

10. Karg K. The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation / K. Karg, M. Burmeister, K. Shedden, S. Sen // *Arch. Gen. Psychiatry*. – 2011. – Vol. 68. – P. 444–454.

11. Lesch K.P. Molecular biology, pharmacology, and genetics of the serotonin transporter: psychobiological and clinical implications / K.P. Lesch // *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS* / Eds H.G. Baumgarten, M. Gothert. N.Y.: Springer. – 1997. – P. 671–705.

12. Narita S. Association between norepinephrine transporter gene polymorphism and alcohol dependence in Japanese / S. Narita, K. Nagahori, D. Nishizawa [et al.] // *Nihon Arukoru*

Yakubutsu Igakkai Zasshi. – 2014. – № 49 (6). – P. 330–339.

13. Popova N.K. From genes to aggressive behavior: the role of serotonergic system / N.K. Popova // *Bioessays*. – 2006. – Vol. 28. – P. 495–503.

14. Schinka J.A. A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and trait anxiety / J.A. Schinka, R.M. Busch, N. Robichaux-Keene // *Mol. Psychiatry*. – 2004. – № 9 (2). – P. 197–202.

15. Sen S. Meta-analysis of the association between a serotonin transporter promoter polymorphism (5-HTTLPR) and anxiety-related personality traits / S. Sen, M. Burmeister, D. Ghosh // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr Genet.* – 2004. – Vol. 127B. – № 1. – P. 85–89.

16. The serotonin transporter polymorphism, 5HTTLPR, is associated with a faster response time to sertraline in an elderly population with major depressive disorder / L.K. Durham, S.M. Webb, P.M. Milos [et al.] // *Psychopharmacology*. – 2004. – Vol. 174. – P. 525–529.

17. Tsai A.C. Recognizing syntactic errors in Chinese and English sentences: Brain electrical activity in Asperger's syndrome / A.C. Tsai, A.N. Savostyanov, A. Wu [et al.] // *Research in Autism Spectrum Disorders*. – 2013. – Vol. 7. – P. 889–905.

18. Yang H.H. Face recognition in Asperger syndrome: a study on EEG spectral power changes / H.H. Yang, A.N. Savostyanov, A.C. Tsai, M. Liou // *Neuroscience Letter*. – 2011. – № 492 (2). – P. 84–88.

Т.М. Сивцева, В.Л. Осаковский

ГЕНЕТИКА ВИЛЮЙСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА

УДК 616.831

Вилейский энцефаломиелит (ВЭ) – это заболевание с неизвестной природой, в развитии которого генетические факторы играют значимую роль. Исследования HLA маркеров, других генов иммунитета и анализ результатов экзомного секвенирования выявили у больных ВЭ специфические особенности генома, предрасполагающие к дисфункции иммунитета и функциональной недостаточности метаболического обмена по протеолитической и фосфатазной активности. В условиях воздействия экстремальных факторов окружающей среды эти особенности могут приводить к развитию дистрофических процессов в головном мозге с формированием особого типа энцефалопатии, лежащей в основе патогенеза ВЭ.

Ключевые слова: вилейский энцефаломиелит, гены иммунитета, экзом, секвенирование ДНК.

Viliisk encephalomyelitis (VE) is a neurodegenerative disease with unknown etiology in development of which genetic factors have significant role. Study of HLA markers and other genes of immunity and analysis of exome sequencing in VE patients revealed features of the Yakut genome, predisposing to immunity dysfunction and functional insufficiency of proteolytic and phosphatase activity. In extreme environmental conditions these features may lead to dystrophic process development in the brain and distinguish type of encephalopathy as basis of VE pathogenesis.

Keywords: Viliisk encephalomyelitis, genes of immunity, human exome, DNA sequencing.

Введение. Заболевание вилейский энцефаломиелит (ВЭ) является крайней патологией и неразрешенной проблемой здравоохранения Республики Саха (Якутия). Изучение этиологии и патогенеза заболевания ввиду сложной природы патологии остается предметом фундаментальной медицинской науки.

В настоящее время вилейский энцефаломиелит рассматривается как заболевание первично-хронической формы, при котором пациент испытывает физическую слабость нервной системы вследствие постепенной деградации нейронных цепей и отмирания нейронов. Болезнь протекает в форме энцефалопатии со стабильным стационарным течением без выраженных признаков воспаления и слабо выраженными симптомами поражения двигательных и когнитивных функций. Однако у части таких больных чрезмерный физический стресс под воздействием внешних факторов

(переохлаждение, травмы, роды) может провоцировать острое воспаление головного мозга (энцефалит) с развитием локального иммунного ответа и развертыванием классической клинической картины острой или подострой формы ВЭ с возможным летальным исходом [4]. У больных, перенесших острое воспаление, развивается хронический процесс, типичный для ВЭ.

Природа первичного нейродегенеративного процесса ВЭ остается еще нераскрытой. В настоящее время рабочей гипотезой является нарушение функции контроля внутриклеточной аутофагии нейрона, индуцирующее атрофию ткани и спонгиоз головного мозга. Причиной могут быть нарушения молекулярных механизмов, контролирующих эту функцию. Изучение вклада генетического компонента в этиологию и патогенез заболевания является важным аспектом раскрытия молекулярной природы ВЭ. В последние годы к решению этого вопроса привлекаются современные методы молекулярной генетики.

1. Популяционно-генетические исследования ВЭ

Заболевание ВЭ известно эндемичностью (очаг заболевания огра-

ничивается бассейном р. Вилей), спорадическим характером. Болеют представители народа саха, групповых случаев заболевания не наблюдается, зато прослеживаются родовые связи. Участие наследственности в развитии заболевания подтверждено популяционно-генетическими исследованиями на материале массового неврологического осмотра населения районов Вилейского бассейна за 1969–1977 гг. в работах Л.Г. Гольдфарба, Н.И. Федоровой, М.П. Чумакова и др. [6]. Сегрегационный анализ (долевое соотношение больных среди sib-сов) показал отсутствие моногенного типа аутосомно-рецессивного наследования, но не исключает наследования более одного гена, взаимное действие которых предрасполагает к заболеванию. Для анализа вклада генетического компонента и факторов внешней среды в патологию ВЭ была использована математическая модель Фальконера-Эдварса для расчета коэффициента наследуемости (H). Коэффициент наследуемости фенотипа болезни для родственников 1-й степени родства составил 22,14% в Вилейском улусе и 28,94% в других улусах Вилейского бассейна [6]. Это

означает, что заболевание ВЭ среди якутского населения на 22-29% складывается за счет генетического компонента и на 71-78% – за счет действия внешних факторов среды. Факторы внешней среды вносят существенный вклад в развитие энцефалита у больных.

2. Исследование генов иммунитета

Генетические исследования ВЭ были начаты с генов иммунитета. В работе В.В. Фефеловой анализ ассоциации болезни ВЭ с маркерами HLA 1 класса с помощью серологических реакций показал небольшое статистически значимое повышение HLA-b15 варианта у больных ВЭ [7].

В дальнейшем было проведено генотипирование аллелей HLA 2 класса (-dp, -dq, -dr) по вариантам гена *DQA1* у больных ВЭ, которое выявило этническое различие по частоте аллеля 0301 ($p < 0,05$) между пациентами якутского и европейского происхождения. При этом частота *DQA1*0301* у больных ВЭ превышала значение контроля якутских пациентов [9]. Это дает основание говорить об участии генов иммунитета в развитии патогенеза заболевания ВЭ.

В последующем с целью поиска новых генов-кандидатов иммунитета, предрасполагающих к развитию ВЭ, были анализированы 7 воспалительных генов. Это гены рецепторов хемокинов *CCR2/CCR5*, интерферон гамма, интерлейкины 4, 6, 10 и стромальный фактор (CDF) и цитокин Rantes [8]. Были проанализированы 17 однонуклеотидных замен (SNP). Как показали результаты типирования SNPs, ни один из 17 SNPs 7 воспалительных генов не был с требуемой достоверностью ассоциирован с болезнью ВЭ [8].

Отличия были выявлены при анализе дополнительных SNPs гена интерферона гамма. При этом показано, что из 8 SNPs гена интерферона гамма 4 оказались полиморфны для представителей якутского населения, т.е. они специфичны для якутского этноса. Из них в анализе теста больной – контроль была показана значительная ассоциация двух аллелей SNPs: rs2069718, $p = 0,003$; относительный риск равен 5,44 ($OR > 1$); rs2069727, $p = 0,003$; относительный риск 7,78 ($OR > 1$). При этом сильная положительная ассоциация выявлена в группе больных в возрасте 60-69 лет [1]. Это старшая возрастная группа больных хронической формой ВЭ. Эти результаты также отмечают особенность генетики иммунитета этноса, на фоне которого выявляются специфические SNPs, ассоциирующие-

ся с болезнью. В отличие от вариантов генов HLA-b15, *DQA1*0301*, локализованных в кодирующих участках гена – экзонах, мутации IFNg (SNP; rs2069718, rs2069727, rs2430561) локализованы в некодирующих областях генов – интронах, в основном на 5'UTR участке гена, выполняющем важнейшую функцию контроля экспрессии гена.

С различием в уровне продукции IFNg, по-видимому, связан клинический полиморфизм болезни ВЭ. Как показано на вариантах гена IFNg SNP(+874) T/A (rs2430561), с вариантом аллеля А гена связывается низкая продукция цитокина IFNg, поэтому генотипы ТА и АА гена можно рассматривать как факторы, смягчающие тяжесть течения болезни, способствующие развитию хронической формы и увеличению продолжительности жизни больного. Генотип ТТ пациента с энцефалопатией можно рассматривать как фактор предрасположенности к воспалительным процессам и потому больные носители этого генотипа более склонны к острому течению болезни [2].

Эти данные свидетельствуют, что патология ВЭ ассоциирована с особым генотипом иммунитета якутского генома и дает основание говорить об иммуногенетической природе заболевания ВЭ.

3. Экзомное секвенирование ДНК больных ВЭ

Для более детального исследования генома больного был проведен полный анализ экзотов генома больного ВЭ двумя группами исследователей [3, 5].

В первой работе был проведен анализ данных экзомного секвенирования 12 представителей якутского этноса, живущих в сельской местности Вилюйского района Якутии, не являвшихся близкими родственниками, 7 из которых (3 мужчин и 4 женщин) были больны ВЭ и 5 чел. (1 женщина и 4 мужчин) были здоровы. Средний возраст индивидов, включенных в анализ, составляет 47 лет (варьировался от 27 до 66 лет). Экзомное секвенирование было проведено в Пекинском институте геномики (BGI, Beijing Genomics Institute) с помощью системы Illumina HiSeq2000 [5].

В ходе обработки генетического материала анализа экзота генома больного ВЭ было идентифицировано 2507 аллельных вариантов, приводящих к несинонимичным заменам аминокислот, сдвигу рамки считывания или же появлению стоп-кодонов. Из них 437

вариантов были новыми, и, вероятно, могут быть специфичными для генома якутского этноса. В результате принятых селекций информационного материала для доминантной модели были отобраны 11 вариантов. В тесте на предсказание патогенности этих вариантов с помощью ряда компьютерных программ было показано, что 4 из них предсказываются как патогенные по более двум алгоритмам. Это варианты в генах: *TMPRSS11E*, *SCUBE2*, *PPP1R36* и *PSMB6*.

SCUBE – ген сигнального пептида *CUB*, *TMPR SS11E* – трансмембранной сериновой протеазы, *PPP1R36* – регуляторной белковой субъединицы (36) серин/треониновой фосфопроteinфосфатазы PP1. Белок субъединицы взаимодействует с фосфатазой PP1. Биологическая функция – негативная регуляция фосфатазной активности (ингибитор фермента). *PSMB6* – представитель семейства протеосомы В типа, тип субъединицы В6. Имеет эндопептидазную активность треоинового типа. Многосубъединичный протеолитический комплекс является ферментом нелизосомной деградации белков в цитоплазме и ядре клетки. Участвует во многих клеточных процессах (метаболизм, апоптоз, иммунитет, болезни).

Варианты последних двух генов новые и не присутствуют в dbSNP (в базе данных SNP NCBI), он характерен для представителей якутской популяции. Продукт гена *PSMB6* известен участием в презентации антигенов через MHC1. Исходя из этого для первичного анализа ассоциации с ВЭ нами были выбраны гены *PPP1R36* (NM_172365:c.G1096A:p.G366R) и *PSMB6* (NM_002798:c.A541C:p.M181L).

Расчёты показывают, что эти варианты специфичны для якутской популяции, но результаты по генотипированию SNP генов *PPP1R36* и *PSMB6* в ранее созданной нами коллекции ДНК не показали достоверной ассоциации с болезнью ВЭ, что, возможно, связано с недостаточной выборкой коллекции.

Второе исследование было проведено на базе National Institutes of Health Intramural Sequencing Center, Bethesda, Maryland, USA (4 больных) и Cornell University Sequencing Center, New York, USA с использованием Illumina platform. В рамках данного проекта экзомное секвенирование проведено на ДНК 2 больных с подострым ВЭ и 7 больных с достоверным диагнозом хронического ВЭ [3].

Анализ полученных данных на основании рецессивной модели не выявил

редких гомозиготных вариантов, что исключает возможность рецессивного наследования ВЭ у исследованных больных. Следующая попытка анализа результатов экзомного секвенирования была сделана с применением доминантной модели. Но и на этот раз не удалось выявить редкие (менее 5% в популяции) гетерозиготные варианты, которые бы присутствовали у каждого из 9 исследованных больных. С применением смягченных параметров выявляются два перспективных варианта в генах AURKC и HLA-DRB1, которые присутствовали у всех 9 больных ВЭ. Однако популяционная частота вариантов в генах AURKC и HLA-DRB1 оказалась чрезвычайно высокой – около 25% (ncbi.nlm.nih.gov), что характеризует их как часто встречающиеся полиморфизмы, вероятно, не имеющие отношения к ВЭ. Еще один вариант в регуляторной части гена NMI был найден у 8 больных ВЭ из 9 исследованных, однако популяционная частота и в этом случае составляет от 5 до 24% в разных популяциях. У 7 из 9 исследованных больных найдены варианты в кодирующих частях двух других интересных генов ADAMTS14 с популяционной частотой от 0 до 0,5% и SOX30 с популяционной частотой 2,1%, который в азиатских популяциях до 9-12%. Наиболее перспективен в отношении патогенеза ВЭ гетерозиготный вариант гена ADAMTS14. Особенно участие его продукта (фермент металлопротеиназа) в микрососудистой патологии.

Заключение. Таким образом, результаты генетических исследований, проведенных как на уровне отдельных генов, так и уровне полного экзомного анализа, отмечают специфичные особенности генома якутского этноса, которые могут приводить к дисфункции иммунитета и функциональной недостаточности метаболического обмена по протеолитической и фосфотазной активности. Выявленные варианты не проявляют статистически значимую ассоциацию с заболеванием ВЭ, возможно, в связи с недостаточной выборкой больных, а также клинической

гетерогенностью заболевания. Тем не менее, эти факторы могут участвовать в индукции внутриклеточной аутофагии нейронов и атрофии тканей мозга. В условиях воздействия экстремальных факторов окружающей среды эти особенности могут приводить к развитию дистрофических процессов в головном мозге с формированием особого типа энцефалопатии, лежащей в основе патологии ВЭ.

Литература

1. Генетическая ассоциация между интерфероном гамма и виллюйским энцефаломиелитом / М. Робертс, С. Шреста, Э. Трулав [и др.] // Проблема виллюйского энцефаломиелита и дегенеративных заболеваний мозга в Якутии: тез. докл. IV Междунар. научно-практ. конф. – Якутск: Издательско-полиграфический комплекс СВФУ, 2011. – С. 40-41.
Genetic association between interferon gamma and Viliuisk encephalomyelitis / M.L. Roberts, S. Shrestha, A.L. Truelove [et al.] // On problem of the Viliuisk encephalomyelitis and degenerative brain diseases in Yakutia: abstracts book IV International Scientific Conference. – Yakutsk: Publishing house of North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, 2011. – P. 41-42.
2. Генотипирование гена IFNG SNP (+874) у населения в очагах виллюйского энцефаломиелита: роль гена в воспалительном процессе / В.Л. Осаковский, М.Л. Филипенко, Т.М. Сивцева, А.И. Акимова // Актуальные вопросы клинической неврологии: сб. мат-лов межрегион. научно-практ. конф. с международным участием, посвящ. 70-летию неврологической службы в Республике Саха (Якутия) и 90-летию иностранного члена АН РС (Я), лауреата Нобелевской премии К.Д. Гайдусака / под ред. Т.Я. Николаевой, Э.Э. Конниковой – Киров: МЦНИП, 2013. – С. 90–94.
Genotyping of IFNG SNP (+874) gene in population of region with high incidence of Viliuisk encephalomyelitis: the role of gene in inflammatory process / V.L. Osakovsky, M.L. Filipenko, T.M. Sivtseva, A.I. Akimova // Actual questions of clinical neurology: abstracts of regional scientific conference / Editors T.Ya. Nikolaeva, E.E. Konnikova. – Kirov: MCNIP, 2013. – P.90–94.
3. Гольдфарб Л.Г. Виллюйский энцефаломиелит / Л.Г. Гольдфарб, В.А. Владимиров, Н. Ренвик, Ф.А. Платонов. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2014. – 256 с.
Goldfarb L.G. Viliuisk encephalomyelitis / L.G. Goldfarb, V.A. Vladimirtsev, N. Renwick, F.A. Platonov. – Novosibirsk: Publishing house of SO RAN, 2014. – 256 p.
4. Петров П.А. Виллюйский энцефалит / П.А.

Петров; отв. ред.: А.П. Авцын, Е.Ф. Бочаров. – Новосибирск: Наука, 1987. – 134 с.

Petrov P.A. Viliuisk encephalitis / P.A. Petrov; Editors: A.P. Avsyn, E.F. Bocharov. Novosibirsk: Nauka, 1987. – 134 p.

5. Поиск генетических факторов предрасположенности к виллюйскому энцефаломиелиту / А.С. Злобин, С.Ж. Шаронов, В. Гурьев [и др.] // Проблемы виллюйского энцефаломиелита и других нейродегенеративных заболеваний: современные вопросы этиологии и патогенеза: тез. докл. V Междунар. науч.-практ. конф. Якутск, 23-24 июня 2016 г. – Якутск: Алаас, 2016. – С. 12-13.

The search for genetic factors of predisposition to the Viliuisk encephalomyelitis / A. S. Zlobin, S. Zh. Sharapov, V. Gur'ev [et al.] // Viliuisk encephalomyelitis and other neurodegenerative diseases: modern issues etiology and pathogenesis: abstracts book V International Scientific Conference. – Yakutsk: Alaas, 2016. – P. 13-14.

6. Соотношение наследственности и средовых факторов в этиологии виллюйского энцефаломиелита. Сообщ. 2. Популяционно-генетические исследования в районах распространения виллюйского энцефаломиелита / Л.Г. Гольдфарб, В.А. Спицын, Н.И. Федорова [и др.] // Генетика. – 1979. – №8. – С. 1513-1521.

Correlation of hereditary and environmental factors in etiology of Viliuisk encephalomyelitis. Report 2. Population genetic study in regions spreading Viliuisk encephalomyelitis / L.G. Goldfarb, V.A. Spitsyn, N.I. Fedorova [et al.] // Genetika [Genetics]. – 1979. – №8. – P. 1513-1521.

7. Фефелова В.В. Изучение распределения генетических маркеров системы HLA в связи с проблемой виллюйского энцефалита / В.В. Фефелова, Т.Я. Николаева, В.А. Владимировцев // Виллюйский энцефаломиелит = Viliuisk encephalomyelitis: Матер. I междунар. науч.-практ. конф. / Под. ред. Д.К. Гайдусака, В.П. Алексеева; Ин-т здоровья Акад. наук РС(Я) и др. – Якутск, 1996. – С. 122-123.

Fefelova V.V. Study of distribution of HLA genetic markers in connection with problem of Viliuisk encephalitis / V.V. Fefelova, T.Ya. Nikolaeva, V.A. Vladimirtsev // Viliuisk encephalomyelitis: Abstracts of I International Scientific Conference / Editors: D.C. Gajdusek, V.P. Alexeev; Institute of health, Academy of science of Republic Sakha (Yakutia) – Yakutsk, 1996. – P. 122-123.

8. Evaluating the association and transmission of eight inflammatory genes with Viliuisk encephalomyelitis susceptibility / T.K. Oleksyk, L.G. Goldfarb, T.M. Sivtseva [et.al.] // Eur J Immunogenet. – 2004. – №31. – P. 121–128.

9. High frequency of HLA DQA1*01301 in Yakut: no correlation with IDDM incidence / I.V. Mersynova, V.L. Osakovsky, Y.A. Knyasev [et al.] // Diabetologia. – 1995. – Vol. 38, 6. – P. 749-750.