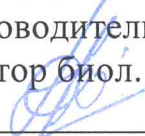


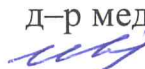
Министерство образования и науки Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (ТГУ)
Биологический институт
Кафедра цитологии и генетики


ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК
Руководитель ООП
доктор биол. наук

_____ Д. С. Воробьев
« ____ » _____ 2018 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА БАКАЛАВРА
АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *BDNF* И *SLC1A2*
С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

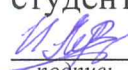
По основной образовательной программе подготовки бакалавров
направление подготовки 06.03.01 – Биология

Левкевич Игорь Игоревич

Руководители ВКР
д-р мед. наук, профессор

_____ С. А. Иванова
подпись

« ____ » _____ 2018 г.
аспирант II года БИ ТГУ

_____ Д. З. Османова
подпись

« ____ » _____ 2018 г.

Автор работы
студент группы №01401

_____ И. И. Левкевич
подпись

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список условных сокращений	3
Введение	4
1 Литературный обзор	7
1.1 Этиология и диагностические критерии рассеянного склероза	7
1.2 Патогенез рассеянного склероза	10
1.3 Генетические аспекты рассеянного склероза	12
1.4 Гены <i>SLC1A2</i> , <i>BDNF</i> и их полиморфные варианты	18
2 Материал и методы	22
2.1 Материал исследования	22
2.2 Выделение ДНК	22
2.3 Определение аллельных вариантов гена <i>SLC1A2</i> и гена <i>BDNF</i> методом ПЦР в режиме реального времени	24
2.4 Статистическая обработка результатов	25
3 Результаты и обсуждение	26
Выводы	31
Список использованной литературы	32

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

РС – рассеянный склероз

HLA – Human Leukocyte Antigens (человеческий лейкоцитарный антиген)

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОБМ – основной белок миелина

МНС II – major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)

GWAS – Genome-Wide Association Studies (полногеномный поиск ассоциаций)

SNP – Single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)

IMSGC – International Multiple Sclerosis Genetics Consortium
(Международный Консорциум по генетике рассеянного склероза)

ВВЕДЕНИЕ

Изучение рассеянного склероза является актуальной современной проблемой, так как до сих пор не существует метода, позволяющего полностью излечить данное заболевание. Рассеянный склероз (РС) – хроническое заболевание центральной нервной системы, характеризующееся образованием в ее белом веществе множеством рассеянных очагов демиелинизации и волнообразным течением с чередованием обострений и ремиссий [Бородулин В. И., Брунёнок А. В., Венгеров Ю. Я. и др., 2002].

Рассеянный склероз относится к группе аутоиммунных заболеваний, при которых в организме присутствует aberrантный иммунный ответ против собственных структур. Так, в частности, при РС первичной мишенью деструктивного процесса является миелиновая оболочка [Lassmann H., 2008]. По данным ВОЗ, среди неврологических заболеваний РС является одной из основных причин стойкой инвалидизации лиц молодого возраста. В связи с вышеуказанными причинами вопросы лечения РС являются чрезвычайно актуальными [Мирошникова В. В. и др., 2013].

За последние годы имеет место значительное повышение распространенности рассеянного склероза во всем мире. Это связано как с истинным увеличением частоты заболеваемости РС, так и с улучшением методов диагностики, с широким внедрением в неврологическую практику современных методов исследования, позволяющим выявить заболевание на ранних стадиях развития [Кичерова О. А., Рейхарт Л. И., Быченко С. М., 2007; Карнаух В.Н., 2011; Ребриков Д. В. и др., 2015]. Для большинства регионов России распространенность заболевания находится на среднем (10–50 случаев на 100 тыс. населения) и высоком (более 50 случаев на 100 тыс. населения) уровнях. За последние 120 лет в различных регионах России распространенность рассеянного склероза выросла с 29–33 до 45–50 случаев на 100 тыс. населения, что связано не только с увеличением

продолжительности жизни больных, но и с истинным увеличением заболеваемости. Заболеваемость РС растет в среднем с 2,0–2,2 до 3,4 случаев на 100 тыс. населения в год; в некоторых странах Северной Европы – до 5–8 новых случаев [Мирошникова В. В. и др., 2013].

Важность изучения биомаркеров рассеянного склероза обусловлена высокой гетерогенностью заболевания, отсутствием патогномичных признаков, что приводит к трудностям диагностики, прогнозирования течения заболевания, подбора адекватной терапии.

Наиболее перспективными считаются следующие группы биомаркеров: нейровизуализационные, нейрофизиологические, молекулярно-биохимические, генетические.

Подверженность РС определяется сочетанием вариантов генов, отдельные эффекты которых в отношении патологии могут быть невелики, и многосторонним взаимодействием с различными факторами окружающей среды [Фаворова О. О., Кулакова О. Г., Бойко А. Н., 2010].

Гены *SCL1A2* (solute carrier family 1 member 2) и *BDNF* (Brain derived neurotrophic factor) связаны с обеспечением защиты нейронов от повреждения, возможные варианты их повреждения или, в частности, однонуклеотидные полиморфизмы могут являться предпосылкой или/и сопутствующим фактором развития рассеянного склероза.

Работа выполнена на базе НИИ психического здоровья Томского НИМЦ в лаборатории молекулярной генетики и биохимии (руководитель лаборатории – доктор медицинских наук, профессор Иванова С.А.).

Цель: изучение ассоциаций аллельных вариантов генов *SLC1A2* и *BDNF* с рассеянным склерозом.

Задачи:

1) Выделить ДНК из лейкоцитов цельной периферической крови пациентов с рассеянным склерозом и контрольной группы здоровых людей;

- 2) Провести генотипирование образцов ДНК пациентов с рассеянным склерозом и здоровых лиц по полиморфным вариантам генов *BDNF* (*rs6265*) и *SLC1A2* (*rs4354668*);
- 3) Оценить возможность ассоциации полиморфных вариантов изучаемых генов с рассеянным склерозом.

1 Литературный обзор

1.1 Этиология и диагностические критерии рассеянного склероза

Несмотря на большое число исследований в области изучения этиологии и патогенеза рассеянного склероза, точную причину его развития на данный момент в мире установить не удастся. В настоящее время наиболее признанной и адекватной считается теория, определяющая рассеянный склероз, как мультифакториальное заболевание, обусловленное генетической предрасположенностью, факторами окружающей среды, вирусной инфекцией и общим состоянием всех систем организма [Демина Т. Л. и др., 2008; Sawcer S., 2008; Hart V. A. et al., 2009].

Ассоциацию заболевания с каким-либо конкретным вирусом выявить не удалось, но главная роль отводится герпес-вирусам. Также предполагается, что причиной могут быть вирусы бешенства, ретровирус, передающийся половым путем [Шмидт Т.Е., 2013]. Хотя авторы полагают, что причиной могут быть и другие вирусы, так как в крови больных находят титры противокоревых антител [Ahlgren C. et al., 2009; Schneider R., 2009].

Эпидемиологические данные показывают, что факторы окружающей среды играют важную роль в развитии рассеянного склероза, а также в неравномерном распределении заболеваемости в мире. Распространенность рассеянного склероза увеличивается в широтах тем сильнее, чем дальше они расположены от экватора. Это связано с некоторыми факторами окружающей среды, одним из самых значительных является воздействие солнечного света [Pugliatti M. et al., 2006; Alonso A., 2008; Evans C. et al., 2013]. Существует отрицательная корреляция между риском возникновения рассеянного склероза и воздействием солнечного света, а витамин D, вероятно, оказывает протекторное действие. Однако, эффект от дополнительного приема витамина D пациентами с рассеянным склерозом неизвестен, и в настоящее время проводят исследования по добавлению

витамина D2 к интерферону (IFN)- β -1a пациентам с ремитирующим рассеянным склерозом [Ascherio A., Munger K. L., Simon K. C., 2010].

В этиологии рассеянного склероза (РС), согласно данным исследований, большую роль играют аутоиммунные механизмы, обусловленные активацией Т-лимфоцитов, в результате чего происходит повреждение белков и липидов миелиновой оболочки. Кроме того, существует полигенная теория развития РС, согласно которой множество генов, взаимодействуя между собой, формируют предрасположенность к рассеянному склерозу.. При этом в запуске иммунной реакции в ответ на внедрение любого антигена оказывает влияние HLA-система (Human Leucocyte Antigen) – комплекс генов, которые и определяют различие иммунных реакций каждого человека [Шмидт Т. Е., 2011; Царева Е. Ю., 2012].

Рассеянный склероз был выделен в самостоятельную нозологическую группу J. Charcot в 1868 году. Он систематизировал свои наблюдения и литературные сведения по клинической картине рассеянного склероза, а также сформулировал основные положения диагноза, придавая основное значение поражению мозжечковых систем головного мозга (нистагм, интенционное дрожание, речь) [Charcot J., 1868].

Позже были дополнены диагностические критерии поражением зрительных нервов (бitemпоральная бледность) и пирамидных путей (отсутствие брюшных рефлексов, нижний парапарез) [Marburg O., 1936].

Марков Д.А. и другие предложили использовать «синдром клинической диссоциации» в практике, как комплекс клинических признаков, наблюдаемых в оптической, чувствительной, вестибулярной, рефлекторной, двигательной, и лабораторной (ликвор) системах, как опорный пункт ранней диагностики рассеянного склероза [Марков Д.А. и др., 1976]. Однако предложенная система не закрепилась в клинической практике из-за сложности, а также отсутствие диагностической специфичности к

данной нозологической форме применяемых параклинических, инструментальных методов.

Накопленные клинические данные были систематизированы и были предложены критерии диагностики достоверного рассеянного склероза, включающие следующие положения: наличие объективных признаков поражения; подтверждение неврологическим обследованием или анамнестическими данными не менее двух очагов расположенных отдельно друг от друга в проводниковых отделах нервной системы; преимущественное повреждение белого вещества головного и/или спинного мозга; переходящий характер симптомов при одном из следующих условий: а) два или более эпизодов ухудшения продолжительностью не менее 24 ч. с промежуточным периодом в 1 месяц и более; б) постепенное прогрессирование заболевания на протяжении 6 месяцев и более; дебют заболевания от 10 до 50 лет; невозможность объяснить неврологические нарушения другим патологическим процессом [Schumacher G., 1965].

В странах с высоким риском возникновения РС были широко распространены критерии, которые в диагностическом процессе используют как клинические, так и лабораторно-инструментальные методы. Хотя, несмотря на то, что на лабораторно-инструментальных методах можно зарегистрировать патологические изменения при рассеянном склерозе, их специфичность весьма сомнительна. Лабораторные тесты, в частности, определение в ликворе IgG с индикацией его внутримозгового происхождения, не являются абсолютно специфичными для РС и встречаются при других инфекционно-воспалительных заболеваниях нервной системы [Giovannoni G., 1996; Lolli F., 1991].

В 2005 году, на основании накопленных данных группа ученых под руководством С. Polman (Амстердам) в очередной раз унифицировала критерии диагностики рассеянного склероза [Polman C., 2005].

Необходимость коррекции критериев была обусловлена повышением диагностической специфичности МРТ по отношению к данной

нозологической группе. В частности, при наличии одного обострения с выраженными признаками неврологического дефицита и подтвержденными результатами МРТ, предложенные критерии существенно улучшают качество диагностики рассеянного склероза у лиц с «атипичными» формами [Cecil D., 2004; Trip S., 2005].

1.2 Патогенез рассеянного склероза

Концепция патогенеза рассеянного склероза включает в себя аутоиммунную демиелинизацию и олигодендропатию, а также диффузные процессы нейродегенерации [Шмидт Т. Е., 2006; Ehlers S., 2010]. Таким образом, патологический процесс рассеянного склероза начинается с развития аутоиммунного воспаления, которое проходит несколько стадий: 1) активация аутореактивных Т-клеток в периферической крови; 2) прохождение Т-клеток через гематоэнцефалический барьер; 3) воспалительная аутоиммунная реакция в клетках головного мозга.

Исследования морфологии очагов воспаления показывают, что Т-лимфоциты играют главную роль в его возникновении. Наиболее разработанной теорией является концепция молекулярной мимикрии, где в роли антигена предполагается участие вирусных белков, подобных структурным аутоантигенам нервных клеток. Процесс направлен против белков ОБМ (основной белок миелина): гликопротеина и миелин-ассоциированного гликопротеина [Шмидт Т. Е., 2006].

Во время иммунопатологического процесса антигены, связанные с МНС II на мембране антигенпрезентирующих клеток (чаще всего это периваскулярные макрофаги и микроглия), распознаются CD4⁺ Т-хэлперами с образованием тримолекулярного комплекса. В дальнейшем происходит активация аутореактивного клона Т-клеток на периферии, что сопровождается продукцией провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1, интерферона- γ , в то же время происходит стимуляция экспрессии генов, кодирующих молекулы адгезии (молекул

адгезии сосудистых клеток, молекул межклеточной адгезии, селектинов) на эндотелии сосудов мозга, что способствует проникновению Т-клеток через гематоэнцефалический барьер.

Участие системы CD40L (CD154) в патогенезе рассеянного склероза реализуется на различных уровнях. На начальных этапах заболевания CD40L могут быть причастны к миграции Т-клеток через гематоэнцефалический барьер в паренхиму мозга. С другой стороны, участие системы CD40L может быть реализовано через Т-клеточно-макрофагальные взаимодействия, приводящие к активации различных эффекторных функций макрофагов, таких как презентация аутоантигенов, продукция цитокинов, хемокинов и оксида азота. Дополнительный механизм, посредством которого система CD154 может вносить свой вклад в развитие РС, является продукция аутоантител CD40+ В-клетками [Gerritse K., Deen C., Fasbender M. et al., 1994].

Путем диапедеза, в результате модификации межклеточных контактов гематоэнцефалического барьера цитокинами, а также из-за того, что происходит стимуляция миграции хемокинами, которые выделяют активированные макрофаги и глиальные клетки, клетки иммунной системы мигрируют к тканям головного мозга. Результатом является первичное аутоиммунное воспаление, с освобождением новых аутоантигенов, что приводит к расширению эпитопов – состоянию, при котором аутоиммунный процесс запускается в ответ на антиген, а в ходе его развития включаются другие антигены.

Иммунное воспаление центральной нервной системы поддерживается цитокинами, которые продуцируют активированные Т-клетки, макрофаги и микроглию. Дальнейшее повреждение ЦНС происходит в результате того, что нарастает уровень активных форм кислорода, эксайтотоксинов, различных протеаз, глутамата, оксида азота в ходе повреждения миелина и олигодендроцитов. Т-клетки изменяют процесс дифференцировки В-клеток,

которые начинают вырабатывать аутоантитела к миелину и олигодендроцитам, а затем происходит активация комплемента.

На сегодняшний день считается, что именно отсутствие апоптоза аутоагрессивных Т-лимфоцитов является причиной хронизации рассеянного склероза. В качестве индуцирующих апоптоз факторов выступают провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухолей- α и гамма-интерферон [Смирнов И.Е., 2013].

В течение последних десятилетий активно обсуждается роль в патогенезе РС пониженного содержания в естественных природных средах – почве и воде – кобальта, меди, цинка, йода, марганца. На территории бывшего СССР к таким регионам относили Белоруссию, Эстонию, Литву, в которых распространенность РС была довольно высокой [Ramsaransing G. et al., 2009; Shapira Y. et al., 2010].

1.3 Генетические аспекты рассеянного склероза

Уже в начале 50-х годов 20 века генетическая предрасположенность к рассеянному склерозу стала очевидной после обнаружения семейных форм заболеваний, составляющих от 2 до 5 %. Результаты эпидемиологических исследований, при которых была выявлена различная частота рассеянного склероза у людей, принадлежащих к разным этническим группам, проживающих на одной территории, являются другим доказательством роли наследственности при рассеянном склерозе [Compston A., Sadovnic A. D., 1992].

Для родственников, больных рассеянным склерозом, преобладание вероятности заболеть над вероятностью остаться здоровым выше в 20-50 раз, чем у популяции в целом [Farral M., 1996].

Подверженность РС определяется сочетанием вариантов генов, отдельные эффекты которых в отношении патологии могут быть невелики, и многосторонним взаимодействием с различными факторами окружающей среды [Фаворова О. О., Кулакова О. Г., Бойко А. Н., 2010].

Наиболее распространенный и доступный подход в генетике аутоиммунных заболеваний – исследование «генов-кандидатов» (гены, продукты которых играют роль в этиопатогенезе заболевания), в качестве которых чаще всего рассматривают гены, участвующие в иммунном ответе, гены миелина, некоторых гормонов, а также ряд генов, которые определяют дегенеративный процесс (например, детерминирующие процесс апоптоза) и ремиелинизацию, а также гены хемокиновой и цитокиновой сети [Спирин Н. Н. и др., 2004; Орлова Ю.Ю. и др., 2006; Макарычева О. Ю. и др., 2010; Хусаинова А. Н., 2012; Baranzini S. E., Nickles D., 2012].

Существует другой подход – полногеномное изучение ассоциаций (GWAS, genome-wide association study). Он отличается от предыдущего независимостью от модели, так как он охватывает весь геном в целом, тем самым, избегая предвзятости в отборе генов. Начиная с 2007 года реализация полногеномных исследований ассоциаций способствовала надежно идентифицировать аллельные варианты более чем в 35 цитокиновых локусах как факторов предрасположенности для более чем 15 аутоиммунных заболеваний, в том числе и для рассеянного склероза [Vandembroeck K., 2012].

Генетическая основа подверженности РС является сложной и не подчиняется известным менделевским законам. Рассеянный склероз, как и многие другие аутоиммунные заболевания, длительное время ассоциировали исключительно с генами главного комплекса гистосовместимости, особенно сильной оказалась ассоциация с генами HLA (Human Leucocyte Antigens) класса II, а также характерна устойчивая сильная ассоциация с гаплотипом DR15 [Фаворова О. О., Кулакова О. Г., Бойко А. Н., 2010; Смагина И. В. и др., 2011]. Значимым фактором риска развития рассеянного склероза является HLA-DRB1*15, в том числе и у жителей Сибири [Субботин А. В. и др., 2004; Смагина И. В. и др., 2011; Коробко Д. С. и др. 2012]. Также подтверждено участие других генов в патогенезе заболевания, однако

ассоциации слабее, чем с генами HLA, и далеко не во всех исследованиях были получены однозначные результаты [Hafler D. A. et al., 2007].

После публикации результатов первого полногеномного исследования, выполненного Международным Консорциумом по генетике РС (IMSGC), проведено несколько подобных исследований, основанных на методе GWAS. В результате было выявлено несколько других регионов детерминирующих предрасположенность к рассеянному склерозу – гены: *IL7RA*, *IRF5*, *IL2RA*, что было воспроизведено в различных независимых популяциях [Hafler D. A. et al., 2007; Baranzini S. E. et al., 2009; Bahlo M. et al., 2009; Matesanz F., Alcina A. et al., 2010; Bush W.C. et al., 2010; Sawcer S et al., 2011; González-Pérez A., Lucas M., 2012]. Выявлена ассоциация полиморфизма гена *EVI5* в хромосоме 1p22 в локусе GFI-EVI5-RPL5-FAM69A, воспроизведенная на Канадской и Испанской популяциях. Голландская группа ученых назвали *EVI5* новым геном-риска рассеянного склероза, причем величина относительного риска оказалась даже большей, чем в исследовании IMSGC (OR 2,01 и 1,9 соответственно, $p = 0,01$) [Hafler D. A. et al., 2007; Hoppenbrouwers I. A. et al., 2008; Alcina A. et al., 2010]. Ассоциация нескольких полиморфизмов идентифицирована на хромосоме 12q13–14 (rs703842, $p = 5,4 \times 10^{-11}$; rs10876994, $p = 2,7 \times 10^{-10}$; rs12368653, $p = 1,0 \times 10^{-7}$) и хромосоме 20q13 (полиморфные варианты гена CD40: rs6074022, $p = 1,3 \times 10^{-7}$; rs1569723, $p = 2,9 \times 10^{-7}$) с рассеянным склерозом [Bahlo M. et al., 2009].

В 2011 году, в рамках проекта Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2), было проведено полногеномное исследование, включающее данные 4218 случаев рассеянного склероза и 7296 здоровых людей, в ходе которого было выявлено 95 различных регионов за пределами генов главного комплекса гистосовместимости, имеющих по крайней мере один однонуклеотидный полиморфизм, связанный с рассеянным склерозом с уровнем значимости $p_{\text{GWAS}} < 1 \times 10^{-4,5}$ [Sawcer S. et al., 2011].

В ходе проведенного полногеномного исследования на испанской популяции и мета-анализа трех GWAS достоверно подтверждены ассоциации

с рассеянным склерозом 17 однонуклеотидных полиморфизмов, которые относятся к трем локусам: IL-2RA, HLA, 5p13.1. С использованием двух независимых испанских выборок с общим количеством 4192 больных РС и 7498 здоровых лиц удалось однозначно подтвердить защитную роль rs9292777, расположенного на 5p13.1, для фенотипа рассеянного склероза (OR = 0,84; 95 %-й доверительный интервал 0,80–0,89; $p = 1,36 \times 10^{-9}$) [Matesanz F., González-Pérez A., Lucas M., 2012].

Помимо генов, кодирующих молекулы цитокинов (CXCR5, IL2RA, IL7R, IL7, IL12RB1, IL22RA2, IL12A, IL12B, IRF5, TNFRSF1A, TNFRSF14, TNFSF14), ко-стимулирующих факторов (CD37, CD40, CD58, CD80, CD86, CLECL1) и сигнальных молекул (CBLB, GPR65, MALT1, RGS1, STAT3, TAGAP, TYK2), т. е. иммунологически значимых факторов, подтверждено наличие и других генов, вовлеченных в формирование предрасположенности к рассеянному склерозу [Орлова Ю. Ю. и др., 2006; Hafler D. A. et al., 2007; Kristjansdottir G. et al., 2008; Хусаинова А. Н., 2012].

В своей работе IMSGC продемонстрировано, что значительная часть из тысяч вариантов по отдельности не показала статистически значимых ассоциаций. Совокупный эффект 12 627 однонуклеотидных полиморфизмов по тесту Cochran-Mantel-Haenszel ($p < 0,02$) может объяснить ~ 3 % вариаций в риске рассеянного склероза. Существование высокозначимых ассоциаций с болезнью ($p = 3,14 \times 10^{-9} - 6,12 \times 10^{-9}$) подтверждает тем самым, что при РС имеет место полигенное наследование, определяющееся пока еще неизвестными генетическими вариациями [Bush W.C. et al., 2010].

Однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism, SNP) – вариация последовательности ДНК, при которой геномы или участки генетического кода двух особей одного вида или двух хромосом одной особи отличаются на один нуклеотид [Hafler D. A. et al., 2007].

Идентифицировано несколько регионов, возможно, связанных с предрасположенностью к рассеянному склерозу и выявлено более 20 однонуклеотидных полиморфизмов в разных генах, не относящихся к HLA-

кластеру, показывающих значительную ассоциацию с развитием у пациента рассеянного склероза [Ebers G. C., Sadovnick A. D., Risch N. J., 1995; Hafler D. A. et al., 2007].

Определение однонуклеотидных полиморфизмов, участвующих в этиологии и патогенезе рассеянного склероза, является непростой задачей, так как большое число генов участвует в данном процессе и каждый из них может вносить небольшой вклад в развитие заболевания [Oksenberg J. R., Baranzini S. E., 2010; Nischwitz S., Müller-Myhsok B., Weber F., 2011]. Поэтому для увеличения информативности и качества исследований используют различные методы, например, анализ ассоциаций РС с сочетанной встречаемостью аллелей различных генов-кандидатов [Favorova O. O. et al. 2002].

В ходе исследований было установлено, что полиморфизмы аллелей гена $TNF\alpha$ могут участвовать в формировании предрасположенности к рассеянному склерозу [Alekseenkov A. D. et al., 1998; Спири́н Н. Н. и др., 2004; Макарычева О. Ю. и др., 2010]. Имеются два независимых полиморфных варианта гена *TNFRSF1A*, по данным мета анализа, ассоциированные с рассеянным склерозом: *rs4149584* – несинонимично кодирующий полиморфизм (nonsynonymous coding polymorphism), редкий, но с относительно сильным эффектом (частота аллелей = 0,02; отношение шансов = 1,6); *rs1800693* – это распространенный вариант с умеренным эффектом (отношение шансов 1,2) [De Jager P. L. et al., 2009].

CD40 – это член семейства рецепторов TNF (TNFRS5), поверхностный рецептор, расположенный на мембране гемопоэтических клеток (В-лимфоцитах, активированных моноцитах, дендритных клетках), и на многих других (эпителиальных, эндотелиальных и гладкомышечных клетках, кератиноцитах, фибробластах, нейронах, остеобластах, бета-клетках поджелудочной железы и др.). Взаимодействие CD40/CD40L играет ключевую роль в иммунном ответе многочисленных аутоиммунных заболеваний, включая рассеянный склероз [Buck D. et al., 2006].

Было показано, что генотипы CG полиморфизма *rs11086998* и CC полиморфизма *rs6074022* гена *CD40* ассоциируются с более высоким уровнем инвалидизации, а генотип CC полиморфизма *rs11086998* – с более высокой скоростью прогрессирования рассеянного склероза [Коробко Д. С. и др. 2012]

В исследовании на популяции людей Алтайского края не было получено статистически значимой ассоциации полиморфного локуса *rs6074022* гена *CD40* с развитием рассеянного склероза [Смагина И. В. и др., 2011].

Еще одним «геном-кандидатом» предрасположенности к рассеянному склерозу является ген *IL2A*, кодирующий α -субъединицу рецептора IL-2. При рассеянном склерозе наблюдается снижение числа регуляторных Т-клеток, экспрессирующих на своей периферии IL-2R (CD25) и подавляющие аутоиммунные Т-лимфоциты. Были выявлены ассоциации полиморфизмов гена *IL2RA* с рассеянным склерозом. [Matesanz F. et al., 2007; Alcina A. et al., 2009]. Также обнаружены ассоциации полиморфизма генов *IL1RA*, *IL1B* с активностью и темпом прогрессирования рассеянного склероза [Субботин А. В. и др., 2004; Шабалдин А. В. и др., 2007]. В работе Н.Н. Загорской с соавторами выявлена связь между частотой обострений РС и присутствием различных аллельных вариантов гена *IL18*, который кодирует цитокин IL-18, который стимулирует Th1- и Th2-иммунные ответы [Загорская Н. Н. и др., 2012]. Ключевую роль в поляризации иммунного ответа в сторону Th1 играет IL-12.

Результаты генотипирования по полиморфному варианту *1188A/C* гена *IL12B* в 3'-нетранслируемой области на популяции людей в Томской области показали, что частота генотипа *C/C* оказалась выше у больных РС, чем у здоровых (8,1 % и 0,8 %, соответственно). Предполагается, что полиморфизм *1188A/C* гена *IL12B* может иметь отношение как к подверженности РС, так и к активности патологического процесса у носителей аллеля *C* гена *IL12* [Алифирова В. М. и др., 2006; Бабенко С. А., 2008].

1.4 Гены *SLC1A2*, *BDNF* и их полиморфные варианты

Ген *SLC1A2* (solute carrier family 1 member 2) находится на 11 хромосоме человека и включает в себя 168,859 п.н. Мембранный белок, кодируемый этим геном, является основным транспортером, который удаляет избыток глутамата (солей глутаминовой кислоты) из внеклеточного пространства синапсов центральной нервной системы. Глутамат является важным возбуждающим нейромедиатором центральной нервной системы. В больших концентрациях в области синаптической щели он может индуцировать гибель нейронов, путем чрезмерной активации глутаматных рецепторов, в ходе процесса, называемого эксайтотоксичностью [Yi Jh., Hazell As., 2006].

Избыточное количество солей глутаминовой кислоты удаляется из синаптической щели специальными белками из семейства SLC1. Данное семейство включает в себя 5 белков транспортеров, обладающих высокой аффинностью к глутамату: excitatory amino acid transporter 1 (EAAT1), EAAT2, EAAT3, EAAT4, EAAT5; а также два белка транспортера (ASCT1 и AAAT). Ген *SLC1A2* кодирует белок EAAT2, который удаляет около 90 % глутамата из синаптических щелей, большинства областей ЦНС [Rothstein J. D. et al., 1996; Tanaka K. et al., 1997]. EAAT2 преимущественно экспрессируется в астроцитах, при нормальных условиях, но также может экспрессироваться в олигодендроцитах и в нейронах спинного и головного мозга, в особенности в коре больших полушарий и гиппокампе [Rothstein J. D. et al., 1994; Milton I. D. et al., 1997; Bar-Peled O. et al., 1997; Furuta A., Rothstein J. D., Martin L J., 1997; Maragakis N. J. et al., 2004]. С нарушением регуляции EAAT ассоциировано несколько неврологических заболеваний, включая боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, эпилепсию, а также несколько психических расстройств, таких как аутизм, шизофрения и депрессия [Lauriat T. L., McInnes L. A., 2007; Szatmari P. et al., 2007; Xu S. et al., 2008; Kim et al., 2011].

Было отмечено, что полиморфизм *rs4354668* влияет на общую частоту рецидивов и эффективность ответа на лечение литием в выборке итальянских пациентов с биполярным расстройством психики [Dall'Asprezia S. et al., 2012]. Полиморфный вариант *rs4354668* гена *SLC1A2* является функциональным и, как было показано, оказывает значительное влияние на объем серого вещества у пациентов с биполярным расстройством психики с опытом неблагоприятного детства, причем гомозиготный генотип дикого типа TT представляет наименьший, а гомозиготный генотип GG – наибольший объем выборки, тогда как гетерозиготы – промежуточный фенотип [Poletti S. et al., 2014]. Данный полиморфизм оказывает схожий эффект в группе больных шизофренией: носители аллеля G имеют меньший объем серого вещества и нарушение работы памяти, чем у носителей гомозиготного генотипа TT [Poletti S. et al., 2014].

Одним из перспективных для исследования факторов, широко распространенных в центральной нервной системе (ЦНС), является нейротрофический фактор (BDNF) головного мозга, играющий важную роль в выживании нейронов, миграции, дендритном и аксональном росте [Pang P. T., Lu B., 2004]. BDNF способствует выживанию, прорастанию, и повышенной плотности серотонинергических нейронов в неокортексе [Mamounas L. A., 1995]. BDNF также способствует выживанию и дифференциации фенотипа дофаминергических, а также ГАМК-ергических нейронов черной субстанции развивается благодаря высокой аффинности TrkB рецепторов [Altar C. A. et al., 1994]. Было показано, что в моделях нарушений ЦНС, таких как ишемия головного мозга, BDNF предотвращает гибель нервных клеток [Schabitz W. R., et al., 2000].

BDNF также может секретироваться регулируемым секреторным путем в нейронах гиппокампа, изменяя синаптическую активность [Poo M. M., 2001]. Эта модуляция синаптической активности и синаптической

пластичности имеет важное значение для обучения, памяти и сенсомоторного восстановления [Schabitz W. R. et al., 2004].

В исследованиях, проведенных на мышах с нокаутированным геном *BDNF* [Pozzo-Miller L. D., 1999] или с нокаутированным геном, детерминирующим синтез рецептора TrkB, имеющего высокую аффинность к BDNF [Minichiello, Korte, Wolfers et al., 1999], были обнаружены дефициты долговременной потенциации, необходимой для пространственной памяти и процесса обучения.

Описано множество вариаций последовательностей в гене *BDNF*, включая одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP), а в последнее время – появление альтернативно сплайсированных мРНК, которые могут приводить к вариациям экспрессии генов или белкового метаболизма, вызывая селективную нейрональную уязвимость [Huang R. et al., 2007; Kruse N. et al., 2007].

Однонуклеотидный полиморфизм гена *BDNF* *rs6265* – несинонимичное замещение гуанина на аденин, которое приводит к изменению 66 кодона пре-протеина *BDNF*, кодирующего валин (Val) на кодон, кодирующий аминокислоту метионин (Met). По этой причине полиморфный вариант *rs6265* гена *BDNF* часто называют Val66Met. Лица, обладающие гомозиготным генотипом G/G способны производить только валин-содержащие изоформы белка BDNF, гомозиготные особи с генотипом A/A производят только метионин-содержащие изоформы белка BDNF, гетерозиготные особи с генотипом G/A производят обе изоформы. Было показано, что полиморфизм Val66Met влияет на внутриклеточный транспорт и секрецию белка BDNF [Egan M. F. et al., 2003; Chen Z. Y. et al., 2004].

В трансфицированных клетках было обнаружено, что потенциал-зависимая секреция BDNF нарушается в присутствии замещенного метионина [Egan M. F. et al., 2003]. BDNF экспрессируется во всех областях мозга, но уровни экспрессии выше в префронтальной коре и гиппокампе [Pezawas L. et al., 2004]. Исследования функциональной магнитно-

резонансной томографии (МРТ) показали снижение эпизодических показателей памяти, связанных со снижением активности гиппокампа у носителей аллеля Met66 по сравнению с носителями аллеля Val66Val [Hariri A. R. et al., 2003].

Исследования морфометрии на основе вокселей (Voxel-based morphometry) показали снижение регионарно-специфических объемов мозговой ткани в группе носителей аллеля Met66 по сравнению с группой контроля Val66Val [Pezawas L. et al., 2004].

Имеются данные о том, что аллель Met66 ассоциирован с меньшим повреждением головного мозга, о чем свидетельствует измерение объема серого вещества и областей поражения у больных РС [Zivadinov R. et al., 2007].

Результаты опытов на крысах показали, что нейротрофические факторы участвуют в сдерживании развития экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) и в процессах ремиелинизации [Burt R. K. et al., 1987].

Глава 2 (стр. 22 – 25) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ»

Глава 2 (стр. 22 – 25) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ»

Глава 2 (стр. 22 – 25) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ»

Глава 2 (стр. 22 – 25) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ»

Глава 3 (стр. 26 – 30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» проводили с помощью показателя отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI).

Глава 3 (стр. 26 – 30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» проводили с помощью показателя отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI).

Глава 3 (стр. 26 – 30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» проводили с помощью показателя отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI).

Глава 3 (стр. 26 – 30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» проводили с помощью показателя отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI).

Глава 3 (стр. 26 – 30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» проводили с помощью показателя отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом (95% CI).

ВЫВОДЫ

1. Генотипирование по полиморфным вариантам генов BDNF (*rs6265*) и *SLC1A2(rs4354668)* не выявило статистически значимых различий между группой больных рассеянным склерозом и группой контроля, в том числе в зависимости от половой принадлежности.

2. Статистически значимые результаты были выявлены для полиморфного варианта *rs4354668* гена глутаматного транспортера *SLC1A2* ($\chi^2=6,393$; $p=0,041$) в зависимости от типа течения рассеянного склероза.

3. Гомозиготный генотип ТТ ($\chi^2=6,393$; $p=0,041$; OR 0,50; 95 % CI 0,28 – 0,88) и аллель Т ($\chi^2=5,940$; $p=0,010$; OR 0,63; 95 % CI 0,44 – 0,92) полиморфного варианта *rs4354668* гена *SLC1A2* статистически значимо чаще встречаются в группе пациентов с ремитирующим типом течения заболевания, то есть являются протективными в отношении развития тяжелого прогрессирующего типа течения заболевания.

4. Аллель G полиморфного варианта *rs4354668* гена *SLC1A2* предрасполагает к более тяжелому течению заболевания ($\chi^2=5,940$; $p=0,010$; OR 1.58; 95 % CI 1,09 – 2,29).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ сцепления и ассоциации аллелей генов провоспалительных цитокинов IL-6, IFNG и TNF α с рассеянным склерозом с помощью теста неравновесной передачи аллелей (TDT) / О. Ю. Макарычева [и др.] // Молек. биология. – 2010. – № 44 (5). – С. 824–830.
2. Ассоциация полиморфных вариантов генов семейства интерлейкина-1 с рассеянным склерозом / А. В. Шабалдин [и др.] // Иммунология. – 2007. – № 5. – С. 260–263.
3. Бабенко С. А. Роль аллельных вариантов генов иммунного ответа в развитии рассеянного склероза : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.15 / С. А. Бабенко. – Томск, 2008. – 23 с.
4. Генетика рассеянного склероза / Н. Н. Спирин [и др.] // Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания / ред. Е. И. Гусев, И. А. Завалишин, А. Н. Бойко. – М., 2004. – С. 43–59.
5. Генетические и клинические особенности семейного рассеянного склероза в Новосибирске / Д. С. Коробко [и др.] // Актуальные вопросы неврологии. – Новосибирск, 2012. – С. 50–55.
6. Генетические факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края / И. В. Смагина [и др.] // Журн. неврол. психиатрии. – 2011. – № 111 (5). – С. 42–45.
7. Диагностическое и патогенетическое значение маркеров апоптоза при рассеянном склерозе у детей / И. Е. Смирнов [и др.] // Педиатрия. – 2013. – № 6. – С. 47–53.
8. Карнаух В. Н. Анализ инвалидизации при рассеянном склерозе // Сиб. мед. журн. – 2011. – № 1. – С. 115–117.
9. Кичерова О. А. Рассеянный склероз / О. А. Кичерова, Л. И. Рейхарт, С. М. Быченко. – Тюмень : Сити-пресс, 2007. – 152 с.

10. Марков Д. А. Рассеянный склероз / Д. А. Марков, А. Л. Леонович. – М. : Медицина, 1976. – 293 с.
11. Медицинский энциклопедический словарь / В. И. Бородулин [и др.]. – М. : Изд. дом «ОНИКС 21 век», 2002. – 704 с.
12. Полиморфизм 1188 А/С гена IL12B у больных рассеянным склерозом в Томской области и возможности оценки эффективности иммуномодулирующей терапии / В. М. Алифирова [и др.] // Журн. неврол. психиатрии. – 2006. – № 3. – С. 130–135.
13. Полиморфизм гена хемокинового рецептора CCR5 у больных рассеянным склерозом в Сибирском регионе / Ю. Ю. Орлова [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2006. – № 3. – С. 98–104.
14. Полиморфизм генов HLA DRB2 и генов цитокинов IL–1B, IL–1RA и их влияние на возникновение и течение рассеянного склероза / А. В. Субботин [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2004. – № 2. – С. 18–22.
15. ПЦР в реальном времени / Д. В. Ребриков [и др.]; под ред. Д. В. Ребрикова. – 6–е изд. – М. : Лаборатория знаний, 2015. – 226 с.
16. Распространенность и факторы риска рассеянного склероза в популяции Алтайского края / И. В. Смагина [и др.] // Бюл. сиб. мед. – 2011. – № 2. – С. 39–43.
17. Рассеянный склероз: патогенез, диагностика, дифференциальный диагноз и лечение / Т. Л. Демина [и др.] // Consilium medicum. – 2008. – № 1. – С. 61–68.
18. Рязанцева А. А. Некоторые компоненты глутаматэргической системы у больных с разными типами течения рассеянного склероза [Электронный ресурс] : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.11 / А. А. Рязанцева. – Иркутск, 2015. – 108 с. – Электрон. версия печат. публ. – URL: <http://www.dslib.net/bolezni-nervov/nekotorye-komponenty-glutamatjergicheskoj-sistemy-u-bolnyh-s-raznymi-tipami.html> (дата обращения: 05.04.2018).

19. Связь частоты обострений рассеянного склероза с аллельными вариантами гена IL18 / Н. Н. Загорская [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2012. – № 11 (3). – С. 3–6.
20. Современная терапия рассеянного склероза / В. В. Мирошникова [и др.] // Лекарственный вестн. – 2013. – Т. 7, № 1 (49). – С. 20–35.
21. Фаворова О. О. Рассеянный склероз как полигенное заболевание: современное состояние проблемы / О. О. Фаворова, О. Г. Кулакова, А. Н. Бойко // Генетика. – 2010. – № 46 (3). – С. 302–313.
22. Хабиров Ф. А. Клинико–эпидемиологические характеристики рассеянного склероза в Республике Татарстан / Ф. А. Хабиров, Н. Н. Бабичева, Т. И. Хайбуллин // Невролог. вестн.: журн. им. В. М. Бехтерева. – 2010. – Т. 42, № 1. – С. 6.
23. Хулуп Г. Я. Клиническая и лабораторная диагностика рассеянного склероза / Г. Я. Хулуп, Н. Ф. Филиппович. – Минск : БелМАПО, 2005. – 180 с.
24. Хусаинова А. Н. Молекулярно–генетическое исследование рассеянного склероза : полиморфизм генов цитокиновой сети : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.07 / А. Н. Хусаинова. – Уфа, 2012. – 13 с.
25. Царева Е. Ю. Фармакогеномные исследования эффективности лечения рассеянного склероза иммуномодулирующими препаратами : дис. канд. биол. наук : 03.01.03 / Е. Ю. Царева. – М., 2012. – 140 с.
26. Шмидт Т. Е. Воспаление и нейродегенерация при рассеянном склерозе // Невролог. журн. – 2006. – № 3. – С. 46–51.
27. Шмидт Т. Е. Новые данные по эпидмиологии, патогенезу и клинике рассеянного склероза (поматериалам 28–го конгресса ECTRIMS – Европейского комитета по исследованию и лечению рассеянного склероза, Лион, 2012) // Невролог. журн. – 2013. – № 1. – С. 39–4
28. Шмидт Т. Е. По материалам 26–й конференции ECTRIMS (Европейского комитета по лечению и изучению рассеянного склероза) // Невролог. журн. – 2011. – № 6. – С. 50–58.

29. Alonso A. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review (review) / A. Alonso, M. A. Hernán // *Neurology*. – 2008. – Vol. 71. – P. 129–135.
30. Analysis of the C/T(–1) single nucleotide polymorphism in the CD40 gene in multiple sclerosis / D. Buck [et al.] // *Tissue Antigens*. – 2006. – Vol. 68, № 4. – P. 335–338.
31. Ascherio A. Vitamin D and multiple sclerosis / A. Ascherio, K. L. Munger, K. C. Simon // *Lancet Neurol*. – 2010. – Vol. 9. – P. 599–612.
32. Baranzini S. E. Genetics of multiple sclerosis: swimming in an ocean of data / S. E. Baranzini, D. Nickles // *Curr. Opin. Neurol*. – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 239–245.
33. Brain-derived neurotrophic factor promotes the survival and sprouting of serotonergic axons in rat brain / L. A. Mamounas // *J. Neurosci*. – 1995. – Vol. 15. – P. 7929–7939.
34. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism affects human memory-related hippocampal activity and predicts memory performance / A. R. Hariri [et al.] // *J. Neurosci*. – 2003. – Vol. 23. – P. 6690–6694.
35. Characterization of 11p14–p12 deletion in WAGR syndrome by array CGH for identifying genes contributing to mental retardation and autism / S. Xu [et al.] // *Cytogenet Genome Res*. – 2008. – Vol. 122. – P. 181–187.
36. Charcot J. Des scleroses de la maele epiniere // *Gaz.Hop.Paris*. – 1868. – Vol. 41. – P. 405–406.
37. Compston A. Epidemiology and genetics of multiple sclerosis / A. Compston, A. D. Sadovnic // *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg*. – 1992. – № 5 (2). – P. 175–181.
38. Defining and analyzing geoeidemiology and human auto- immunity / Y. Shapira [et al.] // *J Autoimmun*. – 2010. – Vol. 34. – P. 168–177.
39. Dietary patterns in clinical subtypes of multiple sclerosis: an exploratory study / G. Ramsaransing [et al.] // *Nutrition J*. – 2009. – Vol. 8. – P. 36–41.

40. Differential expression of BDNA mRNA splice variants in mouse brain and immune cells / N. Kruse [et al.] // *J Neuroimmuno.* – 2007. – Vol. 182. – P. 13–21.
41. Distribution of glutamate transporter subtypes during human brain development / O. Bar–Peled [et al.] // *J Neurochem.* – 1997. – Vol. 69. – P. 2571–2580.
42. Ebers G. C. A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group / G. C. Ebers, A. D. Sadovnick, N. J. Risch // *Nature.* – 1995. – Vol. 377. – P. 150–151.
43. Effect of brain–derived neurotrophic factor treatment and forced arm use on functional motor recovery after small cortical ischemia / W. R. Schabitz [et al.] // *Stroke.* – 2004. – Vol. 35. – P. 992–997.
44. Effect of early stress on hippocampal gray matter is influenced by a functional polymorphism in EAAT2 in bipolar disorder / S. Poletti [et al.] // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* – 2014. – Vol. 51. – P. 146–152.
45. Effect of glutamate transporter EAAT2 gene variants and gray matter deficits on working memory in schizophrenia / S. Poletti [et al.] // *Eur Psychiatry.* – 2014. – Vol. 29. – P. 219–225.
46. Ehlers S. Infection, inflammation, and chronic diseases: consequences of a modern lifestyle / S. Ehlers, S. H. Kaufmann // *Trends Immunol.* – 2010. – Vol. 31, № 5. – P. 184–90.
47. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT–1 / K/ Tanaka [et al.] // *Science.* – 1997. – Vol. 276. – P. 1699–1702.
48. Essential role for TrkB receptors in hippocampus–mediated learning / L. Minichiello [et al.] // *Neuron.* – 1999. – Vol. 24. – P. 401–414.
49. EVI5 is a risk gene for multiple sclerosis / I. A. Hoppenbrouwers [et al.] // *Genes Immun.* – 2008. – Vol. 9. – P. 334–337.
50. Evidence for polygenic susceptibility to multiple sclerosis – the shape of things to come. The International Multiple Sclerosis Genetics Consortium

(IMSGC) / W. C. Bush [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2010. – Vol. 86. – P. 621–625.

51. Expression of the glial glutamate transporter EAAT2 in the human CNS: an immunohistochemical study / I. D. Milton [et al.] // *Brain Res Mol Brain Res.* – 1997. – Vol. 52. – P. 17–31.

52. Farral M. Mapping genetic susceptibility to multiple sclerosis // *Lancet.* – 1996. – Vol. 348. – P. 1674–1675.

53. Furuta A. Glutamate transporter protein subtypes are expressed differentially during rat CNS development / A. Furuta, J. D. Rothstein, L. J. Martin // *J Neurosci.* – 1997. – Vol. 17. – P. 8363–8375.

54. Genetic polymorphisms of the human tumor necrosis factor (TNF- α) first intron region in multiple sclerosis (MS) in the Russian ethnic group / A. D. Alekseenkov [et al.] // *Eur. J. Neurol.* – 1998. – Vol. 5, № 3. – P. 124–125.

55. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2 / S. Sawcer [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 476, № 7359. – P. 214–219.

56. Genetic variants in brain-derived neurotrophic factor associated with Alzheimer's disease / R. Huang [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2007. – Vol. 44. – P. 66.

57. Genome-wide association analysis of susceptibility and clinical phenotype in multiple sclerosis / S. E. Baranzini [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – Vol. 18. – P. 767–778.

58. Genome-wide association study identifies new multiple sclerosis susceptibility loci on chromosomes 12 and 20. The ANZgene Consortium / M. Bahlo [et al.] // *Nat. Genet.* – 2009. – Vol. 41. – P. 824–828.

59. Giovannoni G. The detection and significance of cerebrospinal fluid oligoclonal IgG / G. Giovannoni, E. Thompson // *Cerebrospinal fluid analysis in multiple sclerosis.* / eds. E. Thompson, M. Trojano, P. Livrea. – New York, 1996. – P. 29–39.

60. Glutamate transporter expression and function in human glial progenitors / N. J. Maragakis [et al.] // *Glia*. – 2004. – Vol. 45. – P. 133–143.
61. IL2RA/ CD25 gene polymorphisms: uneven association with multiple sclerosis and type 1 diabetes / A. Alcina [et al.] // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4. – P. 4137.
62. IL2RA/CD25 polymorphisms contribute to multiple sclerosis susceptibility / F. Matesanz [et al.] // *J. Neurol.* – 2007. – Vol. 254. – P. 682–684.
63. Impairments in high–frequency transmission, synaptic vesicle docking, and synaptic protein distribution in the hippocampus of BDNF knockout mice / L. D. Pozzo–Miller [et al.] // *J. Neurosci.* – 1999. – Vol. 19. – P. 4972–4983.
64. Incidence and prevalence of multiple sclerosis in the Americas: a systematic review / C. Evans [et al.] // *Neuroepidemiology*. – 2013. – Vol. 40. – P. 195–210.
65. Influence of an interaction between lithium salts and a functional polymorphism in SLC1A2 on the history of illness in bipolar disorder / S. Dallaspezia [et al.] // *Mol Diagn Ther.* – 2012. – Vol. 16. – P. 303–309.
66. Interferon regulatory factor 5 (IRF5) gene variants are associated with multiple sclerosis in three distinct populations / G. Kristjansdottir [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2008. – Vol. 45. – P. 362–369.
67. International Panel Updates Diagnostic Criteria for MS / ed. Polman C. // *Annals of Neurology*. – 2005. – Vol. 10. – P. 135–140.
68. Intravenous brain–derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl–2 expression after temporary focal cerebral ischemia / W. R. Schabitz [et al.] // *Stroke*. – 2000. – Vol. 31. – P. 2212–2217.
69. Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate / J. D. Rothstein [et al.] // *Neuron*. – 1996. – Vol. 16. – P. 675–686.
70. Lassmann H. Mechanisms of inflammation induced tissue injury in multiple sclerosis // *J Neurol. Sci.* – 2008. – Vol. 274, №1–2. – P. 45–47.

71. Lauriat T. L. EAAT2 regulation and splicing: relevance to psychiatric and neurological disorders / T. L. Lauriat, L. A. McInnes // *Mol Psychiatry*. – 2007. – Vol. 12. – P. 1065–1078.
72. Localization of neuronal and glial glutamate transporters / J. D. Rothstein [et al.] // *Neuron*. – 1994. – Vol. 13. – P. 713–725.
73. Lolli F. Intrathecal synthesis of free immunoglobulin light chains and IgM in initial multiple sclerosis / F. Lolli, G. Siracusa, M. Amato // *Acta Neurol. Scand.* – 1991. – Vol.83. – P.239–243.
74. Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements / P. Szatmari [et al.] // *Nat Genet.* – 2007. – Vol. 39. – P. 319–328.
75. Marburg O. Multiple Sclerosis (Encephalomyelitis periaxialis scleroticans disseminate) // *Hand. d. Neurologie* / O. Bumke, O. Foerster. – Berlin, 1936. – Bd. 13. – S. 287–308.
76. Matesanz F. Genome-wide association study of multiple sclerosis confirms a novel locus at 5p13.1 / F. Matesanz, A. González-Pérez, M. Lucas // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 5. – P. 36140.
77. Metaanalysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci / P. L. De Jager // *Nat. Genet.* – 2009. – Vol. 41, № 7. – P. 776–782.
78. MRI criteria for multiple sclerosis / D. Cecil [et al.] // *Neurology*. – 2004. – Vol. 62. – P. 806–808.
79. Multiple sclerosis — a response-to-damage model / B. A. Hart [et al.] // *Trends Mol. Med.* – 2009. – Vol. 15. – P. 235–244.
80. Multiple sclerosis incidence in the era of measles-mumps-rubella mass vaccinations / C. Ahlgren [et al.] // *Acta Neurol Scand.* – 2009. – Vol. 119. – P. 313–320.
81. Nischwitz S. Risk conferring genes in multiple sclerosis / S. Nischwitz, B. Müller-Myhsok, F. Weber // *FEBS Lett.* – 2011. – Vol. 585, № 23. – P. 3789–3797.

82. Oksenberg J. R. Multiple sclerosis genetics – is the glass half full, or half empty? / J. R. Oksenberg, S. E. Baranzini // *Nat. Rev. Neurol.* – 2010. – Vol. 6, № 8. – P. 429–437.
83. Pang P. T. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF / P. T. Pang, B. Lu // *Ageing Res. Rev.* – 2004. – Vol. 3. – P. 407–430
84. Poo M. M. Neurotrophins as synaptic modulators // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2001. – Vol. 2. – P. 24–32.
85. Preservation of gray matter volume in multiple sclerosis patients with the Met allele of the rs6265 (Val66Met) SNP of brain-derived neurotrophic factor / R. Zivadinov [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2007. – Vol. 16. – P. 2659–2668.
86. Problems of experimental trials of therapy in multiple sclerosis – report by the Panel on the Evaluation of Trials of Therapy in Multiple sclerosis / G. Schumacher [et al.] // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1965. – Vol. 122. – P. 552–568.
87. Reversal of neurologic deficits after bone marrow transplantation in relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis / R. K. Burt [et al.] // *Abstr. 16 World Congress of Neurology, 1987.* – Vol. 150. – P. 48.
88. Risk alleles for multiple sclerosis identified by a genome wide study / Hafler D. A. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357, № 9. – P. 851–862.
89. Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: opportunities for developing novel therapeutics / K. Kim [et al.] // *J Cell Physiol.* – 2011. – Vol. 226. – P. 2484–2493.
90. Sawcer S. The complex genetic of multiple sclerosis: pitfalls and prospects // *Brain.* – 2008. – Vol. 131. – P. 3118–3131.
91. Schneider R. Neuronal degeneration in a viral model of multiple sclerosis // *J. Neurosci.* – 2009. – Vol. 29. – P. 153–154.
92. Tag-SNP analysis of the GFI1–EVI5–RPL5–FAM69 risk locus for multiple sclerosis / A. Alcina [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2010. – Vol. 18, № 7. – P. 827–831.

93. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function / M. F. Egan [et al.] // *Cell*. – 2003. – Vol. 112. – P. 257–269.

94. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function / M. F. Egan [et al.] // *Cell*. – 2003. – Vol. 112. – P. 257–269.

95. The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and variation in human cortical morphology / L. Pezawas [et al.] // *J. Neurosci.* – 2004. – Vol. 24. – P. 10099–10102

96. The chemokine receptor CCR5 deletion mutation is associated with MS in HLA-DR4-positive Russians / O. O. Favorova [et al.] // *Neurology*. – 2002. – Vol. 59, № 10. – P. 1652–1655.

97. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe (review) / M. Pugliatti [et al.] // *Eur J Neurol* – 2006. – Vol. 13. – P. 700–722.

98. The involvement of specific anti myelin basic protein antibody forming cells in multiple sclerosis immunopathology / K. Gerritse [et al.] // *J. Neuroimmunol.* – 1994. – Vol. 49. – P. 153–159.

99. The neurotrophins NT-4/5 and BDNF augment serotonin, dopamine, and GABAergic systems during behaviorally effective infusions to the substantia nigra / C. A. Altar [et al.] // *Exp. Neurol.* – 1994. – Vol. 130. – P. 31–40.

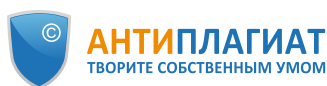
100. Trip S. Imaging in multiple sclerosis / S. Trip, D. Miller // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* – 2005. – Vol. 76. – P. 338–346.

101. Vandebroek K. Cytokine gene polymorphisms and human autoimmune disease in the era of genome-wide association studies [Electronic resource] // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2012. – Vol. 32, № 4. – The electronic version of the printing publication. – URL: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jir.2011.0103> (access date: 06.03.2018).

102. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in

neurosecretory cells and cortical neurons / Z. Y. Chen [et al.] // J. Neurosci. – 2004. – Vol. 24. – P. 4401–4411.

103. Yi Jh. Excitotoxic mechanisms and the role of astrocytic glutamate transporters in traumatic brain injury / Jh. Yi, As. Hazell // Neurochem Int. –2006. – Vol. 48. – P. 394–403.



Отчет о проверке на заимствования №1

Автор: yoker.livecaywitch@gmail.com / ID: 5382139

Проверяющий: (yoker.livecaywitch@gmail.com / ID: 5382139)

Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»- <http://www.antiplagiat.ru>

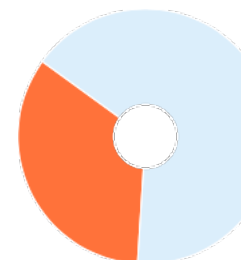
ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 4
 Начало загрузки: 13.06.2018 11:44:26
 Длительность загрузки: 00:00:01
 Имя исходного файла: ВКР_Левкевич final version(2) сору
 Размер текста: 395 кБ
 Символов в тексте: 63044
 Слов в тексте: 7720
 Число предложений: 1169

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 13.06.2018 11:44:28
 Длительность проверки: 00:00:07
 Комментарии: не указано
 Модули поиска:

ЗАИМСТВОВАНИЯ 34,23% ЦИТИРОВАНИЯ 0% ОРИГИНАЛЬНОСТЬ 65,77%



Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.

Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.

Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.

Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.

Заимствования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Доля в тексте	Источник	Ссылка	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте
[01]	0,52%	15,67%	10_2_2013.pdf	http://sibmed.net	22 Ноя 2016	Модуль поиска Интернет	9	122
[02]	6,19%	7,82%	10_2_2013.pdf (2/2)	http://sibmed.net	09 Сен 2016	Модуль поиска Интернет	52	63
[03]	7,33%	7,34%	10_2_2013.pdf (1/2)	http://sibmed.net	09 Сен 2016	Модуль поиска Интернет	50	50

Еще источников: 17

Еще заимствований: :