

На правах рукописи

**Какуля
Анастасия Владимировна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ ДЕБЮТА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА**

14.01.11 – нервные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель
доктор медицинских наук

Рождественский Алексей Сергеевич

Официальные оппоненты

Рейхерт Людмила Ивановна доктор медицинских наук, профессор, ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, заведующая кафедрой неврологии с курсом рефлексотерапии ФПК и ППС

Волкова Лариса Ивановна доктор медицинских наук, ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, заведующая кафедрой нервных болезней и нейрохирургии

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 15 » мая 2012 г. в «10» часов на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, Д 208.102.03, созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени В.Н.Климова ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России, по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, с авторефератом – на сайте ВАК: vak2.ed.gov.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2012 г.

Ученый секретарь совета
по защите докторских и
кандидатских диссертаций
д.м.н., профессор



Базарный Владимир Викторович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Рассеянный склероз (РС) представляет собой актуальную медицинскую и социальную проблему в связи с широкой распространенностью, особенно среди лиц молодого и трудоспособного возраста, ранним развитием и стойкой инвалидизацией (А.Н. Бойко, Е.И. Гусев, 2001). Число случаев длительной инвалидизации ежегодно достигает 750 тысяч. Развитие расстройств в нескольких функциональных системах быстро приводит больного к ограничению жизнедеятельности, чем и определяет снижение качества жизни пациентов (С.А. Smith, 1994). Экономические затраты на оказание медицинской и социальной помощи очень велики. По распространенности РС занимает четвертое место в мире среди неврологических заболеваний после инсультов, паркинсонизма, эпилепсии (И.З. Карлова, 2007). Число новых случаев рассеянного склероза достигает 105 тыс. в год (Н.Н. Маслова, 2008, Е.Р. Ким, 2003).

В последние годы рассеянный склероз все чаще стал регистрироваться в детском возрасте, отмечается тенденция к омоложению заболевания. В настоящее время принято считать, что около 2-10% больных рассеянным склерозом заболевают в детском возрасте (D.W. Paty, 2003). Обращает на себя внимание разнообразие инициальных проявлений РС у детей от отдельных моносимптомных проявлений до выраженных двигательных и сенсорных нарушений. Единого мнения о частоте дебютных симптомов при раннем начале РС в настоящее время нет (А.Н. Бойко, 2002, К.З. Бахтиярова, 2006, I. Silmone 2002, A. Cheizzi, 1997). Возраст начала, характер дебюта рассеянного склероза, а также длительность первой ремиссии играют роль в прогнозировании дальнейшего течения патологии и темпов прогрессирования (А.Н. Бойко, Е.И. Гусев, 2001, Т. Рукмезовича, 2002).

Исследования последних лет показали сложность и многогранность патогенеза рассеянного склероза, несмотря на активное изучение, этиология заболевания остается не вполне ясной. Однако, наиболее распространенной является мультифакторная теория, подразумевающая воздействие внешнего фактора на лиц с генетической предрасположенностью. Генетические исследования, проводимые методом полного геномного скрининга, показали, что восприимчивость к РС определяется несколькими генами и РС можно достоверно считать полигенным заболеванием. В общей сложности в этих исследованиях было идентифицировано около 20 локусов, связанных с рассеянным склерозом (J.Chataway, 1998). В качестве генов кандидатов, связанных с повышенным риском РС, первоначально рассматривались гены HLA, позже и другие: гены цитокинов и их рецепторов, гены иммуноглобулинов.

В частности, особый интерес представляет вклад в предрасположенность к РС и его течение генов TNF α , IL-18, KIF1b, TNFRSF1A, CD40. Согласно современным данным они являются ключевыми звеньями в патогенезе многих аутоиммунных заболеваний, в том числе и рассеянного склероза. При проведенных ранее полногеномных исследованиях обнаружен ряд полиморфных точек, предположительно играющих роль в развитии предрасположенности к РС. Результаты весьма противоречивы, нет однозначного мнения о вкладе указанных полиморфизмов в предрасположенность к рассеянному склерозу, так же как и данных об ассоциации изучаемых полиморфных локусов с возрастом и характером дебюта. Таким образом, представляется актуальным исследование связи полиморфных локусов rs187238 (IL-18), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A), rs1800629 (TNF α), rs6074022 (CD40) генов в популяции с предрасположенностью к различным вариантам дебюта рассеянного склероза.

Цель исследования

Выявить клинические и молекулярно-генетические особенности различных вариантов дебюта рассеянного склероза для оценки риска развития и течения заболевания.

Задачи исследования

1. Выделить особенности дебюта и течения рассеянного склероза в зависимости от возраста появления первых симптомов у больных, проживающих на территории Омской области.
2. Оценить влияние различных вариантов дебюта и длительности первой ремиссии на особенности клинических проявлений и течение рассеянного склероза.
3. Провести молекулярно-генетическое исследование больных с РС и определить взаимосвязь функциональной полиморфности генов KIF1B, TNFRSF1A, IL-18, CD40, TNF α с особенностями дебюта рассеянного склероза.

Научная новизна

Охарактеризовано клиническое течение рассеянного склероза в зависимости от варианта дебюта в популяции больных Омской области. Получены данные, указывающие на прямую корреляцию раннего начала РС и длительной первой ремиссии с медленным прогрессированием заболевания и ассоциацию полисимптомного дебюта с быстрым накоплением стойкого неврологического дефицита.

Впервые выявлена ассоциация полиморфизма rs187238 гена IL-18 с риском развития раннего начала заболевания и ассоциация полиморфизма rs10492972 гена KIF1B с риском моносимптомного дебюта. Определена связь

зрительных и мозжечковых нарушений в дебюте РС с полиморфизмом генов IL-18 и CD40. Риск развития зрительных нарушений в дебюте связан с наличием аллеля С в полиморфном локусе rs187238 гена IL-18.

Длительность первой ремиссии не зависит от полиморфных локусов rs187238 (IL-18), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A)rs6074022 (CD40).

Практическая значимость

Результаты исследования имеют значение для практики в плане выявления особенностей детского рассеянного склероза. Полученные в ходе работы данные о клинических особенностях различных вариантов дебюта РС позволяют в ранние сроки заподозрить заболевание и своевременно провести необходимые обследования. Данные о генетических детерминантах, варьировании клиники дебюта в зависимости от возраста способствуют совершенствованию диагностики. Результаты, полученные при генотипировании могут стать основой для исследования фармакогеномики РС и разработки новых методов прогнозирования риска развития рассеянного склероза.

Внедрение результатов в практику

В ходе проведения исследования создан электронный регистр пациентов с рассеянным склерозом на основе программы «МЕДИНФО-город», который используется в работе Кабинета демиелинизирующих заболеваний БУЗОО «Клинический диагностический центр». Результаты генотипирования рекомендованы к использованию в Медико-генетической консультации БУЗОО «Областная клиническая больница», для прогнозирования риска развития рассеянного склероза у пациентов европеоидной расы. Основные положения работы используются в педагогической и научной деятельности на курсе

неврологии ПДО ГБОУ ВПО Омской государственной медицинской академии Минздравсоцразвития России.

Положения, выносимые на защиту

1. Ранний дебют рассеянного склероза у пациентов, проживающих на территории Омской области, характеризуется поражением чувствительного анализатора и ствола головного мозга, моносимптомный дебют – поражением зрительного анализатора. Характер дебюта ассоциирован с клинической картиной и течением заболевания;
2. Риск развития раннего дебюта рассеянного склероза связан с носительством аллеля С в полиморфном локусе rs187238 гена IL-18 и аллеля А в полиморфном локусе rs1800629 гена TNF α , моносимптомный дебют с носительством аллеля С полиморфного локуса rs10492972 гена KIF1B.

Апробация работы

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на I съезде врачей общей практики / семейных врачей Сибирского Федерального округа «Общая врачебная практика / семейная медицина: эра инноваций» (Омск, 2010), на заседании Общества неврологов и нейрохирургов имени Савченко (Омск, 2010), V Сибирской межрегиональной научно-практической конференции «Рассеянный склероз: 30 лет спустя» (Новосибирск, 2011).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов. Её объем составляет 158 страниц компьютерного текста, содержит 34 таблицы и 26 рисунков. Библиографический указатель содержит 172 источника, из них отечественных – 41 и 131 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Омской государственной медицинской академии и носило характер открытого поперечного сравнительного. Клиническим материалом послужили результаты обследования 268 больных с достоверным диагнозом рассеянного склероза, проживающих в городе Омске и Омской области.

Критериями включения в исследование были: достоверный диагноз рассеянного склероза по критериям McDonald, 2005, европеоидная раса, естественное течение заболевания, наличие ремиссии, согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: принадлежность к неевропеоидной расе, терапия ПИТРС, стадия обострения заболевания.

Возраст пациентов на момент включения в исследование варьировал от 16 до 66 лет, средний возраст пациентов составил $36 \pm 11,5$ лет. Средний возраст дебюта – $28,7 \pm 10,1$ лет. Критериями разделения общей выборки пациентов на группы были: возраст дебюта, характер дебюта и длительность первой ремиссии. Основой для разделения пациентов на группы раннего и типичного дебюта послужила классификация, предложенная F. Hanefeld (1993г), в которой к детскому рассеянному склерозу отнесены случаи заболевания с началом до 16-летнего возраста. В соответствии с возрастом дебюта пациен-

ты разделены на группы раннего дебюта (РД) и типичного дебюта (ТД). В группу раннего дебюта вошли 26 пациентов с возрастом дебюта от 10 до 16 лет, из них 9 мужчин и 16 женщин. Средний возраст дебюта составил $14,11 \pm 2,28$ лет. В группу пациентов с типичным началом РС вошли 242 пациента с возрастом дебюта более 16 лет, среди них 77 мужчин, 165 женщин.

Характер дебюта определяло наличие расстройств в одной или нескольких функциональных системах в начале заболевания. В группу полисимптомного дебюта (ПД) вошли 82 пациента, моносимптомного (МД) – 147 пациентов. Средний возраст начала заболевания при полисимптомном дебюте составил $28,95 \pm 10,04$ лет, при моносимптомном начале средний возраст дебюта достигал $29,02 \pm 10,04$ лет. Ряд пациентов ($n = 39$) затруднялись четко указать первые проявления заболевания.

В зависимости от длительности периода от дебюта заболевания до повторной эскалации когорта обследованных пациентов была разделена на группы: длительной первой ремиссии (ДПР) с продолжительностью ремиссии более 1 года и непродолжительной первой ремиссии (НПР) – с длительностью первой ремиссии менее 1 года. В группу НПР вошли 134 пациента, из них 84 женщины и 50 мужчин, в группу ДПР – 117 пациентов, среди них 87 женщин и 30 мужчин.

Оценка клинического статуса у больных рассеянным склерозом проводилась по общепринятой схеме с использованием шкалы неврологического дефицита Куртцке для оценки нарушений основных неврологических функций. Степень инвалидизации определяли в соответствии со шкалой EDSS [32], средняя скорость прогрессирования высчитывалась как отношение балла по шкале EDSS к длительности заболевания в годах. Число обострений заболевания отмечалось в расчете на один год. Офтальмологическое обследование включало определение остроты зрения, полей зрения, осмотр глазного дна.

Магнитно-резонансная томография выполнялась на базе БУЗОО «Клинический диагностический центр» на аппарате Signa Infiniti фирмы General Electric с напряженностью магнитного поля 1,0 Тесла.

У всех пациентов производили забор венозной крови для получения образца ДНК. Молекулярно-генетический анализ образцов проводился на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины в городе Новосибирске. Выделение лейкоцитарной взвеси проводилось с помощью буфера, лизирующего эритроциты (RCLB). Выделение ДНК проводили с помощью фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось методами аллель-специфичной амплификации с детекцией результатов в режиме реального времени (Real-time ПЦР) для rs187238 (IL-18) или с использованием технологии TaqMan для rs1800629 (TNF α), rs6074022 (CD40), rs10492972 (KIF1B), rs4149584 (TNFRSF1A). Амплификация проводилась с помощью амплификатора iCycler iQ5 (Bio-Rad, США).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 фирмы StatSoft а также возможностей MicrosoftExcel. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Сравнение двух независимых групп выполнялось с помощью U-теста Манна-Уитни. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах производилась оценка группового среднего и стандартного отклонения ($M \pm SD$), а также медианы и интерквартильного размаха (25 и 75 процентиля) – Me (LQ-UQ). Для оценки времени достижения событий по цензурированным данным использовались множительные оценки Каплана-Мейера и регрессионная модель Кокса.

Для выявления ассоциации количественных показателей с генотипом использовали линейный регрессионный анализ. За основу взята модель аддитивного наследования. Тесты на соблюдение равновесия Харди-Вайнберга и выявление ассоциаций методом χ^2 проводили с помощью программы DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, Германия; <http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении особенностей клинической картины заболевания у пациентов с разным возрастом дебюта РС установлено, что в раннем возрасте рассеянный склероз чаще дебютирует с чувствительных ($p=0,04$) и стволовых ($p=0,009$) нарушений (таблица 1). На частные стволовые дисфункции при раннем начале заболевания указывают и другие исследователи (С.К. Евтушенко, 2006; А. Н. Бойко и соавт. 2001). Двигательный дефект в начале заболевания более характерен для пациентов с типичным возрастом дебюта ($p=0,04$).

Таблица 1

Частота симптомов дебюта у пациентов с ранним и типичным началом заболевания.

Функциональные системы	Группа РД (n=26)		Группа ТД (n=242)	
	абс.	%	абс.	%
Пирамидные нарушения*	22	84,62	210	86,78
Мозжечковые нарушения	23	88,46	217	89,67
Стволовые дисфункции*	21	80,77	195	80,58
Чувствительные нарушения*	9	34,62	130	53,75
Нарушение функции тазовых органов	17	65,38	150	61,98
Зрительные нарушения	20	76,92	150	61,98
Психические нарушения, утомляемость	9	34,62	123	50,83

* $p<0,05$

В обеих группах пациентов на момент включения в исследование доминировали координаторные нарушения, одинаково часто встречались пирамидные и стволовые нарушения. Расстройства чувствительности встречались более чем у половины пациентов с типичным началом РС – 53,62% и лишь у 34,62% пациентов с ранним началом заболевания. Расстройства зрения в обеих группах выявлялись достаточно часто: у 76,92% пациентов с ранним началом РС и у 61,98% в группе типичного дебюта. По частоте встречаемости симптомов группы существенно не различались. При балльной оценке неврологического дефицита по Куртцке выявлены более выраженные зри-

тельные нарушения у пациентов с ранним началом заболевания ($p=0,02$). Клиническую картину рассеянного склероза при раннем его дебюте характеризовали легкие нарушения функций тазовых органов – императивные позывы и легкая задержка мочеиспускания ($p=0,02$), при этом нарушения на уровне 1 балла выявлены у 34,6% больных в группе РД и у 16,5% больных в группе ТД. Установлено, что у пациентов с типичным дебютом достоверно чаще ($p=0,04$), чем у пациентов с ранним встречались пирамидные нарушения на уровне 3 баллов. Средняя степень тяжести заболевания по EDSS в группе раннего дебюта составила $3,0\pm 1,3$ балла, в группе позднего дебюта – $3,56\pm 2,47$ балла. По степени тяжести заболевания различий между группами выявлено не было.

У большинства пациентов (64,29%) группы раннего дебюта течение заболевания носило ремиттирующий характер, вторично-прогрессирующий тип течения встречался почти в два раза реже – у 29,92% больных, первично-прогрессирующий отмечен наиболее редко – у 3,85%. При типичном дебюте заболевания ремиттирующий тип течения отмечен у 55,37% пациентов, вторично-прогрессирующий – у 30,99%, первично-прогрессирующий – у 13,64%. Преобладания того или иного типа течения у пациентов с различным возрастом дебюта заболевания выявлено не было. Средняя длительность первой ремиссии при раннем начале РС равнялась $1,88\pm 0,94$ года, в группе типичного дебюта – $1,59\pm 0,59$ года. Различий по таким характеристикам течения заболевания как средняя длительность первой ремиссии, средняя скорость прогрессирования и количество обострений в год между группами пациентов с различным возрастом дебюта выявлено не было.

При проведении корреляционного анализа выявлена зависимость степени инвалидизации от возраста дебюта заболевания ($p=0,002$). Прямая корреляция показывает, что при более раннем начале заболевания неврологический дефицит достоверно ниже, и чем позднее дебют болезни, тем выше степень инвалидизации. Отрицательная достоверная корреляция наблюдалась между возрастом начала заболевания и длительностью первой ремиссии

($p=0,003$). Таким образом, при более раннем дебюте заболевание характеризовалось более длительным периодом ремиссии после манифестации симптомов. Более быстрое прогрессирование заболевания при более позднем его начале подтверждено корреляционным анализом ($p=0,001$).

При сравнении сроков от начала заболевания до наступления стойкой инвалидизации в 3 балла выявлено, что у больных с ранним началом рассеянного склероза сроки были достоверно выше, чем у пациентов с типичным дебютом ($p=0,037$), при средней длительности достижения 3,0 баллов для группы раннего дебюта – $15,86 \pm 10,04$ лет и $6,05 \pm 5,56$ лет для группы типичного дебюта. При оценке времени достижения событий по цензурированным данным методом Каплана-Мейера различия между группами не являлись статистически значимыми.

Следующим критерием деления пациентов на группы было количество функциональных систем вовлеченных в патологический процесс в начале заболевания. В соответствии с характером дебюта пациенты разделены на группы полисимптомного дебюта и моносимптомного дебюта. При анализе анамнестических данных в группах моносимптомного и полисимптомного дебюта выявлено преобладание двигательных нарушений, которые отмечались у 34,01% пациентов при моносимптомном начале заболевания и у 32,55% пациентов в сочетании с другими симптомами при полисимптомном дебюте РС. На нарушение зрения указали 35,37% пациентов с моносимптомным началом РС и 20,93% пациента с полисимптомным началом заболевания. При этом частота зрительных нарушений при моносимптомном дебюте была достоверно больше ($p=0,0001$). Наиболее редкими симптомами дебюта были когнитивные нарушения и пароксизмальный синдром (таблица 2).

Частота симптомов дебюта у больных с моносимптомным и полисимптомным началом рассеянного склероза

Симптомы дебюта	Группа МД (n = 147)		Группа ПД (n = 82)	
	абс.	%	абс.	%
Пирамидные нарушения	50	34,01	70	32,55
Мозжечковые дисфункции	12	12,24	28	13,02
Стволовые нарушения	3	2,04	5	2,32
Нарушение функции тазовых органов	4	2,72	5	2,32
Сенсорные нарушения	20	13,60	51	23,72
Нарушения зрения*	52	35,37	45	20,93
Когнитивные нарушения	-	-	1	0,47
Пароксизмальный синдром	-	-	1	0,47
Утомляемость	-	-	9	4,18

* $p < 0,05$

Средняя длительность первой ремиссии в группе МД достигала $1,57 \pm 2,64$ года, в группе ПД – $1,61 \pm 2,64$ года. Различия между группами по длительности первой ремиссии не достигали статистической значимости. При объективном неврологическом осмотре у пациентов с моносимптомным и полисимптомным дебютом в клинической картине заболевания доминировали двигательные нарушения, в группе ПД пирамидные нарушения встречались достоверно чаще, чем у пациентов группы МД ($p = 0,006$).

При оценке неврологического дефицита с использованием модифицированной шкалы Куртцке выявлены достоверно более выраженные стволовые ($p = 0,002$) и чувствительные ($p = 0,0004$) нарушения при полисимптомном начале заболевания, в сравнении с группой моносимптомного дебюта. В группе ПД мозжечковые нарушения достигали большей выраженности, чем в группе МД, но различия между группами являлись малодостоверными ($p = 0,05$). При этом группа пациентов с полисимптомным дебютом отличалась большей частотой пирамидных ($p = 0,006$), мозжечковых ($p = 0,04$), стволовых ($p = 0,01$) дисфункций. Наиболее редко у пациентов с моносимптомным дебютом заболевания выявлялись нарушения функции тазовых органов – у 42,18% больных, в группе пациентов с полисимптомным дебютом тазовые нарушения отмечались достоверно чаще ($p = 0,003$) – у 67,07% пациентов.

При полисимптомном дебюте заболевание характеризовалось более частыми умеренными пирамидными ($p=0,003$) и стволовыми ($p=0,0004$) нарушениями. Легкие координаторные ($p=0,0005$) и чувствительные ($p=0,001$) нарушения встречались также чаще у пациентов с полисимптомным дебютом рассеянного склероза, чем у пациентов с моносимптомным дебютом. При сравнении групп по величине балла по шкале Куртцке выявлен достоверно более низкий показатель степени инвалидизации при моносимптомном дебюте заболевания ($p=0,03$).

Ремиттирующее течение заболевания отмечено у 56,46% пациентов с моносимптомным началом заболевания и у 58,53% пациентов с полисимптомным. В группе МД вторично-прогредиентный тип течения РС выявлен у 32,29% больных, первично-прогредиентный у 12,24% больных, в группе ПД соответственно у 30,48% больных и у 10,24% больных. По основным характеристикам течения заболевания: скорости прогрессирования, частоте обострений в год группы не различались.

При поиске ассоциаций симптомов дебюта с основными характеристиками заболевания установлено, что пациенты с пирамидными нарушениями и нарушениями функции тазовых органов в дебюте заболевания имеют более высокий балл по шкале Куртцке, чем пациенты без таковых нарушений ($p=0,00005$; $p=0,001$).

За критерий деления пациентов на группы длительной и непродолжительной первой ремиссии был выбран период – один год. В обеих группах отмечено преобладание женщин, как и в целом в выборке, достоверное преобладание женщин выявлено в группе ДПР ($p=0,04$). В обеих группах преобладающими дебютными симптомами были двигательные нарушения, в группе НПР парезы отмечены у 46,49% пациентов, в группе ДПР – у 44% больных РС. На снижение чувствительности указали 28,07% и 33% пациентов в группах НПР и ДПР соответственно. Одним из наиболее частых дебютных симптомов было нарушение зрения, в группе НПР зрительные нарушения отмечены у 35,96% больных, в группе ДПР – у 33% больных. Выявленные на ос-

новании сбора анамнеза первые симптомы заболевания не имели специфического значения, и существенных различий по частоте встречаемости симптомов выявлено не было. Средний возраст дебюта в группе НПР достигал $30,15 \pm 10,23$ года, в группе ДПР – $26,39 \pm 9,51$ года. Возраст дебюта в группе с продолжительностью первой ремиссии более одного года был достоверно меньше, чем в группе НПР ($p=0,005$).

Наиболее часто в обеих группах отмечались пирамидные и мозжечковые нарушения, которые отмечались соответственно у 88,06% больных и у 91,04% больных в группе НПР, в 83,76% больных и 87,18% больных в группе ДПР. Бульбарные нарушения, нистагм, нарушение функции глазодвигательных мышц и функции черепно-мозговых нервов, объединенные в третью функциональную систему по Куртцке, выявлены у 83,58% пациентов с непродолжительной первой ремиссией и у 75,21% пациентов с длительной первой ремиссией. Нарушение функции тазовых органов встречалось достоверно чаще у пациентов в группе НПР ($p=0,04$).

В группе пациентов с непродолжительной первой ремиссией при балльной оценке неврологического дефицита по Куртцке выявлены достоверно более выраженные мозжечковые ($p=0,005$) и стволовые ($p=0,007$) нарушения. По выраженности неврологического дефицита по остальным функциональным системам группы существенно не различались. Средний балл по шкале EDSS в группе НПР был равен $3,83 \pm 3,08$ баллов, в группе ДПР – $3,1 \pm 1,36$ баллов. Пациенты с непродолжительной первой ремиссией имели достоверно больший неврологический дефицит, по сравнению с пациентами с длительной ремиссией ($p=0,006$). Ремиттирующее течение заболевания отмечено у 53,3% пациентов в группе НПР, у 70,4% пациентов – в группе ДПР. Вторично-прогредиентному 42,6% больных в группе НПР, и у 29,6% больных – в группе ДПР. По частоте встречаемости ремиттирующего и вторично-прогредиентного типов течения группы не различались. Наиболее редко отмечался первично-прогредиентный тип течения у пациентов с непродолжительной первой ремиссией (3,9%) и не встречался в группе пациентов с дли-

тельной первой ремиссией. У пациентов с непродолжительной первой ремиссией заболевание прогрессировало быстрее, чем у пациентов группы ДПР ($p=0,016$), при этом средняя скорость прогрессирования в группах составила соответственно $1,0\pm 0,92$ балл/год и $0,59\pm 0,09$ балл/год.

При выявлении ассоциаций между длительностью первой ремиссии и другими характеристиками течения заболевания выявлена отрицательная корреляция со степенью инвалидизации по шкале Куртцке ($p=0,009$). Выявлена отрицательная достоверная корреляция между скоростью прогрессирования заболевания и длительностью первой ремиссии ($p=0,00001$). Таким образом, при более длительной первой ремиссии возможно более благоприятное течение заболевания с более медленным накоплением неврологического дефицита. При корреляционном анализе выявлено также достоверное влияние длительности первой ремиссии на выраженность мозжечковых ($p=0,009$) и стволовых нарушений ($p=0,03$).

У пациентов с непродолжительной ремиссией заболевание прогрессировало быстрее, время достижения 3 баллов по шкале инвалидизации у пациентов с длительной ремиссией было достоверно больше. Анализ достижения событий Каплана-Майера показал, что время достижения 3 баллов по Шкале Куртцке достоверно больше в группе пациентов с непродолжительной ремиссией, чем у пациентов с длительной ремиссией ($p=0,03$).

Молекулярно-генетическое исследование

Следующим этапом нашего исследования было выявление влияния полиморфизма генов TNFa, KIF1b, CD40, TNFRSF1A, IL-18 на варианты дебюта рассеянного склероза. При этом распределение генотипов исследованных полиморфных локусов в группах соответствовали закону распределения Харди-Вайнберга, поэтому данные частоты можно считать популяционными для Омской области. Для групп раннего и типичного начала РС была характерна высокая частота аллеля G и, соответственно, низкая – для аллеля A по-

лиморфного локуса rs1800629 (TNFa). В группе раннего дебюта РС аллель А встречался у 14% пациентов, тогда как в группе типичного дебюта аллель А встречался гораздо реже, у 8% больных. Несмотря на явно большую частоту аллеля А у пациентов с ранним дебютом, статистически значимое различие между группами по частоте встречаемости аллелей выявлено не было ($p=0,27$). Достоверная ассоциация возраста дебюта РС с носительством аллеля А полиморфного локуса rs1800629 (TNFa) как в гомозиготном так и в гетерозиготном состоянии выявлена при регрессионном анализе ($OR=0,84$ $CI(0,72-0,96)$; $p=0,0042$) (таблица 3). Ряд авторов сообщают, что данный полиморфный locus связан с РС (S.Ristic et.al. 2007, M.Fernandez-Arquero et.al.1999), но в этих исследованиях не выявлено ассоциации с возрастом дебюта (S. Ristic et.al. 2007)

Частота встречаемости аллелей G и C полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 у пациентов с ранним и типичным дебютом существенно не различалась, при РД 72% и 28% соответственно и при ТД 70% и 30%. При сравнительном анализе частоты встречаемости генотипов достоверных различий выявлено не было. При проведении регрессионного анализа выявлена достоверная связь полиморфизма rs187238 гена IL-18 и возраста начала заболевания ($OR = 1,18$ $CI(1,06-1,30)$; $p=0,0072$). Носительство аллеля С в гомо- и гетерозиготном состоянии в полиморфном локусе rs187238 гена IL-18 связано с ранним началом заболевания (табл. 3)

Таблица 3

Ассоциация возраста дебюта и генотипа исследуемых полиморфных локусов.

Полиморфизм	β	SE_{β}	Относительный риск	Доверительный интервал	p
rs187238(IL-18)	0,116	0,062	1,18	1,06-1,30	0,0072
rs1800629(TNFa)	-0,176	0,061	0,84	0,72-0,96	0,0042
rs10492972(KIF1B)	-0,009	0,062	0,99	0,87-1,11	0,88
rs6074022(CD40)	0,094	0,062	1,09	0,98-1,22	0,13
rs4149584(TNFRSF1A)	0,045	0,065	1,05	0,92-1,17	0,49

При анализе частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфных локусов rs10492972(KIF1B), rs4149584(TNFRSF1A) не было выявлено влияния генотипа на возраст дебюта заболевания.

Проведенное генотипирование позволило выявить связь аллеля С локуса rs10492972 гена KIF1B на вероятность моносимптомного начала заболевания (OR =1,074; p=0,02). В литературе есть данные об ассоциации rs10492972 (KIF1B) с РС, но риск, связанный с полиморфизмом этого гена, увеличивался незначительно (Y.S Aulchenko,2008) В группе моносимптомного дебюта частота аллеля С была выше, чем в группе ПД (33% – МД, 22% – ПД), соответственно, аллель Т встречался чаще при полисимптомном начале (67% – МД и 78% – ПД). Частота встречаемости генотипов исследуемых локусов в группах с различным типом дебюта вычислялась при помощи метода χ^2 . В группе полисимптомного дебюта частота генотипа Т/Т полиморфного локуса rs10492972 (KIF1B) достигала 0,6, а генотипа Т/С – 0,35, в группе моносимптомного начала РС частота генотипа Т/Т была ниже – 0,45, частота генотипа Т/С выше и составила 0,45, но различия между группами не были достоверными.

По остальным полиморфным локусам: rs1800629(TNF α), rs4149584 (TNFRSF1A), rs6074022(CD40), rs187238 (IL-18) существенных различий между группами выявлено не было. Частоты встречаемости генотипов исследуемых полиморфных локусов в группах моносимптомного и полисимптомного дебюта достоверно не отличались. Регрессионный анализ не выявил достоверного влияния генотипа исследуемых полиморфных локусов на вероятность моно- либо полисимптомного дебюта.

В процессе работы проводился поиск ассоциаций аллелей и генотипов исследуемых полиморфных локусов с наличием нарушений основных неврологических функций. При распределении аллелей исследуемых полиморфных локусов в подгруппах пациентов со зрительными нарушениями и без нарушений зрения установлена достоверная ассоциация аллеля С полиморфно-

го локуса rs187238 гена IL-18 с риском развития зрительных нарушений в дебюте заболевания ($p=0,0001$), при этом риск для аллеля С равен 1,196 CI(0,469-3,048). Частота аллеля Crs187238 гена IL-18 в подгруппе пациентов с чувствительными нарушениями была равна 0,34, в подгруппе пациентов без нарушений чувствительности – 0,23, различия между подгруппами имели низкий уровень достоверности ($p= 0,048$). Таким образом, отмечается тенденция к ассоциации аллеля С полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 с наличием чувствительных нарушений в дебюте заболевания. OR для аллеля С равен 1,754, CI (0.940-3.272).

При поиске различий между подгруппами по частоте встречаемости генотипов исследуемых генов выявлена большая частота встречаемости генотипа С/С полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 и генотипа Т/Т полиморфного локуса rs6074022 гена CD40 у пациентов с мозжечковыми нарушениями ($p=0,03$; $p=0,001$).

Значимого различия по частоте встречаемости аллелей исследуемых полиморфных локусов в группах пациентов с длительной и непродолжительной ремиссией выявлено не было. При определении влияния генотипа на длительность первой ремиссии не выявлено достоверной ассоциации между изучаемыми переменными.

ВЫВОДЫ

1. Характерными симптомами дебюта при раннем начале рассеянного склероза у пациентов, проживающих в Омской области являются чувствительные и стволовые нарушения ($p=0,04$; $p=0,009$), при начале РС в возрасте более 16 лет – двигательные нарушения ($p=0,04$). Заболевание при раннем дебюте отличалось более выраженными зрительными нарушениями ($p=0,02$), по сравнению с типичным дебютом. Степень инвалидизации и скорость прогрессирования заболевания прямо коррелируют с возрастом дебюта ($p=0,002$; $p=0,001$);

2. Для моносимптомного дебюта РС у пациентов на территории Омской области характерно начало заболевания со зрительных нарушений ($p=0,0001$). Полисимптомный дебют рассеянного склероза определяет большую выраженность неврологического дефицита ($p=0,03$) и отличается более выраженными стволовыми и чувствительными нарушениями ($p=0,002$; $p=0,0004$), большей частотой пирамидных мозжечковых, стволовых и тазовых дисфункций, чем при моносимптомном дебюте. При продолжительности первой ремиссии менее 1 года заболевание характеризовалось достоверно большей скоростью прогрессирования и большей выраженностью неврологического дефицита ($p=0,016$; $p=0,006$);
3. Раннее начало заболевания связано с носительством аллеля С в полиморфном локусе rs187238 гена IL-18 и аллеля А в полиморфном локусе rs1800629 гена TNF α (OR=0,84; $p=0,0042$; OR =1,18; $p=0,0072$). Аллель С полиморфного локуса rs10492972 (KIF1B) ассоциирован с вероятностью моносимптомного начала рассеянного склероза (OR =1,074; $p=0,02$);
4. Риск развития зрительных нарушений в дебюте заболевания связан с аллелем С полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 (OR =1,196; $p=0,0001$). Для пациентов с мозжечковыми нарушениями характерна большая частота генотипа С/С полиморфного локуса rs187238 гена IL-18 ($p=0,03$) и генотипа Т/Т полиморфного локуса rs6074022 гена CD40.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведение иммуногенетического обследования семей больных рассеянным склерозом способствует выявлению детей с наследственной предрасположенностью к рассеянному склерозу и делает возможным уменьшение вероятности воздействия на них внешних факторов риска.
2. Для оценки предрасположенности к раннему дебюту рассеянного склероза у пациентов европеоидной расы, родившихся и проживающих в

Омской области рекомендуется проводить генотипирование по генам IL-18 (rs187238) и TNFa (rs1800629). В качестве генетических маркеров риска следует считать носительство аллеля С в полиморфном локусе rs187238 гена IL-18 и аллеля А в полиморфном локусе rs1800629 гена TNFa.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Параметры фагоцитарной активности у больных рассеянным склерозом / **А.В. Какуля**, Р.А. Делов, А.С. Рождественский, Е.В. Ханох // Тезисы докладов III Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения – 2009». – 2009. – с.128.
2. Ретроспективное наблюдение больных с ранним началом рассеянного склероза / **А.В. Какуля**, А.С. Рождественский, Е.В. Ханох, Р.А. Делов // Неврологический вестник. – 2010. – Т. XLII, вып.1. – с.142-143.
3. Ретроспективное наблюдение больных с ранним дебютом рассеянного склероза / **А.В. Какуля**, А.С. Рождественский, Е.В. Ханох, Р.А. Делов // Материалы научно-практической конференции «Современные направления развития регионального здравоохранения», посвященной 90-летию Омской областной клинической больницы. – Омск, 2010. – С.464-465.
4. Параметры фагоцитарной активности и системы интерферона у больных рассеянным склерозом / Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Р.А. Делов // Материалы научно-практической конференции «Современные направления развития регионального здравоохранения», посвященной 90-летию Омской областной клинической больницы. – Омск, 2010. – С.466-468.
5. Генетика рассеянного склероза / Е.А. Кудрявцева, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Е.В. Ханох, Р.А. Делов, Н.А. Малкова, Д.С. Коробко, Ф.А. Платонов, Е.Г. Арефьева, Н.Н. Загорская, А.М. Алиферова, С.А. Бабен-

- ко, И.В. Смагина, С.А. Ельчанинова, А.Г. Золовкина, О.О. Фаворова, В.П. Пузырев, А.Н. Бойко, М.Л. Филипенко // Рассеянный склероз: 30 лет спустя»: материалы V Сибирской межрегиональной научно-практической конференции. – Новосибирск: НГМУ, 2011. – с.32-33.
6. Влияние полиморфных вариантов генов TNF α , KIF1B, CD40, NFRSF1A, IL-18 на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом гендерной принадлежности в этнической группе русских / Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Р.А. Делов, М.Л. Филипенко // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – №2. – С.50-55
 7. Клинические и молекулярно-генетические особенности раннего дебюта рассеянного склероза в Омской области / **А.В. Какуля**, А.С. Рождественский, Е.В. Ханох, Р.А. Делов, М.Л. Филипенко // Рассеянный склероз: 30 лет спустя»: материалы V Сибирской межрегиональной научно-практической конференции. – Новосибирск: НГМУ, 2011. – с.49-52
 8. Исследование наследственных факторов предрасположенности к рассеянному склерозу и особенностям его течения в русской этнической группе / Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Р.А. Делов, М.Л. Филипенко // Бюллетень СО РАМН. – 2011. – Т.31, №1. – С. 113-118.
 9. Влияние полиморфных вариантов генов TNF α , KIF1B, CD40, NFRSF1A, IL-18 на особенности клинических проявлений рассеянного склероза с учетом гендерной принадлежности в этнической группе русских / Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Р.А. Делов, М.Л. Филипенко // Рассеянный склероз: 30 лет спустя»: материалы V Сибирской межрегиональной научно-практической конференции. – Новосибирск: НГМУ, 2011. – с.41-44.
 10. Фагоцитарная активность и система интерферона у больных с различными типами течения рассеянного склероза / Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, **А.В. Какуля**, Р.А. Делов // Журнал неврологии и психиатрии

имени С.С. Корсакова. – 2011. – №2, вып. 2 (Рассеянный склероз). – С.21-24.

11. Ретроспективное наблюдение больных с ранним дебютом рассеянного склероза в Омской области / **А. В. Какуля**, Е.В. Ханох, А.С. Рождественский, Р.А. Делов // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. - 2012. - Т. 112, № 2. - С. 16-21.
12. Polymorphic locus rs10492972 of the KIF1B gene association with multiple sclerosis in Russia: case control study./Kudryavtseva EA, Rozhdestvenskii AS, **Kakulya AV**, Khanokh EV, Delov RA, Malkova NA, Korobko DS, Platonov FA, Aref Eva EG, Zagorskaya NN, Aliferova VM, Titova MA, Babenko SA, Smagina IV, El Chaninova SA, Zolovkina AG, Lifshits GI, Puzyrev VP, Filipenko ML.//Mol Genet Metab. 2011 Nov;104(3):390-394

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

МД – моносимптомный дебют

НПР – непродолжительная первая ремиссия

ПД – полисимптомный дебют

РД – ранний дебют

РС – рассеянный склероз

ТД – типичный дебют

ФНО- α – фактор некроза опухоли - альфа

CD40 – рецептор антигенпрезентирующих клеток

IL 18 – интерлейкин 18

KIF1B – белок семейства кинезинов

TNFRSF1A – член 1A суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли - альфа

КАКУЛЯ
АНАСТАСИЯ ВЛАДИМИРОВНА

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ОСОБЕННОСТИ ДЕБЮТА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

14.01.11 – нервные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития России от 2 апреля 2012 г.

Подписано в печать 02.04.2012г. Формат 60 x 84/16
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 12
Отпечатано в ГБОУ ВПО ОмГМА Минздравсоцразвития России.
г. Омск, ул. Ленина 12