

УДК 577.21

Вовлечение эпигенетического механизма метилирования ДНК в развитие рассеянного склероза

И. С. Киселев*, О. Г. Кулакова, А. Н. Бойко, О. О. Фаворова

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
Минздрава РФ, Москва, 117997 Россия

*E-mail: Kiselev.ivan.1991@gmail.com

Поступила в редакцию 05.06.2020

Принята к печати 24.09.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11043

РЕФЕРАТ Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов – это группа ключевых молекулярных механизмов в клетке, которые вызывают изменения активности генов без изменений в их нуклеотидной последовательности, причем эти изменения могут наследоваться дочерними клетками. Один из основных эпигенетических механизмов – метилирование ДНК в положении С5 цитозинового основания в составе CpG-динуклеотидов. Стремительно растет число работ, посвященных поиску паттернов метилирования, специфичных для рассеянного склероза (РС) – тяжелого хронического заболевания центральной нервной системы аутоиммунной природы. При этом вопрос о вкладе метилирования ДНК в формирование различных клинических фенотипов этого высокогетерогенного заболевания только начал привлекать внимание исследователей. В обзоре рассмотрены молекулярные механизмы, лежащие в основе процесса метилирования ДНК. Описаны факторы риска РС, которые могут влиять на уровень метилирования ДНК и тем самым модулировать экспрессию генов, вовлеченных в патогенез заболевания. Основное внимание уделено анализу данных о дифференциальном метилировании ДНК из различного биологического материала больных РС, полученных с использованием кандидатного подхода и высокопроизводительных методов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА метилирование ДНК, эпигенетика, рассеянный склероз.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ВПРС – вторично-прогрессирующий рассеянный склероз; ДМС – дифференциально метилированный CpG-сайт; КИС – клинически изолированный синдром; МНК – мононуклеарные клетки периферической крови; ППРС – первично-прогрессирующий рассеянный склероз; РРС – ремиттирующий рассеянный склероз; РС – рассеянный склероз; ЦНС – центральная нервная система; BER (Base Excision Repair) – эксцизионная репарация оснований; DNMT (DNA-methyltransferase) – ДНК-метилтрансфераза; EDSS (Expanded Disability Status Scale) – расширенная шкала инвалидизации; GWAS (Genome Wide Association Study) – полногеномный поиск ассоциации; HDAC (Histone Deacetylase) – гистоновая деацетилаза; MBD (Methyl-Binding Domain Protein) – белок с метилсвязывающим доменом; NGS (Next Generation Sequencing) – высокопроизводительное секвенирование; SAM (S-Adenosyl Methionine) – S-аденозилметионин; TET (TET Methylcytosine Dioxygenase) – метилцитозин-диоксигеназа TET; Rep – репрессорные белки.

ВВЕДЕНИЕ

Под эпигенетическими процессами понимают наследуемые (по крайней мере, в ходе митоза) изменения в экспрессии генов, которые не затрагивают нуклеотидной последовательности ДНК [1]. Однако в настоящее время это классическое определение все чаще расширяют, включая в число рассматриваемых эпигенетических явлений стабильные долгосрочные вариации в транскрипционном профиле клеток, которые не обязательно наследуются [2].

Основные механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов представлены на *рис. 1*. К ним от-

носятся метилирование ДНК (А), модификация гистонов – функционально значимые биохимические изменения хроматина, которые влияют на доступность определенных геномных локусов для ферментов транскрипции (Б), а также регуляция экспрессии генов на различных уровнях реализации генетической информации при участии некодирующих регуляторных РНК, среди которых наиболее хорошо изучены микроРНК, вовлеченные в регуляцию экспрессии на посттранскрипционном уровне (В) [3].

Эти механизмы, действуя синергично, формируют систему контроля основных клеточных процессов,

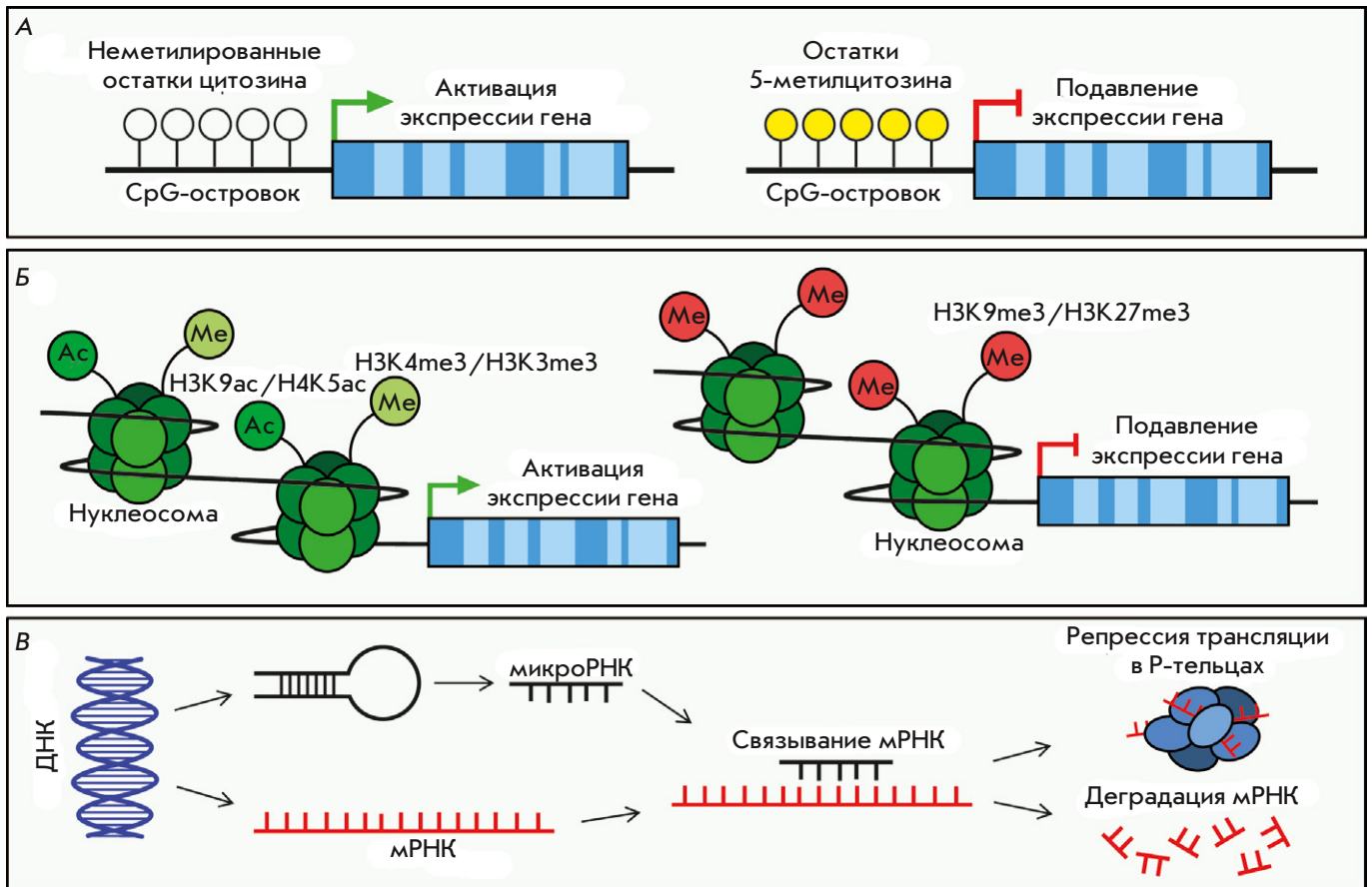


Рис. 1. Основные эпигенетические механизмы, вовлеченные в процесс регуляции экспрессии генов. Экзон-интронная структура генов изображена как чередование синих и голубых участков. А – метилирование остатков цитозина в составе CpG-островка, расположенного в промоторной области гена. Б – наиболее распространенные модификации гистонов, способствующие активации экспрессии генов (H3K9ac/H4K5ac – ацетилирование лизина 9 гистона H3 или лизина 5 гистона H4; H3K4me3/H3K3me3 – триметилирование лизина 3 или лизина 4 гистона H3) и ее подавлению (H3K9me3/H3K27me3 – триметилирование лизина 9 или лизина 27 гистона H3). В – микроРНК-опосредованная репрессия трансляции и дегградация мРНК

а потому имеют решающее значение для нормального развития и дифференцировки всех клеточных линий организма [4]. В настоящее время доказано, что влияние многих факторов внешней среды опосредовано различными эпигенетическими механизмами [5]. При этом в ряде случаев такое взаимодействие приводит к стабильным патологическим изменениям, лежащим в основе многих хронических заболеваний [6].

Хотя изучение роли эпигенетических механизмов в развитии распространенных заболеваний человека началось преимущественно с онкологических заболеваний [7], в настоящее время все большее внимание исследователей привлекают заболевания иной природы, в частности, аутоиммунные и нейродегенеративные [8, 9]. Выявление характерных для этих патологий особенностей эпигенетической регуляции может помочь в понимании механизмов их развития

и способствовать разработке новых эффективных терапевтических препаратов.

В этом обзоре мы остановимся на одном из основных механизмов эпигенетической регуляции экспрессии генов – метилировании ДНК – и его роли в развитии рассеянного склероза (РС) – тяжелого социально значимого заболевания центральной нервной системы (ЦНС), характеризующегося хроническим аутоиммунным воспалением и нейродегенерацией.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Метилирование ДНК – универсальный эпигенетический механизм, способный различными путями подавлять экспрессию генов и вовлеченный в регуляцию активности двух других упомянутых механизмов – модификации гистонов и регуляции экс-

прессии генов регуляторными некодирующими РНК. В подавляющем большинстве случаев ДНК метилируется в положении С5 остатка цитозина в составе CpG-динуклеотидов (CpG-сайтов). CpG-сайты, подвергающиеся метилированию, распределены в геноме неравномерно, они могут образовывать скопления, называемые CpG-островками (CpG-islands). CpG-островки – это участки ДНК протяженностью не менее 500 п.н. с содержанием нуклеотидов G и C более 55% и соотношением реального количества CpG-сайтов к ожидаемому при равномерном их распределении по геному более 65% [10]. CpG-островки и соседние области (shore) в пределах 2 т.п.н. от них имеют наибольшее функциональное значение, так как при их метилировании/деметиловании эффективно изменяется уровень экспрессии близлежащих генов (см. рис. 1А). Выделяют также отдаленные области (shelf), расположенные в пределах 2 т.п.н. от соседних областей, и остальную часть генома (sea), где CpG-сайты распределены сравнительно равномерно и встречаются редко. Около 70% промоторов генов содержат CpG-островки [11], что и определяет участие последних в процессах регуляции экспрессии генов в клетке.

Общая схема, суммирующая современные представления о молекулярных механизмах метилирования и деметилирования CpG-сайтов генома и об их вовлечении в регуляцию экспрессии генов, представлена на рис. 2.

Метилирование ДНК осуществляется с помощью ДНК-метилтрансфераз (DNMT) – ферментов, которые способны переносить метильную группу к пятому атому углерода в остатке цитозина с образованием 5-метилцитозина (5mC), используя в качестве донора S-аденозилметионин (SAM) [12]. Семейство DNMT включает DNMT1, DNMT2 и подсемейство DNMT3, состоящее из DNMT3a, DNMT3b и DNMT3L. DNMT1 поддерживает метилирование ДНК после репликации и способна быстро метилировать вновь синтезированную цепь ДНК по матрице материнской, а подсемейство DNMT3 участвует в метилировании ДНК *de novo* [13]. DNMT2, или TRDMT1, tRNA (cytosine-5-)methyltransferase, строго говоря, не является ДНК-метилтрансферазой и участвует в метилировании цитозина в положении 38 антикодоновой петли тРНК.

Метилирование CpG-сайтов в промоторной области гена привлекает белки с метилсвязывающим

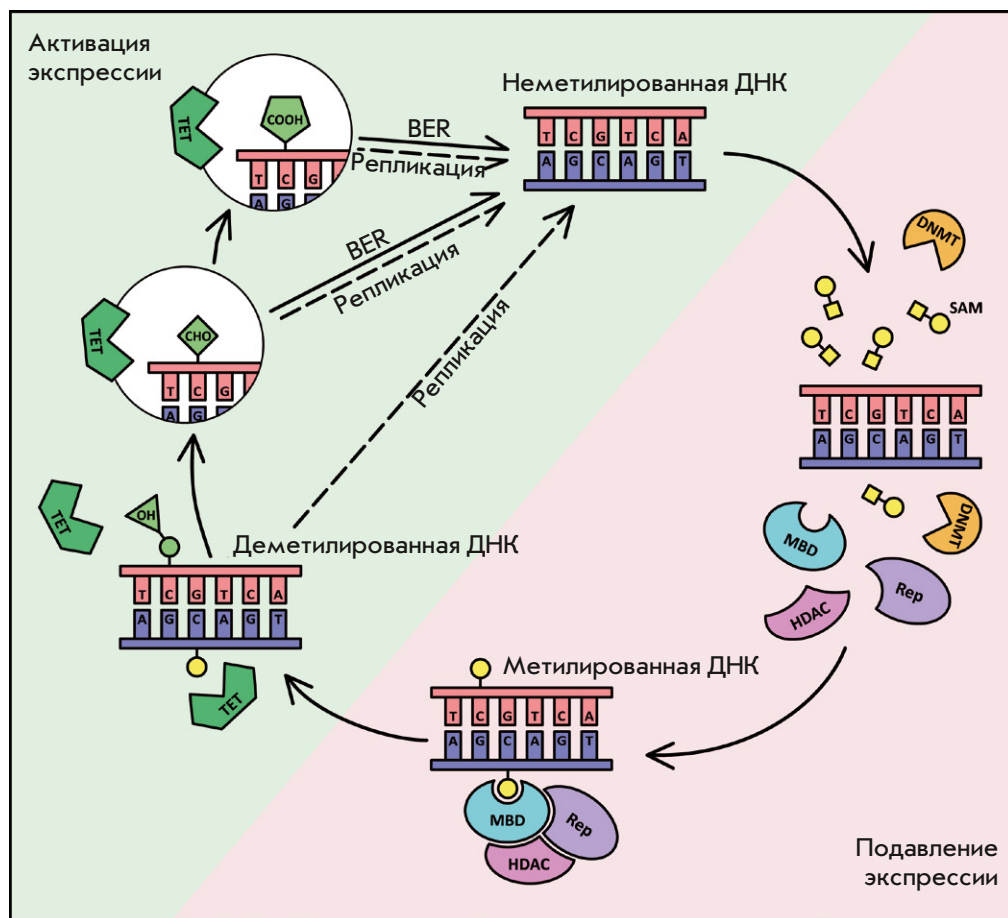


Рис. 2. Метилирование ДНК как эпигенетический механизм регуляции экспрессии генов (см. описание в тексте). BER (Base Excision Repair) – эксцизионная репарация оснований; DNMT (DNA-methyltransferase) – ДНК-метилтрансфераза; HDAC (Histone Deacetylase) – гистоновая деацетилаза; MBD (Methyl-Binding Domain Protein) – белок с метилсвязывающим доменом; SAM (S-Adenosyl Methionine) – S-аденозилметионин; TET (TET Methylcytosine Dioxygenase) – метилцитозин-диоксигеназа TET; Rep – репрессорные белки

доменом (methyl-binding domain proteins, MBD), которые способны подавлять экспрессию генов по двум различным механизмам. Первой реакцией на метилирование промотора является сборка на основе MBD белковых комплексов, включающих корепрессорные белки (Rep), которые обеспечивают быстрое подавление экспрессии за счет препятствования связыванию транскрипционных факторов [14]. Для длительной стабильной супрессии генов белки с MBD способны привлекать гистоновые деацетилазы (HDAC) и таким образом инициировать другой механизм эпигенетической регуляции экспрессии генов – модификацию гистонов, приводящую к конденсации хроматина в области гена [15, 16].

Деметилирование 5-метилцитозина происходит при участии метилцитозин-диоксигеназ ТЕТ (Tet Methylcytosine Dioxygenase) 1, 2 и 3, относящихся к одному семейству. Они способны катализировать окисление 5-метилцитозина в 5-гидроксиметилцитозин, затем в 5-формилцитозин и, наконец, в 5-карбоксилцитозин [17]. Образовавшиеся модифицированные основания не воспринимаются молекулярной машиной клетки как метилированные и могут оставаться относительно стабильными, постепенно теряясь при синтезе новых молекул ДНК в ходе репликации; этот пассивный процесс деметилирования называется «зависимым от репликации разведением» (replication-dependent dilution). Кроме того, 5-формилцитозин и 5-карбоксилцитозин могут активно элиминироваться независимо от репликации путем отщепления от сахарофосфатного остова ДНК при участии тимин-ДНК-гликозилазы с последующим исправлением разрыва по механизму эксцизионной репарации оснований [17].

Как упомянуто выше, процесс метилирования ДНК тесно связан с эпигенетическим механизмом модификации гистонов [16]. К наиболее значимым модификациям гистонов относятся ацетилирование и метилирование (см. рис. 1Б). Ацетилирование гистонов происходит по остаткам лизина и катализируется ацетилтрансферазами гистонов; в обратном процессе участвуют гистоновые деацетилазы. Высокие уровни ацетилирования гистонов способствуют менее плотной укладке хроматина и соответственно повышенной доступности ДНК для хроматинсвязывающих белков и ферментов, участвующих в транскрипции, тогда как пониженное ацетилирование производит противоположный эффект. Метилирование гистонов по остаткам лизина или аргинина катализируется гистон-метилтрансферазами, при этом влияние метилирования на плотность упаковки хроматина и, следовательно, на экспрессию генов зависит от местоположения аминокислотного остатка и количества присоединенных к нему метильных групп [18].

микроРНК-опосредованная регуляция экспрессии генов (см. рис. 1В) также в значительной степени зависит от уровня метилирования ДНК, так как осуществляется на посттранскрипционном уровне, и количество микроРНК в клетке зависит от уровня метилирования их генов [19]. микроРНК – это небольшие (18–25 нуклеотидов) одноцепочечные некодирующие молекулы РНК, способные комплементарно связываться с мРНК гена-мишени. Связывание происходит преимущественно в 3'-нетранслируемой области мишени и запускает каскад реакций, приводящих к подавлению синтеза ее белкового продукта. Полная комплементарность микроРНК и мРНК-мишени при их связывании вызывает активацию ферментов эндонуклеазного комплекса и последующую деградацию мРНК-мишени, в то время как неполная комплементарность ведет к подавлению трансляции на стадиях инициации или элонгации, отщеплению поли-А-последовательности мРНК и транслокации ее в Р-тельца для последующего хранения или деградации [20].

В целом, из трех описанных механизмов эпигенетической регуляции экспрессии генов наиболее хорошо изучен процесс метилирования ДНК. К настоящему моменту накоплен большой объем информации, свидетельствующий о ключевой роли этого процесса в развитии многих аутоиммунных и нейродегенеративных заболеваний человека [8, 9], в частности, в развитии РС. Далее мы рассмотрим совокупность данных, в которых анализируется вклад метилирования ДНК в развитие этого тяжелого заболевания ЦНС.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭТИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

РС – хроническое заболевание аутоиммунной природы, которое сочетает в своем патогенезе демиелинизацию аксонов ЦНС и нейродегенерацию и сопровождается прогрессирующей неврологической дисфункцией [3]. Вследствие неуклонного нарастания неврологического дефицита происходит необратимая инвалидизация пациентов в молодом трудоспособном возрасте, что обуславливает высокую социальную и экономическую значимость заболевания. РС встречается практически по всему земному шару, но распространенность его в разных популяциях сильно варьирует. В РФ это заболевание встречается с частотой около 80 случаев на 100 000 населения [21]. При этом его распространенность возрастает, что связано не только с повышением продолжительности жизни больных и успехами в диагностике РС, но и с истинным повышением заболеваемости [22].

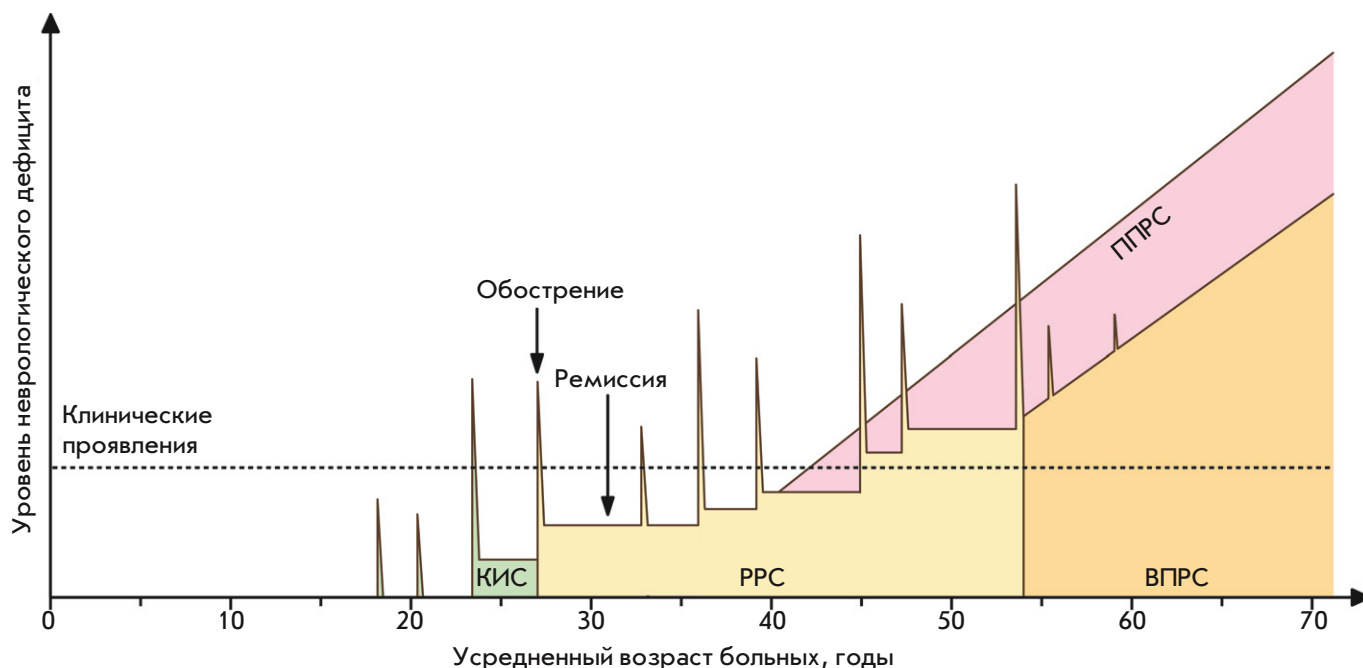


Рис. 3. Схематическое представление динамики изменений неврологической симптоматики, происходящих при разных типах течения РС. Пунктирной линией отмечен уровень неврологического дефицита, при котором возникают клинические проявления болезни. При единичном изолированном во времени эпизоде клинических нарушений, характерных для РРС, ставят диагноз «клинически изолированный синдром» (КИС); после этого могут следовать долгие годы ремиссии. Повторные обострения, перемежающиеся периодами ремиссии, позволяют диагностировать «ремиттирующий РС» (РРС). В ряде случаев РРС при его длительном течении перетекает во вторично-прогрессирующий РС (ВПРС), характеризующийся неуклонным прогрессированием неврологического дефицита. Представлен также первично-прогрессирующий РС (ППРС), который характеризуется неврологическими ухудшениями без выраженных ремиссий с самого начала болезни; при этом клинические проявления ППРС возникают позже, чем при РРС. Временная шкала построена на основании усредненных значений возраста дебюта разных типов течения РС [23, 24, 26]. Количество и длительность обострений и ремиссий представлены схематически

Течение РС характеризуется выраженной клинической гетерогенностью. В большинстве случаев у больных наблюдается ремиттирующее течение РС (РРС), характеризующееся сменами периодов нарастания степени неврологического дефицита (обострениями) и снижения или исчезновения неврологической симптоматики (ремиссиями). При отсутствии эффективной медикаментозной терапии примерно у половины больных РРС в течение 10 лет от начала заболевания развивается вторично-прогрессирующее течение РС (ВПРС), которое характеризуется неуклонным нарастанием степени неврологического дефицита [23]. У 10–15% пациентов подобная клиническая картина наблюдается с самого начала болезни, и при таком тяжелом течении заболевания его называют первично-прогрессирующим РС (ППРС) [24]. Показано, что для разных типов течения РС характерна различная степень выраженности вовлеченных в патогенез аутоиммунных, воспалительных и нейродегенеративных процессов [25]. Динамика

изменений уровня неврологического дефицита, наблюдаемая при различных типах течения РС – РРС, ВПРС и ППРС, – представлена на рис. 3.

Общепризнанно, что РС, как и другие распространенные аутоиммунные болезни с выраженным воспалительным компонентом, относится к многофакторным заболеваниям и развивается при воздействии факторов внешней среды у лиц с генетической предрасположенностью. Взаимодействие наследственных и внешних факторов при этом может опосредоваться эпигенетическими механизмами регуляции экспрессии генов и, в первую очередь, метилированием ДНК [3].

К настоящему времени выявлено достаточно большое количество факторов внешней среды, которые могут быть триггерами развития заболевания, и многие из них могут влиять на эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов. К таким внешним факторам относятся, например, вирусные инфекции. Так, наблюдается четкая связь высоко-

го риска РС с перенесенным ранее инфекционным мононуклеозом – заболеванием, вызываемым вирусом Эпштейна–Барр [27]. Латентный мембранный белок 1 (latent membrane protein 1, LMP1) вируса Эпштейна–Барр гомологичен поверхностному белку В-лимфоцитов CD40 и участвует в стимулировании В-лимфоцит-опосредованных иммунных и воспалительных реакций, тем самым повышая риск развития РС и других аутоиммунных заболеваний [28]. Помимо непосредственной стимуляции CD40-зависимых сигнальных путей LMP1 способен активировать эпигенетический механизм метилирования ДНК клеток, что ведет к повышению общего уровня метилирования генома клетки хозяина; следствием этого является модуляция экспрессии различных генов [29].

Еще один важный фактор риска РС – курение табака [30]. Исследования последних лет показали, что курение, как и инфицирование вирусом Эпштейна–Барр, стимулирует метилирование ДНК, в том числе и у больных РС [31, 32]. Кроме того, курение способствует модификации гистонов и изменению профилей экспрессии микроРНК в ряде клеточных популяций [33, 34], т.е. влияет на все три основных механизма эпигенетической регуляции экспрессии генов. Влияние других факторов риска РС, таких, как уровень витамина D [35] и женских половых гормонов [36, 37], на экспрессию генов также может в существенной степени опосредоваться эпигенетическими процессами [38–40].

Изучению генетических особенностей РС традиционно отводится большое внимание. Первой областью генома, для которой показана связь с заболеванием, стал локус генов главного комплекса гистосовместимости HLA. К настоящему моменту основным маркером риска РС признан аллель *1501 высокополиморфного гена *DRB1*, относящегося к HLA класса II. Помимо него в европейских популяциях с заболеванием ассоциированы и другие варианты гена *DRB1*: *0301, *0405, *0801, *1303 и т.д., а также ряд аллелей генов HLA класса I (HLA-A*0301, HLA-B*3701, *3801 и *4402, HLA-C*05 и *07) [41]. Наибольшую эффективность в обнаружении новых маркеров предрасположенности к РС за пределами локуса HLA показал полногеномный поиск ассоциации (Genome Wide Association Study, GWAS), который к настоящему моменту позволил выявить более 200 полиморфных вариантов, ассоциированных с заболеванием. Вместе с тем, совокупный вклад всех идентифицированных к настоящему моменту генетических вариантов по разным оценкам может объяснить не более 48% наследуемости [42]. Эпигенетические механизмы, влияющие на экспрессию генов в различных клетках или тканях, но не связанные с изменением нуклеотидной последовательности ДНК, могут оказаться

ключевыми при решении проблемы «недостающей» наследуемости при РС.

ИЗУЧЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Исследования, посвященные анализу метилирования ДНК при развитии РС, начались более 10 лет назад с применением различных методических подходов, наиболее распространенными из которых стали анализ дифференциального метилирования отдельных генов-кандидатов и полногеномный анализ метилирования с применением чипов высокой плотности или высокопроизводительного секвенирования (NGS, next generation sequencing). Первым для изучения эпигенетической регуляции при РС начали использовать самый доступный подход – анализ метилирования ДНК в области перспективных генов-кандидатов. Такой анализ проводили преимущественно с помощью пиросеквенирования или MALDI-TOFF-масс-спектрометрии продуктов амплификации ДНК-матрицы после ее бисульфитной конверсии, а также с использованием метилчувствительной или метилспецифической ПЦР с последующим сравнением средних уровней метилирования CpG-сайтов в исследуемых фрагментах. В качестве сравниваемых групп выступали, как правило, группы больных РС и здоровых индивидов. Такие исследования немногочисленны (найден всего 16 публикаций) и были проведены на ДНК из цельной крови и из некоторых ее фракций, а также из ткани мозга (табл. 1).

Как видно из табл. 1, в цельной крови и в различных популяциях лейкоцитов больных РС выявляли дифференциальное метилирование генов, вовлеченных в регуляцию активности аутоиммунных реакций (*IL2RA*, *PTPN6*, *SOCS1*) [44, 47, 51] и поддержание функционирования ЦНС (*PADI2*, *CDKN2A*, *RUNX3*, *NEUROG1*, *BDNF*) [48, 50, 51]. При этом наблюдаемые различия в уровнях метилирования ДНК оказываются разнонаправленными, что указывает на вовлечение этого процесса как в активацию воспалительного процесса в ЦНС [47, 51], так и в его подавление [44, 48, 50]. Кроме того, в клетках крови наблюдали гиперметилирование гена *VDR*, кодирующего рецептор витамина D [43], дефицит которого считается одним из основных внешних триггеров развития РС, а также генов *DNMT1*, *TET2*, вовлеченных в процессы метилирования и деметилирования ДНК соответственно [46].

При изучении панели из 56 генов в свободной ДНК сыворотки крови обнаружены различия в уровнях метилирования этих генов, которые позволяют отличить больных РС в стадии обострения от больных в ремиссии и от здоровых добровольцев контрольной группы с чувствительностью и специфичностью, пре-

Таблица 1. Данные о метилировании ДНК у больных РС, полученные с использованием «кандидатного» подхода

Источник ДНК	Исследованные группы	Основной результат	Год [ссылка]
Т-лимфоциты	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование области альтернативного промотора гена <i>VDR</i> у больных РС.	2017 [43]
	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гипометилирование промоторной области гена <i>IL2RA</i> у больных РС.	2017 [44]
Мононуклеарные клетки периферической крови	Больные РС, контрольная группа	Выявлена связь гиперметилирования ретротранспозонов LINE-1 с высоким риском РС и низкой эффективностью терапии интерфероном-бета.	2017 [45]
	Больные РС, контрольная группа	Анализ гена <i>IL2RA</i> не выявил различий в его метилировании в сравниваемых группах.	2017 [44]
	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование промоторов генов <i>TET2</i> и <i>DNMT1</i> у больных РС. Значимых различий в глобальном метилировании не выявлено.	2014 [46]
	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование промотора гена <i>PTPN6</i> у больных РС.	2012 [47]
	Больные РС, контрольная группа	При анализе генов <i>PADI2</i> и <i>PADI4</i> выявлено гипометилирование промотора гена <i>PADI2</i> у больных РС.	2012 [48]
	Монозиготные близнецы, дискордантные по диагнозу РС	При анализе гена <i>CIITA</i> не выявлено его дифференциальное метилирование между сравниваемыми группами.	2008 [49]
Цельная кровь	Больные РС	Выявлено гипометилирование гена <i>BDNF</i> у больных с более высокой скоростью прогрессирования заболевания.	2018 [50]
	Больные РС в обострении и в ремиссии, контрольная группа	При анализе генов <i>RUNX3</i> , <i>MLH1</i> , <i>IGF2</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>SOC1</i> , <i>NEUROG1</i> , <i>CACNA1G</i> и <i>CRABP1</i> выявлено дифференциальное метилирование <i>RUNX3</i> , <i>CDKN2A</i> , <i>SOC1</i> и <i>NEUROG1</i> у больных РС в сравнении с контролями. Различий между больными в обострении и ремиссии не наблюдалось.	2018 [51]
	Больные РС, контрольная группа	При анализе гена <i>TMEM39A</i> не выявлено его дифференциальное метилирование между сравниваемыми группами.	2017 [52]
	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование ретротранспозонов LINE-1 у больных, причем уровень метилирования коррелировал со средним уровнем инвалидизации по шкале EDSS.	2016 [53]
	Больные РС, больные ПППС	При анализе генов <i>HLA-DRB1*1501</i> и <i>HLA-DRB5</i> не выявлено связи их метилирования с клинической формой РС.	2010 [54]
Сыворотка крови	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование элементов подсемейства L1PA2 ретротранспозонов LINE-1 у больных РС.	2018 [55]
	Больные РС в обострении и в ремиссии, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование гена <i>MOG</i> у больных РС в обострении при сравнении с больными в ремиссии и контрольной группой.	2016 [56]
	Больные РС в обострении и в ремиссии, контрольная группа	При анализе панели из 56 генов выявлены значимые различия уровней их метилирования между всеми тремя группами.	2010 [57]
Ткани мозга	Больные РС, контрольная группа	При анализе гена <i>IL2RA</i> не выявлено различий в его метилировании в сравниваемых группах.	2017 [44]
	Больные РС, контрольная группа	Выявлено гипометилирование гена <i>PADI2</i> в нормальном белом веществе головного мозга больных РС.	2007 [58]

вышающими 70% [57]. В работе [56] в сыворотке крови больных РС обнаружено гиперметилирование гена *MOG*, кодирующего один из белков миелиновой оболочки. По мнению авторов, это может указывать на нарушение экспрессии *MOG* в олигодендроцитах ЦНС, ДНК которых попадает в кровоток после их разрушения в ходе демиелинизации. При изучении непосредственно тканей головного мозга выявлено гипометилирование гена пептидил-аргининдеими-

назы типа 2 (*PADI2*), участвующей в посттрансляционной модификации ключевого белка миелиновой оболочки нейронов – основного белка миелина [58]. Тот факт, что снижение уровня метилирования этого гена обнаруживается также в мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) больных РС [48], может указывать на вовлечение в модуляцию его экспрессии регуляторных механизмов, универсальных для разных тканей.

Единственное исследование, в котором сравнивали уровни метилирования генов *HLA-DRB1* и *HLA-DRB5* в цельной крови больных РРС и ППРС [54], не выявило значимых различий между этими группами.

Несколько в стороне стоят исследования, посвященные уровню метилирования ретротранспозонов суперсемейства LINE. В нормальных условиях эти повторяющиеся последовательности содержат много метилированных CpG-сайтов, что предотвращает транскрипцию их генов [59], поэтому анализ их дифференциального метилирования используется как простой способ оценки глобального уровня метилирования генома при различных опухолях и некоторых аутоиммунных заболеваниях [55]. Уровень метилирования ретротранспозонов семейства LINE-1 изучали у больных РРС в МНК, в цельной крови и в сыворотке крови [45, 53, 55]; во всех случаях наблюдали гиперметилирование LINE-1. Кроме того, обнаружена связь более высокого уровня метилирования LINE-1 с выраженной инвалидизацией по шкале EDSS и низкой эффективностью терапии РРС интерфероном-бета [45, 53]. Хорошая воспроизводимость данных о гиперметилировании элементов LINE-1 у больных РС и связь уровней их метилирования с тяжестью болезни и эффективностью медикаментозной терапии указывает на то, что ретротранспозоны семейства LINE-1 могут стать перспективными диагностическими и прогностическими маркерами РС.

В целом, данные, полученные с использованием «кандидатного» подхода, позволили показать, что процесс метилирования ДНК вовлечен в патогенез РС, и открыли дорогу для изучения этого эпигенетического механизма регуляции экспрессии генов у больных РС с помощью менее чувствительных, однако гораздо более производительных полногеномных методов. Применение этих методов, к которым относятся в первую очередь биологические чипы высокой плотности и высокопроизводительное секвенирование (next generation sequencing, NGS), позволяет обнаруживать по всему геному дифференциально метилированные сайты (ДМС) – отдельные CpG-сайты, уровни метилирования которых меняются при РС. В табл. 2 суммированы результаты полногеномных исследований метилирования ДНК у больных РС при использовании различных групп сравнения.

Важно отметить, что порог статистической значимости (p), используемый для выявления ДМС на полногеномном уровне, колеблется в разных работах в широком диапазоне. В пяти из 18 представленных в табл. 2 публикаций [32, 60–63] вводили поправки на множественные сравнения и значимыми считали различия при $p_{FDR} < 0.05$. В остальных

исследованиях использовали более мягкий порог статистической значимости: номинальное значение p в интервале от 0.05 до 0.0005. Помимо величины p , в качестве критерия отбора ДМС обычно используют минимальную разницу среднего уровня метилирования CpG-сайта между сравниваемыми группами (β), которая чаще всего варьирует в пределах 5–10% [64, 65]. Так как ДМС, не удовлетворяющие критериям, выбранным авторами опубликованных работ, часто оказываются не представленными в публикациях, в ходе дальнейшего обсуждения мы будем опираться на значения p и β , использованные для идентификации ДМС авторами.

В качестве источника ДНК в проведенных исследованиях в основном используются различные фракции и клетки крови (цельная кровь, сыворотка, МНК), CD4+, CD8+ Т-лимфоциты, CD19+ В-лимфоциты, CD14+ моноциты); ткани мозга изучали только в нескольких работах. В отдельных работах использовали близнецовый метод, однако в большинстве случаев сравнивали группы больных РРС и здоровых индивидов. В единичных исследованиях анализировали изменение метилирования ДНК у больных РРС под влиянием терапии разными препаратами и на стадиях обострения и ремиссии, а также при сравнении больных РРС с больными ВПРС и/или ППРС.

Среди приведенных в табл. 2 результатов особняком стоят данные, полученные при анализе профилей метилирования ДНК в парах монозиготных близнецов, дискордантных по диагнозу РС. При сравнении уровней метилирования ДНК из CD4+ Т-лимфоцитов таких близнецов не наблюдали существенных различий ни в одной из трех изученных пар: количество ДМС, наблюдаемых при сравнении близнецов из каждой пары, оказалось меньшим, чем при сравнении неродственных здоровых индивидов [69]. При изучении той же популяции лимфоцитов у близнецов выявили дифференциальное метилирование гена *FIRRE*, а при анализе метилирования ДНК в МНК наблюдали ДМС в области генов *TMEM232* и *ZBTB16* [61]. Однако в группу больных [61] вошли пациенты и с РРС, и с ВПРС, и с ППРС, поэтому выявленные ДМС можно рассматривать только как эпигенетические маркеры, характерные для РС в целом. Можно констатировать, что исследования, проведенные близнецовым методом, пока не привели к однозначным заключениям.

Как видно из табл. 2, в большинстве опубликованных работ сравнивали уровни метилирования ДНК из Т-лимфоцитов (в первую очередь CD4+) больных РРС и в контрольной группе, однако зачастую получены довольно противоречивые данные. В частности, можно сравнить результаты шести таких ис-

Таблица 2. Данные о метилировании ДНК у больных РС, полученные с использованием высокопроизводительных методов анализа

Источник ДНК	Группы	Основной результат	Год [ссылка]
CD4+ Т-лимфоциты	Монозиготные близнецы, дискордантные по диагнозу РС (смешанная группа РРС, ВПРС и ППРС)	Выявлено дифференциальное метилирование гена <i>FIRRE</i> .	2019 [61]
	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено дифференциальное метилирование в области генов <i>MOG/ZFP57</i> , <i>HLA-DRB1</i> , <i>NINJ2/LOC100049716</i> и <i>SLFN12</i> у больных РРС.	2019 [66]
	Больные РРС и ВПРС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование последних экзонов гена <i>VMP1/MIR21</i> у больных РРС при сравнении с контрольной группой и с больными ВПРС.	2018 [67]
	Больные РРС до и после лечения диметилфумаратом	Выявлено 945 ДМС, 97% которых было гиперметилировано после лечения. ДМС генов <i>SNORD1A</i> , <i>SHTN1</i> , <i>MZB1</i> и <i>TNF</i> расположены в промоторной области.	2018 [64]
	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено дифференциальное метилирование локуса HLA в области генов <i>HLA-DRB1</i> , <i>HLA-DRB5</i> и <i>RNF39</i> . ДМС также обнаружены в области генов <i>HCG4B</i> , <i>PM20D1</i> и <i>ERICH1</i> .	2017 [65]
	Больные РРС, контрольная группа	Не выявлено значимых различий в метилировании ДНК больных РРС и здоровых контролей.	2015 [60]
	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено дифференциальное метилирование локуса HLA (19 ДМС) в области гена <i>HLA-DRB1</i> и 55 ДМС за его пределами, многие из них локализованы в генах, ассоциация которых с РС показана ранее.	2014 [68]
	Монозиготные близнецы, дискордантные по диагнозу РС	Не выявлено значимых различий в метилировании ДНК у близнецов.	2010 [69]
CD8+ Т-лимфоциты	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено дифференциальное метилирование генов <i>HLA-DRB1</i> и <i>SLFN12</i> у больных РРС; наблюдается глобальное гиперметилирование ДНК	2019 [66]
	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено 79 ДМС, ни один из которых не располагался в области гена <i>HLA-DRB1</i> .	2015 [70]
	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование ДНК у больных РРС по сравнению с контролем. Различий в уровнях метилирования отдельных ДМС не выявлено.	2015 [60]
CD19+ В-лимфоциты	Больные РРС на лечении, контрольная группа	Выявлено крупное скопление ДМС в области гена <i>LTA</i> , а также ДМС в области РС-ассоциированных генов <i>SLC44A2</i> , <i>LTBR</i> , <i>CARD11</i> и <i>CXCR5</i> .	2018 [71]
CD14+ моноциты	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено 2 ДМС в области гена <i>HLA-DRB1</i> .	2018 [72]
CD4+, CD8+, CD19+ и CD14+ лейкоциты	Больные РРС и ВПРС, контрольная группа	Уровни метилирования ДНК оценивали в CD4+, CD8+, CD19+ и CD14+ клетках по отдельности с последующим отбором ДМС, универсальных для разных клеточных типов. Выявлены паттерны метилирования, специфические для РРС и ВПРС.	2019 [73]
Мононуклеарные клетки периферической крови	Монозиготные близнецы, дискордантные по диагнозу РС (смешанная группа РРС, ВПРС и ППРС)	Выявлено и реплицировано на независимой выборке дифференциальное метилирование генов <i>TMEM232</i> и <i>ZBTB16</i> у больных РС. Прием интерферона-бета индуцирует гипометилирование генов <i>RSAD2</i> , <i>MX1</i> и <i>PLSCR1</i> .	2019 [61]
	Больные РРС, ППРС, контрольная группа	Выявлено гиперметилирование ДНК больных ППРС при сравнении как с больными РРС, так и с контрольной группой. 30 ДМС выявлены при сравнении РРС с контролем, 67 – при сравнении ППРС с контролем, 51 – при сравнении двух форм РС между собой.	2016 [74]
Цельная кровь	Больные РРС, контрольная группа	Выявлена связь курения с уровнем метилирования ДНК у больных РРС. Различия были более существенными для женщин и носителей гаплотипов риска РС из локуса HLA.	2017 [32]
	Больные РРС, контрольная группа	Не выявлено значимых различий в метилировании ДНК больных РРС и здоровых контролей.	2015 [60]
Ткани мозга	Больные РРС, контрольная группа	Выявлено глобальное гипометилирование ДНК и 2811 отдельных ДМС у больных РРС.	2019 [62]
	Демиелинизированная и нормальная ткань мозга больных РС	В демиелинизированной ткани гиппокампа выявлено дифференциальное метилирование 16 генов, экспрессия которых характерна для астроцитов и нейронов.	2017 [75]
	Больные РРС, контрольная группа	У больных РС выявлено гиперметилирование генов, участвующих в поддержании жизнедеятельности олигодендроцитов; гены, вовлеченные в протеолитические процессы, были гипометилированы.	2014 [63]

следований, выполненных на CD4+ Т-лимфоцитах. Так в работе [60] не выявлено значимых различий в метилировании ДНК у больных РС и здоровых доноров. В исследовании [66] у больных РС обнаружены ДМС в области генов *MOG/ZFP57*, *HLA-DRB1*, *NINJ2/LOC100049716* и *SLFN12*, а в [67] – кластеры ДМС в двух последних экзонах гена *VMP1/MIR21*. Еще в двух работах, выполненных одной и той же исследовательской группой, также выявлены значимые различия в профилях метилирования у больных РС и здоровых индивидов [65, 68]. Единственной дифференциально метилированной областью, идентифицированной в обеих работах, оказался локус HLA, гиперметилированный у больных, преимущественно в области гена *HLA-DRB1*, а маркеры дифференциального метилирования за пределами локуса HLA, обнаруженные в [65] и [68], различались между собой и не были выявлены в других упомянутых исследованиях.

Результаты, полученные в трех исследованиях метилирования ДНК из CD8+ Т-лимфоцитов, также оказываются трудносопоставимыми. В работе [60] обнаружено глобальное гиперметилирование ДНК при РС, но не выявлено значимых различий метилирования отдельных CpG-сайтов. Данные о глобальном гиперметилировании ДНК подтверждены в [66], где ДМС выявлены в области генов *HLA-DRB1* и *SLFN12* у больных РС. Тенденцию к глобальному гиперметилированию не наблюдали в [70], однако в этой работе нашли 79 отдельных ДМС по всему геному, ни один из которых не располагался в генах *HLA-DRB1* и *SLFN12*.

При изучении CD19+ В-лимфоцитов кластер ДМС обнаружен в области гена *LTA*, а также ряд ДМС в области генов *SLC44A2*, *LTBR*, *CARD11* и *CXCR5*, которые, по данным GWAS, ассоциированы с РС [71]. Следует отметить, что группа больных РС в этом исследовании была гетерогенной: в нее вошли как пациенты, не подвергающиеся медикаментозной терапии, так и больные, принимающие различные иммуномодулирующие препараты. В CD14+ моноцитах больных РС метилирование гена *HLA-DRB1* оказалось сниженным, причем преимущественно у носителей аллеля *DRB1*1501* [72].

Отдельного внимания заслуживает недавнее комплексное исследование [73], в котором оценили уровни метилирования ДНК во всех упомянутых популяциях лейкоцитов крови (CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты, CD19+ В-лимфоциты и CD14+ моноциты) больных РС и ВПРС, а также у здоровых индивидов контрольной группы, с последующим отбором ДМС, универсальных для разных клеточных типов. Это существенно повысило мощность статистического анализа и позволило выявить паттерны метилиро-

вания, специфичные для больных РС и ВПРС, которые затем были валидированы в образцах ДНК из CD14+ моноцитов и цельной крови независимых групп больных и здоровых индивидов. Хотя применение подобного комплексного подхода и не позволяет детально проанализировать роль метилирования ДНК в функционировании отдельных популяций лейкоцитов крови при развитии заболевания, однако способствует выявлению особенностей метилирования ДНК, характеризующих разные клинические формы РС. Это может быть полезно для их дифференциальной диагностики на ранних стадиях заболевания, а кроме того, дает ключи к разработке новых препаратов, высокоэффективных при терапии форм РС, пока плохо поддающихся лечению.

В качестве более доступного объекта для поиска маркеров метилирования ДНК, характеризующих разные формы РС, могут быть использованы МНК – фракция клеток крови, по большей части состоящая из всех упомянутых ранее субпопуляций лейкоцитов. В работе, выполненной в нашей лаборатории с использованием дизайна «случай–контроль», анализировали уровни метилирования ДНК из МНК больных РС и ППРС, что позволило показать преимущественное гиперметилирование ДНК из МНК больных ППРС при сравнении как с больными РС, так и с контрольной группой, а также выявить спектр индивидуальных ДМС, специфичных для каждой из исследуемых форм РС [74]. Это пока единственное полногеномное исследование, выполненное для больных ППРС, и его результаты, несомненно, требуют валидации на независимых выборках.

Отдельно стоит упомянуть пока крайне немногочисленные исследования, посвященные анализу метилирования ДНК до и после курса терапии иммуномодулирующими препаратами. В ДНК из CD4+ Т-лимфоцитов одних и тех же больных РС выявлено множество ДМС по всему геному, 97% которых были гиперметилированы после лечения [64]. Показано [61], что прием пациентами интерферона бета индуцирует в МНК гипометилирование генов *RSAD2*, *MX1* и *PLSCR1*. Хотя эти данные и нуждаются в независимом подтверждении, они свидетельствуют о важной роли эпигенетического механизма метилирования ДНК в развитии и подавлении патологического процесса при РС. Кроме того, они показывают, что при подборе гомогенных групп больных РС для анализа метилирования ДНК необходимо принимать во внимание не только тип течения РС [74], но и прием иммуномодулирующих препаратов [64].

Только в единичных работах [32, 60] в качестве биологического материала для поиска профилей дифференциального метилирования, характеризу-

ющих РС, использовали сыворотку и цельную кровь, так как источником ДНК, попадающей в кровоток, может быть широкий спектр различных клеток организма, и наблюдаемые изменения в уровнях метилирования ДНК сложно интерпретировать. В работе [60] не обнаружено значимых различий в профилях метилирования ДНК из цельной крови, а в [32] показана связь курения с уровнем метилирования ДНК из цельной крови больных РС, причем наиболее значимые различия обнаружены у женщин и носителей гаплотипов риска РС в локусе HLA. К настоящему моменту выполнены три исследования, в которых анализировали метилирование ДНК в различных тканях головного мозга при РС. Отдельные ДМС выявлены при сравнении демиелинизированной и нормальной ткани гиппокампа больных РС [75], а также белого вещества мозга [62] и фронтальной коры [63] больных РС и контрольной группы. Различия в дизайне исследований и выборе биологического материала не позволяют уверенно сопоставлять результаты этих работ.

В целом, несмотря на довольно обширный объем накопленных данных, фактически единственной областью генома, дифференциальное метилирование которой в одном и том же биологическом материале подтверждено в независимых исследованиях, является локус генов HLA [65, 66]. С другой стороны,

показано, что при развитии РС (по меньшей мере в различных популяциях лейкоцитов крови) могут существовать универсальные паттерны дифференциального метилирования ДНК [73]. Развивая этот подход, мы провели поиск ДМС, выявленных более чем в одном исследовании, с использованием как «кандидатного» подхода (табл. 1), так и высокопроизводительных методов анализа ДНК (табл. 2), независимо от того, какие популяции лейкоцитов использовались в качестве источника ДНК. Такие гены вместе с основными функциями их белковых продуктов представлены в табл. 3.

Представленные в табл. 3 гены участвуют в иммунном ответе (HLA-DQB1, HLA-DRB1, HLA-DRB5, USP35), передаче сигнала (AHRR, ATP11A, GNG7, HOXC4, ZFYVE28) и взаимодействии с матриксом (DLGAP2, TNXB). Функция генов DYDC2 и ERICH1 пока остается неизученной. Большинство из перечисленных генов идентифицированы в [73] как маркеры РС, универсальные для разных популяций лейкоцитов, что свидетельствует в пользу их вклада в развитие РС на уровне общих для разных клеточных типов интегральных систем регуляции жизнедеятельности клетки. Дифференциальное метилирование гена HLA-DRB1 при РС наблюдали в четырех работах [65, 66, 68, 72]. Хотя авторы работы [73] не включили ДМС в области гена HLA-DRB1 в число

Таблица 3. Гены, дифференциально метилированные при РС в различных популяциях лейкоцитов крови по данным не менее чем двух независимых исследований, и биологические функции их белковых продуктов согласно базам данных UniProt [76] и NCBI Gene [77]

Ген	Биологическая функция белкового продукта	Ссылка
AHRR	Репрессор рецептора ароматических углеводов, вовлечен в метаболизм ксенобиотиков, а также в регуляцию роста и дифференцировки клеток.	[68, 73]
ATP11A	Каталитический компонент комплекса P4-АТР-азы и флипазы, который обеспечивает поддержание асимметричного распределения фосфолипидов на мембранах.	[73, 74]
DLGAP2	Может играть роль в молекулярной организации синапсов и сигналинге нервных клеток.	[70, 73]
DYDC2	Неизвестна	[70, 73]
ERICH1	Неизвестна	[65, 73]
GNG7	Гамма-субъединица G-белка, участвует в передаче сигналов в аденилатциклаза-зависимых путях в некоторых областях мозга.	[68, 73]
HLA-DQB1	В составе молекул МНС класса II участвует в презентации пептидов антигена для распознавания CD4+ Т-лимфоцитами.	[68, 73]
HLA-DRB1	В составе молекул МНС класса II участвует в презентации пептидов антигена для распознавания CD4+ Т-лимфоцитами.	[65, 66, 68, 72]
HLA-DRB5	В составе молекул МНС класса II участвует в презентации пептидов антигена для распознавания CD4+ Т-лимфоцитами.	[65, 68, 73]
HOXC4	Фактор транскрипции, вовлеченный в обеспечение позиционирования клеток в рамках передне-задней оси тела в ходе онтогенеза.	[73, 74]
TNXB	Опосредует взаимодействие между клетками и внеклеточным матриксом.	[70, 73]
USP35	Участвует в супрессии NF-κB и ингибировании PARK2-опосредованной деградации митохондрий.	[68, 73]
ZFYVE28	Отрицательный регулятор передачи сигналов рецептора эпидермального фактора роста.	[73, 74]

РС-ассоциированных, в эту категорию попали другие HLA-гены: HLA-A, HLA-H, HLA-J, HLA-DRB, HLA-DQB1, HLA-DRB5; кроме того, HLA-DRB1 был обнаружен в числе маркеров дифференциального метилирования, характерных для ВПРС.

Общепризнанно, что генам HLA принадлежит ведущая роль в формировании генетической предрасположенности к РС, и уровень значимости ассоциации аллеля HLA-DRB1*15 с развитием РС при исследованиях методом GWAS превышает $p < 5 \times 10^{-1000}$ [42]. Достаточно показательно, что из более чем 200 GWAS-идентифицированных генов риска РС только для генов HLA наблюдали различия в уровнях метилирования не менее чем в двух независимых исследованиях. В большинстве же случаев при развитии заболевания эффект метилирования ДНК и влияние вариативности генов на наследственную предрасположенность полигенной природы, судя по всему, проявляются на разных спектрах генов, что определяет относительную независимость этих процессов друг от друга. При этом метилирова-

ние ДНК практически не затрагивает мастер-гены, но оказывает небольшой эффект на уровни экспрессии многих генов.

В целом, полученные к настоящему моменту данные свидетельствуют о вовлечении в развитие РС эпигенетического механизма метилирования ДНК, действующего в разных клетках крови и тканях мозга. Дальнейшее расширение списка известных генов, подвергающихся эпигенетической регуляции при РС, внесет весомый вклад в представления о патогенезе заболевания. Кроме того, можно рассчитывать на определение генов, уровни метилирования которых отличаются при разных типах течения РС или изменяются при воздействии иммуномодулирующих препаратов, что может способствовать разработке эффективных прогностических тестов и выявлению новых терапевтических мишеней. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-115-50123.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Dupont C., Armant D.R., Brenner C.A. // *Semin. Reprod. Med.* 2009. V. 27. № 5. P. 351–357.
- <http://www.roadmapepigenomics.org/overview>. (Accessed April 9, 2020)
- Oksenberg J.R. // *Expert. Rev. Neurother.* 2013. V. 13. № 12. Suppl. P. 11–19.
- Das A. *Epigenetics, the Environment, and Children's Health Across Lifespans*. Berlin: Springer, 2016. P. 353–359.
- Alegria-Torres J.A., Baccarelli A., Bollati V. // *Epigenomics*. 2011. V. 3. № 3. P. 267–277.
- Olden K., Freudenberg N., Dowd J., Shields A.E. // *Health Aff.* 2011. V. 30. № 5. P. 833–841.
- Kanwal R., Gupta S. // *J. Appl. Physiol.* 2010. V. 109. № 2. P. 598–605.
- Surace A.E.A., Hedrich C.M. // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. № JULY. P. 1525.
- Urduinguio R.G., Sanchez-Mut J.V., Esteller M. // *Lancet Neurol.* 2009. V. 8. № 11. P. 1056–1072.
- Takai D., Jones P.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99. № 6. P. 3740–3745.
- Saxonov S., Berg P., Brutlag D.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. V. 103. № 5. P. 1412–1417.
- Moore L.D., Le T., Fan G. // *Neuropsychopharmacology.* 2013. V. 38. № 1. P. 23–38.
- Xu F., Mao C., Ding Y., Rui C., Wu L., Shi A., Zhang H., Zhang L., Xu Z. // *Curr. Med. Chem.* 2010. V. 17. № 33. P. 4052–4071.
- Choy M.-K., Movassagh M., Goh H.-G., Bennett M.R., Down T.A., Foo R.S.Y. // *BMC Genomics.* 2010. V. 11. № 1. P. 519.
- Jones P.L., Veenstra G.J., Wade P.A., Vermaak D., Kass S.U., Landsberger N., Strouboulis J., Wolffe A.P., Jan Veenstra G.C., Wade P.A., et al. // *Nat. Genet.* 1998. V. 19. № 2. P. 187–191.
- MacDonald J.L., Roskams A.J. // *Prog. Neurobiol.* 2009. V. 88. № 3. P. 170–183.
- Bochtler M., Kolano A., Xu G.-L. // *Bioessays.* 2017. V. 39. № 1. P. 1–13.
- Lawrence M., Daujat S., Schneider R. // *Trends Genet.* 2016. V. 32. № 1. P. 42–56.
- Chhabra R. // *ChemBioChem.* 2015. V. 16. № 2. P. 195–203.
- Baulina N.M., Kulakova O.G., Favorova O.O. // *Acta Naturae.* 2016. V. 8. № 1. P. 21–33.
- Boyko A., Smirnova N., Petrov S., Gusev E. // *Mult. Scler. Demyelinating Disord.* 2016. V. 1. № 1. P. 13.
- Bramow S., Frischer J.M., Lassmann H., Koch-Henriksen N., Lucchinetti C.F., Sorensen P.S., Laursen H. // *Brain.* 2010. V. 133. № 10. P. 2983–2998.
- Koch M., Kingwell E., Rieckmann P., Tremlett H., UBC MS Clinic Neurologists. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2010. V. 81. № 9. P. 1039–1043.
- Koch M., Kingwell E., Rieckmann P., Tremlett H. // *Neurology.* 2009. V. 73. № 23. P. 1996–2002.
- Yadav S.K., Mindur J.E., Ito K., Dhib-Jalbut S. // *Curr. Opin. Neurol.* 2015. V. 28. № 3. P. 206–219.
- Scalfari A., Neuhaus A., Degenhardt A., Rice G.P., Muraro P.A., Daumer M., Ebers G.C. // *Brain.* 2010. V. 133. № 7. P. 1914–1929.
- Ascherio A., Munger K.L. // *Ann. Neurol.* 2007. V. 61. № 4. P. 288–299.
- Afrasiabi A., Parnell G.P., Fewings N., Schibeci S.D., Basuki M.A., Chandramohan R., Zhou Y., Taylor B., Brown D.A., Swaminathan S., et al. // *Genome Med.* 2019. V. 11. № 1. P. 26.
- Niller H.H., Wolf H., Minarovits J. // *Semin. Cancer Biol.* 2009. V. 19. № 3. P. 158–164.
- Hernán M.A., Olek M.J., Ascherio A. // *Am. J. Epidemiol.* 2001. V. 154. № 1. P. 69–74.
- Wan E.S., Qiu W., Baccarelli A., Carey V.J., Bacherman H., Rennard S.I., Agusti A., Anderson W., Lomas D.A., DeMeo D.L. // *Hum. Mol. Genet.* 2012. V. 21. № 13. P. 3073–3082.
- Marabita F., Almgren M., Sjöholm L.K., Kular L., Liu Y., James T., Kiss N.B., Feinberg A.P., Olsson T., Kockum I., et al. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 14589.
- Marczylo E.L., Amoako A.A., Konje J.C., Gant T.W., Marczylo T.H. // *Epigenetics.* 2012. V. 7. № 5. P. 432–439.
- Ito K., Lim S., Caramori G., Chung K.F., Barnes P.J., Adcock

- I.M. // *FASEB J.* 2001. V. 15. № 6. P. 1110–1112.
35. Munger K.L., Zhang S.M., O'Reilly E., Hernán M.A., Olek M.J., Willett W.C., Ascherio A. // *Neurology.* 2004. V. 62. № 1. P. 60–65.
36. Alonso A., Jick S.S., Olek M.J., Ascherio A., Jick H., Hernán M.A., Alonso Á., Jick S.S., Olek M.J., Ascherio A., et al. // *Arch. Neurol.* 2005. V. 62. № 9. P. 1362–1365.
37. Runmarker B., Andersen O. // *Brain.* 1995. V. 118 (Pt 1). P. 253–261.
38. Joshi S., Pantalena L.-C., Liu X.K., Gaffen S.L., Liu H., Rohowsky-Kochan C., Ichiyama K., Yoshimura A., Steinman L., Christakos S., et al. // *Mol. Cell. Biol.* 2011. V. 31. № 17. P. 3653–3669.
39. Boyne D.J., Friedenreich C.M., McIntyre J.B., Stanczyk F.Z., Courneya K.S., King W.D. // *Cancer Causes Control.* 2017. V. 28. № 12. P. 1369–1379.
40. Piperigkou Z., Franchi M., Götte M., Karamanos N.K. // *Matrix Biol.* 2017. V. 64. P. 94–111.
41. Hollenbach J.A., Oksenberg J.R. // *J. Autoimmun.* 2015. V. 64. P. 13–25.
42. Patsopoulos N.A., Baranzini S.E., Santaniello A., Shoostari P., Cotsapas C., Wong G., Beecham A.H., James T., Replogle J., Vlachos I.S., et al. // *Science (80-).* 2019. V. 365. № 6460. P. eaav7188.
43. Ayuso T., Aznar P., Soriano L., Olaskoaga A., Roldán M., Otano M., Ajuria I., Soriano G., Lacruz F., Mendioroz M. // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 3. P. e0174726.
44. Field J., Fox A., Jordan M.A., Baxter A.G., Spelman T., Gresle M., Butzkueven H., Kilpatrick T.J., Rubio J.P. // *Genes Immun.* 2017. V. 18. № 2. P. 59–66.
45. Pinto-Medel M.J., Oliver-Martos B., Urbaneja-Romero P., Hurtado-Guerrero I., Ortega-Pinazo J., Serrano-Castro P., Fernández Ó., Leyva L. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 8727.
46. Calabrese R., Valentini E., Ciccarone F., Guastafierro T., Bacalini M.G., Ricigliano V.A.G., Zampieri M., Annibali V., Mechelli R., Franceschi C., et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1842. № 7. P. 1130–1136.
47. Kumagai C., Kalman B., Middleton F.A., Vyshkina T., Massa P.T. // *J. Neuroimmunol.* 2012. V. 246. № 1–2. P. 51–57.
48. Calabrese R., Zampieri M., Mechelli R., Annibali V., Guastafierro T., Ciccarone F., Coarelli G., Umeton R., Salvetti M., Caiafa P. // *Mult. Scler.* 2012. V. 18. № 3. P. 299–304.
49. Ramagopalan S.V., Dymont D.A., Morrison K.M., Herrera B.M., Deluca G.C., Lincoln M.R., Orton S.M., Handunnetthi L., Chao M.J., Sadovnick A.D., et al. // *BMC Med. Genet.* 2008. V. 9. № 1. P. 63.
50. Nociti V., Santoro M., Quaranta D., Losavio F.A., De Fino C., Giordano R., Palomba N., Rossini P.M., Guerini F.R., Clerici M., et al. // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 10. P. e0206140.
51. Sokratous M., Dardiotis E., Bellou E., Tsouris Z., Michalopoulou A., Dardioti M., Siokas V., Rikos D., Tsatsakis A., Kovatsi L., et al. // *J. Mol. Neurosci.* 2018. V. 64. № 3. P. 478–484.
52. Wagner M., Sobczykński M., Bilińska M., Pokryszko-Dragan A., Cyrul M., Kuśnierczyk P., Jasek M. // *J. Mol. Neurosci.* 2017. V. 62. № 2. P. 181–187.
53. Neven K.Y., Piola M., Angelici L., Cortini F., Fenoglio C., Galimberti D., Pesatori A.C., Scarpini E., Bollati V. // *BMC Genet.* 2016. V. 17. № 1. P. 84.
54. Handel A.E., De Luca G.C., Morahan J., Handunnetthi L., Sadovnick A.D., Ebers G.C., Ramagopalan S.V. // *J. Neuroimmunol.* 2010. V. 223. № 1–2. P. 120–123.
55. Dunaeva M., Derksen M., Pruijn G.J.M. // *Mol. Neurobiol.* 2018. V. 55. № 6. P. 4681–4688.
56. Olsen J.A., Kenna L.A., Tipon R.C., Spelios M.G., Stecker M.M., Akirav E.M. // *EBioMedicine.* 2016. V. 10. P. 227–235.
57. Liggett T., Melnikov A., Tilwalli S., Yi Q., Chen H., Replogle C., Feng X., Reder A., Stefoski D., Balabanov R., et al. // *J. Neurol. Sci.* 2010. V. 290. № 1–2. P. 16–21.
58. Mastronardi F.G., Noor A., Wood D.D., Paton T., Moscarello M.A. // *J. Neurosci. Res.* 2007. V. 85. № 9. P. 2006–2016.
59. Slotkin R.K., Martienssen R. // *Nat. Rev. Genet.* 2007. V. 8. № 4. P. 272–285.
60. Bos S.D., Page C.M., Andreassen B.K., Elboudwarej E., Gustavsen M.W., Briggs F., Quach H., Leikfoss I.S., Bjølgerud A., Berge T., et al. // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 3. P. e0117403.
61. Souren N.Y., Gerdes L.A., Lutsik P., Gasparoni G., Beltrán E., Salhab A., Kämpfel T., Weichenhan D., Plass C., Hohlfeld R., et al. // *Nat. Commun.* 2019. V. 10. № 1. P. 2094.
62. Kular L., Needhamsen M., Adzemovic M.Z., Kramarova T., Gomez-Cabrero D., Ewing E., Piket E., Tegnér J., Beck S., Piehl F., et al. // *Clin. Epigenetics.* 2019. V. 11. № 1. P. 86.
63. Huynh J.L., Garg P., Thin T.H., Yoo S., Dutta R., Trapp B.D., Haroutunian V., Zhu J., Donovan M.J., Sharp A.J., et al. // *Nat. Neurosci.* 2014. V. 17. № 1. P. 121–130.
64. Maltby V.E., Lea R.A., Ribbons K.A., Sanders K.A., Kennedy D., Min M., Scott R.J., Lechner-Scott J. // *Mult. Scler. J. – Exp. Transl. Clin.* 2018. V. 4. № 3. P. 2055217318787826.
65. Maltby V.E., Lea R.A., Sanders K.A., White N., Benton M.C., Scott R.J., Lechner-Scott J. // *Clin. Epigenetics.* 2017. V. 9. № 1. P. 71.
66. Rhead B., Brorson I.S., Berge T., Adams C., Quach H., Moen S.M., Berg-Hansen P., Celius E.G., Sangurdekar D.P., Bronson P.G., et al. // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 10. P. e0206511.
67. Ruhrmann S., Ewing E., Piket E., Kular L., Cetrulo Lorenzi J.C., Fernandes S.J., Morikawa H., Aeinehband S., Sayols-Baixeras S., Aslibekyan S., et al. // *Mult. Scler.* 2018. V. 24. № 10. P. 1288–1300.
68. Graves M.C., Benton M., Lea R.A., Boyle M., Tajouri L., Macartney-Coxson D., Scott R.J., Lechner-Scott J. // *Mult. Scler.* 2014. V. 20. № 8. P. 1033–1041.
69. Baranzini S.E., Mudge J., van Velkinburgh J.C., Khankhanian P., Khrebtukova I., Miller N.A., Zhang L., Farmer A.D., Bell C.J., Kim R.W., et al. // *Nature.* 2010. V. 464. № 7293. P. 1351–1356.
70. Maltby V.E., Graves M.C., Lea R.A., Benton M.C., Sanders K.A., Tajouri L., Scott R.J., Lechner-Scott J. // *Clin. Epigenetics.* 2015. V. 7. № 1. P. 118.
71. Maltby V.E., Lea R.A., Graves M.C., Sanders K.A., Benton M.C., Tajouri L., Scott R.J., Lechner-Scott J. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 17418.
72. Kular L., Liu Y., Ruhrmann S., Zheleznyakova G., Marabita F., Gomez-Cabrero D., James T., Ewing E., Lindén M., Górnikiiewicz B., et al. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. № 1. P. 2397.
73. Ewing E., Kular L., Fernandes S.J., Karathanasis N., Lagani V., Ruhrmann S., Tsamardinos I., Tegner J., Piehl F., Gomez-Cabrero D., et al. // *EBioMedicine.* 2019. V. 43. P. 411–423.
74. Kulakova O.G., Kabilov M.R., Danilova L.V., Popova E.V., Baturina O.A., Tsareva E.Y., Baulina N.M., Kiselev I.S., Boyko A.N., Favorov A.V., et al. // *Acta Naturae.* 2016. V. 8. № 3(30). P. 103–110.
75. Chomyk A.M., Volsko C., Tripathi A., Deckard S.A., Trapp B.D., Fox R.J., Dutta R. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 8696.
76. <https://www.uniprot.org/>. (Accessed May 17, 2020)
77. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>. (Accessed May 17, 2020)