

ЖУКОВА
АЗИЗА РАМАЗАНОВНА

КЛИНИКО-НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ
И ПОЛИМОРФИЗМ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

14.01.11 – нервные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург
2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Рождественский Алексей Сергеевич

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор
Игнатьев Юрий Тимофеевич

Официальные оппоненты: Столяров Игорь Дмитриевич
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
лабораторией нейроиммунологии ФГБУН «Институт
мозга человека им. Н.П. Бехтеревой» РАН

Тотоян Наталья Агафоновна
доктор медицинских наук, профессор кафедры невро-
логии ФГБУ ВО «Первый Санкт-Петербургский госу-
дарственный медицинский университет им. акад. И.П.
Павлова» Минздрава России

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный меди-
цинский университет» Минздрава России

Защита диссертации состоится «__»_____2020 г. в час на
заседании диссертационного совета Д 208.054.02 при ФГБУ «Национальный ме-
дицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России
(191104, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, д. 12)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Российского
научно-исследовательского нейрохирургического института им. проф. А.Л. Поле-
нова и на сайте: <http://www.almazovcentre.ru>.

Автореферат разослан «__»_____2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор Иванова Наталия Евгеньевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Рассеянный склероз (РС) – мультифакториальное воспалительное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС). Ранняя инвалидизация, высокая стоимость лечения и обследования пациентов, а также повсеместный рост заболеваемости РС являются основными причинами повышенного внимания к этой проблеме. По современным представлениям, РС - мультигенное заболевание, в формировании предрасположенности к которому участвует более 200 локусов почти на всех хромосомах человека (Бойко А.Н., Гусев Е.И., 2017; Reich D.S. et al., 2018; Patsopoulos N.A., De Jager P.L., 2020). Среди причинных генов, повышающих риск развития РС, следует отметить гены главного комплекса гистосовместимости (ГКГ), гены цитокинов, иммуноглобулинов, белков миелина (Baranzini S., Oksenberg J., 2017; Hedstrom A. et al., 2017; De Silvestri A. et al., 2019). Вне региона HLA (human leukocyte antigen) обнаружено более 100 полиморфных вариантов генов, достоверно связанных с развитием РС (Sawcer S. et al., 2014). Известно, что кроме HLA-системы, генетический контроль иммунного ответа определяют полиморфные гены цитокинов и их рецепторов, а также гены молекул адгезии, иммуноглобулинов. Выявление даже ограниченного эффекта того или иного гена на развитие или характер течения РС может способствовать пониманию биологической природы заболевания и открыть новые возможности для его профилактики и лечения (Фаворова О.О. и соавт., 2010). Роль генов малых эффектов, связанных с иммунным ответом, в развитии РС активно изучается в последние десятилетия. Так, были накоплены сведения о полиморфизме генов фактора некроза опухоли α (TNF α), интерлейкина-18 (IL-18), лимфоцитарного рецептора CD40 при РС и сигнальных путях, к которым относятся их белковые продукты (Nicoletti F. et al., 2001; Bahlo M. et al., 2009; Sedimbi S.K. et al., 2013; Fragoso J.M. et al., 2014). Выявлены также ассоциации полиморфизма этих генов с клиническими особенностями заболевания (Какуля А.С. и соавт., 2012; Коробко Д.С. и соавт., 2012; Делов Р.А. и соавт., 2013; Соколова Е.А. и соавт., 2013; Ельчанинова С.А. и соавт., 2015; Палащенко А.С. и соавт., 2018). В то же время их роль в фор-

мировании клинико-нейровизуализационной картины рассеянного склероза не освещалась. Между тем, известно, что данные нейровизуализации лишь отчасти согласуются с симптоматикой РС. Частота появления новых очагов при магнитно-резонансной томографии (МРТ) не совпадает с частотой обострений – новые очаги в мозге возникают значительно чаще, чем клинические обострения. Вопрос о том, какие факторы, в конечном счете, определяют выраженность очаговых и атрофических изменений головного мозга при РС остается дискуссионным.

Степень разработанности темы исследования

Новые сведения о нейродегенеративном компоненте рассеянного склероза способствовали поиску новых клинико-лучевых взаимосвязей. Было показано, что развитие необратимой инвалидизации связано с дегенеративным процессом (Fisniku L.K. et al., 2008; Frieze M.A. et al., 2014; Прахова Л.Н. и соавт., 2014; Кротенкова И.А. и соавт., 2018; Schirmer L. et al., 2019). Церебральная атрофия коррелирует со степенью инвалидизации пациентов с РС и считается в настоящее время суррогатным маркером прогрессирования РС, отражая деструктивный необратимый процесс (Fisher E. et al., 2008; Столяров И.Д. и соавт., 2017).

Выявлены ассоциации генов HLA-региона с выраженностью очаговых и атрофических изменений головного мозга и степенью инвалидизации по шкале EDSS (Zivadinnov R. et al., 2007; Okuda D.T. et al., 2009; Liguori M. et al., 2011, Isobe N. et al., 2016). На русской популяции установлена взаимосвязь между количеством очагов демиелинизации в головном мозге и наличием локуса DR4 у больных РС (Бойко А.Н., Сиверцева С.А., 2010). Данные этих исследований подтверждают, что различные аллели HLA-региона влияют на фенотипические проявления РС, в том числе и на МРТ-картину. Данных о влиянии генов, не относящихся к HLA-региону, на нейровизуализационные особенности РС в литературе крайне мало.

Цель исследования

Изучить роль генетических факторов в формировании клинико-нейровизуализационной картины рассеянного склероза для повышения эффективности диагностики.

Задачи исследования

1. Оценить МР-показатели очагового и атрофического поражения головного мозга у больных ремиттирующим и вторично-прогрессирующим рассеянным склерозом.

2. Изучить взаимосвязь клинических проявлений рассеянного склероза с выраженностью общей церебральной атрофии и очагового поражения головного мозга.

3. Провести анализ ассоциаций очагового и атрофического поражения головного мозга при рассеянном склерозе с полиморфными вариантами генов $TNF\alpha$, IL-18, CD40.

Научная новизна

Проведен комплексный анализ клинических, нейровизуализационных и генетических данных пациентов с ремиттирующим и вторично-прогрессирующим рассеянным склерозом.

Изучена связь генов иммунной системы $TNF\alpha$, IL-18 и CD40 с особенностями нейрорадиологической картины рассеянного склероза. Выявлены ассоциации полиморфных локусов генов $TNF\alpha$ и IL-18 с выраженностью очагового и атрофического поражения головного мозга при рассеянном склерозе.

Определены количественные параметры очагового поражения головного мозга и общей церебральной атрофии, демонстрирующие корреляционные связи с выраженностью неврологического дефицита и степенью инвалидизации пациентов.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Определены доступные в повседневной клинической практике параметры общей церебральной атрофии, демонстрирующие прямые корреляционные связи с выраженностью клинических симптомов и степенью инвалидизации больных РС. Результаты исследования о генетических детерминантах поражения головного мозга при РС, выявляемого при магнитно-резонансной томографии, позволяют реализовать персонифицированный подход в выборе тактики ведения и лечения пациентов. Данные о взаимосвязи общей церебральной атрофии и степени инва-

лидизации пациентов с РС могут быть использованы для разработки терапевтических стратегий, направленных на нейродегенеративный компонент заболевания. Данные об ассоциации полиморфизма иммунокомпетентных генов с особенностями нейровизуализационной картины могут быть использованы для исследования фармакогеномики РС.

Методология и методы исследования

Исследование проведено в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в центре рассеянного склероза бюджетного учреждения здравоохранения Омской области «Клинический диагностический центр». Использовались современные методы нейровизуализации и генотипирования. Выполнялось клиническое неврологическое обследование пациентов с рассеянным склерозом, магнитно-резонансная томография головного мозга с внутривенным контрастированием. Генотипирование выполнялось методом Real time ПЦР и с использованием технологии TaqMan. Участникам контрольной группы выполнялась магнитно-резонансная томография головного мозга (без введения контрастного препарата). Статистический анализ данных выполнен с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 «Statsoft» и возможностей Microsoft Office Excel.

Положения, выносимые на защиту

1. Выраженность общей церебральной атрофии при рассеянном склерозе коррелирует со степенью инвалидизации и выраженностью неврологического дефицита и может быть охарактеризована планиметрическими показателями при проведении магнитно-резонансной томографии головного мозга.

2. Полиморфные варианты локуса rs1800629 гена TNF α ассоциированы с выраженностью очагового поражения головного мозга пациентов с рассеянным склерозом.

3. Полиморфные варианты локуса rs187238 гена IL-18 ассоциированы с выраженностью общей церебральной атрофии у больных рассеянным склерозом.

Личный вклад автора в получении результатов

Диссертация является самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой. Автором выполнен поиск современной научной литературы по изучаемому вопросу, сформулированы цель и задачи исследования, определены методологические подходы. Лично автором производились сбор клинико-анамнестических данных и клинический неврологический осмотр пациентов. Магнитно-резонансная томография выполнялась квалифицированными специалистами отделения лучевой диагностики БУЗ ОО Клинический диагностический центр (г. Омск). Выделение ДНК и генотипирование выполнялось специалистами лаборатории фармакогеномики ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск). Автором самостоятельно выполнены статистическая обработка и анализ полученных клинико-нейровизуализационных и генетических данных, написаны главы диссертации, сформулированы выводы и практические рекомендации, подготовлены публикации и доклады о результатах исследования.

Внедрение в практику

Основные положения диссертации включены в научную и педагогическую деятельность на кафедре неврологии дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Полученные результаты внедрены в клиническую практику центра рассеянного склероза и отдела рентгенологических методов исследований БУЗ ОО «Клинический диагностический центр» (г. Омск).

Степень достоверности и апробация результатов

Репрезентативность выборок, проведение комплексного анализа, включающего клиническое, инструментальное и лабораторное обследование, применяемых в соответствии со сформулированными целью и задачами, а также использование соответствующих методов статистического анализа, обеспечивают достоверность и обоснованность полученных результатов исследования.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на межрегиональной научно-практической конференции "ОНМК-ОМСК: диагностика, лечение, реабилитация, профилактика цереброваскулярных заболеваний" (Омск, 2016 г.), IX Си-

бирской межрегиональной научно-практической конференции «Аутоиммунные заболевания нервной системы – от диагноза к терапии» (Новосибирск, 2019 г.), всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы исследований и лечения рассеянного склероза» (Санкт-Петербург, 2019), межрегиональной научно-практической конференции с международным участием "Сибирская школа клинической неврологии" (Омск, 2017 - 2020 гг.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 в рецензируемых журналах, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав (обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований), а также заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 158 источников, из них 44 отечественных и 114 иностранных. Работа содержит 27 таблиц, иллюстрирована 28 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование проведено в период с 2015 по 2018 год, одобрено локальным этическим комитетом Омского государственного медицинского университета.

Критериями включения в исследование были достоверный диагноз рассеянный склероз (согласно критериям McDonald 2010), европеоидная раса, возраст от 18 лет, длительность заболевания не менее 1 года, клиническая и нейрорадиологическая ремиссия, согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: клиническое обострение РС и/или активность очага(ов) по МРТ, принадлежность к неевропеоидной расе, сопутствующие заболевания, сопровождающиеся многоочаговым поражением ЦНС, противопоказания к проведению МРТ.

В основную группу были включены 135 пациентов. Среди них 38 (28,1%) мужчины и 97 (71,9%) женщин (соотношение м:ж = 1:2,6) в возрасте от 21 до 51

года. Медиана возраста 37 (30; 43) лет. У 65 (48,1%) пациентов был диагностирован ремиттирующий тип течения, у 70 (51,9%) – вторично-прогрессирующий. Возраст дебюта варьировал от 11 до 44 лет, медиана возраста дебюта РС составила 26,0 (20; 31) лет. Длительность заболевания варьировала от 1 года до 26 лет, медиана длительности заболевания 9 (6; 15) лет. Оценка клинического статуса у больных рассеянным склерозом проводилась по общепринятой методике с использованием шкалы Kurtzke для оценки нарушений основных неврологических функций. Степень инвалидизации определена по шкале EDSS. Оценка по шкале EDSS варьировала от 1 до 7 баллов, медиана оценки по шкале EDSS в общей выборке составила 4,5 (2,5; 5,5) балла.

В контрольной группе обследованы 55 здоровых добровольцев. Из них 16 (29%) мужчин и 39 (71%) женщин (соотношение м:ж = 1:2,4). Возраст обследуемых варьировал от 20 до 46 лет, медиана возраста 31 (29; 40) год. Все обследуемые сообщили, что не имели тяжелых и средней тяжести черепно-мозговых травм, аутоиммунных, онкологических заболеваний, не страдают сердечно-сосудистыми заболеваниями, тяжелых инфекционных заболеваний не переносили. Все добровольцы сообщили, что не имеют родственников, страдающих РС.

Группа контроля и группа больных РС были сопоставимы по возрасту и половому составу. Все участники исследования подписали информированное согласие на участие в нем.

Магнитно-резонансная томография была выполнена на томографе EXELART Vantage Atlas-X, Toshiba с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл в условиях БУЗОО «Клинический диагностический центр». Толщина среза 5 мм. Дистанционный фактор равен 0. Получены T1- и T2-взвешенные изображения (ВИ) в аксиальной, сагиттальной, коронарной проекциях, в режиме T1 с внутривенным контрастным усилением гадолиний-содержащим препаратом. Оценивались следующие параметры МР-картины головного мозга: количество T2-гиперинтенсивных и T1-гипоинтенсивных очагов, локализация очагов (перивентрикулярная, субкортикальная, субтенториальная), площадь очагов в T1 и T2 режимах, наличие гадолиний-накапливающих очагов в T1 режиме. Рассчитывался

объем поражения головного мозга путем сложения площадей всех послойно выделенных очагов и умножения на толщину среза (Fisher E. et al., 2008). Для оценки атрофического поражения головного мозга у пациентов с РС и пациентов контрольной группы определялись ширина передних рогов боковых желудочков (ШПР), ширина тел боковых желудочков (ШТБЖ) и индекс боковых желудочков (ИБЖ), ширина третьего желудочка (ШТЖ) (Lutz T., 2017), индекс третьего желудочка (ИТЖ), межъядерный показатель (МП) (E.H. Aylward et al., 1991; R.A. Bermel et al., 2002).

Молекулярно-генетическое исследование включало забор венозной крови, выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и генотипирование методами аллель-специфичной амплификации с детекцией результатов в режиме реального времени (Real-time ПЦР) для rs187238 (IL-18) и с использованием технологии TaqMan для rs1800629 (TNF α), rs6074022 (CD40) на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН в г. Новосибирске.

Статистический анализ полученных данных выполнен с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 “Statsoft” и возможностей Microsoft Office Excel. Характер распределения количественных признаков определялся с помощью критерия Шапиро-Уилка и был отличным от нормального, поэтому данные представлены в виде медианы и верхнего и нижнего квартиля (Me(P₂₅; P₇₅)). Для сравнения двух независимых групп применялся U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения трех и более групп рассчитывался H-критерий Краскела-Уоллиса. С целью выявления связи между исследуемыми признаками был использован корреляционный анализ с помощью непараметрического критерия Спирмена. Влияние одного фактора на другой оценивалось методом регрессионного анализа. Проведены все необходимые процедуры проверки значимости корреляционно-регрессионного анализа, в том числе визуальная. Тесты на соблюдение равновесия Харди-Вайнберга, а также проверку гипотезы о наличии/отсутствии ассоциаций выполняли с помощью точного критерия Фишера. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведен анализ взаимосвязей МР-показателей очагового поражения головного мозга и данных неврологического осмотра с помощью метода ранговой корреляции Спирмена, результаты которого отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Взаимосвязь показателей очагового поражения головного мозга и выраженности неврологического дефицита по шкале Kurtzke у больных рассеянным склерозом (коэффициент корреляции Спирмена R/ p-value)

Функциональные системы	Общее количество T1-очагов	Общее количество T2-очагов	Субтенториальные	Субкортикальные	Объем T1-очагов	Объем T2 очагов	VT1/VT2
ФС 1	-0,03/ 0,7	0,9/ 0,3	0,04/ 0,7	0,04/ 0,45	0,01/ 0,8	0,15/ 0,08	-0,26/ 0,003*
ФС 2	0,19/ 0,03*	0,21/ 0,01*	0,37/ <0,01*	0,12/ 0,17	0,32/ 0,02*	0,08/ 0,33	0,04/ 0,61
ФС 3	0,18/ 0,04*	0,21/ 0,02*	0,27/ <0,01*	0,11/ 0,2	0,35/ 0,02*	0,18/ 0,04*	-0,02/ 0,78
ФС 4	0,15/ 0,07	0,18/ 0,04*	0,26/ <0,01*	0,09/ 0,29	0,13/ 0,13	0,04/ 0,63	-0,1/ 0,2
ФС 5	0,00005/ 0,9	0,1/ 0,26	0,14/0,12	0,1/ 0,23	0,04/ 0,6	0,12/ 0,17	0,04/ 0,6
ФС 6	0,25/ <0,01*	0,25/ <0,01*	0,21/ 0,03*	0,15/ 0,07	0,15/ 0,08	0,08/0,3	-0,09/ 0,29
ФС 7	0,28/ <0,01*	0,31/ <0,01*	0,20/ 0,03*	0,18/ 0,04*	0,23/ <0,01*	0,14/ 0,1	0,005/ 0,96
EDSS	0,24/ <0,01*	0,35/ <0,01*	0,34/ <0,01*	0,13/ 0,14	0,18/ 0,04*	0,13/ 0,13	-0,01/ 0,88

Примечание: *- значения p, достигшие статистической значимости. ФС 1 – зрительные функции, ФС 2 – стволовые функции, ФС 3 – пирамидные функции, ФС 4 – мозжечковые функции, ФС 5 – чувствительная сфера, ФС 6 – функции тазовых органов, ФС 7 – высшие мозговые функции, EDSS - expanded disability sta- VT2 – отношение объема очагов на T1-ВИ к объему очагов на T2-ВИ

По данным таблицы 1 видно, что степень инвалидизации пациентов, оцениваемая по шкале EDSS, коррелировала с общим количеством T2-гиперинтенсивных очагов (R=0,35) и количеством субтенториальных очагов (R=0,34). При большем количестве церебральных T2-гиперинтенсивных очагов

степень инвалидизации пациентов была тяжелее. Выраженность стволовых нарушений была взаимосвязана с количеством субтенториальных Т2-очагов ($R=0,37$) и объемом Т1-очагов ($R=0,32$) прямой средней силы корреляционной связью. Выраженность пирамидных нарушений коррелировала с объемом Т1-очагов ($R=0,35$), а нарушения высших мозговых функций были связаны с общим количеством Т2-очагов прямой средней силы корреляционной связью ($R=0,31$).

Параметры общей церебральной атрофии были определены у пациентов с РС и у участников группы контроля (таблица 2). У пациентов с РС показатели общей церебральной атрофии были статистически значимо выше, чем в группе здоровых добровольцев.

Таблица 2 – Характеристика атрофического процесса головного мозга в группе пациентов с рассеянным склерозом и контрольной группе, Ме (P_{25} ; P_{75})

Параметры оценки	Пациенты с РС (n=135)	Контрольная группа (n= 55)	U/p
ШТЖ, мм	5,6 (4; 6,85)	3,6 (2,9; 4,2)	295/ $p<0,01^*$
ИТЖ	0,04 (0,03; 0,05)	0,03 (0,02; 0,04)	342/ $p<0,01^*$
ШПР, мм			
– левый	6,9 (6; 8,2)	5,35 (4,25; 6,55)	347/ $p<0,01^*$
– правый	6,7 (5,5;8)	5,4 (4,45; 7)	494/0,03*
ШТБЖ, мм			320/ $p<0,01^*$
– левый	12 (9,7; 14,5)	8,45 (6,15; 10,5)	
– правый	11 (9,5; 14)	8,35 (6,6; 10,5)	422/ $p<0,01^*$
ИБЖ	0,24 (0,22; 0,27)	0,23 (0,21; 0,24)	585/0,11
МП, %	13,8 (11,9; 15,7)	8,85 (7,9; 10,6)	401/ $p<0,01^*$

*- значения p , достигшие статистической значимости различий. ШТЖ – ширина третьего желудочка, ИТЖ – индекс третьего желудочка, ШПР – ширина передних рогов боковых желудочков, ШТБЖ – ширина боковых желудочков на уровне тел, ИБЖ – индекс боковых желудочков, МП –межъядерный показатель

Методом ранговой корреляции Спирмена были проанализированы взаимосвязи между измеряемыми показателями общей атрофии головного мозга у больных РС и выраженностью неврологического дефицита, оцениваемого по шкале Kurtzke (таблица 3).

Таблица 3 – Анализ взаимосвязей показателей общей церебральной атрофии и выраженности неврологического дефицита по шкале Kurtzke у больных рассеянным склерозом, коэффициент Спирмена R/ p-value

Функциональные системы	ШТЖ	ИТЖ	ШПР		ШТБЖ		ИБЖ	МП
			левый	правый	левый	правый		
ФС 1	-0,07/ 0,4	-0,08/ 0,36	-0,1/ 0,26	-0,14/ 0,12	-0,05/ 0,54	-0,07/ 0,4	-0,15/ 0,08	0,007/ 0,93
ФС 2	0,05/ 0,6	0,002/ 0,97	0,13/ 0,12	0,02/ 0,24	0,07/ 0,36	0,05/ 0,54	-0,05/ 0,56	0,16/ 0,07
ФС 3	0,25/ 0,003*	0,23/ <0,01*	0,12/ 0,15	0,19/ 0,02*	0,16/ 0,07	0,18/ 0,04*	0,08/ 0,33	0,27/ <0,01*
ФС 4	0,35/ <0,01*	0,33/ <0,01*	0,29/ <0,01*	0,26/ <0,01*	0,25/ <0,01*	0,24/ <0,01*	0,102/ 0,23	0,36/ <0,01*
ФС 5	-0,22/ <0,01*	-0,24/ <0,01*	-0,14/ 0,11	-0,19/ 0,03*	-0,15/ 0,09	-0,23/ 0,007*	0,01/ 0,87	-0,1/ 0,25
ФС 6	0,25/ <0,01*	0,23/ <0,01*	0,17/ 0,05*	0,21/ 0,01*	0,06/ 0,47	0,11/ 0,2	0,04/ 0,66	0,32/ <0,01*
ФС 7	0,32/ <0,01*	0,31/ <0,01*	0,30/ <0,01*	0,30/ <0,01*	0,23/ <0,01*	0,29/ <0,01*	0,18/ 0,04*	0,40/ <0,01*
EDSS	0,31/ <0,01*	0,22/ 0,01*	0,18/ 0,03*	0,18/ 0,03*	0,19/ 0,03*	0,20/ 0,02*	-0,01/ 0,87	0,34/ <0,01*

Примечание: *- значения p, достигшие статистической значимости различий. ФС 1 – зрительные функции, ФС 2 – стволые функции, ФС 3 – пирамидные функции, ФС 4 – мозжечковые функции, ФС 5 – чувствительная сфера, ФС 6 – функции тазовых органов, ФС 7 – высшие мозговые функции, EDSS – expanded disability status scale, ШТЖ – ширина третьего желудочка, ИТЖ – индекс третьего желудочка, ШПР – ширина передних рогов боковых желудочков, ШТБЖ – ширина тел боковых желудочков, ИБЖ – индекс боковых желудочков, МП – межъядерный показатель

На основании полученных данных таблицы 3, выраженность мозжечковых нарушений умеренно коррелировала с ШТЖ ($R=0,35$), ИТЖ ($R=0,33$) и МП ($R=0,36$). Выраженность нарушений высших мозговых функций коррелировала с ШТЖ ($R=0,32$), ИТЖ ($R=0,31$), ШПР ($R=0,30$), МП ($R=0,40$). Степень инвалидизации по шкале EDSS коррелировала с ШТЖ и МП ($R=0,31$ и $R=0,34$ соответственно). При более выраженных признаках общей церебральной атрофии степень инвалидизации пациентов с РС была тяжелее.

По общему количеству церебральных T2-гиперинтенсивных очагов пациенты с РС были разделены на три группы:

- 1) имеющие менее 9 T2-очагов в головном мозге – 10 человек;
- 2) от 9 до 15 церебральных T2-очагов – 29 человек;
- 3) более 15 церебральных T2-очагов – 96 человек.

Первые две группы в связи с малочисленностью и во избежание проблемы множественных сравнений были объединены в одну с количеством T2-очагов в головном мозге до 15 включительно – всего 39 пациентов. Для поиска возможных ассоциаций был проведен анализ абсолютных частот вариантов генотипа исследуемых полиморфных локусов в группах с разным количеством T2-очагов путём построения четырехпольных таблиц. Нулевая гипотеза гласила о независимости признаков, то есть распределение по варианту генотипа не влияет на распределение по количеству церебральных T2-очагов (таблица 4).

Таблица 4 – Частоты встречаемости вариантов генотипа исследуемых полиморфных локусов иммунокомпетентных генов в группах пациентов с разным количеством T2-гиперинтенсивных очагов

SNP/ группы	Абсолютные частоты вариантов генотипа					
rs1800629 TNF α	GG	p	GA	p	AA	p
<15 T2-очагов	25	0,04*	14	-	0	-
>15 T2-очагов	79		17		0	
rs187238 IL-18	GG	p	GC	p	CC	p
<15 T2-очагов	15	0,50	14	0,4	10	0,2
>15 T2-очагов	48		33		15	
rs6074022 CD40	TT	p	TC	p	CC	p
<15 T2-очагов	17	0,7	15	0,4	7	0,40
>15 T2-очагов	40		44		12	

Примечание: *- значение p, достигшее статистической значимости

Как видно из таблицы 4, для полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α выявлена ассоциация вариантов генотипа с количеством Т2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге. На рисунке 1 изображена диаграмма частот встречаемости двух генотипов данного полиморфного локуса с распределением пациентов по количеству Т2-очагов.

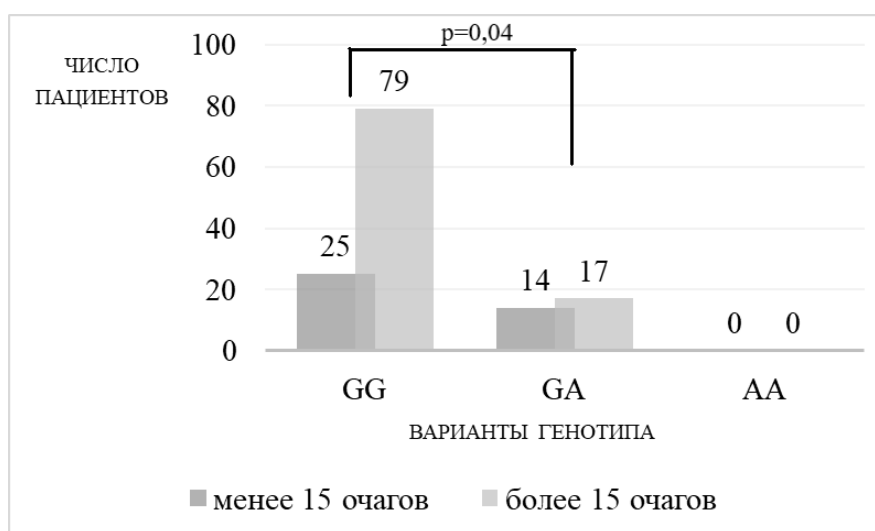


Рисунок 1 – Частоты встречаемости вариантов генотипа полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α с распределением по количеству Т2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге больных рассеянным склерозом

Из 104 наблюдений генотипа GG 25 пациентов имели менее 15, а 79 пациентов – более 15 церебральных Т2-очагов. Из 31 случая генотипа GA 14 пациентов имели менее 15 Т2-очагов, а 17 – более 15. Таким образом, генотип GA практически с одинаковой частотой встречался среди пациентов обеих групп, в то время как генотип GG ассоциирован с количеством Т2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге более 15 ($p=0,04$).

Корреляционный анализ Спирмена показал умеренной силы прямую взаимосвязь между длительностью РС и общим количеством выявляемых на МРТ головного мозга Т2-гиперинтенсивных очагов ($R=0,37$). При большей длительности РС количество церебральных Т2-очагов было больше, поэтому поиск возможных ассоциаций генетических факторов с очаговым поражением головного мозга был выполнен в группах пациентов с длительностью РС менее 10 лет включительно

(69 пациентов) и 11-20 лет (63 пациента). Выявлена ассоциация варианта полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α с количеством церебральных T2-очагов у пациентов с продолжительностью РС менее 10 лет (таблица 5).

Таблица 5 – Частота вариантов генотипа полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α в группах пациентов с количеством T2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге более 15 и менее 15 при различной длительности рассеянного склероза

Длительность РС	SNP/ группы	Абсолютные частоты вариантов генотипа				
		GG	p	GA	p	AA
Менее 10 лет	rs1800629 TNF α	GG	p	GA	p	AA
	<15 T2-очагов	11	0,02*	10	-	0
	>15 T2-очагов	39		9		0
11-20 лет	rs1800629 TNF α	GG	p	GA	p	AA
	<15 T2-очагов	14	0,73	4	-	0
	>15 T2-очагов	37		8		0

Примечание: *- значение p, достигшее статистической значимости

Согласно данным таблицы 5, из 50 наблюдений генотипа GG только 11 пациентов с продолжительностью РС менее 10 лет имели менее 15 T2-очагов, а 39 – более 15. Из 19 случаев гетерозигот GA 10 пациентов имели менее 15, а 9 – более 15 T2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге. Генотип GG полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α ассоциирован количеством церебральных T2-очагов более 15 у пациентов с продолжительностью заболевания менее 10 лет ($p=0,02$). Напротив, в группе пациентов с продолжительностью РС 11-20 лет этой ассоциации не выявлено ($p=0,73$), что согласуется с данными о меньшей активности воспаления на поздних стадиях РС (Трофимова Т.Н. и соавт., 2010). Ассоциаций полиморфных локусов rs6074022 гена CD40 и rs187238 гена IL-18 с обширностью очагового поражения головного мозга пациентов с РС не обнаружено.

По ширине третьего желудочка пациенты с РС были разделены на 2 группы: 1) с ШТЖ менее 6 мм (N=75) и 2) более 6 мм (N=60). Выполнен анализ частот встречаемости вариантов генотипа изучаемых полиморфных локусов иммунокомпетентных генов в группах пациентов с ШТЖ менее 6 мм и более 6 мм. Ассоциаций генетических факторов с шириной третьего желудочка не выявлено. В группах пациентов с продолжительностью РС менее 10 лет и 11-20 лет ассоциаций ШТЖ с полиморфными вариантами изучаемых иммунокомпетентных генов также не выявлено. По величине МП пациенты были разделены две группы: первая включала случаи МП до 14% (N=63), вторая – случаи МП более 14% (N=72). Выполнен анализ частоты встречаемости вариантов генотипа изучаемых полиморфных локусов в группах пациентов с величиной МП менее 14% и более 14 %. Выявлена ассоциация полиморфизма rs187238 гена IL-18 с величиной МП. На рисунке 2 изображена диаграмма частот встречаемости вариантов генотипа этого полиморфизма с распределением пациентов на группы по величине МП.

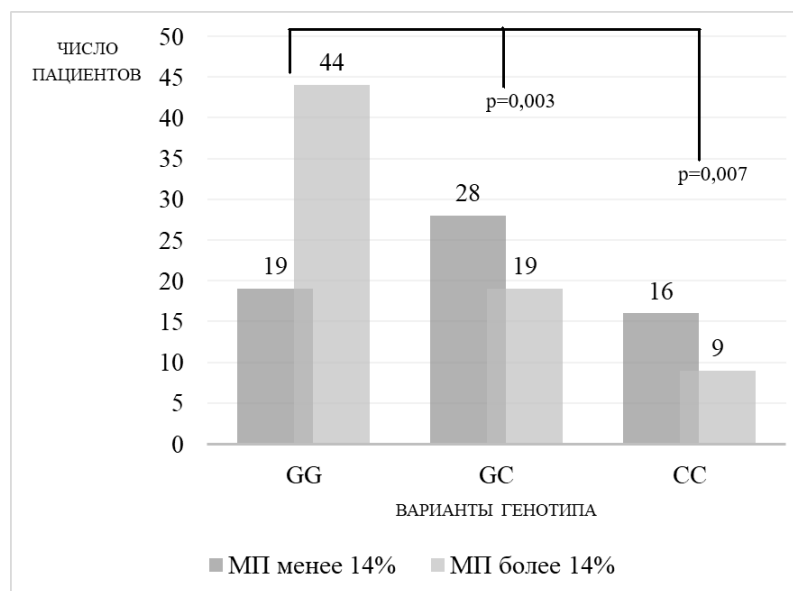


Рисунок 2 – Частота встречаемости вариантов генотипа полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 с распределением по величине межъядерного показателя у пациентов с РС

Из 63 наблюдений генотипа GG 44 пациента имели МП более 14%, а 19 – менее 14%. Напротив, среди гетерозигот GC и гомозигот CC преобладали паци-

енты с величиной МП менее 14% ($p=0,002$ и $p=0,007$ соответственно). Генотип GG полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 ассоциирован с величиной МП более 14%, то есть с более выраженной общей церебральной атрофией.

Для поиска возможных ассоциаций генетических факторов с МП проведён также анализ частот встречаемости вариантов генотипа полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 с учетом длительности РС (таблица 6).

Таблица 6 – Частота вариантов генотипа полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 в группах пациентов с величиной межъядерного показателя менее 14% и более 14% при различной длительности рассеянного склероза

Продолжительность РС	SNP/ группы	Абсолютные частоты вариантов генотипа					
		GG	p	GC	p	CC	p
Менее 10 лет	rs187238 IL-18	GG	p	GC	p	CC	p
	<14%	15	1,0	17	0,75	9	0,74
	14%<	9		11		8	
11-20 лет	rs187238 IL-18	GG	p	GC	p	CC	p
	<14%	14	0,03*	13	0,33	2	1,0
	14%<	25		6		3	

*- значение p, достигшее статистической значимости

В группе длительно болеющих пациентов из 39 пациентов с генотипом GG 14 имели МП менее 14 %, а 25 – более 14%. Среди гетерозигот GC у 13 пациентов из 19 величина МП была менее 14%. Из 5 носителей генотипа CC двое пациентов характеризовались величиной МП менее 14% и ещё трое – более 14%. Генотип GG полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 ассоциирован с величиной МП более 14% ($p=0,03$), то есть с более выраженной общей церебральной атрофией у пациентов с длительностью РС от 11 до 20 лет.

Ассоциаций полиморфных локусов rs1800629 гена TNF α и rs6074022 гена CD40 с величиной МП не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлены ассоциации вариантов генотипа полиморфных локусов генов иммунной системы $TNF\alpha$ и $IL-18$ с выраженностью демиелинизирующего и атрофического поражения головного мозга при рассеянном склерозе. Белковые продукты этих генов являются мощными провоспалительными цитокинами, запускающими и поддерживающими каскад воспалительных реакций в ЦНС, обуславливая отек, клеточную инфильтрацию, глиоз. Цитокины $TNF\alpha$ и $IL-18$ участвуют в формировании направленности и выраженности патологического процесса как в системной циркуляции, так и в ЦНС, отражением чего могут являться очаги повышенного сигнала на T2-взвешенных изображениях и расширение ликворных пространств головного мозга, обнаруживаемые при магнитно-резонансной томографии.

ВЫВОДЫ

1. Показатели общей церебральной атрофии: ширина третьего желудочка, индекс третьего желудочка, ширина передних рогов боковых желудочков, ширина тел боковых желудочков, межъядерный показатель – статистически значимо выше у пациентов с ремиттирующим и вторично-прогрессирующим рассеянным склерозом, чем у здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту.

2. Выраженность стволовых нарушений у больных рассеянным склерозом коррелирует с количеством субтенториальных T2-гиперинтенсивных очагов ($R=0,37$) и объемом T1-гипоинтенсивных очагов ($R=0,32$); выраженность пирамидных нарушений взаимосвязана с объемом T1-гипоинтенсивных очагов прямой корреляционной связью ($R=0,35$); нарушения высших мозговых функций коррелируют с общим количеством T2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге ($R=0,31$). Степень инвалидизации пациентов с рассеянным склерозом, оцениваемая по шкале EDSS, коррелирует с общим количеством церебральных T2-гиперинтенсивных очагов ($R=0,35$) и количеством субтенториальных T2-очагов ($R=0,34$) прямой умеренной силы корреляционной связью.

3. Выраженность мозжечковых нарушений умеренно коррелирует с шириной третьего желудочка ($R=0,35$), индексом третьего желудочка ($R=0,33$) и межъ-

ядерным показателем ($R=0,36$); нарушения высших мозговых функций взаимосвязаны с шириной третьего желудочка ($R=0,32$), индексом третьего желудочка ($R=0,31$), шириной передних рогов боковых желудочков ($R=0,30$), межъядерным показателем ($R=0,40$) прямыми средней силы корреляционными связями. Степень инвалидизации по шкале EDSS коррелирует с шириной третьего желудочка ($R=0,31$) и межъядерным показателем ($R=0,34$).

4. Генотип GG полиморфного локуса rs1800629 гена TNF α ассоциирован с количеством T2-гиперинтенсивных очагов в головном мозге более 15, то есть с более обширным очаговым поражением, у пациентов с продолжительностью рассеянного склероза менее 10 лет ($p=0,02$); генотип GG полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 ассоциирован с величиной межъядерного показателя более 14% ($p=0,03$), то есть с более выраженной общей церебральной атрофией, у пациентов с длительностью рассеянного склероза от 11 до 20 лет. Не выявлено ассоциации полиморфного локуса rs6074022 гена CD40 с выраженностью очагового и атрофического поражения головного мозга у больных рассеянным склерозом.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В клинической практике следует учитывать, что генетические факторы оказывают влияние не только на клинические особенности рассеянного склероза, но и на выраженность очаговых и атрофических изменений головного мозга по данным МРТ.

2. Рекомендуется использовать для оценки общей церебральной атрофии у больных рассеянным склерозом в повседневной клинической практике простые планиметрические параметры МРТ – ширину третьего желудочка и межъядерный показатель для повышения эффективности диагностики.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Целесообразно дальнейшее изучение роли генетических факторов в формировании клинико-лучевых особенностей рассеянного склероза с учетом проводимой терапии современными препаратами, изменяющими его течение.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Жукова, А.Р. Церебральная гемодинамика при полиморфизмах иммунокомпетентных генов у больных рассеянным склерозом / Е.А. Маркс, Р.А. Делов, Н.В. Сумцова, А.Р. Жукова и соавт. // **Доктор.Ру.** – 2014. - № 9-10. – С. 40-43.
2. Жукова, А.Р. Исследование эффективности патогенетического лечения рассеянного склероза препаратами интерферона- β в зависимости от клинико-генетических особенностей / Н.В. Сумцова, О.Ю. Агапова, А.Р. Жукова и соавт. // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2015. – № 8-2. – С. 86-87.
3. Жукова, А.Р. Основные принципы реабилитации больных рассеянным склерозом / С.В. Волужева, А.Р. Жукова, Р.А. Делов и соавт. // Нейроиммунология. Рассеянный склероз: Материалы XXI Всерос. конф. – СПб., 2016. – Т. XIII, № 1-2. – С. 22.
4. Жукова, А.Р. Моторные вызванные потенциалы с магнитной стимуляцией в оценке эффективности реабилитации пациентов с пирамидными нарушениями при рассеянном склерозе / С.В. Волужева, В.Э. Смяловский, А.Р. Жукова и соавт. // Актуальные проблемы деятельности консультативно-диагностических центров: Материалы ежегодной конф. ДиаМА. - М.; Екатеринбург: Изд-во АМБ. – 2017. - Вып. XIX. – С. 244-245.
5. Жукова, А.Р. Сопоставление данных клинических и инструментальных исследований пирамидной системы при рассеянном склерозе / С.В. Волужева, А.Р. Жукова // Горизонты медицинской науки: Материалы VIII конф. молодых ученых РМАНПО с межд. участием. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2017. – Т. 1. – С. 110.
6. Жукова, А.Р. Сопоставление данных мультимодальных вызванных потенциалов с результатами МРТ головного мозга при рассеянном склерозе / С.В. Волужева, В.Э. Смяловский, А.Р. Жукова и соавт. // Актуальные проблемы деятельности консультативно-диагностических центров: Материалы ежегодной конф. ДиаМА. - М.; Екатеринбург: Изд-во АМБ. – 2017. - Вып. XIX. – С. 245-246.
7. Жукова, А.Р. Реабилитация больных рассеянным склерозом с пирамидными нарушениями: электрофизиологическая характеристика / С.В. Волужева, А.Р. Жу-

кова // Нейроиммунология. Рассеянный склероз: XXII Всерос. научн.-практ. конф. неврологов; Современные возможности нейровизуализации: Материалы V симп. – СПб., 2017. – С. 23.

8. Жукова, А.Р. Магнитно-резонансная томография в диагностике рассеянного склероза: учебно-методическое пособие для врачей / А.Р. Жукова, С.В. Волужева, А.С. Рождественский и соавт. – Омск: Изд-во ОмГМУ, 2017. – 124 с.

9. Жукова, А.Р. Взаимосвязь клинической картины и атрофических изменений головного мозга у больных рассеянным склерозом: Электронный ресурс / А.Р. Жукова, С.В. Логинова, Н.В. Сумцова и соавт. // **Современные проблемы науки и образования.** – 2018. - № 5. - С. 67. - Режим доступа: <http://www.science-education.ru/article/view?id=28090>.

10. Жукова, А.Р. Магнитно-резонансная томография в дифференциальной диагностике демиелинизирующих заболеваний центральной нервной системы (обзор литературы) / А.Р. Жукова, А.С. Рождественский, Ю.Т. Игнатъев и соавт. // **Российский электронный журнал лучевой диагностики.** – 2018. - Т. 9, № 2. – С. 167-177.

11. Жукова, А.Р. Клинико-радиологические особенности и полиморфизм некоторых генов иммунной системы при рассеянном склерозе / А.Р. Жукова, А.С. Рождественский // Неврология Сибири. – 2019. – № 1 (5). – С. 102.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

РС – рассеянный склероз
 РРС – ремиттирующий рассеянный склероз
 ВПРС – вторично-прогрессирующий рассеянный склероз
 ЦНС – центральная нервная система
 HLA – Human Leukocyte Antigens
 ГКГ – главный комплекс гистосовместимости
 T1-, T2-ВИ – T1-, T2-взвешенное изображение
 TNF α – фактор некроза опухоли – альфа
 CD40 – рецептор антигенпрезентирующих клеток
 IL-18 – интерлейкин-18
 МРТ – магнитно-резонансная томография
 ШТЖ – ширина третьего желудочка
 ИТЖ – индекс третьего желудочка
 ШПР – ширина передних рогов

ШТБЖ – ширина тел боковых желудочков

ИБЖ – индекс боковых желудочков

МП – межъядерный показатель

ФС – функциональная система

ФС 1 – зрительные функции

ФС 2 – функции ствола головного мозга

ФС 3 – пирамидные функции

ФС 4 – функции мозжечка

ФС 5 – чувствительные нарушения

ФС 6 – функции тазовых органов

ФС 7 – высшие мозговые функции

EDSS - expanded disability status scale

ВМФ – высшие мозговые функции