

На правах рукописи

ЛУНЕВ КОНСТАНТИН ВАЛЕРЬЕВИЧ

**Статус витамина D у больных рассеянным склерозом:
связь с инсоляцией, генетическими и клиническими особенностями**

3.1.24. Неврология (медицинские науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Барнаул – 2023

Работа выполнена на кафедре неврологии и нейрохирургии с курсом ДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Смагина Инна Вадимовна – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Бойко Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии с курсом медицинской генетики лечебного факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор Института клинической Неврологии и руководитель отдела нейроиммунологии Федерального центра мозга и нейротехнологий (ФЦМН) ФГБУ ФМБА России, руководитель Московского центра рассеянного склероза

Бисага Геннадий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры неврологии с клиникой лечебного факультета Института медицинского образования федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__»_____2023 г. в__ часов на заседании совета по защите диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 21.2.050.04 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022 Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8, тел. 8(812)3387104, e-mail: usovet@spb-gmu.ru) в зале заседаний Ученого Совета.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России и на сайте 1spb-gmu.ru.

Автореферат разослан: «__»_____2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Беляева Ольга Дмитриевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Рассеянный склероз (РС) – мультифакторное хроническое заболевание с иммунновоспалительным и нейродегенеративным поражением центральной нервной системы, которое ведет к инвалидизации пациентов, нередко в молодом, трудоспособном возрасте (Т.Е. Шмидт, Н.Н. Яхно, 2016; А.Н. Бойко, Е.И. Гусев, 2017). Для РС характерна межиндивидуальная вариативность клинического течения, которая проявляется различиями частоты обострений и темпов прогрессирования неврологических расстройств (Клинические рекомендации «Рассеянный склероз», 2022).

В последние годы в качестве одного из факторов риска и неблагоприятного течения РС рассматривается дефицит/недостаточность витамина D - стероидного гормона с многоэтапным метаболизмом и плейотропными эффектами (С. Pierrot-Deseilligny, J. Souberbielle, 2017; I. Zahoor, E. Naq, 2017; A. Miclea et al., 2020). В разных популяциях больных РС распространенность дефицита/недостаточности витамина D, выявляемого по уровню в крови 25-гидрокси-витамина D (25(OH)D), варьирует от 17 до 87% (I.A. Mei et al., 2007). Предполагается, что при гиповитаминозе D характерные для РС иммунопатологические реакции могут усиливаться из-за ослабления иммуномодулирующего влияния биологически активной формы этого витамина – кальцитриола на T- и B-лимфоциты, дендритные клетки (W. Dankers, et al., 2017; X. Cui et al., 2017; G. Bivona et al., 2018; H. Yong et al., 2018).

Причины и механизмы развития дефицита/недостаточности витамина D у больных РС окончательно не установлены. Гипотетически, это состояние может быть следствием нарушения разных этапов обмена витамина D: ослабления биосинтеза витамина из-за недостаточности естественного ультрафиолетового облучения кожи, сниженной скорости превращения витамина D в биологически активные метаболиты и, напротив, ускоренной инактивации кальцитриола и/или предшественников этой гормонально активной формы витамина D, особенностей рецепции кальцитриола, а также рациона питания (E.M. Brouwer-Brolsma et al., 2016; P. Riccio et al., 2018; E.A. Yamamoto et al., 2020; M. Ghareghani et al., 2018).

До 65% вариаций содержания 25(OH)D в сыворотке крови могут объясняться генетическим фоном (A.I. Ruiz-Ballesteros et al., 2018). В свою очередь, около 90% генетической изменчивости статуса витамина D (обеспеченности организма витамином D) обусловлено однонуклеотидными полиморфизмами генов ферментов метаболизма этого витамина –

25-гидроксилазы (rs10751657 *CYP2R1*), 1 α -гидроксилазы (rs10877012 *CYP27B1*), и рецепторов витамина D (*VDR*) - FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236) (A.I. Ruiz-Ballesteros et al., 2020). Вместе с тем данные популяционных исследований по ассоциации отдельных из этих генетических полиморфизмов с РС, а также со статусом витамина D больных РС не позволяют сделать доказательных заключений (B. Szili et al., 2018; A.I. Ruiz-Ballesteros et al., 2020; A. Martinez-Hernandez et al., 2021; L. Agnello et al., 2022).

В связи с этим, можно полагать, что вклад отдельных факторов в формирование дефицита/недостаточности витамина D и, возможно, связанных с этим риска и особенностей клинического течения РС как мультифакторного заболевания, может быть неодинаков в разных условиях внешней среды и генофонда населения. Поэтому для окончательных выводов по всему комплексу этих вопросов актуально дальнейшее накопление и последующая систематизация данных о внешних факторах и маркерах генетического риска недостаточности витамина D и их связи с риском развития, течением РС в разных популяциях больных РС с учетом региональных особенностей инсоляции.

Степень разработанности темы исследования

Продолжается дискуссия о том, насколько бóльшая распространенность дефицита/недостаточности витамина D среди больных РС по сравнению с лицами, не страдающими этим заболеванием, связана с уменьшением получения естественного ультрафиолетового излучения из-за ограниченной физической активности (R. Dobson et al., 2013; F.M. Alharbi, 2015; J.R. Behrens et al., 2016).

Анализ результатов немногочисленных и разных по дизайну исследований связи течения РС с уровнем 25(OH)D в крови пациентов не позволяет сделать однозначного заключения. В отдельных работах показано, что низкие уровни 25(OH)D в плазме крови пациентов коррелируют с более высокой активностью РС (S. Simpson et al., 2010; E.M. Mowry et al., 2012; T.F. Runia et al., 2012; S. Shahbeigi et al., 2013; E. Thouvenot et al., 2016; F.O. Kamel, 2019), тогда как метаанализ рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических исследований по изучению витамина D в качестве дополнительной терапии при РС не выявил воздействия витамина D на темпы инвалидизации, частоту рецидивов и радиологические признаки активности заболевания (V.A. Jagannath, 2018). Последнее подтверждается и более поздними исследованиями (R. Hupperts et al., 2019; J. Dorr et al., 2020).

В ряде работ показано, что полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки метаболизма витамина D, включая рецепторы и ферменты (*VDR*, *CYP27B1*, *CYP24A1*), ассоциированы с риском развития РС (С.А. Бабенко и соавт. 2008; G. Mamutse et al., 2008; S.M. Orton et al., 2011; S. Sawcer et al., 2011; International Multiple Sclerosis Genetics..., 2011; C. O’Gorman, et al., 2012). Вместе с тем имеются работы, отрицающие такую связь (J. Dickinson et al., 2009; J. Smolders et al., 2009; K.C. Simon et al., 2010). Также весьма противоречивы выводы авторов немногочисленных публикаций о связи особенностей течения РС с полиморфизмами генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D (S.V. Ramagoplan et al., 2011; C. Agliardi et al., 2011; J.H. Laursen et al., 2016).

В Алтайском крае ранее не проводились исследования статуса витамина D у больных РС, а также полиморфизмов генов ферментов метаболизма и рецепторов витамина D.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: выявить значимые в отношении риска и течения рассеянного склероза особенности статуса витамина D, полиморфизмы генов ферментов метаболизма и рецептора витамина D.

Задачи исследования:

1. оценить статус витамина D у больных РС и добровольцев, не имеющих этого заболевания;
2. провести анализ связи статуса витамина D с особенностями течения РС;
3. исследовать связь статуса витамина D с негенетическими факторами, способными влиять на метаболизм витамина D – инсоляцией, возрастом, индексом массы тела – у больных РС и добровольцев, не имеющих этого заболевания;
4. исследовать ассоциации полиморфизмов генов *CYP27B1* и *CYP24A1*, *VDR* с уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови больных РС, риском развития и особенностями течения РС.

Научная новизна исследования

Впервые показано, что различия по уровню 25(ОН)D в сыворотке крови больных РС и лиц, не имеющих этого заболевания, сохраняются на фоне сезонного варьирования инсоляции в Алтайском крае и не связаны с проживанием в городской или сельской местности, возрастом, особенностями двигательной активности, лечением препаратами, изменяющими течение РС.

Впервые установлено, что повышенный риск неадекватного статуса (дефицита/недостаточности) витамина D у европеоидов Алтайского края связан

с GA генотипом *CYP24A1* (rs2248359) и не связан с полиморфизмами *CYP27B1* (rs703842), *VDR FokI* (rs2228570), *BSMI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236), *ApaI* (rs7975232).

Повышенный риск развития РС у европеоидов, проживающих на территории Алтайского края, ассоциирован с TC генотипом *CYP27B1* (rs703842). У больных ремиттирующим РС впервые выявлен протективный эффект TT генотипа *VDR FokI* (rs2228570) в отношении риска высокой скорости прогрессирования неврологических расстройств и TT генотипа *VDR TaqI* (rs731236) относительно обострений заболевания чаще одного раза в год.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты работы указывают на вклад полиморфизма *CYP27B1* (rs703842) в риск развития РС, полиморфизмов *VDR FokI* (rs2228570) и *TaqI* (rs731236) в особенности течения РС. Это дополняет представления о факторах риска РС, позволяет уточнить патогенез этого заболевания в части механизмов межиндивидуального варьирования темпов инвалидизации и частоты обострений.

Установление высокой распространенности дефицита/недостаточности витамина D у больных РС, ассоциаций полиморфизмов генов ферментов метаболизма и рецепторов витамина D с активностью и прогрессированием РС обосновывает включение оценки статуса витамина D в алгоритмы персонализированного прогнозирования течения РС и определения тактики ведения пациента с РС.

Методология и методы исследования

Гипотеза сформулирована на основе анализа научных публикаций по теме работы. В соответствии с целью и задачами работы использована программа наблюдательного одномоментного контролируемого исследования. Результаты работы получены с применением комплекса методов, включающих клиническое, инструментальное обследование, анкетный опрос, ретроспективный анализ медицинской документации, измерение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови, генотипирование. Выводы сформулированы на основе статистически-вероятностного метода анализа полученных данных.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных рассеянным склерозом в Алтайском крае чаще, чем у лиц, не имеющих данного заболевания, встречается неадекватный уровень 25(OH)D в сыворотке крови вне зависимости от сезонного варьирования инсоляции, температуры воздуха, проживания в городской или сельской местности.

2. Риск уровня 25(OH)D в сыворотке крови ниже адекватного у европеоидов в Алтайском крае повышен при носительстве GA генотипа *CYP24A1* (rs2248359).
3. Риск развития рассеянного склероза увеличивает носительство TC генотипа *CYP27B1* (rs703842).

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Результаты исследования получены на достаточных объемах выборок с использованием соответствующих задачам методов клинического, опросного, инструментального, лабораторного, генетического обследования участников исследования, статистического анализа. Выводы вытекают из результатов исследования.

Диссертация апробирована и рекомендована к защите кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом ДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях («Современная медицинская наука достижения и перспективы», Барнаул, 2018, 2020; «Аутоиммунные заболевания нервной системы – от диагноза к терапии», Новосибирск, 2019; «Актуальные вопросы неврологии и нейрохирургии», Томск, 2020) и на 4-ом конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза с международным участием («Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания», Нижний Новгород, 2021).

Личный вклад автора

Автором лично проведены анализ литературы по теме работы, диагностическое клиническое обследование и ведение больных РС на базе неврологического отделения Краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул), анкетный опрос участников исследования, взятие биоматериала для лабораторных исследований, статистический анализ и интерпретация результатов исследования. По результатам работы с участием автора подготовлены публикации, самостоятельно представлены автором доклады на конференциях, конгрессах и заседаниях.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Результаты исследования внедрены в практику оказания медицинской помощи больным РС в краевом государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул) и в центре демиелинизирующих заболеваний на базе ООО «Профимед» (г. Барнаул). Основные положения диссертационной работы используются в образовательном процессе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме исследования

По теме диссертации опубликовано 5 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура и диссертации

Диссертация изложена на 111 страницах и состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием материалов и методов, результатами собственных исследований и их обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций. Список литературы содержит 240 источников, из которых зарубежных публикаций 214. Работа иллюстрирована одним рисунком и 23 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Климат и инсоляция на территории проживания участников исследования. Алтайский край расположен на юго-востоке Западной Сибири в пределах 49–54° северной широты и 78–87° восточной долготы. Климат умеренный резко континентальный. Средние максимальные температуры июля +26–28° С, средние минимальные температуры января 20–24° С. Безморозный период – около 120 дней в году (В. Т. Мищенко и соавт., 1999). Край характеризуется средней длительностью периода солнечного сияния и биологически активной ультрафиолетовой радиации (Н. Е Чубарова, Е.Ю. Жданова, 2012). Продолжительность солнечного сияния составляет 79–91 день в году (Н.Ф. Харламова и соавт., 2011). Условия бóльшей континентальности и меньшего числа пасмурных дней в крае относительно районов европейской территории России тех же широт способствуют

получению бóльшего количества солнечного света и тепла (Ю. В. Козырева, Н. В. Рыгалова, 2014). Суммарная годовая солнечная радиация при ясном небе составляет 100–140 ккал/см² с максимумом в июне и минимумом в декабре, атмосферное влияние может снижать годовую солнечную радиацию на 35–45% (Ю.В. Козырева, Н.В. Рыгалова, 2014).

Эпидемиология рассеянного склероза на территории проживания участников исследования. Алтайский край является зоной высокого риска РС. Распространенность РС в крае увеличилась с 41,2 до 56,3 больных на 100000 населения с 2009 года к 2017 году, заболеваемость РС возросла с $1,1 \pm 0,3$ до $2,6 \pm 0,5$ случаев на 100000 населения с 1998-2009 гг. к 2010-2017 гг. На 01.01.2018 года в крае зарегистрировано 1322 больных РС, из них 99,2% – европеоиды. Средний возраст больных РС – $35,4 \pm 9,9$ лет, средний возраст дебюта заболевания около 30 лет; у 73% больных РС ремиттирующий тип течения (И.В. Смагина и соавт., 2019).

Дизайн, этика и участники исследования. Тип исследования – одномоментное наблюдательное (наблюдательное) контролируемое исследование. Критерии включения больных РС: ремиттирующий тип течения, стадия ремиссии. Критерии невключения в исследование: прием препаратов витамина D или его активных метаболитов независимо от дозы на протяжении трех месяцев до включения в исследование; любые хронические заболеваниями желудочно-кишечного тракта, почек из-за их потенциальной способности приводить к нарушению метаболизма витамина D; аутоиммунные заболевания помимо РС. Дополнительные критерии невключения в исследование больных РС: давность последнего связанного с обострением РС курса лечения препаратами глюкокортикоидов менее шести месяцев; связанные с РС неврологические расстройства более 6,5 баллов по расширенной шкале инвалидизации (Expanded Disability Status Scale, EDSS), ограничивающие двигательную активность.

Включение участников в исследование проводили с 28.09.2017 г. по 21.11.2018 г. Включение больных РС проводили методом случайной выборки из числа больных ремиттирующим РС, зарегистрированных в локальном реестре Алтайского края. Численность и характеристика групп участников исследования приведены в Таблице 1.

Длительность лечения больных РС указанными в Таблице 1 препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС), на момент включения в исследование была не менее двух лет. Оценку выраженности неврологических расстройств проводили не ранее, чем через шесть месяцев после последнего обострения.

Таблица 1 – Характеристика групп участников исследования

Показатель	Группа РС n=90	Группа контроля n=87	Значимость различий, p
Возраст, годы (M±SD)	34,8±8,4 от 15 до 60, медиана 35,5	34,6±12,2 от 19 до 63, медиана 32,0	0,269
Пол, мужчины: женщины	36:54	41:46	0,364
Возраст дебюта заболевания, годы (M±SD)	28,3±8,0		
Длительность заболевания, годы (M±SD)	6,8±6,4		
EDSS, баллы (M±SD)	1,9±1,3		
Количество пациентов, получающих лекарственные препараты для лечения РС (абс., %)			
Препараты, изменяющие течение РС:	60 (66,7)		
Глатирамера ацетат	10 (11,1)		
Интерферон бета-1a	27 (30,0)		
Интерферон бета-1b	7 (7,8)		
Натализумаб	14 (15,6)		
Терифлуноמיד	2 (2,2)		
Препараты, не относимые к препаратам, изменяющим течение РС	30 (33,3)		

Исследование разрешено этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Все участники исследования дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Методы исследования. Диагностику РС проводили по критериям McDonald в редакции 2010 года (С.Н. Polman et al., 2010). Тяжесть клинического состояния и степень инвалидизации определяли по шкале Куртцке (J.F. Kurtzke, 1983), включающей оценку восьми функциональных систем и расширенную шкалу инвалидизации (EDSS).

Неврологический статус оценивали на основании стандартного клинического осмотра пациентов. Скорость прогрессирования РС рассчитывали как отношение баллов EDSS на момент обследования к длительности болезни. Скорость прогрессирования расценивали как медленную при увеличении EDSS на 0,25 баллов в год и менее, как умеренную при нарастании EDSS на 0,25-0,75 баллов в год, как высокую при увеличении EDSS на более 0,75 баллов в год.

Магнитно-резонансную томографию головного и спинного мозга проводили на томографе Impact (Siemens-Magnetom, ФРГ) с величиной магнитной индукции 1,5 Тесла в режимах визуализации T1, T2, T2-Flair. Для контрастирования изображений внутривенно вводили препарат «Гадовист» (Bayer, AG; ФРГ) в дозе от 0,1 до 0,3 ммоль/кг массы тела.

Данные о сопутствующих заболеваниях участников исследования, длительности, особенностях дебюта и течения РС получали из персональной медицинской документации (амбулаторной карты, истории болезни). Сведения о факторах, потенциально влияющих на статус витамина D, получали методом опроса по анкете, включающей вопросы о типе питания (вегетарианский, мясной, смешанный) в детстве и в настоящее время; длительности пребывания на открытом воздухе в последние 10 дней, шесть месяцев; приеме препаратов витаминов в течение последнего года и в настоящее время.

Классификацию статуса витамина D (выраженный дефицит, дефицит, недостаточность, оптимальные уровни) по концентрации 25(OH)D проводили в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов (Е.А. Пигарова и соавт., 2016).

Данные о среднемесячных уровнях инсоляции в Алтайском крае получены с сайта Национального управления по аэронавтике и исследованию космического пространства США (доступно в интернете <https://eosweb.larc.nasa.gov> по состоянию на 09.09.2023 г.) с последующими расчетами суммарных значений уровня инсоляции за оцениваемый период времени (период года, период внутриутробного развития).

Степень ожирения определяли по индексу массы тела (ИМТ) в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения: ИМТ 18,5–24,9 кг/м² – нормальный вес; ИМТ 25,0–29,9 кг/м² – избыточный вес; ИМТ 30,0–34,9 кг/м² – ожирение I степени; ИМТ: 35,0–39,9 кг/м² – ожирение II степени; ИМТ \geq 40,0 кг/м² – ожирение III степени (World Health Organization ..., 2011).

Концентрацию 25(OH)D в сыворотке венозной крови измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием и по протоколам наборов реагентов производства Euroimmun AG (ФРГ) в лаборатории краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Диагностический центр Алтайского края» (г. Барнаул) с использованием фотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Исследованы полиморфизмы генов: *CYP27B1*, кодирующего 25-гидроксивитамин D-1 альфа-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 27 подсемейство В член 1); *CYP24A1*, кодирующего 1,25-

дигидроксивитамин D(3) 24-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 24 подсемейство A член 1); *VDR*, кодирующего рецептор витамина D3 (рецептор 1,25-дигидроксивитамина D3). Выбор для исследования однонуклеотидных полиморфизмов указанных генов был основан на сведениях об их ассоциации с РС и/или нарушениями статуса витамина D в базе данных Национального центра биотехнологической информации США (National Center for Biotechnological Information, NCBI, доступно в интернете <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> по состоянию на 09.09.2023).

Для исследования полиморфизмов ДНК выделяли из венозной крови стандартной процедурой, включающей отделение и лизирование клеток крови с последующим гидролизом белков протеиназой K, очисткой ДНК фенол-хлороформом с осаждением этанолом. Генотипирование выполняли методом TaqMan-зондов на амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США). Генетические исследования выполнены совместно с сотрудниками Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

Методы статистического анализа. Статистический анализ результатов исследования проводили в программе Statistica 13.0 (Stat. Soft, Inc., США) и в программе DeFinetti на сайте Института генетики человека (Мюнхен, ФРГ) (доступно в интернете <https://ihg.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl> по состоянию на 27.11.2022 г.), с применением методов, критериев, указанных в Таблице 2.

Таблица 2 – Методы статистического анализа

Задача анализа	Критерий, метод
Межгрупповые различия переменных:	
количественных двух независимых групп	U-критерий Манна-Уитни
количественных трех и более независимых групп	H-критерий Краскела-Уоллиса
категорийных	Двухсторонний точный критерий Фишера
Корреляции переменных	Спирмена коэффициент корреляции (r_s)
Отношение шансов (ОШ)	Логистическая регрессия
Соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга	Chi-квадрат критерий

Соответствие нормальному распределению количественных переменных оценивали по критерию Колмогорова-Смирнова, W-критерию Шапиро-Уилка. Критический уровень значимости $p < 0,05$ принят для всех примененных статистических критериев. Для количественных переменных результаты

представлены в виде выборочного среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (\pm SD), 95% доверительного интервала (95%ДИ).

Результаты исследования и обсуждение

Статус витамина D у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания. Общеизвестно, что обеспеченность организма витамином D (статус витамина D) наиболее точно характеризует уровень 25(OH)D в плазме (сыворотке) крови (G. Vivona et al., 2019; S. Piz et al., 2019). Результаты исследования показали, что уровень этого метаболита витамина D в сыворотке крови ниже у больных РС по сравнению с добровольцами, не имеющими этого заболевания (группа контроля) (Таблица 3).

Таблица 3 – Концентрация 25(OH)D в сыворотке крови в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе, нг/мл

Группа/подгруппа		Группа РС	Группа контроля	Значимость различий, p
1	Все участники	26,1 \pm 6,9 n=90	33,4 \pm 8,9 n=87	<0,001
2	Мужчины	25,1 \pm 6,5 n=36	34,2 \pm 8,6 n=41	<0,001
3	Женщины	26,8 \pm 7,2 n=54 p ₂₋₃ =0,367	32,6 \pm 9,2 n=46 p ₂₋₃ =0,361	0,001

Уровень 25(OH)D ниже как у мужчин, так у женщин, страдающих РС, относительно аналогичных подгрупп контроля. Ни в одной из групп участников исследования не найдено различий между мужчинами и женщинами по концентрации 25(OH)D (см. Таблица 3).

Критерии недостаточности/дефицита витамина D не являются едиными для всех стран (M. S. Matsui et al., 2020). Для сравнимости результатов исследования с данными по России были использованы критерии обеспеченности витамином D, рекомендованные эндокринологами России (Е.А. Пигарова и соавт., 2016). По этим критериям неадекватный уровень 25(OH)D, соответствующий дефициту или недостаточности витамина D, у больных РС регистрировался примерно в 2 раза чаще (у 72,2%), чем в контроле (у 36,8%) (Таблица 4).

Как показал логистический регрессионный анализ, РС ассоциирован с обеспеченностью витамином D ниже адекватного уровня (ОШ 4,31; 95%ДИ 2,29–8,12; p<0,001).

Таблица 4 – Распределение больных рассеянным склерозом и участников исследования контрольной группы по статусу витамина D

Статус витамина D	Концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови, нг/мл	Группа РС, абс. (%)	Группа контроля, абс. (%)	Значимость различий, p
Выраженный дефицит	<10	Не выявлено	Не выявлено	
Дефицит	10-20	17 (18,9)	7 (8,0)	0,029
Недостаточность	20-30	48 (53,3)	25 (28,8)	<0,001
Адекватный уровень	>30	25 (27,8)	55 (63,2)	<0,001

Это согласуется с данными о широкой распространенности дефицита/недостаточности витамина D в популяциях больных РС, проживающих на других территориях (И. А. Шмони́на и соавт., 2015; R.M. Lucas et al., 2015; W. Broła et al., 2016; J. Becker et al., 2016; C. Pierrot-Deseilligny et al., 2017).

Одномоментный характер наблюдательного исследования не позволяет экстраполировать недостаточность витамина D, выявленную уже в период течения РС, на статус пациентов по этому витамину в предшествующий заболеванию период. Вместе с тем с учетом результатов проспективных эпидемиологических исследований (K.L. Munger et al., 2004; A. Chaudury, 2005; K.L. Munger et al., 2006) связь риска РС в Алтайском крае с недостаточной обеспеченностью витамином D представляется вероятной.

Связь статуса витамина D с особенностями течения рассеянного склероза. Данные ряда исследований позволяют предположить, что недостаточная обеспеченность витамином D может быть не только фактором риска РС, но и фактором, влияющим на активность и прогрессирование этого заболевания (K.C. Fitzgerald et al., 2015; J. Smolders et al., 2019, J. Feige et al., 2020). Поэтому был проведен анализ корреляций концентрации 25(ОН)D в сыворотке крови с клиническими характеристиками течения РС. Результаты анализа не выявили значимых связей уровня 25(ОН)D ни с одним из показателей течения РС у обследованных больных (Таблица 5).

При анализе в подгруппах мужчин и женщин также не было обнаружено связи уровня 25(ОН)D с возрастом дебюта ($p=0,647$ и $p=0,301$, соответственно), длительностью первой ремиссии РС ($p=0,322$ и $p=0,632$, соответственно), выраженностью неврологических расстройств на момент обследования ($p=0,402$ и $p=0,317$, соответственно) и оцененными ретроспективно скоростью прогрессирования ($p=0,728$ и $p=0,751$, соответственно), частотой обострений заболевания ($p=0,371$ и $p=0,758$, соответственно).

Таблица 5 – Корреляция концентрации 25(ОН)D с клиническими характеристиками течения рассеянного склероза (n=90)

Клиническая характеристика течения РС	Коэффициент корреляции Спирмена	Значимость, р
Возраст дебюта заболевания, годы	-0,07	0,497
Длительность первой ремиссии, мес	0,11	0,368
Длительность заболевания, годы	0,14	0,180
Выраженность неврологических расстройств по EDSS, баллы	0,13	0,226
Скорость прогрессирования, баллы/год	-0,04	0,725
Частота обострений, количество обострений/год	0,02	0,860

Связь статуса витамина D с негенетическими факторами, влияющими на метаболизм витамина D, у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания. Для установления причин недостаточной обеспеченности больных РС витамином D проведена оценка связей концентрации 25(ОН)D в крови с негенетическими факторами, потенциально влияющими на синтез и метаболизм витамина D: инсоляцией, возрастом, ожирением. Рассчитаны среднемесячные значения суммарной солнечной радиации и выделены два календарных периода – с высокой (с апреля по сентябрь) и низкой (с октября по март) инсоляцией в Алтайском крае. Концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови в период высокой инсоляции была выше, чем в период низкой инсоляции, как у больных РС, так и в контрольной группе при сохранении межгрупповых различий (Таблица 6).

Таблица 6 – Концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе в периоды года с разными уровнями инсоляции

Период года	Суммарная солнечная радиация, кВт·ч/м ² в сутки	Концентрация 25(ОН)D, нг/мл		Значимость различий, р
		Группа РС	Группа контроля	
1 Апрель – сентябрь	4,89±1,02	28,4±5,9 n=39	39,6±4,0 n=27	<0,001
2 Октябрь – март	1,54±0,89 p ₁₋₂ =0,002	24,4±7,2 n=51 p ₁₋₂ =0,005	30,6±9,1 n=60 p ₁₋₂ <0,001	<0,001

Более высокие уровни 25(ОН)D в сыворотке крови в период года с высокой инсоляцией по сравнению с периодом с низкой инсоляцией, вероятно, отражают более интенсивное стимулирующее воздействие потока солнечной радиации на биосинтез витамина D₃ в коже. Отметим, что в выделенный период низкой инсоляции (октябрь-март) меньшее получение солнечной

радиации может быть связано и с относительно низкими температурами в Алтайском крае, которые обуславливают сокращение времени пребывания на открытом воздухе и уменьшение открытости поверхности тела по сравнению с периодом высокой инсоляции.

По данным опроса участников исследования не найдено различий между группами по времени пребывания на открытом для солнечного излучения пространстве на протяжении шести месяцев, предшествовавших исследованию ($2,6 \pm 1,7$ и $2,9 \pm 2,0$ часов в сутки в группе больных РС и в группе контроля, соответственно; $p=0,200$).

В отдельных публикациях сообщалось о связи РС с суммарной солнечной радиацией, полученной в период внутриутробного развития, что, гипотетически объясняют опосредованным влиянием инсоляции на формирование особенностей иммунореактивности, проявляющихся уже после рождения (R. Dobson et al., 2013; L.K. Pourshahidi, 2015). Однако по результатам систематического обзора и метаанализа доказательств наличия такой связи недостаточно (L.K. Pourshahidi, 2015).

Проведенный в исследовании анализ показал, что суммарная солнечная радиация, полученная в период внутриутробного развития, была меньше у родившихся с апреля по ноябрь по сравнению с родившимися с декабря по март ($24,9$; 95%ДИ $21,6-29,5$ и $35,2$; 95%ДИ $33,0-36,1$ кВт·ч/м² в сутки соответственно; $p=0,008$). При этом различий между группой больных РС и группой контроля по соотношению родившихся в эти периоды не найдено ($p=0,535$). Это позволяет с высокой вероятностью исключить влияние солнечной радиации, полученной в период внутриутробного развития, на формирование опосредованных влиянием кальцитриола особенностей иммунореактивности у обследованных больных РС.

Не найдено связи уровня 25(OH)D с особенностью эпидемиологии РС в Алтайском крае, о которой сообщалось ранее – бóльшей распространенностью РС в городах по сравнению с селами (И.В. Смагина и соавт., 2019), возможно, обусловленной загрязнением атмосферы городов выбросами промышленных предприятий и автомобильного транспорта. Это антропогенные экологические факторы могут, как известно, ослаблять солнечную радиацию в нижних слоях атмосферы (World Meteorological Organization..., 2003) и, таким образом, приводить к снижению стимулирующего влияния ультрафиолетового излучения на биосинтез витамина D в коже. Статус витамина D у сельских и городских жителей был сходным как в контрольной группе, так и в группе больных РС (Таблица 7).

Таблица 7 – Концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе, проживающих в городах и селах, нг/мл

	Место проживания	Группа РС	Группа контроля	Значимость различий, p
1	Город	26,6±6,3 n=57	32,9±9,2 n=74	<0,001
2	Село	25,4±8,0 n=33 p ₁₋₂ =0,151	36,3±6,3 n=13 p ₁₋₂ =0,234	<0,001

Сообщалось, что синтез витамина D снижается с возрастом за счет истощения эпидермиса и снижения содержания в нем исходного субстрата для синтеза этого витамина - 7-дегидрохолестерина (J. MacLaughlin, M.F. Holick 1985). Кроме того, имеются немногочисленные свидетельства того, что дефицит витамина D является распространенным явлением при ожирении (L.K. Pourshahidi, 2015), что, предположительно, может быть следствием трудно обратимой аккумуляции витамина D в адипоцитах и/или неясного пока механизма торможения образования активных метаболитов витамина D жировой тканью при ее избыточном накоплении (L.K. Pourshahidi, 2015). Поэтому нами проанализированы связи массы тела и возраста с уровнем 25(ОН)D в крови.

Группы участников исследования не различались по возрасту (34,8±8,4 и 34,6±12,2 года, соответственно; p=0,269) и по индексу массы тела (Таблица 8). Поэтому влияниями жировой ткани и возраста не может объясняться бóльшая распространенность неадекватного уровня витамина D среди больных РС по сравнению с лицами, не страдающими этим заболеванием.

Таблица 8 – Индекс массы тела в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе, кг/м²

	Группа/ подгруппа	Группа РС	Группа контроля	Значимость различий, p
1	Все участники	23,8±5,8 n=90	24,3±5,0 n=87	0,361
2	Мужчины	24,6±8,3 n=36	26,6±4,2 n=41	0,002
3	Женщины	23,2±3,4 n=54 p ₂₋₃ =0,618	22,2±4,7 n=46 p ₂₋₃ <0,001	0,040

Особенностью подгруппы мужчин контрольной группы по сравнению с другими обследованными подгруппами было превышение нормы индекса массы тела (18,5–24,9 кг/м²) до уровня избыточной массы тела (25,0–29,9 кг/м²).

При этом только в этой подгруппе уровень 25(ОН)D положительно коррелировал с индексом массы тела ($r_s=0,33$; $p=0,037$). Подобной связи не выявлено у женщин в группе контроля, также как у мужчин и женщин, страдающих РС ($r_s=-0,074$; $p=0,633$; $r_s=0,09$; $p=0,610$; $r_s=-0,20$; $p=0,140$ соответственно). Только в подгруппе мужчин контрольной группы обнаружена и положительная связь уровня 25(ОН)D с возрастом ($r_s=0,591$; $p<0,005$), которая отсутствовала у женщин этой группы ($r_s=0,112$; $p=0,463$), мужчин и женщин больных РС ($r_s=0,124$; $p=0,472$ и $r_s=-0,051$; $p=0,714$, соответственно).

Учитывая наличие положительной корреляции индекса массы тела с возрастом только в подгруппе мужчин контрольной группы ($r_s=0,39$; $p=0,012$), можно полагать, что в данном случае имеет место влияние связанного с возрастом ожирения на метаболизм витамина D. Возможно, влияние жировой ткани на статус витамина D проявляется лишь при избыточном накоплении этой ткани и может быть разнонаправленным при разных степенях ожирения.

По данным опроса рацион питания как больных РС, так и лиц контрольной группы был смешанным.

На момент оценки статуса витамина D часть принявших участие в исследовании больных РС проходила лечение ПИТРС, тогда как часть пациентов еще не получала ПИТРС по различным причинам (недавно выявленный РС и другие). Не выявлено различий по концентрации 25(ОН)D в сыворотке крови между подгруппами больных РС, получающих терапию разными ПИТРС, и не получающих лечения этими препаратами (H-критерий Краскела Уоллиса $H=1,71$; $p=0,888$; Таблица 9).

Таблица 9 – Концентрация 25(ОН)D в сыворотке крови у больных рассеянным склерозом, получающих терапию различными препаратами, нг/мл

Препарат	Количество больных РС, n	Концентрация 25(ОН)D
Препараты, изменяющие течение РС:		
Глатирамера ацетат	10	25,3±8,1
Интерферон бета-1a	27	27,8±7,0
Интерферон бета-1b	7	25,8±7,4
Натализумаб	14	25,5±8,1
Терифлуномид	2	27,8±2,3
Препараты, не относимые к препаратам, изменяющим течение РС	30	25,2±6,2

Ассоциация полиморфизмов генов *CYP27B1*, *CYP24A1*, *VDR* с уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови. Предполагается, что развитие дефицита/недостаточности витамина D при РС связано не только с внешними факторами, влияющими на синтез, поступление с пищей этого витамина (S. Christakos et al., 2016; R.C. Tuckey et al., 2019), но может быть фенотипическим проявлением генетически детерминированных особенностей ферментов метаболизма витамина D (S. Sawcer et al., 2011; F.M. Alharbi, 2015; S. Christakos, 2017), рецепции его активной формы – кальцитриола (A.I. Ruiz-Ballesteros et al., 2020). В связи с этим были оценены ассоциации уровня 25(ОН)D в сыворотке крови с полиморфизмами гена рецептора витамина D *VDR* – FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232), и с полиморфизмами генов ферментов метаболизма витамина D: фермента активации витамина D в митохондриях почек 1 α -гидроксилазы 25-ОН-холекальциферола – *CYP27B1* (rs703842); фермента окислительной инактивации 25(ОН)D и кальцитриола – *CYP24A1* (rs2248359).

Распределение генотипов исследованных полиморфизмов соответствовало распределению Харди-Вайнберга: p=0,191 для *CYP27B1* (rs703842); p=0,255 для *CYP24A1* (rs2248359); p=0,832 для *VDR* FokI (rs2228570); p=0,514 для BSMI (rs1544410); p=0,656 для TaqI (rs731236); p=1,00 для ApaI (rs7975232).

Не обнаружено различий по уровням 25(ОН)D в сыворотке крови между носителями разных генотипов полиморфизмов ферментов метаболизма витамина D – *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842), а также полиморфизмов гена рецептора витамина D *VDR* FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232). Между тем методом логистического регрессионного анализа выявлен повышенный риск дефицита/недостаточности витамина D (25(ОН)D 30 нг/мл и менее) у носителей GA генотипа *CYP24A1* (rs2248359) как в группе больных РС, так и в группе контроля, при отсутствии связи статуса витамина D с генотипами *CYP27B1* (rs703842) (Таблица 10).

Эта генетическая предрасположенность может проявляться повышенной экспрессией и/или активностью фермента *CYP24A1*, участвующего в окислительной инактивации как 25(ОН)D, так и кальцитриола. При этом маловероятно, что носительством GA генотипа *CYP24A1* (rs2248359) может объясняться большая распространенность дефицита/недостаточности витамина D среди больных РС, поскольку частоты этого генотипа в группе больных РС и в контрольной группе были сопоставимы (40,4% и 47,1%, соответственно; p=0,373).

Таблица 10 – Относительный риск дефицита/недостаточности витамина D в зависимости от генотипов *CYP24A1* (rs2248359), *CYP27B1* (rs703842) в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе

Генотип	Количество, генотипов абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Подгруппа 25(ОН)D 10-30 нг/мл	Подгруппа 25(ОН)D > 30 нг/мл		
<i>CYP24A1</i> (rs2248359) Группа РС				
	n=64	n=25		
GG	24 (37,5)	14 (56,0)	0,40 (0,15-1,05)	0,059
GA	31 (48,4)	5 (20,0)	3,76 (1,24-11,42)	0,018
AA	9 (14,1)	6 (24,0)	0,52 (0,16-1,67)	0,265
<i>CYP24A1</i> (rs2248359) Группа контроля				
	n=32	n=55		
GG	9 (28,1)	22 (40,0)	0,57 (0,22-1,48)	0,241
GA	21 (65,6)	20 (36,4)	3,25 (1,28-8,21)	0,012
AA	2 (6,3)	13 (23,6)	0,23 (0,05-1,15)	0,069
<i>CYP27B1</i> (rs703842) Группа РС				
	n=64	n=25		
TT	21 (32,8)	6 (24,0)	1,55 (0,53-4,51)	0,418
TC	35 (54,7)	15 (60,0)	0,80 (0,31-2,09)	0,650
CC	8 (12,5)	4 (16,0)	0,75 (0,20-2,81)	0,665
<i>CYP27B1</i> (rs703842) Группа контроля				
	n=32	n=55		
TT	13 (40,6)	29 (52,7)	0,61 (0,25-1,50)	0,277
TC	12 (37,5)	18 (32,7)	1,27 (0,50-3,23)	0,610
CC	7 (21,9)	8 (14,5)	1,58 (0,50-4,94)	0,429

При оценке связей сниженного уровня 25(ОН)D в крови участников исследования с полиморфизмами гена рецептора витамина D *VDR* выявлена только одна зависимость и только в группе контроля: СТ генотип *VDR* FokI (rs2228570) может оказывать протективное влияние в отношении развития дефицита/недостаточности витамина D (ОШ 0,40; 95%ДИ 0,16-1,00; p=0,042).

Ассоциация полиморфизмов генов *CYP27B1* и *CYP24A1*, *VDR* с риском и особенностями течения рассеянного склероза. Для оценки вероятности влияния полиморфизмов генов на предрасположенность к РС и течение этого заболевания в период, предшествующий включению пациентов в одномоментное исследование была проанализирована связь исследованных полиморфизмов генов с риском РС методом «случай-контроль», а также с

ретроспективно рассчитанными частотой обострений и скоростью прогрессирования неврологических расстройств у больных РС.

Логистическим регрессионным анализом установлено, что ТС генотип *CYP27B1* (rs703842) ассоциирован с повышенным риском РС, тогда как ТТ генотип этого полиморфизма имеет протективное влияние в отношении РС (Таблица 11).

Таблица 11 – Относительный риск рассеянного склероза в зависимости от генотипов генов ферментов метаболизма витамина D *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842)

Генотип	Количество носителей генотипов, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Группа РС	Группа контроля		
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)				
	n=89	n=87		
GG	38 (42,7)	31 (35,6)	1,35 (0,73-2,48)	0,338
GA	36 (40,4)	41 (47,1)	0,76 (0,42-1,39)	0,373
AA	15 (16,9)	15 (17,2)	0,97 (0,52-1,83)	0,932
<i>CYP27B1</i> (rs703842)				
	n=89	n=86		
ТТ	27 (30,3)	41 (47,7)	0,48 (0,26-0,89)	0,019
ТС	50 (56,2)	30 (34,9)	2,39 (1,29-4,42)	0,005
СС	12 (13,5)	15 (17,4)	0,74 (0,32-1,69)	0,470

Не найдено такого рода связей ни для одного из исследованных генотипов полиморфизма *CYP24A1* (rs2248359). Не найдено ассоциации риска РС ни с одним из исследованных полиморфизмов рецептора витамина D *VDR* (Таблица 12).

При анализе влияния исследованных полиморфизмов генов на риск неблагоприятного течения РС обнаружен протективный эффект ТТ генотипа *VDR* FokI (rs2228570) в отношении риска высокой скорости прогрессирования неврологических расстройств (отношение шансов 0,24; 95%ДИ 0,06-0,92; p=0,034), а также протективный эффект ТТ генотипа *VDR* TaqI (rs731236) относительно обострений РС чаще одного раза в год (ОШ 0,37; 95%ДИ 0,14-1,00; p=0,041).

Не найдено других ассоциаций исследованных полиморфизмов генов рецепторов и ферментов метаболизма витамина D с риском высокой скорости прогрессирования РС (нарастание EDSS более 0,75 баллов в год) или обострений заболевания чаще одного раза в год.

Обнаруженная в исследовании ассоциация полиморфизмов ТС и ТТ *CYP27B1* (rs703842) с РС указывает на вовлеченность этого полиморфизма в формирование генетически детерминированных особенностей метаболизма витамина D у больных РС на этапе превращений витамина D в кальцитриол.

Таблица 12 – Относительный риск рассеянного склероза в зависимости от генотипов гена рецептора витамина D *VDR* (rs2228570, rs1544410, rs731236, rs7975232)

Генотипы	Количество носителей генотипов, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Группа РС n=90	Группа контроля n=87		
<i>VDR FokI</i> (rs2228570)				
ТТ	17 (18,9)	18 (20,7)	0,89 (0,42-1,89)	0,764
СТ	46 (51,1)	44 (50,6)	1,02 (0,56-1,87)	0,944
СС	27 (30,0)	25 (28,7)	1,06 (0,55-2,04)	0,854
<i>VDR BSMI</i> (rs1544410)				
АА	15 (16,7)	17 (19,5)	0,82 (0,38-1,78)	0,620
GA	40 (44,4)	43 (49,4)	0,82 (0,45-1,48)	0,507
GG	35 (28,9)	27 (31,1)	1,41 (0,76-2,64)	0,274
<i>VDR TaqI</i> (rs731236)*				
СС	13 (14,4)	14 (16,3)	0,87 (0,38-1,99)	0,736
ТС	40 (44,4)	42 (48,8)	0,84 (0,46-1,52)	0,560
ТТ	37 (41,1)	30 (34,9)	1,30 (0,70-2,41)	0,396
<i>VDR ApaI</i> (rs7975232)				
GG	19 (21,1)	16 (18,4)	1,19 (0,56-2,51)	0,650
AG	44 (48,9)	42 (48,3)	1,02 (0,57-1,86)	0,935
AA	27 (30,0)	29 (33,3)	0,86 (0,45-1,63)	0,635

Примечание: * – группа контроля n=86.

Это согласуется с результатами многоцентрового полногеномного анализа ассоциаций с риском РС (International Multiple Sclerosis Genetics..., 2011) и ряда исследований в отдельных популяциях (K.C. Simon et al., 2011; J.C. Zhuang et al., 2015; T. Jiang et al., 2016). В то же время имеются сообщения об отсутствии ассоциаций РС с *CYP27B1* (rs703842) (K.S. Simon et al., 2010; V. Pytel et al., 2019).

ВЫВОДЫ

1. При сопоставимой длительности пребывания на открытом для солнечного излучения пространстве, сходного рациона питания у больных рассеянным склерозом в Алтайском крае в 2 раза чаще, чем у лиц, не имеющих данного заболевания, встречается неадекватный уровень 25(ОН)D в сыворотке крови, соответствующий дефициту или недостаточности витамина D.
2. Различия по уровню 25(ОН)D в сыворотке крови больных рассеянным склерозом и лиц, не имеющих этого заболевания, сохраняются при изменениях статуса витамина D в зависимости от сезонного варьирования инсоляции и не связаны с возрастом, индексом массы тела, проживанием в городской или сельской

местности, суммарной солнечной радиацией, полученной в период внутриутробного развития.

3. Уровень 25(ОН)D в сыворотке крови больных рассеянным склерозом не связан с возрастом дебюта, длительностью первой ремиссии заболевания, выраженностью неврологических расстройств на момент обследования, скоростью их прогрессирования, частотой обострений рассеянного склероза, а также с лечением препаратами, изменяющими течение рассеянного склероза (глатирамера ацетатом, интерфероном бета-1a, интерфероном бета-1b, натализумабом).
4. С повышенным риском уровня 25(ОН)D в сыворотке крови в диапазоне 10–30 нг/мл ассоциирован GA генотип *CYP24A1* (rs2248359) и не связаны полиморфизмы *CYP27B1* (rs703842), *VDR FokI* (rs2228570), *BSMI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236), *ApaI* (rs7975232).
5. С повышенным риском развития рассеянного склероза ассоциирован TC генотип *CYP27B1* (rs703842) и не связаны полиморфизмы *CYP24A1* (rs2248359), *VDR FokI* (rs2228570), *BSMI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236), *ApaI* (rs7975232).
6. У больных рассеянным склерозом протективный эффект имеют TT генотип *VDR FokI* (rs2228570) в отношении риска высокой скорости прогрессирования неврологических расстройств и TT генотип *VDR TaqI* (rs731236) относительно обострений заболевания чаще одного раза в год.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется мониторинг уровня 25(ОН)D в сыворотке крови у пациентов с ремиттирующим РС и коррекция дефицита/недостаточности витамина D при их выявлении препаратами этого витамина с учетом сезонного варьирования статуса витамина D и в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями.
2. При диагностике РС рекомендуется учитывать, что риск рассеянного склероза повышен у лиц-носителей TC генотипа полиморфизма гена 1 α -гидроксилазы 25-ОН-холекальциферола – *CYP27B1* (rs703842).
3. При определении тактики ведения пациента с РС рекомендуется учитывать, что протективный эффект в отношении риска высокой скорости прогрессирования неврологических расстройств имеет TT генотип *VDR FokI* (rs2228570), в отношении риска обострений заболевания чаще одного раза в год – TT генотип *VDR TaqI* (rs731236).

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

С учетом многофакторности статуса витамина D актуальны дальнейшее накопление и последующая систематизация данных о комплексе средовых и

генетических факторов, влияющих на гомеостаз витамина D, и их связи с течением РС в регионах с различной инсоляцией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Смагина, И.В. Статус витамина D и полиморфизмы генов рецепторов кальцитриола *VDR* (RS1544410, RS2228570) у больных рассеянным склерозом с дебютом заболевания в детском возрасте [Текст] / И.В. Смагина, Е.Ю. Ельчанинова, **К.В. Лунев**, О.Г. Симонова, Е.А. Назарчук // **Неврологический журнал**. – 2018. – Т. 23, № 3. – С. 138-143.
2. Смагина, И.В. Статус витамина D у больных рассеянным склерозом: связь с инсоляцией, течением болезни и полиморфизмом гена *HLA-DRB1* [Текст] / И.В. Смагина, **К.В. Лунев**, С.А. Ельчанинова // **Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика**. – 2020. – Т. 12, № 3. – С. 63-68.
3. Смагина, И.В. Ассоциация содержания витамина D с полиморфизмами генов *CYP27B1* и *CYP24A1* у больных рассеянным склерозом в Алтайском крае [Текст] / И.В. Смагина, **К.В. Лунев**, С.А. Ельчанинова // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова**. – 2020. – Т. 120, № 7-2. – С. 61-66.
4. Смагина, И.В. Связь полиморфизмов генов ферментов метаболизма витамина D с риском рассеянного склероза: пилотное исследование [Текст] / И.В. Смагина, **К.В. Лунев**, С.А. Ельчанинова, Е.Ю. Ельчанинова. // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова**. – 2021. – Т. 121, № 7-2. – С. 70-74.
5. Лунев, К.В. Связь особенностей течения рассеянного склероза с полиморфизмами гена рецептора кальцитриола *VDR* FokI (rs2228570), BSM1 (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232) [Текст] / **К.В. Лунев** // **Медицинский алфавит**. – 2023. – №.5 – С. 18-21.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИМТ	– индекс массы тела
ОШ	– отношение шансов
РС	– рассеянный склероз
<i>CYP27B1</i>	– ген, кодирующий 25-гидроксивитамин D-1 альфа-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 27 подсемейство В член 1)
<i>CYP24A1</i>	– ген, кодирующий 1,25-дигидроксивитамин D(3) 24-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 24 подсемейство А член 1)
EDSS	– расширенная шкала инвалидизации (Expanded Disability Status Scale)
M	– среднее арифметическое значение для выборки
r_s	– коэффициент корреляции Спирмена
SD	– стандартное отклонение
<i>VDR</i>	– ген, кодирующий рецептор витамина D3 (рецептор 1,25-дигидроксивитамина D3)
25(OH)D	– 25-гидрокси-витамин D
95%ДИ	– 95% доверительный интервал