в этиопатогенезе заболевания, вероятность чего основывается на иммунологических и биологических знаниях. В качестве

Коробко Д.С. *– врач-невролог, e-mail: ocrs@mail.ru; denn007@ngs.ru*
Малкова Н.А. *– д.м.н., проф. кафедры клинической неврологии и алгологии*

генов подверженности РС преимущественно рассматриваются гены, так или иначе вовлеченные в иммунный ответ, гены миелина, некоторых гормонов, а также ряд генов, определяющих дегенеративные изменения (например, управляющие процессом апоптоза) и ремиелинизацию, гены цитокиновой сети [2, 9, 19, 27], гены хемокинов [11].

Другой подход – полногеномное изучение ассоциаций (*GWAS*, genome-wide association study), в отличие от исследования генов-кандидатов является «агностическим», т.е. независимым от модели в связи с тем, что он охватывает весь геном, избегая, таким образом, предвзятости в отборе генов.

Начиная с 2007 г. реализация полногеномных исследований ассоциаций способствовала надежной идентификации аллельных вариантов более чем в 35 цитокиновых локусах как факторов предрасположенности для широкого круга более 15 аутоиммунных заболеваний, включая рассеянный склероз [78].

Даже если функциональные последствия большинства из выявленных ассоциаций до конца не выяснены, мы начинаем приближаться к пониманию механизмов, с помощью которых ассоциированные полиморфизмы в генах семейства цитокинов могут влиять на иммунную регуляцию аутоиммунных заболеваний.

Цель настоящей работы – провести анализ литературных источников, касающихся изучения полиморфизмов генов цитокинов как аутоиммунных факторов риска в патогенезе рассеянного склероза.

Использовался поиск по ключевым словам (полиморфизм генов цитокинов, SNP, рассеянный склероз, CD40, TNFα, IL-18) в базе данных Национальной медицинской библиотеки США с помощью PubMed Search. Были проанализированы как отечественные, так и зарубежные источники, индексированные в MEDLINE/PubMed, с акцентом на работы, опубликованные после 2007 г., в которых представлены результаты полногеномных исследований ассоциаций (GWAS) и мощных исследований по методу «ген-кандидат».

Генетическая основа подверженности РС является сложной и не подчиняется известным менделевским законам. Длительное время РС, как и многие другие аутоиммунные заболевания, ассоциировали исключительно с генами главного комплекса гистосовместимости, причем наиболее сильной оказывается ассоциация с генами HLA класса II, относительные риски на уровне 2,5–3,0 для европеоидов [12, 16]; характерна устойчивая сильная ассоциация с гаплотипом DR15. Полученные данные в ходе исследований на разных когортах подтверждают, что HLA-DRB1*15 является значимым фактором риска развития РС, в том числе и у жителей Сибири [7, 12–14].

Участие иных, чем HLA, генов в патогенезе заболевания также подтверждено функционально и статистически в результате большого количества исследований, однако с меньшей силой ассоциаций [56], и далеко не во всех исследованиях получены однозначные выводы.

Однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism, SNP) – вариация последовательности ДНК, при которой геномы или участки генетического кода двух особей одного вида или двух хромосом одной особи отличаются на один нуклеотид [56].

Идентифицировано несколько регионов, возможно, связанных с восприимчивостью к РС [40] и обнаружено более 20 однонуклеотидных полиморфизмов в разных генах, не относящихся к HLA-кластеру, показывающих значительную ассоциацию (от $p = 10^{-3}$ до $p = 10^{-81}$) с развитием у пациента РС [56].

Определение однонуклеотидных полиморфизмов, вовлеченных в этиологию и патогенез РС, является не простой задачей, поскольку участвует большое количество генов, каждый из которых может вносить небольшой вклад в развитие заболевания [68, 69]. Поэтому для увеличения мощности исследований и практической значимости результатов применяются новые подходы, в частности анализ ассоциаций РС с сочетанной встречаемостью аллелей различных генов-кандидатов. Анализ биаллельных сочетаний – наиболее простой и распространенный прием, не требующий сложных математических расчетов. При этом сила выявленных ассоциаций возрастает. Например, ассоциация мутации Delta 32 в хемокиновом рецепторе CCR5 с РС у HLA-DR4-позитивных русских ($p_{corr} < 0{,}001$, отношение шансов OR 25,0) [45].

Не так давно разработан и валидирован новый биоинформатический подход, основанный на методе Монте-Карло с марковскими цепями [43]. Создается цепь Маркова для отбора только потенциально значительных вариантов, сводя к минимуму большой массив данных. Этот подход дает возможность провести поиск сочетаний аллелей или генотипов, которые наиболее сильно ассоциациированы с заболеванием, и количество аллелей в сочетании при использовании этого метода не ограничивается 2. Так, в одной из работ на московской популяции русских было выявлено два до этого не известных триаллельных сочетания, которые предрасполагают к развитию РС: –509TGFbeta1*C, DRB1*18(3), CTLA4*G и –238TNF*B1, –308TNF*A2, CTLA4*G [44].

Со времени публикации результатов первого полногеномного исследования, выполненного Международным Консорциумом по генетике РС (IMSGC) [56], проведено несколько подобных исследований, основанных на методе GWAS (поиск ассоциаций по всему геному) [23, 26, 41, 48, 49, 66]. Не так давно выявлено несколько других регионов, вовлеченных в предрасположенность к РС, что было воспроизведено в различных независимых популяциях. Это относится к генам IL7RA, IRF5, IL2RA.

Среди прочих 21 полиморфизм расположен на хромосоме 1p22 в локусе *GFI-EVI5-RPL5-FAM69A* [56]. Позднее ассоциации этого локуса с РС были воспроизведены на Канадской [58] и Испанской популяциях [23]. Наиболее вероятным кандидатом является полиморфизм EVI5, что согласуется с первичными данными. Однако остается открытым вопрос о причинном полиморфизме. В исследовании I.A. Hoppenbrouwers с коллегами на голландской когорте ген EVI5 назван новым риск-геном РС, причем величина относительного риска оказалась даже большей, чем в исследовании IMSGC (OR 2,01 и 1,9 соответственно, $p = 0{,}01$) [58].

Идентифицирована ассоциация нескольких полиморфизмов на хромосоме 12q13–14 (rs703842, $p = 5{,}4 \times 10^{-11}$; rs10876994, $p = 2{,}7 \times 10^{-10}$; rs12368653, $p = 1{,}0 \times 10^{-7}$) и хромосоме 20q13 (полиморфные варианты гена CD40: rs6074022, $p = 1{,}3 \times 10^{-7}$; rs1569723, $p = 2{,}9 \times 10^{-7}$) с РС [49]. Однако кроме гена *IL7RA*, расположенного на хромосоме 5p13 [53, 64] и кодирующего α-цепь рецептора IL-7, не обнаружено причинных SNP во вновь выявленных локусах, и функциональные эффекты кодируемых ими белков являются неуточненными.

В 2011 г. стали известны результаты еще одного полногеномного исследования, выполненного в рамках проекта Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2) [48], включавшего данные 4218 случаев РС и 7296 здоровых людей. За пределами главного комплекса гистосовместимости выявлено 95 различных регионов, имеющих по крайней мере один SNP, связанный с рассеянным склерозом с уровнем значимости $p_{GWAS} < 1 \times 10^{-4,5}$. Двадцать три из 26 ранее известных и ассоциированных с РС локусов воспроизведены в этом исследовании GWAS со скромным уровнем значимости $p_{GWAS} < 1 \times 10^{-3}$. Дополнительно обнаружено еще 29 новых областей, связанных с РС. Чуть более трети выявленных локусов совпадают с регионами, уже подтвержденными как связанные хотя бы с одним другим аутоиммунным заболеванием (в соответствии с каталогом GWAS).

В одной из последних работ F. Matesanz с соавторами [66] в ходе проведенного полногеномного исследования на испанской популяции и мета-анализа трех GWAS достоверно подтверждены ассоциации с РС 17 однонуклеотидных полиморфизмов, относящихся с трем локусам: HLA, IL-2RA, 5p13.1. Причем основной вывод исследования относится именно к хромосомной области 5p13.1, с которой однозначно связаны два аутоиммунных заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона). С использованием двух независимых испанских когорт с общим количеством 4192 больных РС и 7498 здоровых лиц авторам удалось однозначно подтвердить защитную роль полиморфизма rs9292777, расположенного на 5p13.1, для фенотипа рассеянного склероза ($OR_{pooled} = 0{,}84$; 95%-й доверительный интервал 0,80–0,89; $p = 1{,}36 \times 10^{-9}$).

Подтверждено вовлечение в восприимчивость к РС множества генов, кодирующих не только молекулы цитокинов (*CXCR5*, *IL2RA*, *IL7R*, *IL7*, *IL12RB1*, *IL22RA2*, *IL12A*, *IL12B, IRF5*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF14*, *TNFSF14*), костимулирующих факторов (*CD37*, *CD40*, *CD58*, *CD80*, *CD86*, *CLECL1*) и сигнальных молекул (*CBLB*, *GPR65*, *MALT1*, *RGS1*, *STAT3*, *TAGAP*, *TYK2*), т. е. иммунологически значимых факторов [11, 19, 56, 60]. Также оказываются вовлеченными гены молекул, участвующих в метаболизме экологических факторов риска, таких как витамин D (CYP27B1, CYP24A1) [3].

В другой работе IMSGC [41] с использованием данных двух полногеномных исследований продемонстрировано, что значительная часть из тысяч вариантов по отдельности не в состоянии показать статистически значимые ассоциации. Совокупный эффект 12 627 однонуклеотидных полиморфизмов по тесту Cochran-Mantel-Haenszel ($p < 0{,}02$) может объяснить ~ 3 % вариаций в риске РС. Существование высокозначимых ассоциаций с болезнью ($p = 3{,}14 \times 10^{-9} – 6{,}12 \times 10^{-9}$) подтверждает тем самым, что при РС имеет место полигенное наследование, определяющееся пока еще неизвестными генетическими вариациями.

Гены цитокиновой сети традиционно привлекают большой интерес как возможные факторы риска аутоиммунных болезней. Это основано на результатах экспериментальных работ, многократно продемонстрировавших участие цитокинов и их рецепторов в патогенезе аутоиммунных заболеваний. На моделях аутоиммунных заболеваний у животных получены доказательства возможности существенно изменить исходы болезни посредством или моноклональных анти-

тел против отдельных цитокинов, или введения рекомбинантных цитокинов, или сплайсингом генов цитокинов. Многочисленные примеры таких успешных вмешательств имеются в научной литературе и будут проанализированы в этом обзоре.

Взаимодействие между рецепторами суперсемейства TNF, экспрессированными на Т-клетках, и TNF-лигандами меняет течение воспалительных процессов, влияя на стимуляцию Т-клеток, взаимодействие между субпопуляциями Т-лимфоцитов, а также усиливая воспалительную реакцию, минуя Т-клеточные взаимодействия [36].

Рецептор TNFα (TNFR II) играет существенную роль в развитии и прогрессировании экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита, модели РС у животных.

Ген *TNF*α представлен одной копией на хромосоме 6 человека [67]. В исследованиях *in vitro* продемонстрировано, что аллель А полиморфного локуса в положении G–308A гена *TNF*α ассоциирована с более выраженной транскрипцией цитокина [30, 37]. TNFα считается классическим провоспалительным цитокином, но недавно было показано, что он обладает существенным противовоспалительным и нейропротективным эффектом при демиелинизирующих болезнях [39].

Возможная роль аллелей *TNFRSF1A* при РС может быть изучена на основе результатов функциональных исследований на человеке. Имеются клинические данные, подтверждающие вовлечение TNFα в восприимчивость к РС у человека. Лечение с помощью моноклональных антител к TNFα может вызвать острые эпизоды воспаления центральной нервной системы у пациентов с РС [77]. В ходе II фазы клинических испытаний препарата ленерцепт, представляющего собой гибридный белок TNFRSF1A:IgG1, также выявлено увеличение риска клинических атак [74]. Кроме того, очаги демиелинизации являются возможным побочным эффектом у пациентов с болезнью Крона или ревматоидным артритом при лечении моноклональными антителами к TNFα [73]. Таким образом, на основе генетических и функциональных данных можно предполагать, что нарушение регуляции TNFα-пути играет важную роль в возникновении рассеянного склероза, а клинические наблюдения указывают, что снижение активности TNFα связано с началом воспалительных поражений ЦНС.

На сегодняшний день накоплен большой опыт изучения полиморфизма гена *TNF*α [15, 24, 55], в том числе сибирскими учеными [3, 10, 12, 17, 18]. Так, еще в российских исследованиях 1995–1997 гг. установлено, что аллели *TNFα1* и *TNFα9* встречаются достоверно чаще в группе больных РС [2]. В другой работе не обнаружено достоверной разницы в распределении аллелей *TNF*α (–308) у больных и в контрольной группе [24]. В одном из последних исследований показано, что аллель *TNF*α(–308)A чаще передается больным детям от здоровых гетерозиготных родителей [9]. Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют об участии гена *TNF*α в развитии предрасположенности к рассеянному склерозу у русских.

По данным мета-анализа [38] *TNFRSF1A* имеет две независимых аллели, ассоциированные с РС: rs1800693 – это распространенный вариант с умеренным эффектом (отношение шансов 1,2), тогда как rs4149584 является несинонимично кодирующим полиморфизмом (nonsynonymous coding polymorphism), редким, но с более сильным эффектом (частота аллелей = 0,02; отношение шансов = 1,6)

CD40 – поверхностный рецептор, член семейства рецепторов TNF (TNFRS5), экспрессирующийся как на гемопоэтических клетках (В-лимфоцитах, дендритных клетках, активированных моноцитах), так и на многих других (эпителиальных, эндотелиальных и гладкомышечных клетках, фибробластах, кератиноцитах, остеобластах, нейронах, бета-клетках поджелудочной железы и клетках протоков). Кроме того, было показано, что различные цитокины, такие как гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор, IL-1, IL-3, IFN-γ, TNF-α, индуцируют экспрессию CD40 на различных типах клеток [76]. Ген *CD40* картирован на хромосоме 20q11–13 [4].

Лиганд для CD40, CD40L (который также называют CD154) экспрессируется на активированных Т-клетках. Сигнальная система CD40L/CD40 играет важную роль в регулировании Т-клеточной активации антигенпрезентирующими клетками, в развитии Т-зависимых ответов на чужеродные антигены и болезнетворные микроорганизмы. Прайминг Т-клеток и активация В-лимфоцитов могут наблюдаться и в отсутствие CD40/CD40L-костимулирующих сигналов, но многие иммунные функции нарушаются без этого взаимодействия, что подчеркивает его важность для адекватного иммунного ответа.

Участие системы CD40L (CD154) в патогенезе рассеянного склероза реализуется на различных уровнях. На начальных этапах заболевания CD40L могут быть причастны к миграции Т-клеток через гематоэнцефалический барьер в паренхиму мозга. С другой стороны, участие системы CD40L может быть реализовано через Т-клеточно/макрофагальные взаимодействия,

приводящие к активации различных эффекторных функций макрофагов, таких как презентация аутоантигенов, продукция цитокинов и хемокинов и оксида азота. Дополнительный механизм, посредством которого система CD154 может вносить свой вклад в развитие РС, является продукция аутоантител $CD40^+$ В-клетками. Действительно, при РС в периваскулярных инфильтратах были обнаружены антитела к основному белку миелина [51].

Таким образом, взаимодействие CD40/CD40L играет ключевую роль в иммунном ответе и является одним из компонентов патогенеза многочисленных аутоиммунных заболеваний, включая РС [31]. Это было показано многочисленными исследованиями как на животных, так и людях.

Хотелось бы обратить внимание на то, что ген *CD40L* расположен на Х хромосоме [32], а аутоиммунным заболеваниям в большей степени подвержены женщины.

Функциональная блокада CD40 мышиными антителами эффективно предотвращает клиническую манифестацию модели рассеянного склероза у животных [29, 57]. Экспериментальный аллергический энцефаломиелит (модель РС) не развивается у мышей, нокаутированных по гену *CD40L* [54], поскольку такие животные несут трансгенные Т-клеточные рецепторы, специфичные для основного белка миелина, что приводит к нарушению взаимодействия Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток.

Повышенное содержание клеток, экспрессирующих CD40L, обнаружено в мозге пациентов с рассеянным склерозом [50]. В активных очагах, в периваскулярно расположенных инфильтратах выявлена близость $CD40L^+$ клеток с CD40-экспрессирующими клетками [71].

Различные исследования показали, что моноциты и CD4- и CD8-позитивные Т-лимфоциты, полученные от больных вторично-прогрессирующим РС, экспрессируют CD40L в большей степени, чем клетки пациентов с ремиттирующим РС или здоровых людей [46].

Ассоциация полиморфных локусов, маркирующих промоторную область гена CD40, согласуется с гипотезой об аутоиммунной природе РС. Ранее была показана ассоциация различных полиморфных локусов гена CD40 с рядом аутоиммунных заболеваний: системная красная волчанка, ревматоидный артрит, болезнь Крона, болезнь Грейвса. Косвенным доказательством важной роли системы CD40-CD40L может быть успешно завершенная I фаза клинического исследования (Biogen Idec, США) использования CD40L при лечении системной красной волчанки [http://www.biogenidec.com/research_product_pipeline.aspx?ID=5778].

Известно, что CD40-CD40L является ключевой сигнальной системой в индукции Th2-ответа, а значит, влияет на продукцию специфических антител, что может объяснять ее участие в развитии аутоиммунных процессов. Это делает крайне привлекательным и перспективным изучение системы CD40-CD40L для разработки таргетного лекарства подавления/предупреждения аутоиммунной атаки [52, 62].

При этом не ясен молекулярный механизм участия гена *CD40* в аутоиммунных процессах при РС. Для решения этой проблемы одним из чувствительных методов является анализ неравновесия по сцеплению. В 2005 г. были опубликованы результаты исследования, проведенного на британской когорте, по оценке неравновесия по сцеплению полиморфных локусов гена CD40 [33]. Анализ показал, что внутри гена *CD40* есть два блока неравновесия по сцеплению. Однако самый дальний от гена в 5’-области полиморфный локус rs1009373 лежит на расстоянии ~5 kb, в то время как rs6074022 локализован на ~6 kb выше начала гена *CD40*. Таким образом, данные этого исследования недостаточны для оценки неравновесия по сцеплению rs6074022 с полиморфными локусами гена.

В исследовании на популяции Алтайского края не было получено достоверной ассоциации полиморфного локуса rs6074022 гена *CD40* с развитием РС [12, 13]. Такое противоречие с результатами некоторых работ [17, 18, 49] может объясняться как генетической гетерогенностью и недостаточным для ее преодоления количеством больных, так и региональными особенностями РС.

В исследовании J.C. Jensen с соавторами получены доказательства более сильного влияния полиморфного локуса rs6074022 на показатели тяжести РС у мужчин [59], однако другие авторы не установили связей полиморфизмов в гене *CD40* с показателями тяжести и скоростью прогрессирования РС [70].

В нашей работе [8] было показано, что генотипы CC полиморфизма rs6074022 и CG полиморфизма rs11086998 гена *CD40* ассоциируются с более высоким уровнем инвалидизации, а генотип CC полиморфизма rs11086998 – с более высокой скоростью прогрессирования РС. Подтверждена связь клинической активности заболевания, определяемой как среднегодовая частота обострений, с наследственным фактором на примере полиморфизма генов цитокинов, которые вовлечены в иммунный ответ.

Другим привлекательным геном-кандидатом предрасположенности к РС можно назвать ген *IL2RA*, кодирующий α-субъединицу рецептора IL-2. Регуляторные Т-клетки, экспрессирующие на своей поверхности IL-2R (CD25), подавляют аутореактивные Т-лимфоциты на периферии [65], а при РС наблюдается снижение функции и количества регуляторных Т-клеток. Были выявлены ассоциации полиморфизмов гена *IL2RA* с болезнью Грейвса, сахарным диабетом 1-го типа [22] и РС [22, 65]. Предполагается, что ген *IL2RA/CD25* действует как общий локус предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям. К настоящему моменту имеются обнадеживающие результаты II фазы нескольких клинических исследований влияния препарата даклизумаб (Biogen Idec), представляющего собой гуманизированное моноклональное антитело к α-субъединице рецептора IL-2 (анти-CD25), на клинические и МРТ-параметры РС, показывающие возможность подавления воспаления и стабилизацию прогрессирования заболевания [28, 63]. Даклизумаб продолжают изучать в исследованиях фаз IIb и III.

H.M. Schrijver с соавторами продемонстрировали наличие влияния аллелей гена *IL1RN* на продукцию IL-1ra. Действительно, показано, что продукция IL-1ra была значительно выше у лиц, гомозиготных по аллели 2 *IL1RN*, и вообще выше у больных РС в сравнении с контрольной группой. У пациентов с первично-прогрессирующим РС соотношение IL-1beta/IL-1ra было значительно меньше, чем у пациентов с ремиттирующим РС [72]. Обнаружены ассоциации полиморфизма генов *IL1B*, *IL1RA* с активностью заболевания и темпом прогрессирования РС [14, 21].

Ключевую роль в поляризации иммунного ответа в сторону Th1 играет IL-12. Интересны результаты генотипирования по полиморфному варианту 1188A/C гена *IL12B* в 3'-нетранслируемой области на томской популяции [1, 3]. Частота генотипа C/C оказалась выше у больных РС, чем у здоровых (8,1 и 0,8 % соответственно). Предполагается, что полиморфизм 1188 A/C гена *IL12B* может иметь отношение как к подверженности РС, так и к активности патологического процесса у носителей аллели C гена *IL12*. Авторы сделали попытку найти генетический маркер (предиктор) ответа на иммуномодулирующую терапию препаратами, изменяющими течение РС, и указывают, что при лечении глатирамера ацетатом у носителей аллели C отмечена тенденция к увеличению времени до наступления первого обострения.

IL-18 – это уникальный цитокин, который стимулирует и Th1-, и Th2-иммунный ответы в зависимости от окружения, вырабатывается моноцитами/макрофагами, дендритными клетками, В-лимфоцитами и другими антигенпрезентирующими клетками, астроцитами и микроглией. IL-18, его рецептор и IL-18-связывающий белок представляют собой полиморфную структуру, которая формируется как на уровне аллельного полиморфизма генов этих белков, так и за счет альтернативного сплайсинга мРНК этих генов. Показано, что наличие того или иного аллельного варианта IL-18 или IL-18-связывающего белка ассоциируется с увеличением частоты различных патологических процессов, включая сахарный диабет, ревматоидный артрит, некоторые виды опухолей и др. [75]. IL-18 без дополнительной стимуляции увеличивает продукцию IL-8, MIP-1a (macrophage inflammatory protein-1a), MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1) мононуклеарными клетками периферической крови человека. Антитела к IL-18 предотвращают развитие экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. IL-18 активирует аутореактивные Т-лимфоциты и запускает аутодеструкцию в ЦНС через индукцию IFN-γ NK-клетками при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите. IL-18 экспрессируется в бляшках, образующихся при РС [47]. Ген *IL18* был картирован в регионе 11q22.2–22.3 в 1998 г. [75]. Несмотря на очевидную роль IL-18 в патогенезе РС, не много публикаций посвящено поиску связи аллельных вариантов гена *IL18* с предрасположенностью к РС [5, 17]. В работе Н.Н. Загорской с соавторами выявлена связь между частотой обострений РС и присутствием различных аллельных вариантов гена *IL18* [5]. Обнаружено, что в группе пациентов с гомозиготным генотипом обострения заболевания возникали реже, чем в группе с гетерозиготным генотипом GC. Это может свидетельствовать о протективной роли аллельного варианта CC гена *IL18* в отношении возрастания частоты обострений при РС.

Таким образом, существующие на сегодняшний день данные позволяют четко определить РС как полигенное заболевание, в развитии которого задействованы как минимум несколько генов.

При этом обсуждается роль полиморфизма генов цитокинов в развитии различных типов заболевания, скорости прогрессирования, интенсивности воспалительной реакции и других важных клинико-патогенетических характеристик РС [4]. А выявление вариантов генов, определяющих конкретный клинический фенотип, исход болезни или ответ на проводимую терапию [20], является важной задачей современных генетических исследований.

С 2007 г. быстро расширяющаяся серия полногеномных исследований (GWAS) при различных заболеваниях помогла идентифицировать и подтвердить наличие многочисленных локусов генов цитокинов/рецепторов как аутоиммунных факторов риска. Важно отметить, что большинство ассоциированных вариантов ДНК вряд ли представляет собой конечные причинные факторы риска заболевания, но, вероятно, возникли вследствие неравновесия по сцеплению с реальным причинным полиморфизмом.

Через неравновесие по сцеплению некоторые варианты, ассоциированные с аутоиммунными процессами и расположенные в пределах или вблизи локусов генов цитокинов, могут влиять на функциональную геномику соседних нецитокиновых генов, расположенных в том же блоке гаплотипов. Фенотипические эффекты полиморфизмов генов цитокинов не могут быть отделены от других аутоиммунных риск-локусов, если мы хотим получить всеобъемлющее понимание.

Традиционные исследования генов-кандидатов в эру до полногеномных исследований выявили многочисленные связи между генами цитокинов и риском или клиническими параметрами аутоиммунных заболеваний. Многие из этих ассоциаций остаются в силе после GWAS, при том что их эффект оценивается более скромным. Однако, что наиболее важно, проведенные GWAS подтвердили участие полиморфизмов генов цитокинов в патогенезе аутоиммунных заболеваний, в том числе рассеянного склероза.

В совокупности результаты свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в генетически разнородных популяциях для выявления новых биомаркеров, связанных с РС, которые могут быть использованы в качестве прогностических факторов или терапевтических мишеней для модуляции аутоиммунного ответа у пациентов с РС.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Алифирова В.М., Орлова Ю.Ю., Бабенко С.А. и др*. Полиморфизм 1188 A/C гена *IL12B* у больных рассеянным склерозом в Томской области и возможности оценки эффективности иммуномодулирующей терапии // Журн. неврол. психиатрии. 2006. (3, Прил. Рассеянный склероз). 130–135.

2. *Андриевский Т.А., Спирин Н.Н., Качуро Д.В. и др*. Генетика рассеянного склероза // Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания / Ред. Е.И. Гусев, И.А. Завалишин, А.Н. Бойко. М., 2004. 43–59.

3. *Бабенко С.А*. Роль аллельных вариантов генов иммунного ответа в развитии рассеянного склероза: автореф. дис. … канд. мед. наук. Томск, 2008.

4. *Бойко А.Н., Гусев Е.И*. Достижения в изучении проблем рассеянного склероза (обзор) // Доктор.Ру. 2012. (5). 9–15.

5. *Загорская Н.Н., Арефьева Е.Г., Субботин А.В. и др*. Связь частоты обострений рассеянного склероза с аллельными вариантами гена *IL18* // Медицина в Кузбассе. 2012. XI. (3). 3–6.

6. *Иерусалимский А.П., Доронин Б.М., Малкова Н.А. и др*. Эпидемиология рассеянного склероза в Сибири и на Дальнем Востоке (болезненность, заболеваемость) // Рассеянный склероз (эпидемиология, новые методы диагностики). Новосибирск: НГМИ, 1985. 3–5.

7. *Коробко Д.С., Малкова Н.А., Булатова Е.В. и др*. Генетические и клинические особенности семейного рассеянного склероза в Новосибирске // Актуальные вопросы неврологии. Новосибирск, 2012. 50–55.

8. *Коробко Д.С., Кудрявцева Е.А., Малкова Н.А., Филипенко М.Л*. Связь полиморфизмов генов цитокинов со скоростью прогрессирования рассеянного склероза // Журн. неврол. психиатрии. 2012. 112. (2). 9–15.

9. *Макарычева О.Ю., Царева Е.Ю., Судомина М.А. и др*. Анализ сцепления и ассоциации аллелей генов провоспалительных цитокинов IL-6, IFNG и TNFα с рассеянным склерозом с помощью теста неравновесной передачи аллелей (TDT) // Молек. биол. 2010. 44. (5). 824–830.

10. *Николаева И.А., Бабенко С.А., Максимова Н.Р., Пузырев В.П*. Молекулярно-генетическое исследование рассеянного склероза в Республике Саха (Якутия) // Сибирский консилиум. 2007. (6). 68–72.

11. *Орлова Ю.Ю., Алифирова В.М., Чердынцева Н.В., Гервас П.А*. Полиморфизм гена хемокинового рецептора CCR5 у больных рассеянным склерозом в Сибирском регионе // Бюл. сиб. мед. 2006. (3). 98–104.

12. *Смагина И. В., Ельчанинова С. А., Золовкина А.Г. и др*. Генетические факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края // Журн. неврол. психиатрии. 2011. 111. (5). 42–45.

13. *Смагина И.В., Игнатова Ю.Н., Ельчанинова С.А., Федянин А.С*. Распространенность и факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края // Бюл. сиб. мед. 2011. (2). 39–43.

14. *Субботин А.В., Глушков А.Н., Арефьева Е.Г. и др*. Полиморфизм генов HLA DRB2 и генов цитокинов IL-1B, IL-1RA и их влияние на возникновение и течение рассеянного склероза // Медицина в Кузбассе. 2004. (2). 18–22.

15. *Судомоина М.А., Бойко А.Н., Спуркланд А. и др*. Полиморфизм микросателлитных повторов в локусе фактора некроза опухолей при рассеянном склерозе у русских, татар и норвежцев // Нейроиммунология. 2003. (2). 142.

16. *Фаворова О.О., Кулакова О.Г., Бойко А.Н.* Рассеянный склероз как полигенное заболевание: современное состояние проблемы // Генетика. 2010. 46. (3). 302–313.

17. *Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др*. Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностей его течения в русской этнической группе // Бюл. СО РАМН. 2011. (1). 113–118.

18. *Ханох Е.В., Рождественский А.С., Кудрявцева Е.А. и др*. Влияние полиморфных локусов rs1800629 (TNFa), rs6074022 (CD40), rs187238 (IL-18), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A) на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом гендерной принадлежности в этнической группе русских // Бюл. сиб. мед. 2011. (2). 50–56.

19. *Хусаинова А.Н.* Молекулярно-генетическое исследование рассеянного склероза: полиморфизм генов цитокиновой сети: автореф. дис. … канд. биол. наук. Уфа, 2012.

20. *Царева Е.Ю., Кулакова О.Г., Макарычева О.Ю. и др*. Фармакогеномика рассеянного склероза: ассоциация полиморфизма генов иммунного ответа с эффективностью лечения копаксоном // Молекулярная биология. 2011. 6. 963–972.

21. *Шабалдин А.В., Борисов В.И., Филипенко М.Л. и др*. Ассоциация полиморфных вариантов генов семейства интерлейкина-1 с рассеянным склерозом // Иммунология. 2007. (5). 260–263.

22. *Alcina A., Fedetz M., Ndagire D. et al*. IL2RA/CD25 gene polymorphisms: uneven association with multiple sclerosis and type 1 diabetes // PLoS One. 2009. 4. e4137.

23. *Alcina A., Fernández O., Gonzalez J.R. et al.* Tag-SNP analysis of the GFI1-EVI5-RPL5-FAM69 risk locus for multiple sclerosis // Eur. J. Hum. Genet. 2010. 18. (7). 827–831.

24. *Alekseenkov A.D., Sudomoina M.V., Boiko A.N. et al*. Genetic polymorphisms of the human tumor necrosis factor (TNF-α) first intron region in multiple sclerosis (MS) in the Russian ethnic group // Eur. J. Neurol. 1998. 5. (3). 124–125.

25. *Bahreini S.A., Jabalameli M.R., Saadatnia M., Zahednasab H*. The role of non-HLA single nucleotide polymorphisms in multiple sclerosis susceptibility // J. Neuroimmunol. 2010. 229. (1–2). 5–15.

26. *Baranzini S.E., Wang J., Gibson R.A. et al.* Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis // Hum. Mol. Genet. 2009. 18. 767–778.

27. *Baranzini S.E., Nickles D*. Genetics of multiple sclerosis: swimming in an ocean of data // Curr. Opin. Neurol. 2012. 25. (3). 239–245.

28. *Bielekova B., Howard T., Packer A.N. et al*. Effect of anti-CD25 antibody daclizumab in the inhibition of inflammation and stabilization of disease progression in multiple sclerosis // Arch. Neurol. 2009. 66. (4). 483–489.

29. *Boon L., Brok H.P., Bauer J. et al*. Prevention of experimental autoimmune encephalomyelitis in the common marmoset (Callithrix jacchus) using a chimeric antagonist monoclonal antibody against human CD40 is associated with altered B cell responses // J. Immunol. 2001. 167. 2942–2949.

30. *Braun N., Michel U., Ernst B.P. et al*. Gene polymorphism at position –308 of the tumor-necrosis-factor-alpha (TNF-alpha) in multiple sclerosis and it‘s influence on the regulation of TNF-alpha production // Neurosci. Lett. 1996. 215 (2). 75–78.

31. *Buck D., Kroner A., Rieckmann P., Mäurer M*. Analysis of the C/T(-1) single nucleotide polymorphism in the CD40 gene in multiple sclerosis // Tissue Antigens. 2006. 68. (4). 335–338.

32. *Castigli E., Fuleihan R., Ramesh N. et al*. CD40 ligand/CD40 deficiency // Int. Arch. Allergy Immunol. 1995. 107. (1–3). 37–39.

33. *Chadha S., Miller K., Farwell L. et al*. Haplotype structure of TNFRSF5-TNFSF5 (CD40-CD40L) and association analysis in systemic lupus erythematosus // Eur. J. Hum. Genet. 2005. 13. (5). 669–676.

34. *Compston A., Coles A*. Multiple sclerosis // Lancet. 2002. 359. (9313). 1221–1231.

35. *Compston A., Sadovnic A.D*. Epidemiology and genetics of multiple sclerosis // Curr. Opin. Neurol. Neurosurg. 1992. 5. (2). 175–181.

36. *Croft M*. The role of TNF superfamily members in T-cell function and diseases // Nat. Rev. Immunol. 2009. 9. 271–285.

37. *Cuenca J., Pérez C.A., Aguirre A.J. et al.* Genetic polymorphism at position-308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in the Chilean population // Biol. Res. 2001. 34. (3–4). 237–241.

38. *De Jager P.L., Jia X., Wang J. et al*. Meta-analysis of genome scans and replication identifyCD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci // Nat. Genet. 2009. 41. (7). 776–782.

39. *Drulović J., Popadić D., Mesaros S. et al*. Decreased frequency of the tumor necrosis factor alpha –308 allele in Serbian patients with multiple sclerosis // Eur. Neurol. 2003. 50. (1). 25–29.

40. *Ebers G.C., Sadovnick A.D., Risch N.J.* A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group // Nature. 1995. 377. 150–151.

41. Evidence for polygenic susceptibility to multiple sclerosis – the shape of things to come. The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC) // Am. J. Hum. Genet. 2010. 86. 621–625.

42. *Farral M*. Mapping genetic susceptibility to multiple sclerosis // Lancet. 1996. 348. 1674–1675.

43. *Favorov A.V., Andreewski T.V., Sudomoina M.A. et al*. A Markov chain Monte Carlo technique for

identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans // Genetics. 2005. 171. (4). 2113–2121.

44. *Favorova O.O., Favorov A.V., Boiko A.N. et al*. Three allele combinations associated with multiple sclerosis // BMC Med. Genet. 2006. 7. 63.

45. *Favorova O.O., Andreewski T.V., Boiko A.N. et al*. The chemokine receptor CCR5 deletion mutation is associated with MS in HLA-DR4-positive Russians // Neurology. 2002. 59. (10). 1652–1655.

46. *Filion L.G., Matusevicius D., Graziani-Bowering G.M. et al*. Monocyte-derived IL12, CD86 (B7–2) and CD40L expression in relapsing and progressive multiple sclerosis // Clin. Immunol. 2003. 106. 127–138.

47. *Fukaura H., Kikuchi S*. IL-18 in multiple sclerosis // Nippon Rinsho. 2003. 61. (8). 1416–1421.

48. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2 // Nature. 2011. 476. (7359). 214–219.

49. Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. The ANZgene Consortium // Nat. Genet. 2009. 41. 824–828.

50. *Gerritse K., Laman J.D., Noelle R.J. et al*. CD40-CD40 ligand interactions in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. 93. (6). 2499–2504.

51. *Gerritse K., Deen C., Fasbender M. et al*. The involvement of specific anti myelin basic protein antibody forming cells in multiple sclerosis immunopathology // J. Neuroimmunol. 1994. 49. 153–159.

52. *Ghosh S*. Biologic therapies: lessons from multiple sclerosis // Dig. Dis. 2012. 30. (4). 383–386.

53. *Gregory S.G., Schmidt S., Seth P. et al*. Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis // Nat. Genet. 2007. 39. 1083–1091.

54. *Grewal I.S., Foellmer H.G., Grewal K.D. et al*. Requirement for CD40 ligand in costimulation induction, T cell activation, and experimental allergic encephalomyelitis // Science. 1996. 273. 1864–1867.

55. *Gusev E.I., Sudomoina M.A., Boyko A.N. et al*. TNF gene polymorphisms: association with multiple sclerosis susceptibility and severity // Frontiers in Multiple Sclerosis: Clinical Research and Therapy. London: Martin Dunitz Publishers, 1997. 35–41.

56. *Hafler D.A. Compston A., Sawcer S. et al*. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study // N. Engl. J. Med. 2007. 357. (9). 851–862.

57. *Hart B. A., Hintzen R.Q., Laman J.D*. Preclinical assessment of therapeutic antibodies against human CD40 and human interleukin-12/23p40 in a nonhuman primate model of multiple sclerosis // Neurodegener. Dis. 2008. 5. 38–52.

58. *Hoppenbrouwers I.A., Aulchenko Y.S., Ebers G.C. et al*. EVI5 is a risk gene for multiple sclerosis // Genes Immun. 2008. 9. 334–337.

59. *Jensen J.C., Stankovich J., Van der Walt A. et al*. Multiple sclerosis susceptibility-associated SNPs do not influence disease severity measures in a cohort of Australian MS patients // PLoS One. 2010. 5. e10003.

60. *Kristjansdottir G., Sandling J.K., Bonetti A. et al*. Interferon regulatory factor 5 (IRF5) gene variants are associated with multiple sclerosis in three distinct populations // J. Med. Genet. 2008. 45. 362–369.

61. *Lassmann H*. Mechanisms of inflammation induced tissue injury in multiple sclerosis // J Neurol. Sci. 2008. 274. (1–2). 45–47.

62. *Law C.L., Grewal I.S*. Therapeutic interventions targeting CD40L and CD40: The opportunities and challenges // Adv. Exp. Med. Biol. 2009. 647. (8). 36.

63. *Liu J., Wang L., Zhan S.Y., Xia Y*. Daclizumab for relapsing remitting multiple sclerosis // Cochrane Database Syst. Rev. 2012. 4. CD008127.

64. *Lundmark F., Duvefelt K., Iacobaeus E. et al*. Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis // Nat. Genet. 2007. 39. 1108–1113.

65. *Matesanz F., Caro-Maldonado A., Fedetz M. et al*. IL2RA/CD25 polymorphisms contribute to multiple sclerosis susceptibility // J. Neurol. 2007. 254. 682–684.

66. *Matesanz F., González-Pérez A., Lucas M*. Genome-wide association study of multiple sclerosis confirms a novel locus at 5p13.1 // PLoS One. 2012. 7. (5). e36140.

67. *Nedwin G.E., Naylor S.L., Sakaguchi A.Y. et al*. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization // Nucleic Acids Res. 1985. 13. (17). 6361–6373.

68. *Nischwitz S., Müller-Myhsok B., Weber F*. Risk conferring genes in multiple sclerosis // FEBS Lett. 2011. 585. (23). 3789–3797.

69. *Oksenberg J.R., Baranzini S.E*. Multiple sclerosis genetics – is the glass half full, or half empty? // Nat. Rev. Neurol. 2010. 6. (8). 429–437.

70. *Ramagopalan S.V., Ebers G.C*. Genes for multiple sclerosis // Lancet Neurol. 2008. 371. 283–285.

71. *Roth E., Schwartzkopff J., Pircher H*. CD40 Ligation in the Presence of Self-Reactive CD8 T Cells Leads to Severe Immunopathology // J. Immunol. 2002. 168. 5124–5129.

72. *Schrijver H.M., van As J., Crusius J.B. et al.* Interleukin (IL)-1 gene polymorphisms: relevance of disease severity associated alleles with IL-1beta and IL-1ra production in multiple sclerosis // Mediat. Inflamm. 2003. 12(2). 89–94.

73. *Siddiqui M.A., Scott L.J*. Spotlight on infliximab in Crohn disease and rheumatoid arthritis // BioDrugs. 2006. 20. 67–70.

74. TNF neutralization in MS: results of a randomized, placebo-controlled multicenter study.

The Lenercept Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group // Neurology. 1999. 53. 457–465.

75. *Thompson S.R., Humphries S.E.* Interleukin-18 genetics and inflammatory disease susceptibility // Genes Immun. 2007. 8 (2). 91–99.

76. *van Kooten C., Banchereau J.* CD40-CD40 ligand // J. Leukoc. Biol. 2000. 67. 2–17.

77. *van Oosten B.W. Barkhof F., Truyen L. et al.* Increased MRI activity and immune activation in two multiple sclerosis patients treated with the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody cA2 // Neurology. 1996. 47. 1531–1534.

78. V*andenbroeck K.* Cytokine gene polymorphisms and human autoimmune disease in the era of genome-wide association studies // J. Interferon Cytokine Res. 2012. 32. 4.

79. *Yeo T.W., De Jager P.L., Gregory S.G. et al.* A second major histocompatibility complex susceptibility locus for multiple sclerosis // Ann. Neurol. 2007. 61. 228–236.

ACHIEVEMENTS AND FUTURE OF RESEARCH OF THE ROLE OF CYTOKINE GENES POLYMORPHISMS IN THE PATHOGENESIS OF MULTIPLE SCLEROSIS (REVIEW)

Denis Sergeevich KOROBKO[1], Nadezhda Alekseevna MALKOVA[2]

[1] *State Novosibirsk Regional Clinical Hospital*
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130

[2] *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52

It has been proved that multiple sclerosis is a multifactorial polygenic disease. The review of the literature on recent achievements of research of cytokine genes polymorphisms in the pathogenesis of MS and the prospects for the data practical application has been carried out. Original articles and reviews on the results of genome-wide association studies and powerful candidate gene investigations have been analyzed. The biological role of the inflammatory cytokines and the association of polymorphic markers of the disease were described. Thereat besides the issue on susceptibility factors to MS, variants of genes that could determine the clinical phenotype and the clinical outcome are actively investigated.

Key words: Multiple sclerosis, cytokine gene polymorphisms, SNP, genotyping, GWAS, gene *CD40*, *TNF*α gene, *IL18* gene.

Korobko D.S. *– neurologist, e-mail: ocrs@mail.ru; denn007@ngs.ru*
Malkova N.A. *– doctor of medical sciences, professor of the chair for clinical neurology and algology*