

УДК 577.21

Варианты митохондриального генома и риск развития рассеянного склероза у русских

М. С. Козин^{1,2*}, О. Г. Кулакова^{1,2}, И. С. Киселёв^{1,2}, О. П. Балановский³, А. Н. Бойко¹,
О. О. Фаворова^{1,2}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

²Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава РФ, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а

³Биобанк Северной Евразии, 115201, Москва, ул. Котляковская, 3, стр. 12

*E-mail: kozinmax1992@gmail.com

Поступила в редакцию 10.09.2018

Принята к печати 28.11.2018

РЕФЕРАТ Впервые у этнических русских проведен анализ ассоциации с развитием рассеянного склероза (РС) гаплогрупп H, J, K и U митохондриального генома, а также отдельных полиморфных вариантов генов митохондриальной ДНК (мтДНК), дискриминирующих эти гаплогруппы (m.1719G > A, m.7028C > T, m.9055G > A, m.10398A > G, m.12308A > G). Исследуемая выборка включала 283 неродственных больных ремиттирующей формой РС и 290 здоровых доноров. Наблюдали ассоциацию гаплогруппы J с РС ($P = 0.0055$; ОШ = 2.00 [95% ДИ 1.21–3.41]). При гендерной стратификации значимая ассоциация сохранялась у женщин ($P = 0.0083$; ОШ = 2.20 [95% ДИ 1.19–4.03]). Проведен мультилокусный анализ ассоциации с РС сочетаний гаплогрупп мтДНК и вариантов 38 ядерных генов, вовлеченных в функционирование иммунной системы. Выявлены ассоциированные с РС биаллельные сочетания гаплогруппы J с аллелями *CCL5* rs2107538*A, *PVT1* rs2114358*G, *TNFSF14* rs1077667*C и *IL4* rs2243250*C, поодиночке не ассоциированными значимо с РС. Для сочетания гаплогруппы J и аллеля *CCL5**A ($P = 0.00043$; ОШ = 5.47 [95% ДИ 1.85–16.15]) при помощи двух статистических критериев (значение P_{FLINT} в точном трехфакторном тесте, подобном точному критерию Фишера, и фактор синергии, SF) установлен эпистатический (синергический) характер взаимодействия компонентов ($P_{\text{FLINT}} = 0.025$; SF = 4.32 [95% ДИ 1.20–15.60]). Сочетание гаплогруппы J с аллелем *PVT1**G характеризуется $P_{\text{FLINT}} = 0.084$; SF = 3.05 [95% ДИ 1.00–9.31] и также может быть эпистатическим. Таким образом, впервые показано взаимодействие компонентов ядерного и митохондриального геномов при формировании риска развития РС.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА генетический полиморфизм, митохондриальный геном, мультилокусный анализ, рассеянный склероз, ядерный геном.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ FLINT – точный трехфакторный тест, подобный точному критерию Фишера (Fisher-like interaction numeric test); GWAS – широкогеномный поиск ассоциаций (genome-wide association study); SF – фактор синергии (synergy factor); SNP – однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism); ДИ – доверительный интервал; мтДНК – митохондриальная ДНК; NAD – никотинамидадениндинуклеотид; ОШ – отношение шансов; ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов; ПЦР – полимеразная цепная реакция; РС – рассеянный склероз; ЭТЦ – электрон-транспортная цепь.

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) – нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы, в патогенезе которого большую роль играет хронический воспалительный процесс. РС, как правило, поражает людей в трудоспособном возрасте и, начавшись с единичных проявлений неврологической симптоматики, в конечном итоге приводит к тяжелой инва-

лидации [1]. По данным ВОЗ, в мире насчитывается около 2.5 млн больных РС. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый в понимании природы РС, и создание препаратов, модулирующих его течение, это заболевание остается одним из наиболее социально значимых.

РС – заболевание с генетической компонентой; риск его развития у членов семьи зависит от генети-

ческого расстояния до пробанда и достигает самых высоких значений у ближайших родственников последнего [2], однако не подчиняется менделевским закономерностям. Такой тип наследования свойствен заболеваниям полигенной природы, когда существует множество независимых или взаимодействующих полиморфных вариантов генов, каждый из которых может лишь в незначительной степени влиять на предрасположенность к заболеванию, причем эффект часто специфичен для отдельных популяций (например, этнических групп). К настоящему времени благодаря многолетним исследованиям с помощью традиционного подхода «ген-кандидат» и современного метода широкогеномного поиска ассоциаций (GWAS) удалось выявить более 200 независимых хромосомных локусов ядерного генома, из которых лишь область главного комплекса гистосовместимости класса II на хромосоме 6 сильно влияет на риск РС, а каждый из остальных вносит небольшой вклад в предрасположенность к РС [3]. Однако в совокупности вариативность всех найденных локусов ядерного генома может объяснить лишь около 38% наследуемости РС [4].

Одной из возможных причин этого явления, получившего название «недостающей» наследуемости, может быть неучтенное влияние вариабельности митохондриального генома на риск развития полигенного заболевания. В случае РС это предположение хорошо согласуется с известными данными о том, что нарушение функционирования митохондрий служит одним из ключевых факторов, приводящих к нейродегенерации при РС [5]. Как известно, основными отличительными чертами митохондриального генома являются наследование только от матери и отсутствие рекомбинации. Это позволило объединить различные варианты мтДНК в гаплогруппы – группы родственных гаплотипов, присутствующих у людей, которые имеют общего предка по материнской линии, и все унаследовали одну или несколько нуклеотидных замен. Сочетание таких замен специфично для разных гаплогрупп, на практике для отнесения образца к гаплогруппе достаточно и одной специфичной замены [6]. Тип наследования от одного родителя приводит к четырехкратному усилению действия дрейфа генов по сравнению с аутосомными маркерами, в результате в различных популяциях частоты гаплогрупп сильно варьируют.

К настоящему времени проведено около 20 исследований, посвященных анализу ассоциации с РС вариантов митохондриального генома – как индивидуальных полиморфизмов, так и гаплогрупп, причем выборки в ряде случаев относительно невелики (ссылки см. в обзоре [7]). Среди этих работ две выполнены методом GWAS, а остальные – с использовани-

ем подхода «ген-кандидат». Представленные в этих публикациях данные часто противоречивы, что может быть связано с этнической принадлежностью испытуемых. Поэтому актуальной представляется задача проведения исследований ассоциации вариантов митохондриального генома с риском РС на гомотипных по этническому составу выборках.

Целью нашей работы было исследование ассоциации наиболее распространенных в европейских популяциях гаплогрупп H, J, K и U митохондриального генома [8, 9] и входящих в их состав дискриминирующих полиморфизмов в генах *MT-RNR2*, *COX1*, *ATP6*, *MT-ND3* и *MT-TL2* [10] с риском развития РС у этнических русских. Принимая во внимание взаимодействие продуктов митохондриальных и ядерных генов, мы провели также мультилокусный анализ ассоциации с РС сочетаний гаплогрупп мтДНК и полиморфных вариантов ряда ядерных генов, частоты которых в использованной выборке были определены ранее, и исследовали характер этого эффекта.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследование было включено 283 неродственных больных РС, среди них 198 женщин и 85 мужчин, у которых согласно международным критериям Макдональда [11] диагностировали ремиттирующую форму РС. Средний возраст больных РС на момент взятия крови составил 38.0 ± 10.5 лет, средний возраст дебюта заболевания – 28.0 ± 9.1 лет. Все больные проходили лечение в Московском центре рассеянного склероза или Московском межкрупном отделении рассеянного склероза при ГБУЗ «ГКБ № 24 ДЗМ». В контрольную группу, сопоставимую с группой больных по гендерному составу (197 женщин и 93 мужчины) и возрасту (средний возраст 40.9 ± 12.9 лет), вошли неродственные здоровые индивиды. Все включенные в исследование индивиды были этническими русскими (по данным анкетирования все члены семьи в двух поколениях были русскими) и проживали в европейской части России. От всех индивидов получено информированное согласие на проведение исследования. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ.

Геномное типирование

Суммарную ДНК выделяли из образцов крови с использованием коммерческих наборов (QIAamp DNA BloodMidiKit).

Геномное типирование однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) *m.1719G > A*, *m.7028C > T*, *m.9055G > A*, *m.10398A > G*, *m.12308A > G* мтДНК (табл. 1) проводили методами, основанными на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для SNP

Таблица 1. Полиморфизмы митохондриального генома, анализированные в настоящем исследовании и использованные для определения принадлежности индивидов к гаплогруппам H, J, K и U

| SNP | rs ID | Ген | Продукт гена | Принадлежность к гаплогруппам (аллель) |
|--------------|-------------|---------|---|--|
| m.1719G > A | rs3928305 | MT-RNR2 | 16S рибосомная РНК | I, N1, X2 (1719A) |
| m.7028C > T | rs2015062 | COX1 | Субъединица 1 цитохром-с-оксидазы (комплекс IV ЭТЦ) | H (7028C) |
| m.9055G > A | rs193303045 | ATP6 | Субъединица 6 АТФ-синтазы | K (9055A) |
| m.10398A > G | rs2853826 | MT-ND3 | Субъединица 4 NADH-дегидрогеназы (комплекс I ЭТЦ) | K, J, I (10398G) |
| m.12308A > G | rs2853498 | MT-TL2 | Лейцин-специфичная тРНК | U, K (12308G) |

m.7028C > T, m.10398A > G и m.12308A > G проводили анализ полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) в соответствии с методикой, описанной в [10], за тем исключением, что рестриктаза DdeI была заменена на ее изоизомер – BstDEI. Типирование полиморфизма m.9055G > A осуществляли методом ПЦР-ПДРФ с использованием праймеров 5'-ТТААГГСГАСГАТТТСТ-3' и 5'-ТАСТГСАГГССАСТАТСА-3' и эндонуклеазы рестрикции AspLEI. Полиморфизм m.1719G > A типировали методом ПЦР в режиме реального времени. Амплификацию исследуемого участка осуществляли с помощью праймеров 5'-ГСТАААСТАГСССАААСС-3' и 5'-ГСГССАГГТТТСААТТТСТА-3'. Анализ SNP проводили с помощью зондов, специфичных к аллелям А (5' НЕХ-ССТТАСТАССАГАСА-АССТТААССААСС-3'ВНQ1) и G (5' FАМ-ССТТАСТАССАГАСААССТТАГССАААСС-3'ВНQ1).

Принадлежность к гаплогруппам митохондриального генома H, J, K и U определяли по сочетанию маркерных SNP, представленных в табл. 1, согласно [10]. Гаплогруппу H определяли как протяженный гаплотип G1719, C7028, G9055, A10398, A12308; гаплогруппу J – как гаплотип G1719, T7028, G9055, G10398, A12308; гаплогруппу K – как гаплотип G1719, T7028, A9055, G10398, G12308 и гаплогруппу U – как гаплотип G1719, T7028, G9055, A10398, G12308.

Статистический анализ

Поиск ассоциаций с РС отдельных SNP митохондриального генома, митохондриальных гаплогрупп и сочетаний гаплогрупп с носительством аллелей/генотипов ряда генов ядерного генома, определенных ранее (неопубликованные данные), проводили с помощью программного обеспечения APSampler [12], использующего метод Монте-Карло Марковскими цепями и Байесовскую непараметрическую статистику [13]. Уровень значимости найденных ассоци-

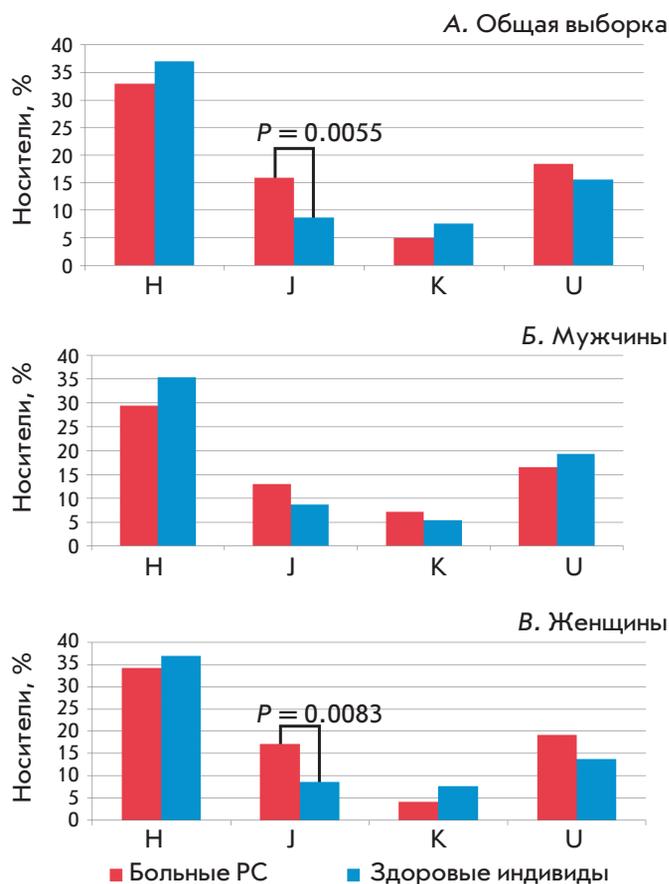
аций оценивали программными средствами для валидации, входящими в программу APSampler, на основании точного критерия Фишера, оценки соответствующего отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительного интервала (ДИ). Значимыми считали ассоциации, для которых значение P было менее 0.05 при условии, что значения 95% ДИ для ОШ не пересекают 1.

Возможное нелинейное взаимодействие (эпистаз) между аллелями в найденных биаллельных сочетаниях выявляли с использованием подхода, предложенного ранее [14]. В его основе лежит оценка характера взаимодействия между аллелями (или генотипами) двух локусов при их совместном носительстве с помощью двух ранее описанных статистических критериев: по значению P_{FLINT} в точном трехфакторном тесте, подобном точному критерию Фишера (the exact three-way Fisher-like interaction numeric test, FLINT) [15], и исходя из значений фактора синергии (synergy factor, SF) и его 95% ДИ [16]. Значения P_{FLINT} , SF и его 95% ДИ оценивали с помощью программных средств, входящих в программу APSampler. Взаимодействие между аллелями в сочетании оценивали как эпистатическое, если величина P_{FLINT} была менее 0.05, а значение 95% ДИ для SF не пересекало 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных РС и индивидов контрольной группы, русских по этнической принадлежности, проведен анализ частот вариантов митохондриального генома m.1719G > A, m.7028C > T, m.9055G > A, m.10398A > G, m.12308A > G. Не выявлено значимых различий в частотах этих SNP ни при сравнении совокупных выборок больных РС и индивидов контрольной группы, ни при сравнении больных и здоровых мужчин и женщин порознь (данные не представлены).

Принадлежность к гаплогруппам митохондриального генома H, J, K и U определяли на основа-



Частоты гаплогрупп H, J, K и U у больных РС и здоровых индивидов. А – общая выборка (283 больных РС, 290 здоровых индивидов); Б – мужчины (85 больных РС, 93 здоровых индивидов); В – женщины (198 больных РС, 197 здоровых индивидов)

нии результатов генотипирования перечисленных маркерных SNP исходя из их сочетаний. Частота гаплогруппы J у больных РС (15.9%) почти в 2 раза превышает частоту этой гаплогруппы у индивидов контрольной группы (8.6%) и значимо ассоциирована с риском развития РС ($P = 0.0055$; ОШ = 2.00 [95% ДИ 1.21–3.41]). Ассоциации гаплогрупп H, K, U с РС не выявлено (*рис. А*).

В связи с тем, что РС значительно чаще встречается у женщин, чем у мужчин, и имеют место гендерные различия в генетических факторах риска заболевания [17], анализ ассоциации гаплогрупп H, J, K, U с РС проводили также отдельно для мужчин и женщин. У мужчин не выявлено значимых ассоциаций ни одной из исследуемых гаплогрупп (*рис. Б*). В то же время у женщин, как и в общей выборке, выявлена ассоциация с РС гаплогруппы J: ($P = 0.0083$; ОШ = 2.20 [95% ДИ 1.19–4.03]) (*рис. В*).

Современные данные свидетельствуют о том, что функционирование митохондрий меняется при хроническом нейровоспалении, характерном для РС [7]. Для оценки возможного взаимодействия генов митохондриального и ядерного геномов с использованием программы APSampler мы провели мультилокусный анализ ассоциации с РС носительства сочетаний каждой из исследованных гаплогрупп мтДНК с полиморфными вариантами 37 ядерных генов, вовлеченных в функционирование иммунной системы.

Среди них ген главного комплекса гистосовместимости HLA-DRB1, «главный» ген предрасположенности к РС, а также гены CD58, VCAM1, EVI5, EOMES, CD86, IL7RA, TCF7, IL22RA2, IRF5, PVT1, IL2RA, CD6, CXCR5, TNFRSF1A, CLEC16A, IRF8, STAT3, TYK2, TNFSF14 и CD4, ассоциация которых с РС показана методом GWAS. Для этих генов выполнялись следующие условия: ассоциация каждого из них с РС наблюдалась не менее чем в двух независимых GWAS; при этом по меньшей мере в одном исследовании достигнут полногеномный уровень значимости ($P \leq 5 \times 10^{-8}$), а в другом/других значение P было не более 1×10^{-5} [18]. Особый интерес для нас представлял ген CLEC16A, который находится в относительно богатой генами области хромосомы 16, содержащей три блока сцепления. Эта область включает в себя также ген SOCS1, один из важнейших регуляторов экспрессии цитокинов [19], поэтому мы включили в анализ два полиморфных участка, расположенных в прилежащей к нему межгенной области хромосомы, – CLEC16A-SOCS1 (rs1640923) и SOCS1-TNP2 (rs243324). Продукты остальных включенных в исследование генов участвуют в процессе воспаления и/или же описаны как ассоциированные с различными аутоиммунными заболеваниями, в том числе и с РС. Среди них гены, кодирующие компоненты цитокин-хемокиновой сети – IL4, IL6, IL17A, IFNB1, IFNG, TNF, TGFB1, CCL5, IFNAR, IFNAR2, CCR5, а также гены, продукты которых участвуют в регуляции активности Т-лимфоцитов, а именно: ген костимулирующей молекулы CTLA4 и ген субъединицы иммунопротеасомы PSMB9, необходимой для процессинга пептидов перед их презентацией в составе МНС класса I. Ген глипикана 5 (GPC5) включен в исследование, поскольку известно, что полиморфизмы в его составе ассоциированы с характером ответа больных РС на терапию иммуномодулирующим препаратом – интерфероном бета [20]. У всех исследуемых полиморфных участков частота минорного аллеля была не менее 0.05. Частоты носительства аллелей и генотипов ядерных генов в исследуемой выборке были определены нами ранее.

Таблица 2. Ассоциация с РС сочетаний гаплогруппы J митохондриального генома с носительством аллелей/генотипов генов ядерного генома (по результатам мультилокусного анализа)

| Гаплогруппа, аллель или генотип | Число носителей, % | | P | ОШ [95% ДИ] |
|---|-------------------------|---------------------------------|----------------|-------------------------|
| | Больные РС (N = 283) | Здоровые доноры (N = 290) | | |
| Отдельные генетические варианты | | | | |
| Гаплогруппа J | 45 (15.9) | 25 (8.6) | 0.0055 | 2.00[1.19–3.37] |
| <i>CCL5</i> rs2107538*A | 110 (38.8) | 105 (36.2) | 0.44 | 1.04[0.74–1.46] |
| <i>PVT1</i> rs2114358*G | 169 (59.7) | 170 (58.6) | 0.43 | 1.04[0.75–1.46] |
| <i>TNFSF14</i> rs1077667*C | 266 (93.9) | 261 (90.0) | 0.064 | 1.72[0.90–3.27] |
| <i>IL4</i> rs2243250*C | 267 (94.3) | 264 (91.0) | 0.14 | 1.52[0.79–2.92] |
| <i>CLEC16A-SOCS1</i> rs1640923*A/A | 221 (78.0) | 203 (70.0) | 0.020 | 1.51[1.03–2.20] |
| Сочетания генетических вариантов | | | | |
| Гаплогруппа J + <i>CCL5</i>*A | 21 (7.4) | 4 (1.4) | 0.00043 | 5.47[1.85–16.15] |
| Гаплогруппа J + <i>PVT1</i>*G | 35 (12.4) | 14 (4.8) | 0.00093 | 2.78[1.46–5.29] |
| Гаплогруппа J + <i>TNFSF14</i>*C | 44 (15.5) | 21 (7.2) | 0.0013 | 2.35[1.35–4.07] |
| Гаплогруппа J + <i>IL4</i>*C | 44(15.5) | 21 (7.2) | 0.0013 | 2.35[1.35–4.07] |
| Гаплогруппа J + <i>CLEC16A-SOCS1</i>*A/A | 39 (13.7) | 17 (5.9) | 0.0011 | 2.56[1.41–4.63] |

Примечание. Жирным шрифтом выделены значимые ассоциации.

Сочетания с аллелями ядерного генома, значительно ассоциированные с риском РС, найдены только для гаплогруппы J (табл. 2). В качестве второго компонента в состав этих биаллельных сочетаний входили аллели *CCL5* rs2107538*A, *PVT1* rs2114358*G, *TNFSF14* rs1077667*C и *IL4* rs2243250*C, поодиночке значимо не ассоциированные с РС, и генотип *CLEC16A-SOCS1* rs1640923*A/A, ассоциация которого с РС была значимой ($P = 0.020$ и ОШ = 1.51 [95% ДИ 1.03–2.20]). Все эти сочетания характеризовались высоким уровнем значимости (P в диапазоне от 0.00043 до 0.0011), превышающим по меньшей мере в 5 раз значимость ассоциации с РС одной гаплогруппы J. Параллельно наблюдали возрастание величины ОШ; у самого значимого сочетания (гаплогруппа J + *CCL5**A) ОШ было равно 5.47, что без малого в 3 раза превышает значение ОШ, найденное для гаплогруппы J поодиночке.

Возрастание уровня значимости ассоциаций с РС, наблюдаемое при совместном носительстве гаплогруппы J и аллелей (или генотипов) ядерных генов, может происходить вследствие суммирования их взаимно независимых вкладов или же в результате позитивного эпистатического (синергического) взаимодействия между ними. Чтобы оценить, возникают ли такие взаимодействия в случае найденных сочетаний, мы определили значения SF и P_{FLINT} для них. Для сочетания гаплогруппы J с аллелем rs2107538*A гена *CCL5* значение $P_{FLINT} = 0.025$, а фактор синергии SF равен 4.32 [95% ДИ = 1.2–15.6] (табл. 3). Таким

образом, показано, что увеличение риска развития РС, наблюдаемое при носительстве индивидом гаплогруппы J в сочетании с аллелем *CCL5**A, связано с синергическим эпистатическим взаимодействием между этими генетическими вариантами. Сочетание гаплогруппы J с *PVT1**G характеризуется значением SF = 3.05, ДИ при котором не пересекает 1, и по этому критерию оно подпадает под определение эпистатического. Однако значение P_{FLINT} (0.084) не достигло уровня значимости, и мы не можем сделать окончательного вывода, что это сочетание является эпистатическим. Значения SF с 95% ДИ и величины P_{FLINT} , полученные для других сочетаний, оказались незначимыми.

ОБСУЖДЕНИЕ

РС – клинически и генетически гетерогенное заболевание [21]. Поэтому большое значение для достоверности полученных результатов имеют критерии формирования выборки. Можно констатировать, что исследуемая группа пациентов была достаточно репрезентативной. У всех диагностировали наиболее распространенную ремиттирующую форму РС, для которой характерны чередования обострений и ремиссий. Соотношение больных женщин и мужчин и средний возраст дебюта РС были близки к описанному [22]. Соотношение полов и возраст индивидов в контрольной группе не отличались существенно от таковых в группе больных. Частоты гаплогрупп митохондриального генома в контрольной группе

Таблица 3. Анализ характера взаимодействий между компонентами сочетаний: носительством гаплогруппы J митохондриального генома и аллелей/генотипов генов ядерного генома

| Сочетание генетических вариантов | P_{FLINT} | SF [95% ДИ] |
|---|--------------------|-------------------------|
| Гаплогруппа J + <i>CCL5</i> *A | 0.025 | 4.32[1.20–15.60] |
| Гаплогруппа J + <i>PVT1</i> *G | 0.084 | 3.05[1.00–9.31] |
| Гаплогруппа J + <i>TNFSF14</i> *C | 0.31 | 4.25[0.38–47.60] |
| Гаплогруппа J + <i>IL4</i> *C | 0.14 | 6.85[0.65–72.30] |
| Гаплогруппа J + <i>CLEC16A-SOCS1</i> *A/A | 0.34 | 2.24[0.63–7.97] |

Примечание. Жирным шрифтом выделены значимые критерии.

были близки к частотам, определенным ранее для европейской части России [8, 9].

В нашей работе впервые проведен анализ ассоциации SNP митохондриального генома (m.1719G > A, m.7028C > T, m.9055G > A, m.10398A > G, m.12308A > G) и гаплогрупп мтДНК (H, J, K, U) с РС у этнических русских. Из исследованных нами SNP анализировали ассоциацию SNP m.1719G > A, m.10398A > G и m.9055G > A с РС в трех европейских популяциях (испанцы, норвежцы, немцы); ни в одной из них не наблюдали значимой ассоциации с РС [23], что согласуется с нашими результатами. Однако SNP m.9055G>A (гаплогруппа K) показал значимую ассоциацию с заболеванием у белых американцев [24], что, возможно, отражает их генетические отличия от европейцев.

Обнаруженная в нашей работе значимая ассоциация гаплогруппы J с РС ранее была выявлена у некоторых европейских этносов [23, 25–27] (но не у всех исследованных), а также у американцев европейского происхождения [28] и у персов из Ирана [29]. Таким образом, мы реплицировали у этнических русских данные об ассоциации гаплогруппы J с риском развития РС, полученные ранее. При стратификации нашей выборки по полу ассоциация гаплогруппы J с РС оставалась значимой у женщин, но не у мужчин, однако уровень значимости ассоциации у женщин был ниже, чем в выборке, не разделенной по гендерному признаку. Возможно, эти результаты объясняются недостаточной численностью подгруппы мужчин. Опубликованные ранее данные о связи гаплогруппы K с РС в американской [24] и персидской популяции [30] в нашей работе на русской популяции воспроизведены не были.

Повышение риска развития РС у носителей гаплогруппы J, вероятно, связано с ее особым влия-

нием на функционирование митохондрий и клеток в целом. Действительно, в исследованиях, выполненных с использованием «цибридов» – клеток, имеющих идентичный ядерный геном, но разные митохондрии, установлено, что именно носительство гаплогруппы J приводит к значимым изменениям в клетках. Так, показано [31], что глобальный уровень метилирования ДНК в клетках периферической крови носителей гаплогруппы J выше, чем у носителей других гаплогрупп; выше он также и в цибридах, содержащих этот вариант мтДНК (J-цибриды), по сравнению с другими цибридами. При этом концентрация АТФ и продукция свободных радикалов в J-цибридах были снижены [31]. Показано, что полиморфизм m.295C > T контрольного региона мтДНК (один из SNP, определяющих гаплогруппу J) влияет на процессы транскрипции и репликации мтДНК, в частности, при носительстве аллеля Т усиливается связывание с мтДНК митохондриального фактора транскрипции А (TFAM), а также вдвое увеличивается содержание мтДНК в J-цибридах в сравнении с H-цибридами [32]. К сожалению, авторы работы не приводят данных микроскопического исследования клеток, в связи с чем неясно, каким из ранее описанных феноменов определяется увеличение количества мтДНК: возрастанием числа митохондрий или же увеличением числа копий мтДНК в отдельных митохондриях. Однако можно предположить, что увеличение содержания мтДНК у носителей гаплогруппы J является компенсаторной реакцией на снижение продукции АТФ. Одна из ключевых особенностей РС – увеличение энергозатрат на поддержание структурной целостности и функционирования аксонов в участках демиелинизации, которое на начальных этапах заболевания может компенсироваться увеличением количества митохондрий и размеров стационарных митохондрий, а также повышением скорости аксонального транспорта митохондрий [33]. Можно предположить, что носитель гаплогруппы J использовал компенсаторный резерв нейронов еще до манифестации заболевания.

С помощью мультилокусного анализа нами показано вовлечение в развитие РС ряда сочетаний гаплогруппы J с отдельными, поодиночке не ассоциированными с РС, аллелями генов *CCL5*, *PVT1*, *TNFSF14* и *IL4*; эти сочетания характеризуются большей значимостью ассоциации с заболеванием, чем одна гаплогруппа J. Независимо от того, возникает ли наблюдаемый кумулятивный эффект при суммировании независимых вкладов двух компонентов каждого из сочетаний или же вследствие эпистатических взаимодействий между ними [34], полученные результаты позволяют предположить, что выявленные только в составе сочетаний с гаплогруппой

Ядерные гены вовлекаются в формирование предрасположенности к РС.

Вошедшие в сочетания с гаплогруппой J белок-кодирующие гены *CCL5*, *TNFSF14* и *IL4* объединяет сходная роль их продуктов, которые участвуют в функционировании цитокиновой-хемокиновой сети. *CCL5* – хемокин, действующий как хемоаттрактант моноцитов, Т-клеток памяти и эозинофилов. Повышение концентрации *CCL5* в цереброспинальной жидкости может служить одним из маркеров активного течения РС [35]. Провоспалительный цитокин *TNFSF14* – четырнадцатый член суперсемейства факторов некроза опухоли – может функционировать как костимулятор при активации лимфатических клеток, стимулировать пролиферацию Т-клеток и вызывать апоптоз некоторых типов опухолевых клеток. *IL4* – один из ключевых цитокинов, регулирующих дифференцировку наивных (Th0) Т-хелперов в Th2-клетки, а В-клеток – в плазматические клетки. Мультилокусный анализ вариантов митохондриального и ядерного геномов позволил нам реплицировать у этнических русских ранее полученные для других популяций данные об ассоциации rs2107538 в гене *CCL5* [36], rs1077667 в гене *TNFSF14* [37] и rs2243250 в гене *IL4* [38, 39] с риском развития РС.

Еще один ген, выявленный нами в составе ассоциированного с РС сочетания с гаплогруппой J, *PVT1*, кодирует длинную некодирующую РНК, возможно, вовлеченную в регуляцию клеточного цикла [40], и содержит кластер из шести генов микроРНК [41]. Включенный в наше исследование SNP rs2114358 находится в интроне 5 гена *PVT1*, в котором локализуется ген *MIR1206*, и, как показано *in silico*, влияет на структуру зрелой miR-1206 [42]. Методом GWAS показана ассоциация с РС другого полиморфизма в гене *PVT1* – rs4410871 [37], который, как и rs2114358, входит в состав гена

микроРНК (*MIR1204*, локализованный в интроне 1 гена *PVT1*).

Нами установлен факт синергического взаимодействия между носительством гаплогруппы J и аллеля rs2107538*А гена *CCL5*. Выяснить молекулярный механизм этого взаимодействия – задача на будущее, однако известно, что хемокин *CCL5* играет существенную роль в метаболизме глутаминовой кислоты в центральной нервной системе, модулируя глутаматергическую передачу сигнала [43], а синтез глутамата осуществляется при непосредственном участии митохондриальных ферментов [44]. Более того, установлено, что гомеостаз глутамата нарушается в местах повреждения при РС [45], причем развивающаяся при этом глутаматная эксайтотоксичность является одним из механизмов повреждения нейронов [46]. Эти процессы могут лежать в основе наблюдаемого нами синергического влияния сочетания гаплогруппы J и аллеля *CCL5**А на развитие РС. Выявленное в нашей работе другое ассоциированное с риском РС биаллельное сочетание, включающее гаплогруппу J и аллель rs2114358*G гена *PVT1*, отвечало только одному из двух использованных нами критериев нелинейности взаимодействия между генетическими вариантами. Хотелось бы предположить, что расширение размеров выборки позволит доказать синергическую природу этого сочетания.

Таким образом, получены данные, свидетельствующие об эпистатическом взаимодействии гаплогруппы J с геном *CCL5* и, возможно, еще и с геном *PVT1*. Тем самым впервые показано взаимодействие компонентов ядерного и митохондриального геномов при формировании риска развития РС. Полученные результаты безусловно нуждаются в воспроизведении на независимой выборке. ●

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 17-04-01293).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karussis D. // J. Autoimmun. 2014. V. 48–49. P. 134–142.
2. Oksenberg J.R. // Expert Rev. Neurother. 2013. V. 13. № 12. P. 11–19.
3. Baranzini S.E., Oksenberg J.R. // Trends Genet. 2017. V. 33. № 12. P. 960–970.
4. Patsopoulos N.A., Baranzini S.E., Santaniello A., Shoostari P., Cotsapas C., Wong G., Beecham A.H., James T., Replogle J., Vlachos I., et al. // bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/143933>.
5. Campbell G., Mahad D.J. // FEBS Lett. 2018. V. 592. № 7. P. 1113–1121.
6. Pakendorf B., Stoneking M. // Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. 2005. V. 6. № 1. P. 165–183.
7. Козин М.С., Кулакова О.Г., Фаворова О.О. // Биохимия. 2018. Т. 83. № 7. С. 1002–1021.
8. www.mitomap.org
9. Балановский О.П. Изменчивость генофонда в пространстве и времени: синтез данных геногеографии митохондриальной ДНК и Y-хромосомы. М.: ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, 2012.
10. Terrazzino S., Deantonio L., Cargnin S., Donis L., Pisani C., Masini L., Gambaro G., Canonico P.L., Genazzani A.A., Krengli M. // Clin. Oncol. 2016. V. 28. № 6. P. 365–372.
11. Polman C.H., Reingold S.C., Banwell B., Clanet M., Cohen J.A., Filippi M., Fujihara K., Havrdova E., Hutchinson M., Kappos L., et al. // Ann. Neurol. 2011. V. 69. № 2. P. 292–302.
12. <http://apsampler.sourceforge.net>
13. Favorov A.V., Andreevski T.V., Sudomoina M.A., Favorova O.O., Parmigiani G., Ochs M.F. // Genetics. 2005. V. 171. № 4. P. 2113–2121.
14. Barsova R.M., Lvovs D., Titov B.V., Matveeva N.A., Shakhnovich R.M., Sukhinina T.S., Kukava N.G., Ruda M.Y.,

- Karamova I.M., Nasibullin T.R., et al. // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 12. P. 1–16.
15. White D.R., Pesner R., Reitz K.P. // *Cross-Cultural Res.* 1983. V. 18. № 2. P. 103–122.
16. Cortina-Borja M., Smith A.D., Combarros O., Lehmann D.J. // *BMC Res. Notes*. 2009. V. 2. P. 1–7.
17. Bashinskaya V.V., Kulakova O.G., Kiselev I.S., Baulina N.M., Favorov A.V., Boyko A.N., Tsareva E.Y., Favorova O.O. // *J. Neuroimmunol.* 2015. V. 282. P. 85–91.
18. Bashinskaya V.V., Kulakova O.G., Boyko A.N., Favorov A.V., Favorova O.O. // *Hum. Genet.* 2015. V. 134. № 11–12. P. 1143–1162.
19. Zuvich R.L., Bush W.S., McCauley J.L., Beecham A.H., De Jager P.L., Ivinson A.J., Compston A., Hafler D.A., Hauser S.L., Sawcer S.J., et al. // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. № 17. P. 3517–3524.
20. Cénit M.D., Blanco-Kelly F., de las Heras V., Bartolomé M., de la Concha E.G., Urcelay E., Arroyo R., Martínez A. // *Mult. Scler.* 2009. V. 15. № 8. P. 913–917.
21. Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания. М.: Миклош, 2004. 540 с.
22. Kaminsky Z., Wang S.C., Petronis A. // *Ann. Med.* 2006. V. 38. № 8. P. 530–544.
23. Yu X., Koczan D., Sulonen A.M., Akkad D.A., Kroner A., Comabella M., Costa G., Corongiu D., Goertsches R., Caminata M., et al. // *PLoS One*. 2008. V. 3. № 2. P. 1–7.
24. Vyshkina T., Sylvester A., Sadiq S., Bonilla E., Canter J.A., Perl A., Kalman B., Avenue I. // *Clin. Immunol.* 2009. V. 129. № 1. P. 31–35.
25. Tranah G.J., Santaniello A., Caillier S.J., Alfonso S.D., Hauser S.L., Oksenberg J.R. // *Neurology*. 2015. P. 325–330.
26. Mihailova S.M., Ivanova M.I., Quin L.M., Naumova E.J. // *Eur. J. Neurol.* 2007. V. 14. № 1. P. 44–47.
27. Otaegui D., Sáenz A., Martínez-Zabaleta M., Villoslada P., Fernández-Manchola I., Álvarez de Arcaya A., Emparanza J.I., López de Munain A. // *Mult. Scler.* 2004. V. 10. № 5. P. 532–535.
28. Kalman B., Li S., Chatterjee D., O'Connor J., Voehl M.R., Brown M.D., Alder H. // *Acta Neurol. Scand.* 1999. V. 99. № 1. P. 16–25.
29. Houshmand M., Sanati M.H., Babrzadeh F., Ardalan A., Teimori M., Vakilian M., Akuchekian M., Farhud D., Lotfi J. // *Mult. Scler.* 2005. V. 11. № 6. P. 728–730.
30. Hassani-Kumleh H., Houshmand M., Panahi M.S.S., Riazi G.H., Sanati M.H., Gharagozli K., Ghabaee M. // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006. V. 26. № 2. P. 119–125.
31. Bellizzi D., D'Aquila P., Giordano M., Passarino A.M. G. // *Epigenomics*. 2012. V. 4. № 1. P. 17–27.
32. Suissa S., Wang Z., Poole J., Wittkopp S., Feder J., Shutt T.E., Wallace D.C., Shadel G.S., Mishmar D. // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. № 5. e1000474.
33. Kiryu-Seo S., Ohno N., Kidd G.J., Komuro H., Trapp B.D. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 19. P. 6658–6666.
34. Lvovs D., Фаворова О.О., Фаворов А.В. // *Acta Naturae*. 2012. T. 4. № 3. C. 62–75.
35. Tomioka R., Matsui M. // *Intern. Med.* 2014. V. 53. № 5. P. 361–365.
36. Gade-Andavolu R., Comings D.E., MacMurray J., Vuthoori R.K., Tourtellotte W.W., Nagra R.M., Cone L.A. // *Mult. Scler.* 2004. V. 10. № 5. P. 536–539.
37. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium (IMSGC), Beecham A.H., Patsopoulos N.A., Xifara D.K., Davis M.F., Kempainen A., Cotsapas C., Shah T.S., Spencer C., Booth D., Goris A., Oturai A., et al. // *Nat. Genet.* 2013. V. 45. № 11. P. 1353–1360.
38. Akkad D.A., Arning L., Ibrahim S.M., Epplen J.T. // *Genes Immun.* 2007. V. 8. № 8. P. 703–706.
39. Zhang Z., Wang L., Sun X., Zhang L., Lu L. // *J. Neurol. Sci.* 2016. V. 363. P. 107–113.
40. Colombo T., Farina L., Macino G., Paci P. // *Biomed Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 17–21.
41. Huppi K., Pitt J.J., Wahlberg B.M., Caplen N.J. // *Front. Genet.* 2012. V. 3. № APR. P. 1–11.
42. Martín-Guerrero I., Gutierrez-Camino A., Lopez-Lopez E., Bilbao-Aldaiturriaga N., Pombar-Gomez M., Ardanaz M., Garcia-Orad A. // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 3. P. 2–13.
43. Pittaluga A. // *Front. Immunol.* 2017. V. 8. № SEP. P. 1–13.
44. Miller K.E., Hoffman E.M., Sutharshan M., Schechter R. // *Pharmacol Ther.* 2011. V. 130. № 3. P. 283–309.
45. Werner P., Pitt D., Raine C.S. // *Ann. Neurol.* 2001. V. 50. № 2. P. 169–180.
46. Kostic M., Zivkovic N., Stojanovic I. // *Rev. Neurosci.* 2013. V. 24. № 1. P. 71–88.