

Полигенный анализ полногеномных маркеров рассеянного склероза

Тимашева Я.Р.^{1,2}, Насибуллин Т.Р.¹, Туктарова И.А.¹, Эрдман В.В.¹, Галиуллин Т.Р.², Заплахова О.В.², Бахтиярова К.З.²

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение ФГБНУ

«Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук», Уфа;

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

¹Россия, 450054, Уфа, пр. Октября, 71; ²Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

Цель исследования — проведение полигенного анализа полногеномных маркеров рассеянного склероза (РС) в группах башкир, русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан (Российская Федерация).

Пациенты и методы. Выполнено генотипирование с использованием метода аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов по полиморфным вариантам генов дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека CD6 (rs17824933), CD40 (rs6074022), CD58 (rs2300747), CD86 (rs9282641), факторов транскрипции SOX8 (rs2744148) и ZBTB46 (rs6062314), бета-маннозидазы MANBA (rs228614), домена лектина C-типа CLEC16A (rs12708716), рибосомальной протеин S6 киназы B1 RPS6KB1 (rs180515) и гена длинной некодирующей РНК PVT1 (rs759648) в выборке из 644 пациентов с РС и 1408 представителей контрольной группы. Мультилокусный анализ ассоциаций с заболеванием сочетаний генотипов и аллелей исследуемых полиморфных локусов проводили с применением алгоритма APSampler.

Результаты и обсуждение. Охарактеризовано распределение частот генотипов и аллелей исследуемых полиморфных локусов в этнических группах башкир, русских и татар. Обнаружены ассоциации с заболеванием полиморфных локусов CD58 (rs2300747) и RPS6KB1 (rs180515) в группе русских мужчин, CD86 (rs9282641) в группе русских женщин, PVT1 (rs759648) в группе женщин-татарок, CD40 (rs6074022) в группе мужчин-башкир, а также выявлены 19 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с РС.

Заключение. На основании полигенного анализа полногеномных маркеров РС нами выявлены этно- и гендерспецифические комбинированные маркеры предрасположенности к заболеванию.

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

Контакты: Янина Римовна Тимашева; ianina_r@mail.ru

Для ссылки: Тимашева ЯР, Насибуллин ТР, Туктарова ИА и др. Полигенный анализ полногеномных маркеров рассеянного склероза. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2021;13(Прил. 1):31–38. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-1S-31-38

Genome-wide polygenic analysis of multiple sclerosis markers

Timasheva Ya.R.^{1,2}, Nasibullin T.R.¹, Tuktarova I.A.¹, Erdman V.V.¹, Galiullin T.R.², Zaplakhova O.V.², Bakhtiarova K.Z.²

¹Institute of Biochemistry and Genetics — autonomous structural subdivision, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa; ²Bashkir State Medical University, Ministry of Health of Russia, Ufa

¹71, Oktaybrya prosp., Ufa 450054, Russia; ²3, Lenina St., Ufa 450008, Russia

Objective: to perform a genome-wide polygenic analysis of multiple sclerosis (MS) markers in the ethnic groups of Bashkirs, Russians, and Tatars living in the Republic of Bashkortostan (Russian Federation).

Patients and methods. Genotyping was performed using allele-specific polymerase chain reaction (PCR) and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of genes of the human leukocyte differentiation antigens CD6 (rs17824933), CD40 (rs6074022), CD58 (rs2300747), CD86 (rs9282641), transcription factors SOX8 (rs2744148) and ZBTB46 (rs6062314), beta-mannosidase MANBA (rs228614), C-type lectin domain CLEC16A (rs12708716), ribosomal protein S6 kinase B1 RPS6KB1 (rs180515), and long noncoding RNA gene PVT1 (rs759648) in 644 patients with MS and 1408 controls. Multilocus analysis of the disease associations with combinations of genotypes and alleles of the studied polymorphic loci was performed using the APSampler algorithm.

Results and discussion. We determined the distribution of genotype and allele frequencies of the studied polymorphic loci in the ethnic groups of Bashkirs, Russians, and Tatars. We also observed disease associations with CD58 (rs2300747) and RPS6KB1 (rs180515) polymorphic loci in Russian men, CD86 (rs9282641) in Russian, PVT1 (rs759648) in Tatar women, CD40 (rs6074022) in Bashkir men, and identified 19 combinations of genotypes and/or alleles significantly associated with MS.

Conclusion. Based on the genome-wide polygenic analysis of MS markers, we identified ethno- and gender-specific combined markers of the disease susceptibility.

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

Contact: Yanina Rimovna Timasheva; ianina_r@mail.ru

For reference: Timasheva YaR, Nasibullin TR, Tuktarova IA, et al. Genome-wide polygenic analysis of multiple sclerosis markers. Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2021;13(Suppl. 1):31–38. DOI: 10.14412/2074-2711-2021-1S-31-38

Рассеянный склероз (РС) — хроническое аутоиммунное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы. Одной из особенностей РС является вариабельность его распространенности в зависимости от пола и климатогеографических факторов. Женщины страдают РС в два раза чаще, чем мужчины, а в некоторых странах показатель отношения числа заболевших жен-

щин к числу мужчин может достигать 4:1 [1]. В России распространенность РС составляет 40–60 случаев на 100 тыс. населения, в Республике Башкортостан — 47,9 случая на 100 тыс. населения [2, 3]. Состав населения республики характеризуется наличием трех основных этнических групп: башкиры составляют около 30,3% всего населения, русские — 37%, татары — 24,6%. Распространен-

ность РС среди татар, проживающих на территории Республики Башкортостан, почти в 1,7 раза выше, чем в группе русских, и в 3 раза выше, чем в группе башкир [4].

Развитие РС обусловлено сочетанным влиянием генетических и средовых факторов. Роль генетических факторов в патогенезе РС подтверждает высокая распространенность заболевания в отдельных популяциях (особенно Северной Европы) по сравнению с другими (например, африканскими и азиатскими), в некоторых случаях — независимо от географического положения. Наиболее широко используемым методом изучения генетической природы РС являются полногеномные ассоциативные исследования (Genome-Wide Association Studies, GWAS), с помощью которых выявлено более 200 локусов, ассоциированных с риском развития РС [5]. Полигенный характер заболевания предполагает, что предрасположенность к РС формируется вследствие взаимодействия множества аллельных вариантов, комбинированное действие которых может быть качественно иным по сравнению с эффектом каждого из них в отдельности [6]. Таким образом, идентификация информативных генетических предикторов РС для отдельных популяций требует проведения репликативного анализа полногеномных маркеров в соответствующих этнических группах с учетом межгенных взаимодействий между исследуемыми полиморфными вариантами.

Цель настоящего исследования состояла в проведении полигенного анализа полногеномных маркеров РС в группах башкир, русских и татар, проживающих в Республике Башкортостан (Российская Федерация).

Пациенты и методы. Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения исследований с участием человека в качестве субъекта. Добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании было получено от всех участников.

Таблица 1.

Гены, полиморфные локусы, хромосомная локализация, последовательности праймеров, эндонуклеаза рестрикции, номенклатура аллелей и размер амплифицируемых фрагментов

Table 1.

Genes, polymorphic loci, chromosomal localization, primer sequences, restriction endonucleases, allele nomenclature and size of amplified fragments

Ген	Полиморфизм	Хромосомная локализация	Последовательности праймеров	Размер фрагментов
CD58	rs2300747A>G	1:117104215	A ctggaattgtctgacgta G ctgctaaaacatgggaaaaac F ttgagattatgcaaaagtgtc R ctgtgtatccctagcctga	БК 303 А 137 Г 207
CD86	rs9282641G>A	3:121796768	G aaggagccttaggaggtagg A ggagtatttgcgagctccgt F ccggcagaagtatttggaaac R caaatgcctgtccactgttag	БК 261 Г 138 А 162
MANBA	rs228614G>A	4:103578637	A ctgtgttccttcaggagcagt G gggtccattcagtgctttgg F acggtaaaacagttgcagatat R tgatagactgtggcagtggtt	БК 288 А 141 Г 187
PVT1	rs759648A>C	8:129158945	C cttcaccacctccaactgc A catgtacaaataccacatttgg F atctgccccattgctctgtc R cctgccccagactctgtttt	БК 324 С 169 А 197
CD6	rs17824933C>G	11:60760612	C gccaggaccccaggacac G gccaggaccccaggacag F agccaaatccctactcttacc R tcttgtaaccttatctgagc Alw26I	Г 287 С 141+146
SOX8	rs2744148A>G	16:1073552	G ctgccaggcagctttctcg A ctgccaggcagctttctca F gctttgtctctgaggtctgc R tggagatttctgaccacccca	БК 238 175
CLEC16A	rs12708716A>G	16:11179873	G tgggcagtagggagaatcatg A tgggcagtagggagaatcata F tacctgtgggaagtgacttgg R gccaaaggaagccaaagtcc	БК 211 162
RPS6KB1	rs180515T>C	17:58024275	C cacgtttattttctgtgtgc T cacgtttattttctgtgtgt F tcagaagcaacatcctaccct R agggagatgtgtgacatcc	БК 277 105
CD40	rs6074022T>C	20:44740196	F ccacttccacttccacttc R ctctcccttctctgtctct C tgagtgtcgtgtgtcctgac T agcagctgtctgccatgtga	БК 397 С 307 Т 125
ZBTB46	rs6062314T>C	20:62409713	C atcaaaaacacccccagaagac T atcaaaaacacccccagaagat F acttgagtcataattcaacgga R gtgttctgatcccgattcct	БК 208 111

Примечания. Указанная хромосомная локализация соответствует версии сборки генома hg19, GRCh37 (Genome Reference Consortium Human Reference 37, <https://genome.ucsc.edu/>). БК — внутренний контроль.

Группа пациентов с РС состояла из 644 человек, принадлежавших к этническим группам башкир ($n=97$), русских ($n=283$) и татар ($n=264$), с достоверным диагнозом РС по критериям McDonald 2017 г. [7], находившихся на лечении в Республиканской клинической больнице им. Г.Г. Куватова (Уфа). Средний возраст пациентов составлял $39,88 \pm 10,45$ года, средний возраст манифестации заболевания – $27,75 \pm 8,73$ года, средняя продолжительность заболевания – $13,2 \pm 9,36$ года. Соотношение женщин и мужчин среди пациентов равнялось 2:1. В группу контроля вошли 1408 практически здоровых индивидов: башкиры ($n=231$), русские ($n=490$) и татары ($n=687$), не состоящих в родстве друг с другом, без признаков РС и других аутоиммунных или нейродегенеративных заболеваний (средний возраст – $37,76 \pm 10,88$ года). Этническую принадлежность определяли по результатам анкетирования, включавшего вопросы об этносе и месте рождения предков в трех поколениях.

Клинический статус пациентов с РС оценивали с использованием шкалы неврологического дефицита Куртцке, тяжесть состояния больных определяли при помощи Расширенной шкалы степени инвалидизации (Expanded Disability Status Scale, EDSS). Для характеристики нарастания неврологического дефицита применяли показатель скорости прогрессирования, рассчитываемый как отношение степени инвалидизации по шкале EDSS в баллах к продолжительности заболевания в годах. В соответствии с общепринятой классификацией выделяли первично-прогрессирующий РС (ППРС), вторично-прогрессирующий РС (ВПРС), ремиттирующий РС (РРС).

ДНК выделяли с использованием метода фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществляли при помощи аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) на термциклере T100™ (BioRad, США). Праймеры для генотипирования подбирали с применением программы DNASTar v. 5.05. Перечень анализируемых генетических вариантов, последовательности праймеров, рестриктазы, амплифицируемые фрагменты представлены в табл. 1. Полученные в результате амплификации и рестрикции фрагменты ДНК разделяли при помощи электрофореза в 2% агарозном геле и идентифицировали с помощью видеогельдокументирующей системы Mega-Bioprint 1100 (Vilber Lourmat, Франция).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием IBM SPSS Statistics 21. Соответствие наблюдаемого распределения генотипов и аллелей теоретически ожидаемому согласно закону Харди–Вайнберга проверяли при

помощи критерия χ^2 [8]. Распределение частот генотипов и аллелей в группах сравнивали с использованием точного двустороннего критерия Фишера. Ассоциации с заболеванием исследуемых полиморфных локусов оценивали при помощи показателя отношения шансов (odds ratio, OR). Поиск сочетаний аллельных вариантов, ассоциированных с заболеванием, проводился с применением алгоритма APSampler 3.6.0 (<http://apsampler.sourceforge.net/>) [9]. В качестве поправки на множественность сравнений для снижения вероятности ошибки первого рода использовали пермутационный тест.

Результаты. Клиническая характеристика выборки больных РС, принявших участие в исследовании, представлена в табл. 2. В группе башкир были отмечены наибольшая скорость прогрессирования неврологического дефицита ($0,74 \pm 1,05$ балла в год) и наиболее высокий показатель инвалидизации по EDSS ($4,9 \pm 2,39$ балла), в то время как средняя продолжительность заболевания на момент проведения исследования в этой группе была наименьшей ($12,4 \pm 8,65$ года). В группах башкир и русских наиболее часто наблюдался ВПРС (52,9 и 54,8%), в группе татар преобладал РРС (43,7%).

Распределение частот генотипов исследуемых полиморфных вариантов в контрольной группе и среди пациентов с РС в трех этнических группах представлено в табл. 3. Учитывая более высокую распространенность РС среди женщин, был проведен анализ ассоциаций исследуемых локусов с РС с учетом пола. В группе башкир у мужчин повышенный риск РС ассоциирован с генотипом *CD40* rs6074022*С/С (17,86% у больных РС против 1,92% в контрольной группе; OR=11,09, $p_{\text{perm}}=0,028$).

Таблица 2.
Table 2.

Клиническая характеристика группы пациентов с РС
Clinical characteristics of MS patients

Параметры	Башкиры	Русские	Татары
Возраст, годы, $M \pm SD$	$40,28 \pm 9,86$	$40,6 \pm 9,77$	$40,89 \pm 9,75$
Пол (доля женщин, %)	66,0	66,8	66,7
Возраст начала заболевания, годы, $M \pm SD$	$27,93 \pm 7,76$	$27,64 \pm 8,9$	$27,53 \pm 8,89$
Продолжительность заболевания, годы, $M \pm SD$	$12,4 \pm 8,65$	$13,17 \pm 9,53$	$13,36 \pm 9,93$
Типы течения РС, %:			
РРС	30,1	36,9	43,7
ППРС	15,1	10,2	15,6
ВПРС	54,8	52,9	40,7
Клинические проявления, %:			
расстройства чувствительности	16,5	17,1	12
глазодвигательные расстройства	6,5	4,9	4,4
двигательные расстройства	23,1	35	29,8
нарушения координации	22	18,6	18,7
сочетанные двигательные расстройства	12,1	4,2	6,4
и нарушения координации			
ретробульбарный неврит	4,4	2,7	2,8
симптомы поражения черепно-мозговых нервов	4,4	3,1	6
прочие	11	14,4	19,9
EDSS, $M \pm SD$	$4,9 \pm 2,39$	$4,41 \pm 1,56$	$4,46 \pm 1,77$
Скорость прогрессирования, баллы в год, $M \pm SD$	$0,74 \pm 1,05$	$0,73 \pm 1,09$	$0,69 \pm 0,89$

Примечание. М – среднее значение, SD – стандартное отклонение.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И МЕТОДИКИ

Таблица 3. *Распределение частот генотипов исследуемых полиморфных вариантов среди пациентов с РС и в контрольной группе в этнических группах башкир, русских и татар*

Table 3. *Distribution of genotype frequencies of the studied polymorphic variants among patients with MS and in the control group in the ethnic groups of Bashkirs, Russians and Tatars*

Ген	Полиморфизм	A1	A2	Контроль		Пациенты с РС		χ^2	df	p
				n	p (%) A1A1 / A1A2 / A2A2	n	p (%) A1A1 / A1A2 / A2A2			
Башкиры										
CD58	rs2300747	A	G	119	45,38 / 44,54 / 10,08	78	48,72 / 43,59 / 7,69	0,417	2	0,812
CD86	rs9282641	G	A	120	95 / 5 / 0	79	87,34 / 12,66 / 0	3,779	1	0,052
MANBA	rs228614	G	A	120	22,5 / 50 / 27,5	83	32,53 / 45,78 / 21,69	2,696	2	0,260
PVT1	rs759648	A	C	121	65,29 / 26,45 / 8,26	73	53,42 / 45,21 / 1,37	9,653	2	0,008
CD6	rs17824933	C	G	121	71,07 / 26,45 / 2,48	83	63,86 / 25,3 / 10,84	6,256	2	0,044
SOX8	rs2744148	A	G	123	77,24 / 21,14 / 1,63	83	71,08 / 24,1 / 4,82	2,180	2	0,336
TNFRSF1A	rs1800693	G	A	123	20,33 / 47,15 / 32,52	83	26,51 / 42,17 / 31,33	1,125	2	0,570
CLEC16A	rs12708716	A	G	126	45,24 / 46,83 / 7,94	83	59,04 / 30,12 / 10,84	5,818	2	0,055
RPS6KB1	rs180515	T	C	122	37,7 / 50,82 / 11,48	82	39,02 / 47,56 / 13,41	0,278	2	0,870
CD40	rs6074022	T	C	123	52,03 / 44,72 / 3,25	83	55,42 / 31,33 / 13,25	9,174	2	0,010
ZBTB46	rs6062314	T	C	123	93,5 / 5,69 / 0,81	81	88,89 / 11,11 / 0	2,601	2	0,272
Русские										
CD58	rs2300747	A	G	332	70,78 / 25,9 / 3,31	225	71,56 / 25,33 / 3,11	0,045	2	0,978
CD86	rs9282641	G	A	323	87,62 / 12,07 / 0,31	241	93,36 / 6,64 / 0	5,433	2	0,066
MANBA	rs228614	G	A	294	24,49 / 48,64 / 26,87	241	19,92 / 51,45 / 28,63	1,593	2	0,451
PVT1	rs759648	A	C	295	60 / 36,61 / 3,39	222	56,76 / 37,39 / 5,86	1,979639	2	0,371644
CD6	rs17824933	C	G	321	63,86 / 32,71 / 3,43	241	61,41 / 31,54 / 7,05	3,826	2	0,148
SOX8	rs2744148	A	G	346	70,52 / 27,17 / 2,31	243	69,55 / 25,93 / 4,53	2,272	2	0,321
TNFRSF1A	rs1800693	G	A	346	24,57 / 50,58 / 24,86	242	24,79 / 50,83 / 24,38	0,018	2	0,991
CLEC16A	rs12708716	A	G	341	43,4 / 43,99 / 12,61	239	48,54 / 41,42 / 10,04	1,831	2	0,400
RPS6KB1	rs180515	T	C	346	40,17 / 49,42 / 10,4	239	38,49 / 45,61 / 15,9	3,905	2	0,142
CD40	rs6074022	T	C	324	54,32 / 38,27 / 7,41	241	61 / 29,88 / 9,13	4,388	2	0,111
ZBTB46	rs6062314	T	C	344	80,52 / 18,31 / 1,16	236	83,05 / 16,53 / 0,42	1,251	2	0,535
Татары										
CD58	rs2300747	A	G	258	56,2 / 38,37 / 5,43	208	63,94 / 33,65 / 2,4	4,444	2	0,108
CD86	rs9282641	G	A	253	87,35 / 11,86 / 0,79	218	93,12 / 6,88 / 0	5,192	2	0,075
MANBA	rs228614	G	A	272	22,79 / 51,47 / 25,74	218	20,18 / 56,88 / 22,94	1,426	2	0,490
PVT1	rs759648	A	C	264	62,5 / 33,33 / 4,17	207	53,62 / 38,16 / 8,21	5,519	2	0,063
CD6	rs17824933	C	G	256	67,19 / 29,3 / 3,52	214	62,62 / 28,5 / 8,88	6,026	2	0,049
SOX8	rs2744148	A	G	275	77,09 / 20,73 / 2,18	218	72,02 / 25,69 / 2,29	1,730	2	0,421
TNFRSF1A	rs1800693	G	A	267	20,97 / 49,44 / 29,59	218	27,06 / 47,71 / 25,23	2,777	2	0,249
CLEC16A	rs12708716	A	G	266	54,51 / 40,23 / 5,26	218	51,38 / 39,91 / 8,72	2,319	2	0,314
RPS6KB1	rs180515	T	C	275	33,82 / 50,18 / 16	218	33,94 / 49,54 / 16,51	0,030	2	0,985
CD40	rs6074022	T	C	260	48,46 / 41,92 / 9,62	218	55,5 / 33,94 / 10,55	3,213	2	0,201
ZBTB46	rs6062314	T	C	273	85,35 / 14,29 / 0,37	210	92,86 / 7,14 / 0	6,941	2	0,031

Примечание. A1 — аллель дикого типа; A2 — минорный аллель; n — численность групп; p — частоты генотипов; A1A1 — генотип, гомозиготный по аллелю дикого типа; A1A2 — гетерозиготный генотип, A2A2 — генотип, гомозиготный по минорному аллелю; χ^2 — критерий хи-квадрат; df — степень свободы; p — уровень значимости.

В этнической группе русских у мужчин повышенный риск РС ассоциирован с генотипом *CD58* rs2300747*A/G (38,16% среди пациентов против 23,31% в группе контроля; $p=0,021$; $OR=2,03$; $p_{perm}=0,030$), а пониженный риск РС связан с аллелем гена *RPS6KB1* rs180515*T (55,36% против 66,67%; $OR=0,62$; $p_{perm}=0,049$). У русских женщин повышенный риск РС ассоциирован с аллелем *CD86* rs9282641*G (97,48% против 93,75%; $OR=2,58$; $p=0,049$), а протективный эффект в отношении РС демонстрирова-

ли аллель *CD86* rs9282641*A и генотип *CD86* rs9282641*G/A (2,52% против 6,25%; $OR=0,39$; $p_{perm}=0,049$, и 5,03% против 12,5%; $OR=0,37$; $p_{perm}=0,036$ соответственно).

В группе татар у женщин повышенный риск РС ассоциирован с аллелем *PVT1* rs759648*C (28,06% у больных против 20,13% в контроле; $OR=1,55$; $p_{perm}=0,030$), а протективным действием обладал аллель *PVT1* rs759648*A (71,94% против 79,87%; $OR=0,65$; $p_{perm}=0,030$). В группе мужчин-та-

Таблица 4. Комбинации генотипов и/или аллелей исследуемых полиморфных локусов, ассоциированные с риском развития РС

Table 4. Combinations of genotypes and/or alleles of the studied polymorphic loci associated with the risk of developing MS

Сочетание	Контроль, %	Больные РС, %	p	p_{perm}	OR	95% ДИ _{OR}
<i>Женщины-башкирки</i>						
PVT1 rs759648*C + CD58 rs23000747*A + CD40 rs6074022*T/T	9,23	33,33	0,001	0,002	4,92	1,77–13,66
SOX8 rs2744148*G + RPS6KB1 rs180515*C + CD58 rs23000747*G	0,00	12,96	0,003	0,015	10,38	2,25–47,86
<i>Мужчины-башкиры</i>						
SOX8 rs2744148*A + CD40 rs6074022*T	98,08	75,00	0,002	0,032	0,06	0,006–0,51
<i>Русские женщины</i>						
RPS6KB1 rs180515 *T/T + CD40 rs6074022*C/T	19,85	6,37	0,0005	0,006	0,27	0,13–0,59
SOX8 rs2744148*A + MANBA rs228614*A + CD86 rs9282641*A + CD58 rs23000747*A/A	9,09	0,69	0,001	0,008	0,07	0,009–0,55
MANBA rs228614*G/A + CD86 rs9282641*A + CD58 rs23000747*A	8,26	0,69	0,002	0,009	0,08	0,01–0,62
<i>Русские мужчины</i>						
RPS6KB1 rs180515*C/C + PVT1 rs759648*C	1,84	12,99	0,0008	0,001	7,96	2,12–29,84
RPS6KB1 rs180515*C/C + CD86 rs9282641*G + CD6 rs17824933*G	2,47	13,92	0,001	0,003	6,39	1,97–20,78
RPS6KB1 rs180515*C/C + CD6 rs17824933*G	2,42	13,41	0,001	0,003	6,24	1,92–20,25
RPS6KB1 rs180515*T/T + MANBA rs228614*G + CD40 rs6074022*C	19,38	4,88	0,001	0,004	0,21	0,07–0,63
RPS6KB1 rs180515*C + ZBTB46 rs180515*C + CLEC16A rs12708716*G	1,82	9,76	0,007	0,01	5,84	1,51–22,63
RPS6KB1 rs180515*C + PVT1 rs759648*C/C	0,00	5,19	0,01	0,015	23,49	2,84–194,26
<i>Женщины-татарки</i>						
MANBA rs228614*A/A + PVT1 rs759648*A + CD40 rs6074022*C	18,06	2,21	$5,69 \times 10^{-6}$	0,001	0,1	0,03–0,35
SOX8 rs2744148*G + MANBA rs228614*A + CD86 rs9282641*G	10,95	29,55	0,0001	0,01	3,41	1,77–6,56
SOX8 rs2744148*G + MANBA rs228614*G + PVT1 rs759648*A	11,81	28,68	0,0003	0,019	3	1,6–5,63
PVT1 rs759648*A/C + CD6rs17824933*G	4,79	16,18	0,001	0,022	3,83	1,58–9,29
CLEC16A rs12708716*A/A + MANBA rs228614*G + PVT1 rs759648*C + CD40 rs6074022*C	2,92	11,76	0,004	0,047	4,43	1,44–13,63
<i>Мужчины-татары</i>						
RPS6KB1rs180515*C + CLEC16A rs12708716*G/G + CD58 rs2300747*G	0,00	9,09	0,003	0,016	14,88	2,8–79,16
RPS6KB1 rs180515*T + MANBA rs228614*G + CD6 rs17824933*G/G	0,93	11,43	0,003	0,016	13,68	1,67–111,96

Примечание. p – уровень значимости; p_{perm} – уровень значимости с поправкой на множественность сравнений; 95% ДИ_{OR} – 95% доверительный интервал для показателя отношения шансов.

тар не выявлено значимых ассоциаций исследуемых полиморфных ДНК-локусов с РС.

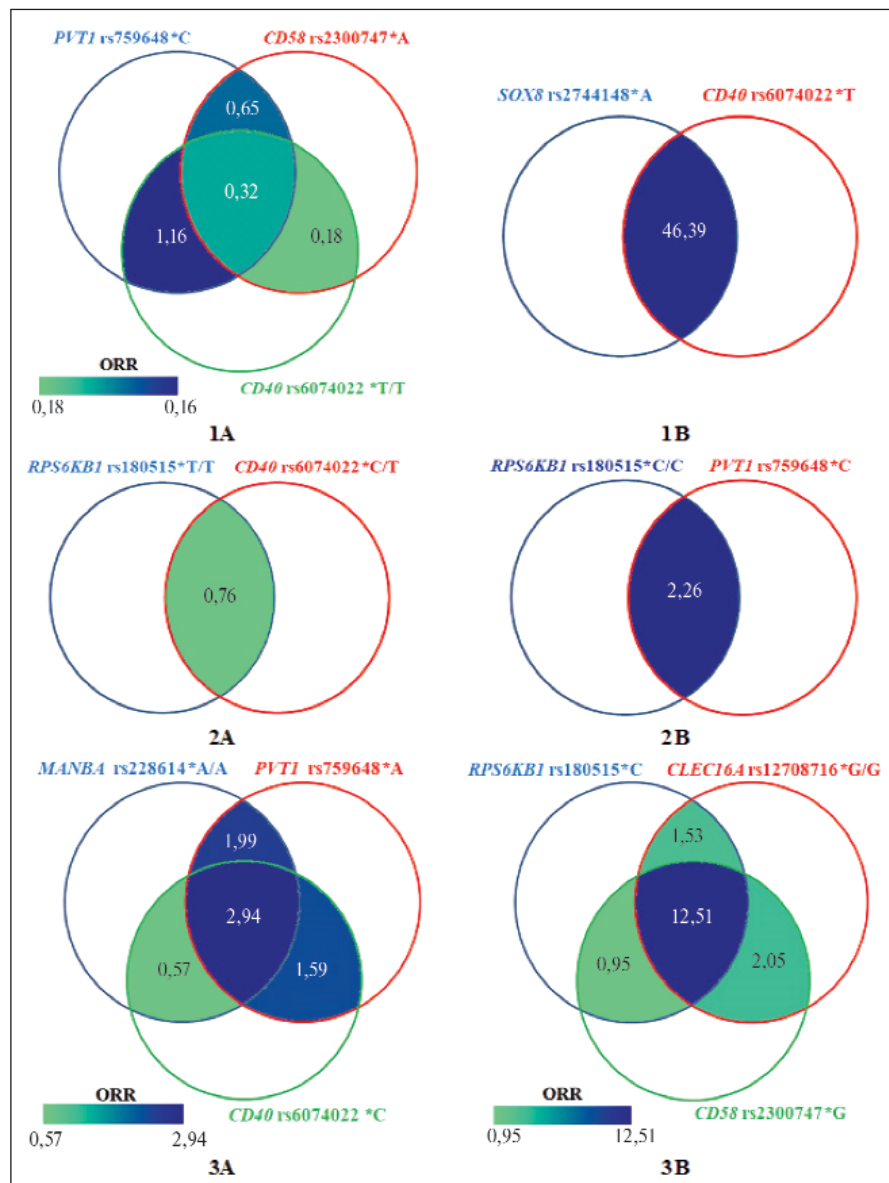
При помощи алгоритма APSampler были проанализированы межгенные взаимодействия с учетом этнической принадлежности и пола исследуемых, в результате чего идентифицировано 19 сочетаний генотипов и/или аллелей, значимо ассоциированных с РС (табл. 4). Наиболее часто среди комбинированных маркеров РС представлены аллели и генотипы полиморфного локуса *RPS6KB1* rs180515 (10 из 19 сочетаний). Характер взаимодействий

составных элементов сочетаний генотипов и аллелей, для которых были выявлены ассоциации с РС, в исследуемых этнических группах в зависимости от пола представлены в виде диаграмм Эйлера–Венна на рисунке. Круги символизируют компоненты каждого сочетания, а области их пересечения соответствуют их комбинации; окраска областей пересечения отличается в пределах градиентной шкалы, приведенной на рисунке, в соответствии со значениями ORR (отношение отношения шансов, которое определяют путем деления OR, полученного для сочетания двух элементов, на произведение OR, вычисленных для них обоих при раздельном анализе) [6].

Обсуждение. Нами проведен анализ ассоциаций с РС полиморфных локусов генов дифференцировочных антигенов лейкоцитов человека *CD6*, *CD40*, *CD58*, *CD86*, факторов транскрипции *SOX8* и *ZBTB46*, бета-маннозидазы *MANBA*, домена лектина С-типа *CLEC16A*, рибосомальной протеин S6 киназы *B1* *RPS6KB1* и гена длинной некодирующей РНК *PVT1*, для которых ранее была обнаружена ассоциация с заболеванием при проведении GWAS [10]. В результате анализа, выполненного с учетом этнической и половой принадлежности, в группе русских женщин выявлена ассоциация с РС полиморфного варианта *CD86* rs9282641, а у мужчин *CD58* rs2300747 и *RPS6KB1* rs180515; ассоциация *CD40* rs6074022 с РС в этнической группе башкир наблюдалась только у мужчин, а *PVT1* rs759648 в группе татар – только у женщин.

Ассоциация полиморфизма *CD40* rs6074022 была впервые выявлена в исследовании с участием белых жителей Австралии и Новой Зеландии и воспроизведена в популяции британцев [11], а также в объединенной выборке русских жителей Москвы, Омска, Томска, Кемерово, Барнаула, Новосибирска и Якутска [12]. В этнической группе русских, проживающих в г. Омске, полиморфизм *CD40* rs6074022 был значимым предиктором РС только в группе женщин [13].

Ранее было показано, что аллель *CD58* rs2300747*G обладает протективным эффектом в отношении РС, а также ассоциируется с увеличением экспрессии гена [14]. Необходимо отметить популяционные различия в частоте аллелей по полиморфизму *CD58* rs2300747: аллель G является преобладающим в популяциях Восточной Азии (68,3% у японцев, 58,1% у китайцев и вьетнамцев), в то время как у ев-



Сочетания генотипов и аллелей исследуемых локусов, значимо ассоциированные с РС в популяциях Республики Башкортостан (1A – женщины-башкирки, 1B – мужчины-башкиры; 2A – русские женщины, 2B – русские мужчины; 3A – женщины-татарки, 3B – мужчины-татары)¹

Combinations of genotypes and alleles of the studied loci significantly associated with MS in the population of the Republic of Bashkortostan (1A – Bashkir women, 1B – Bashkir men; 2A – Russian women, 2B – Russian men; 3A – Tatar women, 3B – Tatar men)

¹Цветной рисунок к этой статье представлен на сайте журнала: nnp.ima-press.net

ропейцев это минорный аллель (частота 18,2% у финнов, 14% у испанцев, 13,6% у итальянцев, 11,5% у британцев), как и в изученных нами российских популяциях (32,35% у башкир, 16,27% у русских, 24,61% у татар) [15].

Продemonстрировано, что содержание В-лимфоцитов, экспрессирующих дифференцировочный антиген CD86, значительно увеличено в периферической крови пациентов с РС [16], а у носителей аллеля *CD86* rs9282641*G повышена транскрипционная активность гена [17]. Полиморфизм rs180515, находящийся в 3'-нетранслируемой области гена *RPS6KBI*, расположен в области предполагаемого сайта связывания микроРНК и может влиять на трансляцию *RPS6KBI* [18]. Ассоциация данного полиморфного варианта с РС, впервые выявленная у европейцев, была впоследствии подтверждена в популяции иранцев [19].

Согласно данным анализа межгенных взаимодействий, для исследуемой выборки идентифицированы паттерны генотипов и/или аллелей, ассоциированные с развитием РС в зависимости от этнической принадлежности

и пола. В отличие от результатов анализа ассоциаций с РС индивидуальных локусов, в составе сочетаний, ассоциированных с заболеванием, присутствовали аллельные варианты всех исследуемых генов, в том числе и те, для которых не было обнаружено ассоциаций с РС при анализе отдельных полиморфных вариантов (*SOX8* rs2744148 и *MANBA* rs228614). Это позволяет предположить, что исследуемые полиморфные локусы могут оказывать влияние на риск РС в составе комбинированных ДНК-маркеров. Обнаруженные нами различия в структуре наблюдаемых ассоциаций полиморфных вариантов с РС в зависимости от пола могут свидетельствовать о наличии дифференциальных молекулярных механизмов формирования предрасположенности к заболеванию, что находит свое отражение в различных показателях заболеваемости РС у мужчин и женщин.

Заключение. Нами проведен полигенный анализ полигенных маркеров РС и выявлены этно- и гендерспецифические комбинированные маркеры предрасположенности к заболеванию.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Walton C, King R, Rechtman L, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. *Mult Scler*. 2020 Dec;26(14):1816-21. doi: 10.1177/1352458520970841. Epub 2020 Nov 11.
- Boyko A, Melnikov M. Prevalence and Incidence of Multiple Sclerosis in Russian Federation: 30 Years of Studies. *Brain Sci*. 2020 May 18;10(5):305. doi: 10.3390/brain-sci10050305
- Бахтиярова КЗ, Галиуллин ТР, Лютов ОВ. Результаты 10-летнего опыта работы регионального центра рассеянного склероза. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(5-2):32-3. [Bakhtiarova KZ, Gabiullin TR, Lyutov OV. Results of 10 years of experience in the work of a regional multiple sclerosis center. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019;119(5-2):32-3 (In Russ.)].
- Бахтиярова К, Гончарова З. Рассеянный склероз в Республике Башкортостан и Ростовской области: сравнительная эпидемиологическая характеристика. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2014;114(2-2):5-9. [Bakhtiarova KZ, Goncharova ZA. Multiple sclerosis in the Bashkortostan Republic and the Rostov region: a comparative epidemiologic study. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2014;114(2-2):5-9 (In Russ.)].
- Baranzini SE, Oksenberg JR. The Genetics of Multiple Sclerosis: From 0 to 200 in 50 Years. *Trends Genet*. 2017 Dec;33(12):960-70. doi: 10.1016/j.tig.2017.09.004. Epub 2017 Oct 5.
- Lvovs D, Favorova OO, Favorov AV. A polygenic approach to the study of polygenic diseases. *Acta Naturae*. 2012 Jul;4(3):59-71.
- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018 Feb;17(2):162-73. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2. Epub 2017 Dec 21.
- Животовский Л. Популяционная биометрия. Москва: Наука; 1991. 271 с. [Zhivotovskiy L. *Populyatsionnaya biometriya* [Population biometrics]. Moscow: Nauka; 1991. 271 p. (In Russ.)].
- Favorov AV, Andreewski TV, Sudomoina MA, et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. *Genetics*. 2005 Dec;171(4):2113-21. doi: 10.1534/genetics.105.048090. Epub 2005 Aug 22.
- International Multiple Sclerosis Genetics C, Wellcome Trust Case Control C, Sawcer S, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature*. 2011 Aug 10;476(7359):214-9. doi: 10.1038/nature10251
- Bahlo M, Booth DR, Broadley SA, et al. Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. *Nat Genet*. 2009 Jul;41(7):824-8. doi: 10.1038/ng.396. Epub 2009 Jun 14.
- Sokolova EA, Malkova NA, Korobko DS, et al. Association of SNPs of CD40 Gene with Multiple Sclerosis in Russians. *PLoS One*. 2013 Apr 22;8(4):e61032. doi: 10.1371/journal.pone.0061032. Print 2013.
- Ханов ЕВ, Рождественский АС, Кудрявцева ЕА и др. Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностей его течения в русской этнической группе. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2011;31(1):113-8. [Khanokh EV, Rozhdestvenskiy AS, Kudryavtseva EA, et al. Research on hereditary factors of multiple sclerosis susceptibility and peculiarities of its course in Russian ethnic group. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2011;31(1):113-8 (In Russ.)].
- De Jager PL, Baecher-Allan C, Maier LM, et al. The role of the CD58 locus in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Mar 31;106(13):5264-9. doi: 10.1073/pnas.0813310106. Epub 2009 Feb 23.
- Hunt SE, McLaren W, Gil L, et al. Ensemble variation resources. *Database (Oxford)*. 2018 Jan 1;2018:bay119. doi: 10.1093/database/bay119
- Fraussen J, Claes N, van Wijmeersch B, et al. B cells of multiple sclerosis patients induce autoreactive proinflammatory T cell responses. *Clin Immunol*. 2016 Dec;173:124-32. doi: 10.1016/j.clim.2016.10.001. Epub 2016 Oct 4.
- Smets I, Fiddes B, Garcia-Perez JE, et al. Multiple sclerosis risk variants alter expression of co-stimulatory genes in B cells. *Brain*. 2018 Mar 1;141(3):786-96. doi: 10.1093/brain/awx372
- Lill CM, Schjeide BM, Graetz C, et al. MANBA, CXCR5, SOX8, RPS6KBI and ZBTB46 are genetic risk loci for multiple sclerosis. *Brain*. 2013 Jun;136(Pt 6):1778-82. doi: 10.1093/brain/awt101
- Abdollah Zadeh R, Jalilian N, Sahraian MA, et al. Polymorphisms of RPS6KBI and CD86 associates with susceptibility to multiple sclerosis in Iranian population. *Neurol Res*. 2017 Mar;39(3):217-22. doi: 10.1080/01616412.2016.1278108. Epub 2017 Jan 12.

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
1.07.2021/15.08.2021/22.08.2021

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП «Биомика» и УНУ «КОДИНК» (ИБГ УФИЦ РАН) с использованием коллекции биологических материалов человека ИБГ УНЦ РАН при частичной поддержке мегагранта Правительства Российской Федерации № 075-15-2021-595 и НИР № АААА-А16-116020350031-4. Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The study was carried out using Center for Collective Use «Biomika» and unique scientific installation «KODINK» (IBG UFRC RAS) equipment and IBG UFRC RAS collection of human biological materials, and was partially supported by the mega grant of the Government of the Russian Federation № 075-15-2021-595 and scientific-research work № АААА-А16-116020350031-4. The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Тимашева Я.Р. <https://orcid.org/0000-0002-9918-6962>
Насибуллин Т.Р. <https://orcid.org/0000-0001-8823-8678>
Туктарова И.А. <https://orcid.org/0000-0001-6928-648X>
Эрдман В.В. <https://orcid.org/0000-0002-1219-3458>
Галиуллин Т.Р. <https://orcid.org/0000-0002-4558-6119>
Заплахова О.В. <https://orcid.org/0000-0001-6964-2720>
Бахтиярова К.З. <https://orcid.org/0000-0003-0982-4324>