

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

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)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор И.В. Смагина

Барнаул – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 СВЯЗЬ ВИТАМИНА D С РИСКОМ И ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	10
1.1 Метаболизм и иммуномодулирующие эффекты витамина D	11
1.1.1 Синтез, активация и инактивация витамина D	11
1.1.2 Иммуномодулирующие эффекты витамина D и механизмы их реализации	13
1.1.3 Факторы, влияющие на статус витамина D	16
1.1.4 Критерии обеспеченности организма витамином D	19
1.2 Витамин D и рассеянный склероз	20
1.2.1 Дефицит витамина D как фактор риска рассеянного склероза: эпидемиологические и генетические доказательства	20
1.2.2 Связь статуса витамина D, приема препаратов витамина D с течением рассеянного склероза	28
1.2.3 Связь полиморфизмов генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D, с течением рассеянного склероза	32
1.2.4 Гипотезы о патогенетических механизмах влияния дефицита витамина D при рассеянном склерозе	33
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1 Территориальные условия, в которых проведены исследования.....	36
2.1.1 Климат и инсоляция на территории проживания участников исследования	36
2.1.2 Эпидемиология рассеянного склероза на территории проживания участников исследования.....	37
2.2 Дизайн, этика и участники исследования	38

2.3 Методы исследования.....	40
2.4 Методы статистического анализа.....	44
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	45
3.1 Статус витамина D у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания.....	45
3.2 Связь статуса витамина D с особенностями течения рассеянного склероза.....	48
3.3 Связь статуса витамина D с негенетическими факторами, влияющими на метаболизм витамина D, у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания	50
3.4 Ассоциация полиморфизмов генов <i>CYP27B1</i> , <i>CYP24A1</i> , <i>VDR</i> с уровнем 25(ОН)D в сыворотке крови.....	60
3.5 Ассоциация полиморфизмов генов <i>CYP27B1</i> и <i>CYP24A1</i> , <i>VDR</i> с риском и особенностями течения рассеянного склероза.....	67
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	76
ВЫВОДЫ	82
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	84
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	85
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	86

ВВЕДЕНИЕ

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 [4, 16, 24]. Для РС характерна межиндивидуальная вариативность клинического течения, которая проявляется различиями частоты обострений и темпов прогрессирования неврологических расстройств [14].

В последние годы в качестве одного из факторов риска и неблагоприятного течения РС рассматривается дефицит/недостаточность витамина D – стероидного гормона с многоэтапным метаболизмом и плеiotропными эффектами [140, 169, 235]. 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% [139]. Предполагается, что при гиповитаминозе D характерные для РС иммунопатологические реакции могут усиливаться из-за ослабления иммуномодулирующего влияния биологически активной формы этого витамина – кальцитриола на Т- и В-лимфоциты, дендритные клетки [51, 69, 70, 233].

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 [54, 85, 181, 231].

До 65% вариаций содержания 25(OH)D в сыворотке крови могут объясняться генетическим фоном [184]. 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 кальцитриола (*VDR*) – FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236) [184]. 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 [31, 66, 130, 184, 209].

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 кальцитриола и их связи с риском и 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 [32, 45, 78].

Анализ результатов многочисленных и разных по дизайну исследований связи течения РС с модуляциями уровня 25(ОН)D в крови пациентов не позволяет сделать однозначного заключения. В отдельных работах показано, что низкие уровни 25(ОН)D в плазме крови пациентов коррелируют с более высокой клинической и радиологической активностью РС [112, 146, 185, 192, 196, 212], тогда как метаанализ рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических испытаний 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 [107]. Последнее подтверждается и более поздними контролируруемыми испытаниями [79, 103].

В ряде работ показано, что полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки метаболизма витамина D, включая рецепторы и ферменты (*VDR*, *CYP27B1*, *CYP24A1*), ассоциированы с риском РС [3, 105, 128, 155, 158, 190]. Вместе с тем имеются работы, отрицающие такую связь [74, 194, 200, 202]. Также весьма противоречивы выводы авторов немногочисленных публикаций о связи особенностей течения РС с полиморфизмами генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D [30, 119].

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

Цель и задачи диссертационной работы. Цель исследования: выявить значимые в отношении риска и течения рассеянного склероза особенности статуса витамина D, полиморфизмы генов ферментов метаболизма и рецепторов 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(OH)D в сыворотке крови больных РС, риском и особенностями течения РС.

Научная новизна. Впервые показано, что различия по уровню 25(OH)D в сыворотке крови больных РС и лиц, не имеющих этого заболевания, сохраняются

на фоне сезонного варьирования инсоляции, температуры воздуха 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 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 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 полиморфизмов *CYP27B1* в риск развития РС, полиморфизмов *VDR* 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 рассеянного склероза увеличивает носительство TC генотипа *CYP27B1* (rs703842).

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

Апробация диссертации. Диссертация апробирована и рекомендована к защите кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты работы были представлены в виде докладов на научно-практических конференциях («Современная медицинская наука достижения и перспективы», 2018, 2020; «Аутоиммунные заболевания нервной системы – от диагноза к терапии», 2019; «Актуальные вопросы неврологии и нейрохирургии», 2020) и на 4-ом конгрессе Российского комитета исследователей рассеянного склероза с международным участием («Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания», 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 ФГБОУ ВО «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, цитируемых в базах данных Scopus и RSCI.

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.

ГЛАВА 1

СВЯЗЬ ВИТАМИНА D С РИСКОМ И ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Диагностика и лечение рассеянного склероза (РС) является одной из актуальных проблем современной неврологии. Несмотря на существенные достижения последних десятилетий в области нейровизуализации, новых терапевтических подходов, связанных с внедрением в практику иммуномодулирующей и иммунореконструктивной фармакотерапии, РС остается заболеванием, которое существенно снижает качество жизни и приводит к инвалидизации людей молодого возраста [1, 4]. Ни один из применяемых в настоящее время методов лечения не излечивает эту болезнь, и многие аспекты патогенеза РС остаются неясными [239]. Поэтому взаимосвязи конвекционных и генетических факторов риска, особенности фенотипа, патогенез, фармакотерапия и фармакогенетика этого заболевания находятся в фокусе внимания неврологов, иммунологов, радиологов, генетиков и других специалистов [1, 4].

Все больше данных о том, что развитие и клиническое течение этого мультифакторного заболевания у лиц с генетической предрасположенностью связано с особенностями реакции иммунной системы на множество различных факторов. В числе этих факторов - вирусные инфекции, курение, избыточная масса тела, изменения в составе микробиоты кишечника [4, 13, 37, 47, 67, 99, 111, 156]. В последние годы интенсивно исследуется связь риска, клинических характеристик РС с обеспеченностью организма витамином D.

В обзоре представлены данные, касающиеся особенностей метаболизма и биологических функций витамина D, а также анализ данных о роли этого витамина в развитии и течении РС с учетом доказанных и предполагаемых эффектов.

1.1 Метаболизм и иммуномодулирующие эффекты витамина D

1.1.1 Синтез, активация и инактивация витамина D

В настоящее время витамин D рассматривается как стероидный гормон с многоэтапным метаболизмом и плейотропными эффектами [65, 72, 101, 207]. Наибольшую биологическую активность имеют две витаминные формы этого гормона - витамин D₂ (эргокальциферол) и витамин D₃ (холекальциферол) [6, 65, 101, 153, 207, 224]. Витамин D₂ синтезируется в растениях из стероида эргостерина под воздействием ультрафиолетового излучения в диапазоне длин волн от 290 до 315 нм [6, 65, 101, 153, 207, 224]. Витамин D₃ (холекальциферол), синтезируется в коже из 7-дегидрохолестерола также как витамин D₂ под воздействием ультрафиолетового излучения и поступает с пищей в составе продуктов животного происхождения [6, 65, 101, 153, 207, 224].

Роль эндогенного биосинтеза более значима в обеспечении организма человека витамина D, чем поступление этого витамина с пищей. За счет этого процесса удовлетворяется примерно 80% потребности организма в витамине D [59].

Каскад биотрансформации витамина D сложен и включает два ключевых процесса гидроксилирования ферментами семейства цитохрома P450 (CYP), результатом которых является возрастание биологической активности [100] (Рисунок 1).

Первое гидроксилирование происходит в митохондриях и эндоплазматической сети гепатоцитов, где при участии 25-гидроксилаз CYP2R1 и CYP27A1 в результате присоединения OH-группы витамин D₃ преобразуется в кальцидиол (25-гидроксивитамин D, 25(OH)D) [100, 216]. Кальцидиол является основной циркулирующей в крови формой витамина D [216].

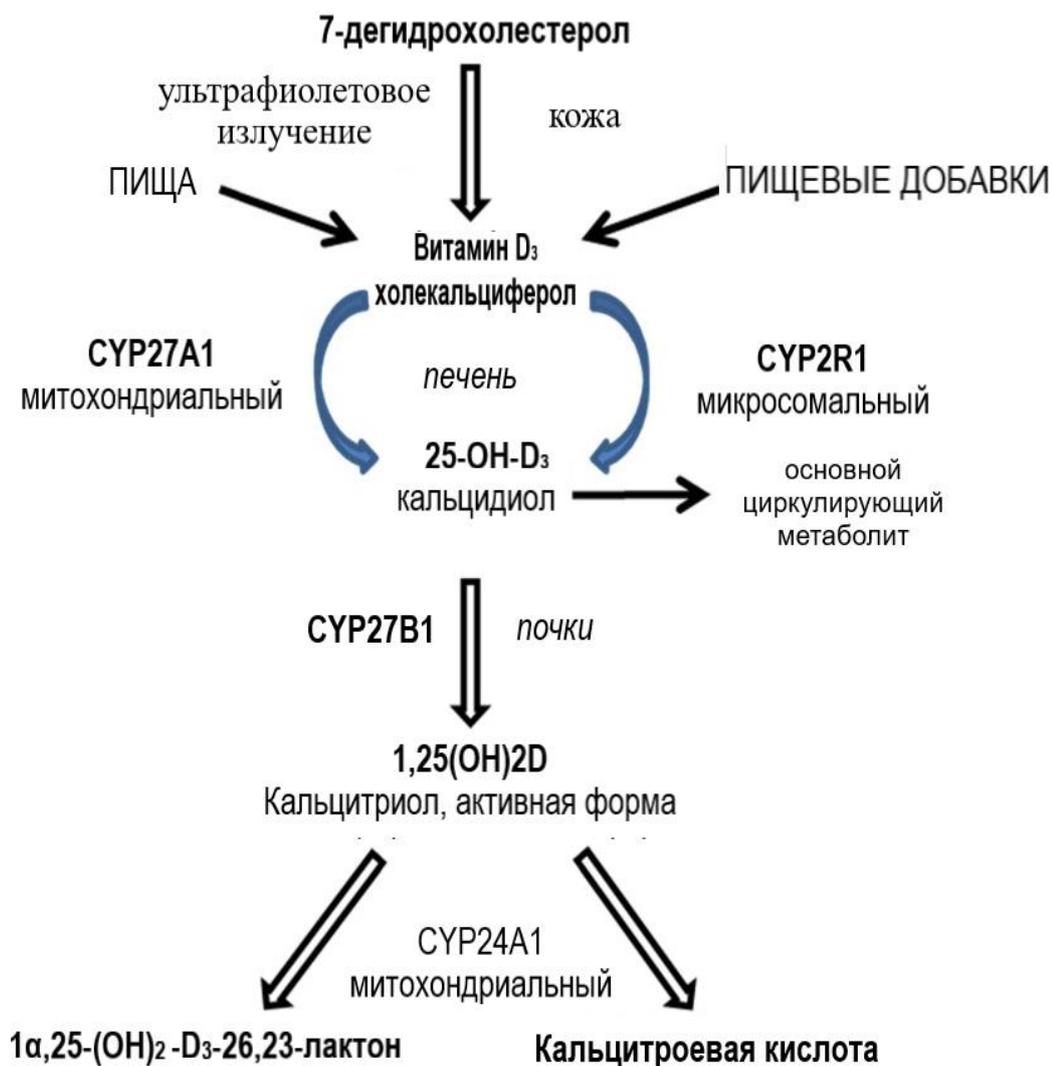


Рисунок 1 – Основные пути синтеза, активации и инактивации D₃ в организме человека (ред. Tuckey R.C. et al., 2019)

Последующее гидроксилирование кальцидиола происходит преимущественно в митохондриях эпителия проксимальных почечных канальцев под воздействием 1α -гидроксилазы (СУР27В1) [100, 216]. Экспрессия СУР27В1 не ограничивается эпителиальными клетками почек, гидроксилирование в небольших количествах происходит в клетках и других типов, включая клетки лимфогемопоэтической системы, в том числе клетки иммунной системы [64]. В результате метаболизма витаминной, прогормональной формы образуется

физиологически активный метаболит - гормон кальцитриол (1,25дигидроксивитамин D, 1,25(OH)₂D).

Элиминация активных форм витамина D осуществляется после их биотрансформации при участии фермента 24-гидроксилазы (CYP24A1) в водорастворимую кальцитроевую кислоту, которая впоследствии выводится из организма с желчью [100, 216].

1.1.2 Иммуномодулирующие эффекты витамина D и механизмы их реализации

Рецепторы к кальцитриолу (VDR) обнаружены на клетках более 40 гистотипов [9, 228]. Установлено, что витамин D способен оказывать влияние на 172 основных физиологических показателя здоровья человека, связанных с риском различных заболеваний [40]. Это влияние реализуется, в частности, через модуляцию экспрессии более чем тысячи генов, что составляет около 3% всего генома человека [59].

Кальцитриол связывается со специфическими рецепторами, расположенными в клетках-мишенях кишечника, почек и костей, головного мозга, сердца, эндотелия сосудов, гладких мышц, поджелудочной, предстательной и парашитовидной железах, коже и других органах [15, 101, 123].

Выделяют «классические» эффекты кальцитриола, связанные с его влиянием на кальциево-фосфорный обмен и минеральную плотность костной ткани, и «неклассические» биологические эффекты. К последним относят торможение клеточной пролиферации и ангиогенеза, стимуляцию продукции инсулина, ингибирование продукции ренина, противовоспалительный, антибактериальный, противораковый, антигипертензивный, иммуномодулирующий и ряд других эффектов [9, 59, 72, 129, 153, 155].

Открытие рецепторов кальцитриола во многих клетках иммунной системы, включая активированные Т-лимфоциты, макрофаги, незрелые лимфоциты тимуса

и зрелые CD8-клетки, явилось доказательством участия витамина D в функционировании иммунной системы [10, 129, 149, 183].

Иммуномодулирующие влияния витамина D, включая воздействие на врожденный и адаптивный иммунитет, показаны в многочисленных работах [49, 165, 182, 210, 240].

В исследовании *in vitro* продемонстрировано иммуномодулирующее действие кальцитриола [113]. Показано, что этот гормон способен ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов Th1-клетками при стимуляции Т-хелперов типа 2 (Th2-клеток) и активность регуляторных Т-клеток (Treg) [137, 163, 203, 234].

Кальцитриол и его биоактивные аналоги могут изменять функцию и морфологию дендритных клеток - основных антиген-представляющих структур, которые инициируют адаптивный иммунный ответ, представляя антигены Т- и В-лимфоцитам [90, 143, 164, 168].

Подтверждено прямое влияние кальцитриола на гемопоэз В-клеток, включая ингибирование их дифференцировки в клетки памяти и плазматические клетки, а также стимуляцию апоптоза иммуноглобулинпродуцирующих В-клеток [42, 61]. Некоторые иммуномодулирующие эффекты витамина D могут реализоваться и через регуляцию цитокинового профиля, включая воздействие как на цитокины, так и на их рецепторы [33, 49, 133, 135].

Установлено, что иммунные клетки экспрессируют 1 α -гидроксилазу (CYP27B1) и способны превращать малоактивный витамин D в его биологически активную форму - гормон кальцитриол [10]. Можно полагать, что это необходимо для поддержания гомеостаза витамина D и адекватного функционирования иммунной системы.

В центральной нервной системе (ЦНС) кальцитриол блокирует выработку провоспалительных цитокинов и оксида азота микроглией [121, 126]. Кроме того, витамин D может подавлять дифференцировку дендритных клеток в антиген-презентирующие, что делает их неспособными стимулировать наивные Т-клетки, подавлять образование Th1-хелперов, продуцирующих провоспалительные

цитокины, способствовать увеличению количества и/или функциональной активности Treg [28, 126, 165].

В экспериментах *in vitro* при воздействии кальцитриола отмечено снижение образования плазмочитов, а также секреции иммуноглобулинов и образования В-клеток памяти [182]. Синтез кальцитриола в зрелых дендритных клетках препятствует выполнению их антигенпрезентирующей функции. Этот эффект реализуется через снижение синтеза в дендритных клетках И-12 и костимулирующих молекул CD40, необходимых для активации Т-лимфоцитов [96, 126].

Витамин D может воздействовать на клетки-мишени двумя механизмами: геномным и негеномным [65, 94]. Геномный механизм включает активное или пассивное перемещение витамина D через клеточную мембрану с последующим его превращением в 1,25(OH)₂D в митохондриях клеток и специфическое взаимодействие с внутриклеточными рецепторами (vitamin D Receptor, VDR) [55, 125]. Комплекс кальцитриола с активированным VDR функционирует как ядерный фактор транскрипции, который специфически связывается с витамин D-акцепторными участками генома – витамин D чувствительными элементами (vitamin D response element, VDRE) – и регулирует транскрипцию генов [125].

Геномным путем регулируется, по меньшей мере, 11 генов, участвующих в поддержании минерального гомеостаза клетками костной ткани (гены остеопонтина, остеокальцина, *RANKL* и другие) кальциевым каналом эпителия кишечника, опосредующим всасывание кальция (TRPV6) [65, 94]. Кроме того, кальцитриол модулирует экспрессию около 300 генов, влияющих на клеточный цикл, иммунитет и метаболизм [58, 94, 171].

При негеномном или быстром механизме циркулирующий в крови свободный 1,25(OH)₂D связывается с рецепторами на поверхности клеточной мембраны или внутриклеточными рецепторами и оказывает на клетки-мишени быстрые эффекты, не опосредованные влиянием на транскрипцию, такие как стимуляция транспорта кальция в кишечнике и другие [49, 59, 65, 155].

1.1.3 Факторы, влияющие на статус витамина D

Выделяют внешние и внутренние факторы, влияющие на обмен витамина D и обеспеченность организма этим витамином [11, 59]. Одним из наиболее мощных внешних факторов, влияющих на синтез витамина D, является ультрафиолетовое излучение, попадающего на открытые участки кожи [20, 126]. Уровень солнечной радиации находится в обратной зависимости от широты проживания. Низкие температуры способствуют уменьшению участков кожи доступных солнечному свету, а применение солнцезащитных кремов в периоды чрезмерной инсоляции способно снижать эндогенный синтез до 90-95% [12].

Синтез витамина D зависит и от угла падения солнечных лучей, так как его увеличение в периоды, когда солнце находится низко над горизонтом, способствует преобладанию излучения с большей длиной волны, тем самым уменьшая количество ультрафиолета необходимого для эндогенного синтеза. Следовательно, продукция витамина D практически невозможна рано утром и в вечернее время, а на территориях, расположенных на широте выше 35⁰, в течение всего светлого времени суток в период с ноября по март синтез в коже не осуществляется вовсе [8, 11, 20, 62].

Другим немаловажным фактором, влияющим на синтез витамина D, является содержание в коже меланина, который вступает в конкурирующие отношения за аналогичный диапазон волн солнечной радиации [20]. Доказано также, что синтез витамина D снижается с возрастом за счет истощения эпидермиса и снижения содержания в нем 7-дегидрохолестерина. Так, в 70 лет синтез витамина D может быть снижен на 75% от интенсивности этого процесса в молодые годы [127].

Статус витамина D связан с рационом питания и применением биологических добавок [59].

Дефицит витамина D относится к наиболее характерному изменению баланса микронутриентов у людей с избыточной массой тела и достоверно связан с ожирением независимо от возраста и географической широты проживания [166, 232]. Являясь жирорастворимым, витамин D распределяется в организме: прежде

всего в жировой ткани, мышцах, и сыворотке крови. Увеличение массы тела при ожирении обеспечивает эффект объемного разбавления и снижения концентрации уровня 25(OH)D [223]. Увеличения индекса массы тела на $1\text{ кг}/\text{м}^2$ способствует снижению концентрации 25(OH)D в сыворотке крови на $1,3\text{ нмоль}/\text{л}$. [206].

Помимо объемного разбавления выявлен ряд других причин дефицита витамина D у пациентов с ожирением: недостаточное воздействие солнечного излучения в связи с низкой мобильностью и активностью, снижение биодоступности витамина D в связи с накоплением витамина в жировой ткани, алиментарная недостаточность, несмотря на общее потребление пищи высокой калорийности. Последствия излишнего накопления жировой ткани в подкожно жировой клетчатке и стеатоз печени могут влиять на эндогенный синтез и процессы дальнейшего метаболизма витамина D [122, 215].

Механизмы, связывающие избыточную массу тела и витамин D, полностью не выяснены. Вопрос о том, является ли дефицит витамина D следствием или фактором, предрасполагающим к ожирению, является предметом споров. Некоторые экспериментальные данные свидетельствуют о том, что дефицит витамина D может вызывать большее ожирение за счет повышения уровня паратиреоидного гормона и перетока кальция в адипоциты, что стимулирует липогенез [98]. Определенные полиморфизмы рецепторов витамина D способны влиять на дифференцировку адипоцитов, тем самым увеличивая жировую массу [229]. К гиповитаминозу D может приводить снижение биодоступности витаминов D при мальабсорбции вследствие различных заболеваний желудочно-кишечного тракта [197], а также стимуляция инактивации кальцитриола лекарственными препаратами, индуцирующими в печени ферменты семейства цитохрома P450 [197].

Внутренние факторы обмена витамина D включают функциональную активность ферментных систем, участвующих в биотрансформации этого витамина, а также рецепторов к кальцитриолу.

Важным механизмом регуляции уровня витамина D в организме человека является контроль синтеза активной формы $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в почках паратиреоидным

гормоном [64]. Синтез этого полипептидного гормона усиливается при гипокальциемии [64]. Это ведет к возрастанию стимулирующего влияния паратгормона на 1 α -гидроксилазу витамина D (CYP27B1) почечных канальцев, а также на кальцитриолсвязывающий белок в кишечнике [64].

Немаловажно, что активность 1 α -гидроксилазы витамина D может возрастать также под влиянием эстрогенов и андрогенов, кальцитонина, пролактина, соматотропного гормона [23]. Напротив, глюкокортикостероидные гормоны, фактор роста фибробластов (FGF23) и некоторые лекарственные препараты, включая противоэпилептические средства, подавляют активность данного фермента, снижая, таким образом, образование биологически активной формы витамина D – кальцитриола [23, 80].

К недостаточности кальцитриола, связанной со снижением активности 1 α -гидроксилазы витамина D и 25-гидроксилазы кальцидиола, могут приводить хронические заболевания почек и печени при развитии функциональной недостаточности этих органов [35, 109, 118, 142, 226, 237].

Важнейшим этапом реализации эффектов кальцитриола является взаимодействие этой гормонально активной формы витамина D с рецепторами. Поэтому генетические особенности рецепторов кальцитриола, обусловленные полиморфизмами кодирующих их элементов, могут приводить к развитию дефицита этого гормона и, как следствие, расстройствам метаболизма и функции тканей-мишеней витамина D, включая элементы иммунной системы [54]. Исследования генетических ассоциаций показали, что до 65% вариаций содержания витамина D в сыворотке крови можно объяснить генетическими особенностями ферментов метаболизма и рецепторов этого витамина [184].

1.1.4 Критерии обеспеченности организма витамином D

Уровень 25(ОН)D определяют в плазме (сыворотке) крови для оценки статуса пациента по витамину D [9, 50, 101, 172, 207]. Эта молекула является основным циркулирующим метаболитом витамина D, имеет низкую биологическую активность и длинный период полувыведения [9, 101, 172, 207].

Критерии обеспеченности организма витамином D и пороги недостаточности/дефицита этого витамина являются предметом интенсивных исследований последних лет. Это во многом связано с тем, что долгие годы критерии статуса витамина D формировались на основе ассоциаций определенных уровней 25(ОН)D с риском остеопороза, у детей – рахита, а не с функциональными нарушениями в «неклассических» тканях-мишенях кальцитриола [95, 172, 197].

Рекомендации по оптимальному уровню витамина D в настоящее время не являются единообразными во всем мире [136]. В одной недавней статье высказывается мнение о том, что «разработка рекомендаций по витамину D находится в состоянии паралича» из-за отсутствия согласия по критериям недостаточности, достаточности и токсичности на основе концентраций 25(ОН)D [191].

Консенсус по характеристикам уровней 25(ОН)D представлен в российских клинических рекомендациях эндокринологов [11]. Согласно этим рекомендациям, уровни 25(ОН)D в сыворотке крови менее 10 нг/мл классифицируются как выраженный дефицит витамина D, дефицит, определяется при уровнях 25(ОН)D в сыворотке крови менее 20 нг/мл, уровни между 20—30 нг/мл классифицируются как «недостаточность» витамина D, а оптимальными являются значения более 30 нг/мл. Интерпретация концентраций 25(ОН)D, принимаемая Российской ассоциацией эндокринологов представлена в Таблице 1 [11].

Таблица 1 – Интерпретация концентраций 25(ОН)D

Классификация	Уровень 25(ОН)D в крови, нг/мл
---------------	--------------------------------

Выраженный дефицит витамина D	< 10
Дефицит витамина D	< 20
Недостаточность витамина D	≥ 20 и ≤ 30
Адекватные уровни витамина D	$\geq 30^*$
Уровни с возможным проявлением токсичности витамина D	> 150

Примечание. * – рекомендуемый референсный интервал для лабораторий 30-100 нг/мл

Отметим, что после открытия новых фактов об иммуномодулирующих эффектах витамина D предметом продолжающейся дискуссии специалистов стали не только пороговые уровни витамина D в отношении риска остеопороза и остеомалации, но и в отношении оптимальных уровней этого витамина для обеспечения иммуномодулирующего влияния кальцитриола, в частности, при аутоиммунных заболеваниях [81].

1.2 Витамин D и рассеянный склероз

1.2.1 Дефицит витамина D как фактор риска рассеянного склероза:

эпидемиологические и генетические доказательства

Впервые гипотеза о том, что недостаточность витамина D является фактором риска развития РС, была высказана в 1960 году на основании эпидемиологических данных об увеличении риска РС в странах с холодным влажным климатом [27]. Позже было установлено, что дефицит витамина D широко распространен и встречается у 17-87% у пациентов с РС [139, 151].

В нескольких наблюдательных проспективных эпидемиологических исследованиях было показано, что низкий уровень витамина D связан с повышенным риском РС [147, 148]. Наиболее убедительные данные о взаимосвязи дефицита витамина D с риском РС были получены в проспективном исследовании с участием семи миллионов американских военнослужащих [148]. В этом

исследовании учитывался не только уровень солнечной активности, но и уровень 25(ОН)D в крови. По результатам исследования сделан вывод о том, что риск РС снижается на 41% при увеличении уровня 25(ОН)D в сыворотке крови на каждые 50 нмоль/л [148]. В другом крупномасштабном исследовании с участием почти 90000 женщин показало, что прием пищевых добавок с витамином D снижает заболеваемость РС примерно на 40% [60].

По мнению специалистов, дефицит кальцитриола в сыворотке крови у пациентов с аутоиммунными заболеваниями и среди населения в целом можно объяснить несколькими факторами, включая отсутствие воздействия солнечного света, пигментацию кожи, использование солнцезащитных кремов, дефицит питательных веществ, возраст, использование глюкокортикоидов, особенности рациона и микробиоты и генетический фон населения [41, 54, 85, 181, 138, 231]. При этом исследования генетических ассоциаций показали, что до 65% вариаций содержания витамина D в сыворотке крови можно объяснить генетическим фоном [184]. Около 90% генетической изменчивости обусловлено однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) в генах, связанных с метаболизмом витамина D - 25-гидроксилазы (*rs10751657 CYP2R1*), 1 α -гидроксилазы (*rs10877012 CYP27B1*), и рецепцией витамина D – *VDR FokI* (*rs2228570*), *BSM1* (*rs1544410*), *ApaI* (*rs7975232*), *TaqI* (*rs731236*) [184, 213]. Поэтому вполне логично, что дополнительными аргументами в пользу гипотезы о связи дефицита витамина D с риском РС стали генетические исследования.

Отметим, что в одном из первых генетических исследований такого рода было идентифицировано 229 генов с сайтами связывания рецепторов кальцитриола и значительными изменениями в экспрессии в ответ на кальцитриол [179]. В наибольшем количестве сайты связывания рецепторов кальцитриола были обнаружены рядом с генами, идентифицированными в полногеномных исследованиях как гены, ассоциированные с аутоиммунными заболеваниями [179]. Обзор результатов систематизирован в Таблице 2.

Как видно из Таблицы 2, в ряде исследований показано, что полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки метаболизма витамина D, включая рецепторы и ферменты (*VDR*, *CYP27B1*, *CYP24A1*) ассоциированы с риском РС [2, 3, 105, 128, 155, 158, 161, 187, 190, 208, 211]. Вместе с тем имеются работы, отрицающие такую связь [74, 194, 200].

Особо внимания заслуживает генетическое исследование с участием 46 членов канадских семей с четырьмя и более больными РС [179]. Показано, что некоторые полиморфизмы гена *CYP27B*, кодирующего 1 α -гидроксилазу кальцитриола, проявляются сниженным уровнем кальцитриола и связаны с повышенным риском РС [179].

Отдельными исследованиями показана связь витамина D с экспрессией гена системы гистосовместимости, наиболее сильно влияющим на риск РС, – *HLA-DRB1*. Установлено, что в промоторной области гена *HLA-DRB1* содержится витамин D чувствительный элемент [178]. Отмечена тенденция к увеличению риска РС у лиц, гомозиготных по аллели *HLA-DRB1**1501 в сочетании с аллелью *C VDR* (rs731236) [68].

Представляется вероятным, что, вклад исследованных генетических полиморфизмов в формирование недостаточности кальцитриола и связанный с этим риск РС неоднозначен в различных популяциях больных РС. Это может объяснять противоречивость рассмотренных результатов исследований и указывать на необходимость дальнейшего изучения этого вопроса в разных условиях внешней среды и генофонда населения отдельных регионов.

Таблица 2 – Исследования связи риска рассеянного склероза с полиморфизмами генов метаболизма витамина D

Ген/Полиморфизм	Популяция	Место и год	Дизайн исследования	Связь	Источник
1	2	3	4	5	6
<i>CYP2R1</i>					
Ген, кодирующий витамин D 25-гидроксилазу (цитохром P450 семейство 2 подсемейство R член 1) Символ и идентификатор Комитета по номенклатуре HUGO – <i>CYP2R1</i> , 20580. Локализация: хромосома 11, NC_000011.10 (14877440..14892443)					
rs2282679	1497 пациентов с РС	Дания 2015	Кросс-секционное	Аллель T был связан с повышением уровня кальцидиола на 4,5 нмоль / л.	Laursen J.H., Søndergaard H.B 2015
rs10741657				Генотипы AA и AG были связаны с повышением уровня кальцидиола на 6,9 нмоль / л.	Laursen J.H., Søndergaard H.B 2015
<i>CYP27B1</i>					
Ген, кодирующий 25-гидроксивитамин D-1 альфа-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 27 подсемейство B член 1) Символ и идентификатор Комитета по номенклатуре HUGO – <i>CYP27B1</i> , 2606. Локализация: хромосома 12, NC_000012.12 (57762334..57767078) Другие наименования: CP2B, CYP1, CYP1alpha, CYP27B, P450c1, PDDR, VDD1, VDDR, VDDRI.					
rs10877012	2158 пациентов с РС и 1759 КС	Швеция 2010	Случай-контроль	Генетический риск РС: аллель T (ОШ = 0,88)	Sundqvist E., Bäärnhielm M 2010
<i>VDR</i>					
Ген, кодирующий рецептор витамина D3 (рецептор 1,25-дигидроксивитамина D3). Символ и идентификатор Комитета по номенклатуре HUGO – <i>VDR</i> , 12679. Локализация: хромосома 12, NC_000012.12 (47841537..47904994) Другие наименования: NR111, PPP1R163.					
TaqI rs731236 FokI rs2228570	726 пациентов с РС и 604 КС	Австралия и Великобритания 2012	Случай-контроль	Генетический риск РС: аллель TaqI t (ОШ = 1,096)	Cox MB, Van M, 2012
ApaI rs7975232 TaqI rs731236 BsmI rs1544410	270 пациентов с РС и 303 КС	Словения 2016	Случай-контроль	Ассоциирован с протективным эффектом в отношении РС: BsmI AA (или генотип BB) (ОШ=0,59) в рецессивной генетической модели	Čierny D, Michalik J, 2016

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
FokI rs2228570	533 пациентов с РС и 446 КС	Португалия 2017	Случай-контроль	Генетический риск РС: генотип FokI ff (ОШ = 1,687)	Bettencourt A, Boleixa D, 2017
TaqI rs731236 FokI rs2228570	303 пациента с РС И 310 КС	Испания 2013	Случай-контроль	Связи генетического риска с РС не обнаружено	García-Martín E, Agúndez JA, 2013
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 AraI rs7975232 TaqI rs731236	3300 пациентов с РС и 3194 КС из 13 исследований с дизайном случай-контроль.	Азия, Австралия, Америка 2014	метаанализ	Генетический риск РС: генотипы FokI FF и Ff (ОШ=1,311) в доминантной генетической модели и генотип FF (ОШ=1,314) по сравнению с генотипом ff в общей популяции; Генотип AraI AA (ОШ=1,468) по сравнению с генотипом Aa; Генотип AA (ОШ=1,588) в рецессивной генетической модели; и генотипы AA и aa (ОШ = 1,302) в гомозиготной генетической модели в общей популяции	Tizaoui K, Kaabachi W, 2015
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 AraI rs7975232 TaqI rs731236	1364 пациента с РС и 1661 здоровый родственник первой степени родства	Канада 2011	случай-контроль	Связи генетического риска с РС методом Бонферрони не обнаружено	Orton SM, Ramagopalan SV, 2011
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 AraI rs7975232 TaqI rs731236	В метаанализ было включено 30 исследований случай – контроль.	2019	метаанализ	Генетический риск РС: генотип BsmI bb (ОШ=1,78) в рецессивной генетической модели в азиатской популяции; Генотип TaqI Tt (ОШ=1,27) по сравнению с генотипом TT в общей популяции. Ассоциированы с протективным эффектом в отношении РС: генотип AraI aa (OR = 0,61) в рецессивной генетической модели и генотип aa (OR = 0,52) по сравнению с генотипом AA в азиатской популяции	Imani D, Razi B, 2019

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	214 пациентов с РС и 428 КС соответствующего возраста	США 2010	Случай- контроль	Связи генетического риска с РС не обнаружено.	Simon KC, Munger KL, 2010
FokI rs2228570 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	167 пациентов с РС и 146 КС	Турция 2018	Случай- контроль	Высокая частота генотипа риска AA (FF) у пациентов с РС по сравнению с КС: <i>генотип FokI AA (или FF): 9% против 4,1% (p = 0,02); Аллель A (или F): 32% против 19,9% (p = 0,001)</i>	Kamisli O, Acar C, 2018
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	80 пациентов с РС и 50 КС соответствующего возраста	Иран 2015	Случай- контроль	Частота значительно различалась между пациентами с РС и КС: <i>генотип BsmI bb: 21,25% против 10% (p = 0,023); Генотип ApaI Aa: 66,25% против 44% (p = 0,042)</i>	Sadeghi A., Shojapour M 2015
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	4013 пациентов с РС и 4218 КС в 24 исследованиях с дизайном случай- контроль	Asian and Caucasian 2018	метаанализ	Генетический риск РС: аллель ApaI A (ОШ=1,267) в азиатских популяциях	Zhang YJ, Zhang L, 2017
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	1206 пациентов с РС и 1402 КС в 9 исследованиях с дизайном случай- контроль	Иран 2020	метаанализ	Ассоциированы с защитным эффектом в отношении РС: аллель BsmI B (ОШ=0,69), генотип BB (ОШ=0,46) в гомозиготной генетической модели и генотип BB (ОШ=0,56) в рецессивной генетической модели; Аллель ApaI A (ОШ=0,54) и генотип AA (ОШ=0,28) в гомозиготной генетической модели, генотипы AA и Aa ОШ=0,56) в доминантной генетической модели и генотип AA (ОШ=0,35) в рецессивной генетической модели ; Генотип TaqI TT (ОШ=0,28) в гомозиготной генетической модели	Mohammadi A, Azarnezhad A, 2020

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	296 пациентов с РС и 135 КС	Чешская Республика 2018	случай- контроль	Генетический риск РС: аллель BsmI T (или B) (ОШ=2,05) у мужчин; Аллель TaqI G (или t) (ОШ=1,9) у мужчин и женщин; Аллель ApaI A (или A) у мужчин (ОШ=2,05) и женщин (ОШ=1,42) Генотип BsmI CC (bb) (ОШ=(106)3,02) чаще наблюдался у женщин по сравнению с мужчинами	Křenek P, Benešová Y, 2018
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs731236	21 исследование с участием 3593 пациентов с РС и 3917 КС	Caucasian and Asians 2017 Европейская и Азиатская популяции 2017	метаанализ	Ассоциированы с протективным эффектом в отношении РС: аллель FokI F (ОШ=0,764) и генотипы FF и Ff (ОШ=0,417) в доминантной генетической модели в публикациях после 2013 года; BsmI генотип BB (ОШ=0,722) в рецессивной генетической модели в возрастной группе > 40 лет; Генотипы ApaI AA и aa в азиатской группе (ОШ=0,743) и группе широты 20,130 ° N (ОШ=0,609) в гомозиготной генетической модели; TaqI TT и генотипы tt (ОШ=0,846) в гомозиготной генетической модели и генотип TT (ОШ=0,868) в рецессивной генетической модели в группе 40,1-50 ° северной широты	Chen XL, Zhang ML, 2017
FokI rs2228570	212 пациентов с РС и 289 КС	Нидерланды 2009	случай- контроль	Генетический риск РС: ассоциации не обнаружено. Более низкие уровни кальцидиола: генотип FokI FF (p=0,024). Более высокие уровни кальцитриола в сыворотке крови зимой: аллель F (p=0,034).	Smolders J, Damoiseaux J 2009

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 ApaI rs7975232 TaqI rs73123	2599 пациентов с РС и 2816 КС в 11 исследованиях с дизайном случай-контроль.	В мире 2012	метаанализ	Связи генетического риска с РС не обнаружено	Huang J, Xie ZF, 2012
FokI rs2228570 BsmI rs1544410 TaqI rs731236	Русские пациенты с РС	Россия 2009	случай-контроль	Гаплотип Vft (или fVt): увеличивает генетический риск РС и клинические проявления РС.	Babenko SA, Alifirova VM, 2009
BsmI rs1544410 ApaI rs7975232	77 пациентов с РС и 95 КС	Япония 2000	случай-контроль	Гаплотип bA: генетический риск РС, выше у пациентов с РС, относительно контрольной группы (ОШ=10,39).	Niino M, Fukazawa T, 2000

Примечание. Все значения отношения шансов (ОШ), представленные в таблице, имеют $p < 0,05$; РС – рассеянный склероз; КС – контрольные случаи.

1.2.2 Связь статуса витамина D, приема препаратов витамина D с течением рассеянного склероза

В ряде исследований показано, что низкие уровни 25(OH)D в плазме крови пациентов коррелируют с более высокой клинической и радиологической активностью РС [112, 146, 192, 196, 212]. Однако до настоящего времени не вполне ясно, способствуют ли низкие уровни 25(OH)D увеличению активности заболевания непосредственно, или у пациентов с более тяжелыми формами РС, быстрым прогрессированием заболевания снижен эндогенный синтез витамина D в связи с уменьшением получения ультрафиолетового излучения из-за ограниченной физической активности.

Подтверждением того, что независимо от солнечной радиации имеется связь особенностей течения РС с недостаточностью витамина D стали результаты наблюдений больных РС на ранних стадиях развития заболевания. Этими наблюдениями установлено, что по сравнению с группой контроля более низкий уровень 25(OH)D имеется у больных РС уже на ранних этапах заболевания, в том числе у пациентов с клинически изолированным синдромом [45]. Эти данные позволяют предполагать, что низкие уровни 25(OH)D скорее следует рассматривать скорее, как фактор риска, чем следствие РС.

В некоторых работах показано, что пациенты с РС имеют более низкие уровни витамина D во время обострения заболевания [159, 205] и более высокий риск обострения ассоциирован с низким уровнем 25(OH)D в сыворотке крови [87, 145, 146, 185].

На наличие связи дефицита витамина D с темпами инвалидизации указывают данные исследования с участием 181 больных РС с различными типами течения заболевания и темпами нарастания инвалидизации [212]. Установлено, что концентрация 25(OH)D в сыворотке крови была значительно выше в группе пациентов с ремиттирующим типом течения РС по сравнению с группой больных с прогрессирующими формами РС. Обнаружена отрицательная корреляция между уровнем 25(OH)D и показателем неврологических расстройств по EDSS [212].

О зависимости течения РС от статуса витамина D свидетельствуют проспективные исследования по применению препаратов этого витамина. В 2010 году в Кокрановском обзоре [106] сообщалось, что витамин D в виде пищевых добавок мало эффективен в управлении течением РС. С этого времени был проведен ряд двойных слепых, плацебо-контролируемых испытаний, в которых оценивались клинический эффект (прогрессирование РС по EDSS, частота обострений и нейровизуализационные параметры). В силу неоднородности по ряду характеристик (дозы витамина D и др.) результаты этих исследований не подлежат метаанализу [175].

В одном из таких исследований показано, что повышение уровня витамина D на каждые 10 нг/мл снижает риск появления новых T2 очагов на 15% [146]. По результатам анализа влияния кальцитриола на радиологическую активность РС (уменьшение количества T2 очагов на МРТ) была высказана идея о влиянии витамина D не только на аутоиммунное воспаление, но и на процессы нейродегенерации при этом заболевании [38].

Отметим, что в последние годы встречаются данные, подтверждающие связь недостаточности витамина D и процессов нейродегенерации не только при РС, но и при других заболеваниях ЦНС – болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона [29, 34, 43, 124, 167].

В проспективном исследовании с участием 73 пациентов с ремиттирующим РС установлено, что удвоение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови снижает частоту обострений на 27% [185]. Подобные данные были получены S. Simpson и соавторами, выявившими обратную линейную зависимость между уровнем 25(OH)D и частотой обострений РС [196]. В трехлетнем наблюдении 145 больных ремиттирующим РС показано, риск обострения заболевания снижался на 12% при повышении уровня витамина D в крови больных на каждые 10 нмоль/л [196].

Следует отметить, что имеется ряд публикаций, указывающих на отсутствие связи между прогрессированием РС и статусом витамина D. Так, в шестимесячном проспективном рандомизированном плацебо контролируемом исследовании с участием 62 больных с РС не выявлено различий по клиническим показателям

течения РС между больными, получавших 10000 МЕ витамина D в сутки, и группой плацебо. При этом однако в группе пациентов, получавшей витамин D, обнаружены благоприятные сдвиги патогенетических лабораторных показателей. У этих пациентов по сравнению с пациентами, получавшими плацебо, была значительно ниже пролиферативная активность иммунокомпетентных клеток и, напротив, повышен уровень противовоспалительного IL-10 [144]. В другом, двухлетнем исследовании не было обнаружено положительного влияния на течение РС еженедельного приема 20000 МЕ 25(OH)D [115].

Недавний метаанализ рандомизированных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических испытаний по изучению витамина D в качестве дополнительной терапии при РС показал, что витамин D не оказывает терапевтического воздействия на темпы инвалидизации, частоту рецидивов и радиологические признаки активности заболевания [107].

Результаты трех последних рандомизированных контролируемых испытаний, не включенные в этот анализ, были опубликованы в 2019 и 2020 годах. В исследовании SOLAR изучалось влияние высоких доз витамина D (14007 МЕ/сут) по сравнению с плацебо в качестве дополнительной терапии к интерферону бета-1а [103]. На 48-й неделе в группе, принимавшей высокие дозы витамина D₃, наблюдалось примерно 4-кратное увеличение уровня 25(OH)D. При этом, не была достигнута первичная конечная точка – «отсутствие признаков активности заболевания» (NEDA), которая определяется как отсутствие рецидивов, прогрессирования EDSS или свидетельствующих об активности заболевания поражений по данным магнитно-резонансной томографии [103]. В исследовании CHOLINE оценивалось влияние высоких доз витамина D (100000 МЕ каждые две недели) по сравнению с плацебо в качестве дополнительного лечения к интерферону бета-1а в течение 96 недель [56]. Первичная конечная точка – снижение частоты обострений, динамики прогрессирования РС по EDSS – не была достоверно достигнута в группе пациентов, получавших витамин D [56].

В исследовании EVIDIMS сравнивалось влияние приема высоких (20 400 МЕ) и низких (400 МЕ) доз холекальциферола через день на клинические и

радиологические маркеры активности заболевания в дополнение к интерферону- β 1b [79]. Через 18 месяцев клинические (частота рецидивов, прогрессирование неврологических расстройств), также как радиологические признаки поражения головного мозга не различались в обеих группах лечения. Расчеты мощности после исследования показали, что размер выборки ($n=53$) был слишком мал, чтобы подтвердить гипотезу исследования [79].

Таким образом, пока нет доказательных ответов на вопросы: зависит ли течение РС от статуса витамина D и является ли витамин D эффективным средством для лечения РС. Необходимо провести дополнительную исследовательскую работу для уточнения оптимальных дозировок препаратов витамина. Необходимо также проведение крупных рандомизированных плацебо-контролируемых клинических испытаний витамина D при РС длительностью более года [227]. В настоящее время общепризнан пробел в знаниях о хронической и высокодозной терапии витамином D при РС, который может привести к опасным для жизни осложнениям, связанным с токсичностью этого витамина, включая почечную недостаточность, сердечную аритмию и эпилептический статус [81]. Более того, токсичность витамина D может проявляться в виде усталости, мышечной слабости или дисфункции мочевыводящих путей, что может имитировать прогрессирование РС [81]. Тем не менее, можно говорить о том, что терапия витамином D в определенных дозах с доказанной безопасностью, по меньшей мере, является безопасной в краткосрочном периоде.

Возможно, по результатам новых рандомизированных контролируемых исследований можно будет говорить об эффективности витамина D в комплексной терапии РС и разработать рекомендации по оптимальным схемам применения препаратов витамина D при этом заболевании. В настоящее время врачи назначают больным РС препараты витамина D под свою ответственность.

1.2.3 Связь полиморфизмов генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D, с течением рассеянного склероза

Исследования генетических ассоциаций показали, что до 65% вариаций содержания витамина D в сыворотке крови можно объяснить генетическим фоном. Около 90% генетической изменчивости обусловлено однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) в генах, связанных с метаболизмом витамина D - 25-гидроксилазы (rs10751657 *CYP2R1*), 1 α -гидроксилазы (rs10877012 *CYP27B1*), и рецепцией витамина D – *VDR FokI* (rs2228570), *BSMI* (rs1544410), *ApaI* (rs7975232), *TaqI* (rs731236) [184].

В исследованиях последних лет предпринимаются попытки выявления связи особенностей течения РС с полиморфизмами генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D. В настоящее время публикации такого рода работ немногочисленны, а выводы авторов работ весьма противоречивы. В отдельных работах показана связь модуляций прогрессирования РС и полиморфизмами генов ферментов *CYP27B1* и *CYP24A1* [179], а также рецепторов витамина D [30, 83, 152]. В другом исследовании показала связь между возрастом дебюта РС и полиморфизмами генов ключевых ферментов метаболизма витамина D - *CYP2R1*, *CYP27B1*, *CYP24A1* [119].

Учитывая противоречивость имеющихся данных, нельзя исключить того, что ассоциированные с гормональной функцией кальцитриола генетические факторы, влияющие на течение РС, также как и факторы риска РС, могут различаться в зависимости от генотипа и особенностей внешних факторов территории проживания пациентов. Представляются актуальными дальнейшее накопление и последующая систематизация фактов о генетических маркерах риска недостаточности кальцитриола и их связи с течением РС в различных регионах с учетом особенностей их инсоляции.

1.2.4 Гипотезы о патогенетических механизмах влияния дефицита витамина D при рассеянном склерозе

Согласно современным представлениям в патогенезе РС выделяют процессы аутоиммунного воспаления, демиелинизации и нейродегенерации в ЦНС [24]. Продуцируемые при РС Т- и В-клетками системно и локально провоспалительные

цитокины вызывают активацию аутореактивных Т-лимфоцитов, приводят к аутоиммунному воспалительному поражению ЦНС. Уже на ранних стадиях заболевания отмечаются нейродегенеративные изменения. Активация клонов сенсibilизированных клеток наряду с недостатком противовоспалительной, регуляторной систем, способствует хронизации процесса. Вторично активированные макрофаги и микроглия также секретируют провоспалительные цитокины [1, 4, 24, 86, 160].

К настоящему времени экспериментальными исследованиями выявлены множественные влияния кальцитриола на дендритные клетки, Т- и В-клетки, ведущие к подавлению иммунопатологических реакций при РС [51, 69, 70, 92, 233]. Так, установлено *in vitro*, что 1,25(OH)₂D₃ сдерживает активацию дендритных клеток, снижает продукцию этими клетками провоспалительных цитокинов ИЛ-12, TNF α и, напротив, увеличивает продукцию ИЛ-10, обладающего противовоспалительными свойствами [70, 217].

В экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелита показано, что введение 1,25-(OH)₂D₃ в сравнении с плацебо, значительно снижало клинические проявления энцефаломиелита в течение трех дней, что связывают со стимуляцией апоптоза активированных CD4⁺ Т-клеток в ЦНС и селезенке [162]. Продемонстрирована способность кальцитриола стимулировать выработку Th2-ассоциированных цитокинов, и тем самым усиливать противовоспалительный потенциал иммунной системы [52, 163].

Установлена способность витамина D модулировать пролиферацию Т-лимфоцитов с подавлением их трансформации в Th17-клетки, снижением продукции Th1-ассоциированных цитокинов и костимулирующих молекул CD40, CD80, CD86 [33, 70, 90, 170, 189].

Предполагается, что значительная часть эффектов кальцитриола на Т-лимфоциты и макрофаги реализуется через VDR на этих клетках [70, 125, 219]. Вместе с тем, есть основания полагать, что сдвиг баланса в сторону усиления противовоспалительной активности под влиянием кальцитриола связан и с активацией Treg клеток, участвующих в поддержании иммунологической

толерантности и нейропротекции [71, 203, 234]. На модели животных и *in vitro* показано, что витамин D влияет на активность Treg, что сопровождается подавлением воспалительного ответ клеток Th1 и стимуляцией клеток Th2, восстановлением благоприятного соотношения Th1:Th2 и увеличением экспрессии IL-4, IL-10 и трансформирующего фактора роста (TGFβ-1) [57, 203, 220].

Продемонстрировано патогенетически благоприятное влияние кальцитриола при РС не только на Т-клетки, но и подавление этим гормоном пролиферации В-клеток и дифференцировки макрофагов [170]. Предполагается, что кальцитриол может оказывать прямой эффект на аутореактивные В-клетки, поскольку в этих клетках в области генов, участвующих в запуске и поддержании аутоиммунной реакции, – *HLA-DRB1*, *CD40*, *CXCR4* и *CXCR5*, имеются участки связывания VDR [70, 75, 91, 108].

С другой стороны, имеются данные о том, что провоспалительные цитокины – фактор некроза опухоли альфа и интерферон гамма, опосредующие начальное воспалительное поражение ЦНС при РС, способны активировать VDR и *CYP27B1* – один из основных ферментов превращения витамина D в кальцитриол [201]. Это, по мнению авторов работы, указывает на возможность повышения противовоспалительной активности витамина D при развитии иммунного воспаления механизмом обратной связи.

Как *in vitro*, так и на моделях на животных показано, что витамин D может играть роль в миелинизации, воздействуя на факторы, влияющие на микроокружение, которое способствует как пролиферации, так и дифференцировке стволовых клеток в клетки-предшественники олигодендроцитов и олигодендроциты. Остается неясной связь этих механизмов с механизмами влияния витамина D на иммунные клетки в ЦНС [73, 89, 134].

С учетом данных, указывающих на благоприятные патогенетические иммуномодулирующие эффекты витамина D при РС, в настоящее время сложилась парадигма о недостаточности гормона кальцитриола как фактора риска и течения РС [32, 92, 140, 195, 235].

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Территориальные условия, в которых проведены исследования

2.1.1 Климат и инсоляция на территории проживания участников исследования

Алтайский край расположен на юго-востоке Западной Сибири, на границе континентальной Азии. Площадь составляет 167996 квадратных километров. Территория Алтайского края расположена на высотах от 100-150 до 2300-2400 метров над уровнем моря. Край располагается в пределах 51-54° северной широты и 78-86° восточной долготы. Переходное положение между Западно-Сибирской равниной и горами Алтая обуславливает разнообразие природных условий и ландшафтов – от сухостепных в Кулунде до горнотундровых и субальпийских луговых на крайнем юге [19, 21].

Климат умеренный, резко континентальный, формируется в результате частой смены воздушных масс, поступающих из Атлантики, Арктики, Восточной Сибири и Средней Азии. Абсолютная годовая амплитуда температуры воздуха достигает 90-95° С. Среднегодовые температуры – положительные, 05–21° С. Средние максимальные температуры июля +26–28° С, экстремальные достигают +40–41° С. Средние минимальные температуры января -20–24° С, абсолютный зимний минимум -50-55° С. Безморозный период продолжается около 120 дней [26].

Продолжительность солнечного сияния составляет 1900–2170 часов в год [21]. Условия большей континентальности и меньшего числа пасмурных дней способствуют получению большего количества солнечного света и тепла, относительно районов европейской территории страны, расположенных на той же широте. Для всей территории региона характерна значительная высота солнца над горизонтом в летнее время (60–66°) и длинный, до 17 часов световой день. В

условиях ясного неба эти факторы способствуют получению потенциально большего объема суммарной прямой солнечной радиации. Высота солнца в зимний период составляет 13-19°, что существенно снижает приток энергии [5].

Годовые суммы рассеянной радиации составляют около 50 ккал/см². Наибольшие месячные суммы наблюдаются в мае-июле, наименьшие в декабре-январе [5]. Суммарная годовая радиация при ясном небе составляет 100–140 ккал/см². Максимум данного показателя определяется в июне, минимум в декабре. Величины радиации могут варьировать вследствие ослабления атмосферой. Несмотря на то, что прозрачность атмосферы над территорией края выше, чем среднеширотная, атмосферное влияние может снижать годовое поступление прямой солнечной радиации на 35–45% [5].

2.1.2 Эпидемиология рассеянного склероза на территории проживания участников исследования

Алтайский край является зоной высокого риска развития РС с нарастанием в последние годы заболеваемости и распространенности РС. Последнее соответствует изменениям в эпидемиологии РС во всем мире, включая Россию [39]. По данным динамического мониторинга в Алтайском крае распространенность РС с 2009 года к 2017 году увеличилась с 41,2 до 56,3 больных на 100000 населения [17]. Заболеваемость РС в крае составляла $1,1 \pm 0,3$ и $2,6 \pm 0,5$ случаев на 100000 населения в 1998-2009 гг. и 2010-2017 гг., соответственно [17]. 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 [17].

На протяжении последних восьми лет в Алтайском крае сохраняются: в 1,8 раз бóльшая распространенность заболевания в городах по сравнению с селами; соотношение женщин и мужчин около 2,0; средний возраст дебюта РС около 30 лет; преобладание ремиттирующего типа течения заболевания (у 73% больных на 01.01. 2018 года) [17].

2.2 Дизайн, этика и участники исследования

Тип исследования – одномоментное обсервационное (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 заболевания 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 в исследование 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 3.

Клинические проявления дебюта РС по классификации функциональных систем в EDSS свидетельствовали о поражении зрительного нерва у 24 пациентов (20,9%), черепных нервов (кроме II пары) у 12 пациентов (10,4%), пирамидного пути у 28 пациентов (24,4%). Имелись нарушения координации у 23 пациентов (20,0%), чувствительности у 25 пациентов (21,7%), функций тазовых органов у 1 пациента (0,9%); изменения интеллекта отмечены у 2 больных (1,74%).

Все участники исследования по фенотипическим признакам – европеоиды, по этнической принадлежности – русские, родились и постоянно проживали на территории Алтайского края.

Длительность лечения больных РС указанными в Таблице 3 препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС), была не менее двух лет.

Таблица 3 – Характеристика групп участников исследования

Показатель	Группа РС n=90	Группа контроля n=87	Значимость различий, p
Возраст, годы (M±SD)	34,8±8,4	34,6±12,2	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)		
Терифлуномид	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.

Все включенные в исследование пациенты с РС наблюдались лично автором исследования при проведении специализированного приема пациентов с демиелинизирующими заболеваниями на базе неврологического отделения КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Барнаул).

2.3 Методы исследования

Диагностику РС проводили по критериям McDonald 2010 года [173]. Тяжесть клинического состояния и степень инвалидизации определяли по двухшкальной оценочной системе Куртцке [117], которая включает характеристику восьми функциональных систем (FS) и расширенную шкалу инвалидизации (EDSS – Expanded Disability Status Scale). Неврологический статус оценивали на основании стандартного клинического осмотра пациентов. Оценку инвалидизации по EDSS проводили не ранее, чем через шесть месяцев после последнего обострения.

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 (МРТ) головного и спинного мозга проводили на томографе Impact (Siemens-Magnetom, Япония) с напряженностью магнитного поля 1,5 Т со стандартными T1- и T2-изображениями и применением режима TIRM. Для контрастирования изображений внутривенно вводили гадолинийсодержащий препарат гадовист (Bayer, AG; ФРГ) в дозе от 0,1 до 0,3 ммоль/кг массы тела.

Данные о сопутствующих заболеваниях участников исследования, включая сведения о длительности, особенностях дебюта и течения РС у больных, страдающих этим заболеванием, получали из персональной медицинской документации (амбулаторной карты, истории болезни).

Сведения о факторах, потенциально влияющих на статус витамина D, получали методом опроса по разработанной автором работы специализированной анкете (Таблица 4).

Таблица 4 – Анкета участника исследования

Вопросы	Сведения от респондента
1	2
Год рождения, месяц	
Место рождения	
Места проживания с рождения по настоящее время	
Вес, рост	
Этническая принадлежность	
Аутоиммунные заболевания у пациента, кровных родственников (РС, тиреоидит, СКВ, болезнь Крона, сахарный диабет 1 типа, другие)	<i>Есть/нет</i> <i>Если есть, указать какие</i>
Онкологические заболевания у пациента, кровных родственников	<i>Есть/нет</i> <i>Если есть, указать какие</i>
Наличие в анамнезе:	
туберкулеза	<i>Есть/нет</i>
хронических заболеваний печени, кишечника	<i>Есть/нет</i>
хронических заболеваний почек	<i>Есть/нет</i>
Тип питания (вегетарианский, мясной, смешанный) в детстве сейчас	<i>Указать тип питания</i>

Продолжение таблицы 4

1	2
Экспозиция к солнечному свету (пребывание на солнце) в часах в день: в последние 10 дней в последние шесть месяцев	
Прием препаратов витаминов в течение последнего года сейчас	<i>Да/нет</i> <i>Если «да», указать</i> <i>какой препарат</i>
<i>Дополнительные вопросы для пациентов с РС:</i>	
Клинические проявления дебюта РС	<i>Перечислить</i>
Год и возраст дебюта	
Длительность первой ремиссии (месяцы)	
Количество курсов кортикостероидов всего за последний год	
Дата завершения последнего курса кортикостероидов	
Прием ПИТРС по годам	<i>Указать препарат</i> <i>и годы его приема</i>
Прием других препаратов, в том числе противосудорожных ранее сейчас	<i>Указать препарат</i> <i>и годы его приема</i>

Классификацию статуса витамина D (выраженный дефицит, дефицит, недостаточность, оптимальные уровни) по концентрации 25(OH)D проводили в соответствии с рекомендациями Российской ассоциации эндокринологов [11].

Данные о среднемесячных уровнях инсоляции в Алтайском крае получены с сайта Национального управления по авиации и исследованию космического пространства США (доступно в интернете: <https://eosweb.larc.nasa.gov> по

состоянию на 27.11.2022 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 [222].

Концентрацию 25(OH)D в сыворотке венозной крови измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием и по протоколам наборов реагентов производства Euroimmun AG (ФРГ).

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 А член 1); *VDR*, кодирующего рецептор витамина D3 (рецептор 1,25-дигидроксивитамина D3). Выбор для исследования однонуклеотидных полиморфизмов этих генов был основан на сведениях об их ассоциации с РС и/или нарушениями статуса витамина D в базе данных Национального центра биотехнологической информации США доступно в интернете <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> по состоянию на 27.11.2022).

Для исследования полиморфизмов ДНК выделяли из венозной крови стандартной процедурой, включающей отделение и лизирование клеток крови с последующим гидролизом белков протеиназой К, 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).

2.4 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 и критериев, указанных в Таблице 5.

Таблица 5 – Методы статистического анализа

Оцениваемые переменные, 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 (rs)
Отношение шансов (ОШ)	Логистическая регрессия, алгоритм квази-Ньютона, метод наименьших квадратов
Соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга	Хи-квадрат критерий

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).

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Статус витамина D у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания

Установлено, что уровень 25(ОН)D в сыворотке крови ниже у больных РС по сравнению с добровольцами, не имеющими этого заболевания (контрольная группа) (Таблица 6). Концентрация этого метаболита в сыворотке крови ниже как у мужчин, так у женщин, страдающих РС, относительно аналогичных подгрупп контроля. Ни в одной из групп участников исследования не найдено различий по уровню 25(ОН)D между мужчинами и женщинами (Таблица 6).

Таблица 6 – Концентрация 25(ОН)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±6,9 n=90	33,4±8,9 n=87	<0,001
2	Мужчины	25,1±6,5 n=36	34,2±8,6 n=41	<0,001
3	Женщины	26,8±7,2 n=54 p ₂₋₃ =0,367	32,6±9,2 n=46 p ₂₋₃ =0,361	0,001

В настоящее время общепризнано, что уровень 25(ОН)D в плазме (сыворотке) крови наиболее точно характеризует статус пациента по витамину D (обеспеченность организма пациента витамином D) [9, 50, 172]. При этом критерии обеспеченности организма витамином D и пороги недостаточности/дефицита этого

витамина не являются едиными для всех стран [136]. С целью сравнимости результатов исследования с данными авторов других публикаций о статусе витамина D жителей территорий России нами использованы критерии обеспеченности витамином D, рекомендованные эндокринологами России [11].

Установлено, что группы участников исследования неоднородны по статусу витамина D. Дефицит, а также недостаточность витамина D зарегистрированы у части участников исследования в обеих группах (Таблица 7). Однако неадекватный уровень 25(ОН)D, соответствующий дефициту или недостаточности витамина D, у больных РС встречался примерно в 2 раза чаще (у 72,2%), чем в контроле (у 36,8%).

Таблица 7 – 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

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

Представленные результаты оценки статуса витамина D у больных РС согласуются с ранее полученными данными о широкой распространенности дефицита/недостаточности витамина D в популяциях больных РС Латинской

Америки, США, Восточной Европы, Нидерландов [44, 53, 97, 126, 169, 199] и Российской Федерации [18, 25].

В контексте обсуждения связи неадекватной обеспеченности витамином D с риском РС необходимо подчеркнуть, что дизайн нашего исследования не позволяет ни подтвердить, ни опровергнуть эту связь доказательно. Это ограничение в трактовке представленных результатов связано с неправомерностью экстраполяции недостаточности витамина D, выявленной уже в период течения РС, на статус по этому витамину на период, предшествующий заболеванию. В тоже время с учетом данных проспективных эпидемиологических исследований [60, 147, 148] связь риска РС в Алтайском крае с неадекватной обеспеченностью витамина D представляется вероятной.

Отсутствие различий в статусе витамина D между мужчинами и женщинами как в группе контроля, так и в группе больных РС в Алтайском крае указывает на малую вероятность того, что преобладание РС у женщин по сравнению с мужчинами, характерное для всех изученных к настоящему времени популяций больных РС, включая популяцию Алтайского края [1, 17], связано с различиями в статусе витамина D.

Результаты, представленные в разделе, позволяют заключить, что в Алтайском крае у больных ремиттирующим РС недостаточность/дефицит витамина D встречаются чаще, чем у индивидуумов, не страдающих этим заболеванием.

3.2 Связь статуса витамина D с особенностями течения рассеянного склероза

В последние годы отмечается появление все большего количества данных о вкладе дефицита витамина D в патогенез и формирование особенностей течения демиелинизирующих заболеваний, включая РС [81]. Имеются доказательства того, что витамин D влияет на пролиферацию и активацию лимфоцитов, дифференцировку Т-хелперов [77], В-клеток [61, 169], может подавлять продукцию провоспалительных цитокинов [88, 169, 214], экспрессию молекул костимулирующих молекул, таких как CD40, CD80 и CD86 [93]. Эти данные позволяют предположить, что дефицит витамина D может быть не только одним из факторов риска РС, но и фактором, модулирующим активность и прогрессирование этого заболевания [82, 198].

В связи с этим была проведена оценка корреляций концентрации 25(OH)D в сыворотке крови больных РС с характеристиками течения заболевания. Результаты представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Корреляция концентрации 25(OH)D с клиническими характеристиками течения рассеянного склероза (n=90)

Клиническая характеристика течения РС	Коэффициент корреляции Спирмена	Значимость, р
1	2	3
<i>Все участники исследования n=90</i>		
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

Продолжение таблицы 8

1	2	3
Скорость прогрессирования, баллы/год	-0,04	0,725
Частота обострений, обострений/год	0,02	0,860
<i>Мужчины n=36</i>		
Возраст дебюта заболевания, годы	0,08	0,647
Длительность первой ремиссии, мес	0,18	0,322
Длительность заболевания, годы	0,25	0,140
Выраженность неврологических расстройств по EDSS, баллы	0,14	0,402
Скорость прогрессирования, баллы/год	-0,06	0,728
Частота обострений, обострений/год	-0,16	0,371
<i>Женщины n=54</i>		
Возраст дебюта заболевания, годы	-0,14	0,301
Длительность первой ремиссии, мес	0,08	0,632
Длительность заболевания, годы	0,10	0,463
Выраженность неврологических расстройств по EDSS, баллы	0,14	0,317
Скорость прогрессирования, баллы/год	-0,05	0,751
Частота обострений, обострений/год	0,05	0,758

Ни в целом в группе больных РС, ни в подгруппах больных РС мужчин и женщин не было обнаружено связи уровня 25(ОН)D с возрастом дебюта, длительностью первой ремиссии РС, выраженностью неврологических расстройств на момент обследования и оцененной ретроспективно скоростью прогрессирования заболевания.

Отсутствие связи уровня 25(ОН)D с вышеперечисленными клиническими характеристиками РС согласуется с данными других авторов [107, 131]. В то же время, полученные результаты противоречат немногочисленным данным о негативном влиянии гиповитаминоза D на течение РС. Согласно этим данным,

неадекватные уровни 25(OH)D в сыворотке крови больных РС связаны с повышенной частотой рецидивов, выраженностью инвалидизации и радиологической активностью заболевания, оцененной по данным магнитно-резонансной томографии [38, 82, 198].

С другой стороны, метаанализы не подтверждают положительного влияния высокой концентрации 25(OH)D в сыворотке крови на фоне применения пищевых добавок или препаратов витамина D на прогноз и основные клинические характеристики течения РС [107, 131]. В связи с этим высказывается мнение, что для наиболее вероятного терапевтического влияния на клинические характеристики РС уровень витамина D в сыворотке крови должен достигать примерно 130 нг/мл [81].

В целом результаты проведенных к настоящему времени наблюдений не позволяют сделать однозначного заключения об ассоциации клинических характеристик РС с недостаточной обеспеченностью витамином D [46, 192]. Полагаем, что окончательный вывод о связи статус витамина D с динамикой нарастания неврологического дефицита и частотой обострений ремиттирующего РС может быть сделан на основе результатов многоцентровых проспективных клинических испытаний с учетом длительности персистирования определенных уровней 25(OH)D в сыворотке крови.

3.3 Связь статуса витамина D с негенетическими факторами, влияющими на метаболизм витамина D, у больных рассеянным склерозом и добровольцев, не имеющих этого заболевания

Несмотря на доказанность многими исследованиями ассоциации РС с дефицитом/недостаточностью витамина D продолжается дискуссия о причинах этого феномена. Гипотетическими причинами могут быть как внешние, так и внутренние факторы, влияющие на обмен витамина D.

Основным внешним фактором, влияющим на синтез витамина D, является ультрафиолетовое облучение открытых участков кожи [20, 126].

Несомненно, что рацион питания, прием биологических добавок, содержащих витамин D и его метаболиты, также имеют значение для формирования статуса этого витамина [59].

К внутренним факторам, ассоциированным с обменом витамина D, относят возраст, ожирение, хронические заболевания почек, желудочно-кишечного тракта, а также индивидуальные особенности генов, кодирующих ферменты метаболизма и рецепторы витамина D [166, 232].

Для установления причин бóльшей распространенности дефицита/недостаточности витамина D среди больных РС по сравнению с лицами, не страдающими этим заболеванием, была проанализирована связь уровня 25(OH)D в крови с негенетическими факторами, потенциально влияющими на статус витамина D, – инсоляцией, возрастом, индексом массы тела.

Необходимо подчеркнуть, что принимая во внимание зависимость статуса витамина D от времени пребывания на открытом воздухе (экспозиция солнечной радиации), поступления витамина D с пищей, заболеваний, при которых возможно вторичное нарушение метаболизма витамина D, в исследовании применены критерии невключения, устраняющие эти факторы или стандартизирующие их влияния в сравниваемых группах. Критериями невключения в исследование были хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, почек, прием лекарственных средств или пищевых добавок, содержащих витамин D и/или его активные метаболиты, на протяжении трех месяцев до включения в исследование независимо от длительности приема и дозировки. Дополнительными критериями невключения в исследование больных РС были неврологические нарушения более шести баллов по EDSS и обострение РС, менее шести месяцев в период до включения в исследование, ограничивающие двигательную активность.

С учетом географического положения Алтайского края были рассчитаны среднемесячные значения суммарной солнечной радиации и выделены два календарных периода – с высокой (с апреля по сентябрь) и низкой (с октября по март) инсоляцией (Таблица 9).

Таблица 9 – Концентрация 25(OH)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(OH)D, нг/мл		Значимость различий, p
		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

Концентрация 25(OH)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 9).

Более высокие уровни 25(OH)D в сыворотке крови как у больных РС, так и у индивидуумов контрольной группы в период года с высокой инсоляцией по сравнению с периодом с низкой инсоляцией, очевидно, отражают стимулирующее воздействие потока солнечной радиации на биосинтез витамина D₃ в коже.

В контексте обсуждения вопроса о влиянии солнечной радиации на биосинтез витамина D отметим, что Алтайский край расположен на юго-востоке Западной Сибири и характеризуется средней длительностью периода солнечного сияния и биологически активной ультрафиолетовой радиации [22]. Относительно низкие температуры в крае в выделенный период низкой инсоляции (октябрь-март) обуславливают сокращение времени пребывания на открытом воздухе и уменьшение открытости поверхности тела по сравнению с периодом высокой инсоляции.

С учетом возможного ограничения двигательной активности больных РС проведено сравнение времени пребывания на открытом воздухе групп участников исследования. По данным опроса участников исследования не найдено различий между группами по времени пребывания на открытом для солнечного излучения пространстве на протяжении 6 месяцев, предшествовавших исследованию ($2,6 \pm 1,7$ и $2,9 \pm 2,0$ часов в сутки в группе больных РС и в контрольной группе, соответственно; $p=0,200$).

Результаты исследования свидетельствуют о малой вероятности того, что уровень солнечной радиации и его сезонное варьирование в Алтайском крае являются факторами, определяющими более высокую распространенность недостаточности/дефицита витамина D у больных РС по сравнению с контролем. На это указывают сниженные уровни 25(OH)D у больных РС относительно группы контроля в каждом из выделенных периодов инсоляции. Немаловажным представляется, что в исследовании не участвовали больные РС, имеющие существенные ограничения двигательной активности, связанные с неврологическими расстройствами (инвалидизация более шести баллов по EDSS была определена как критерий невключения при планировании исследования). Вероятно, этим может объясняться отсутствие межгрупповых различий по времени пребывания на открытом для солнечного излучения пространстве на протяжении шести месяцев, предшествующих исследованию.

В отдельных публикациях последних лет 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 [78]. Однако по результатам систематического обзора и метаанализа доказательств наличия такой связи все еще недостаточно [174]. Поэтому был проведен анализ связи солнечной радиации в период внутриутробного развития с РС в Алтайском крае.

Установлено, 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; $p=0,008$). Однако различий между группой больных РС и контрольной группой 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 больных РС.

Не найдено связи уровня 25(OH)D с особенностью эпидемиологии РС в Алтайском крае, о которой сообщалось ранее, – большей распространенностью РС в городах по сравнению с селами [17], 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 [37, 221] 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 10).

Таблица 10 – Концентрация 25(OH)D в сыворотке крови в группе больных рассеянным склерозом и участников исследования контрольной группы, 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

Таким образом, выявленная ранее в Алтайском крае более высокая распространенность РС в городах по сравнению с сельскими территориями,

вероятно, не имеет связи со статусом витамина D и может объясняться другими экологическими факторами, требующими более детального изучения.

Ранее проведенными исследованиями показано снижение плазменной концентрации кальцидиола с возрастом, что вероятно объясняется снижением с возрастом эндогенного синтеза витамина D за счет истощения эпидермиса и снижения содержания в нем исходного субстрата процесса синтеза этого витамина - 7-дегидрохолестерина [132, 218, 225, 230]. Поэтому нами была проанализирована связь возраста с концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови. Положительная прямая связь возраста с уровнем этого метаболита витамина D была выявлена в группе контроля ($r_s = 0,324$; $p = 0,002$) и не обнаружена в группе больных рассеянным склерозом ($r_s = 0,020$; $p = 0,851$).

При более детальном анализе корреляции концентрации 25(OH)D с возрастом было обнаружено, что выявленная зависимость характерна только для мужчин группы контроля ($r_s = 0,591$; $p < 0,005$) и отсутствует у женщин группы контроля ($r_s = 0,112$; $p = 0,463$), также как у мужчин и женщин больных РС ($r_s = 0,124$; $p = 0,472$ и $r_s = -0,051$; $p = 0,714$, соответственно).

В настоящее время дискуссионным является вопрос о влиянии массы тела (массы жировой ткани) на биодоступность витамина D и, соответственно, на уровень 25(OH)D в сыворотке (плазме) крови. Имеются свидетельства того, что дефицит витамина D является распространенным явлением при ожирении [174], что, предположительно, может быть следствием труднообратимой аккумуляции витамина D в адипоцитах и/или неясного пока механизма торможения образования активных метаболитов витамина D жировой тканью при ее избыточном накоплении [174].

Установлено, что средний индекс массы тела, превышающий норму (18,5-24,9 кг/м²), имелся только у мужчин контрольной группы (Таблица 11). Это значение соответствовало избыточной массе тела (25,0-29,9 кг/м²).

Таблица 11 – 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

Только в данной подгруппе уровень 25(OH)D в сыворотке крови 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).

Сопоставление двух выявленных фактов – наличие связи индекса массы тела и возраста с уровнем 25(OH)D в сыворотке крови - только у мужчин группы контроля позволило предположить, что эти две корреляты статуса витамина D могут быть ассоциированы. Методом корреляционного анализа была проведена оценка связи индекса массы тела с возрастом. Результаты анализа представлены в Таблице 12.

Учитывая наличие в подгруппе мужчин контрольной группы положительной связи между возрастом и концентрацией 25(OH)D и корреляции возраста с индексом массы тела, можно полагать, что в данном случае имеет место влияние связанного с возрастом ожирения на метаболизм витамина D.

Таблица 12 – Коэффициенты корреляции возраста и индекса массы тела в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе

Группа/подгруппа	Коэффициент корреляции Спирмена	Значимость, р
Группа РС		
Вся группа, n=90	0,21	0,045
Мужчины, n=36	0,24	0,160
Женщины, n=54	0,16	0,241
Группа контроля		
Вся группа, n=87	0,43	<0,001
Мужчины, n=41	0,39	0,012
Женщины, n=46	0,40	0,006

Таким образом, судя по отсутствию различий по индексу массы тела больных РС и участников исследования контрольной группы, влияниями жировой ткани не может быть объяснена бóльшая распространенность неадекватного уровня витамина D у больных РС. Это не противоречит данным о связи массы жировой ткани со статусом витамина D, поскольку индекс массы тела выше нормальных значений (избыточный вес), выявленный только у мужчин контрольной группы, положительно коррелировал с уровнем 25(OH)D. Возможно, связь метаболизма витамина D с жировой тканью проявляется лишь при избыточном накоплении этой ткани. Нельзя исключить и разнонаправленность влияния жировой ткани на уровень 25(OH)D при разных степенях ожирения.

Принявшие участие в исследовании больные РС получали лечение разными лекарственными препаратами, изменяющими течение РС (ПИТРС), или по различным причинам (недавно выявленный РС и другие) на момент обследования статуса витамина D еще не получали ПИТРС. Было оценено потенциальное влияние фармакотерапии ПИТРС и ее отсутствия на концентрацию 25(OH)D в сыворотке крови у участников исследования. Данные представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Концентрация 25(OH)D в сыворотке крови в группе больных рассеянным склерозом, получающих терапию различными препаратами, нг/мл

Препарат	Количество больных РС, n	Концентрация 25(OH)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

Не выявлено различий по концентрации 25(OH)D в сыворотке крови между подгруппами больных РС, получающих терапию различными ПИТРС, и не получающих лечения этими препаратами (Н-критерий Краскела Уоллиса $H=1,71$, $p=0,888$).

Представленные в главе результаты исследования свидетельствуют о том, что в Алтайском крае бóльшая распространенность недостаточности/дефицита витамина D у больных ремиттирующим РС по сравнению с индивидуумами, не страдающими этим заболеванием, не может объясняться только зависимостью статуса витамина D от сезонно варьирующей инсоляции и/или времени и площади экспозиции солнечной радиации на поверхность тела. Как у больных РС, так и у жителей края, не страдающих этим заболеванием, маловероятна зависимость статуса витамина D от проживания в сельской или городской местности, от возраста и массы жировой ткани при отсутствии ожирения.

Особую значимость в отношении понимания этиопатогенеза РС могут иметь результаты анализа зависимости статуса витамина D от варьирования солнечной радиации. Это обусловлено тем, что до настоящего времени не найдено объяснений хорошо известного повышения заболеваемости РС с увеличением географической широты [4, 24], и продолжается дискуссия о том, связано ли это явление с прямым

влиянием инсоляции или влияние инсоляции на заболеваемость РС реализуется через биосинтез витамина D [85].

В проведенной работе влияние инсоляции на группы больных РС и контроля было, насколько возможно, стандартизовано невключением в исследование пациентов с низкой двигательной активностью, формированием групп с сопоставимой численностью обследованных в периоды высокой и низкой инсоляции и продолжительностью пребывания на открытом для солнца пространстве. Полученные при такой организации обследования результаты показали конгруэнтное сезонное варьирование уровней 25(OH)D у больных РС и лиц, не имеющих этого заболевания, с сохранением более низких значений у больных РС. Вышеизложенные результаты исследования, как представляется, свидетельствует о малой вероятности того, что уровень солнечной радиации и его сезонное варьирование в Алтайском крае являются факторами, определяющими более высокую распространенность недостаточности/дефицита витамина D у больных РС по сравнению с контролем.

Отметим, что в целом, результаты проведенного анализа научных публикаций указывают на многофакторность недостаточности витамина D. Возможно поэтому, предпринятый в представленной работе поиск причин бóльшей распространенности неадекватной обеспеченности витамином D у больных ремиттирующим РС по сравнению с лицами, не страдающими этим заболеванием, не выявил среди оцененных негенетических факторов причин этого феномена. Однако проведенная оценка позволяет исключить ряд факторов, влияющих на обмен витамина D, как причин различия статуса витамина D больных РС и не страдающих этим заболеванием жителей Алтайского края.

Можно полагать, что для объяснения высокой распространенности недостаточности витамина D у больных РС рациональна оценка более широкого комплекса факторов гомеостаза кальцитриола. Логичность этого предположения подтверждается, в частности, ростом публикаций, свидетельствующих о наличии особенностей экспрессии генов ферментов метаболизма витамина D в разных тканях, включая клетки иммунной системы [95, 180, 186, 188, 204].

3.4 Ассоциация полиморфизмов генов *CYP27B1*, *CYP24A1*, *VDR* с уровнем 25(OH)D в сыворотке крови

Выявленные различия концентрации 25(OH)D в сыворотке крови больных РС и группы контроля и низкая вероятность связи этого факта с воздействием негенетических факторов определили рациональность поиска маркеров генетической предрасположенности больных РС к дефициту витамина D.

Развитие недостаточности кальцитриола и, как следствие, расстройства метаболизма и функции тканей-мишеней витамина D, в том числе и элементов иммунной системы, может быть связано с дисбалансом ферментов процессов синтеза витамина D, его превращения в активные метаболиты и их инактивации [32, 54, 64, 120]. Кроме того, причиной недостаточности кальцитриола может быть нарушение рецепции этого гормона клетками-мишенями [32, 54, 64].

Показано, что до 65% вариаций содержания 25(OH)D в сыворотке крови могут объясняться генетическим фоном. 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 кальцитриола (*VDR*) - FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236) [184]. Предполагается, что биосинтез и/или регуляция активности ферментов метаболизма, а также рецепции витамина D у больных РС могут иметь генетически детерминированные особенности [190]. Полногеномным анализом у европеоидов выявлена связь РС с полиморфизмами генов, кодирующих фермент активации витамина D в митохондриях почек 1 α -гидроксилазы 25-OH-холекальциферола – *CYP27B1*, и фермент окислительной инактивации 25(OH)D и кальцитриола – *CYP24A1* [190]. В связи с этим была оценена связь уровня 25(OH)D в сыворотке крови с четырьмя полиморфизмами гена рецептора кальцитриола *VDR* - FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI

(rs731236), ApaI (rs7975232), а также с полиморфизмами генов ферментов метаболизма витамина D - *CYP27B1* (rs703842) и *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 BSM1 (rs1544410); $p=0,656$ для TaqI (rs731236); $p=1,00$ для ApaI (rs7975232).

Не обнаружено различий средних значений уровней 25(OH)D в сыворотке крови участников исследования-носителей разных генотипов *CYP24 A1* (rs2248359) и *CYP27 B1* (rs703842) ни в группе больных РС, ни в контрольной группе (Таблица 14).

Таблица 14 – Концентрация 25(OH)D в сыворотке крови носителей разных генотипов *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842) в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе

Генотип	Концентрация 25(OH)D, нг/мл	Значимость различий между носителями генотипов
1	2	3
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)		
Группа РС n=89		
GG	26,1±6,8	H=0,26; p=0,878
GA	27,0±6,5	

Продолжение таблицы 14

1	2	3
AA	24,7±8,5	
Группа контроля n=87		
GG	34,1±7,4	H=4,37; p=0,113
GA	31,3±9,7	
AA	37,4±8,4	
<i>CYP27B1</i> (rs703842)		
Группа РС n=89		
TT	24,8±6,6	H=1,82; p=0,403
TC	26,5±7,3	
CC	28,3±6,3	
Группа контроля n=87		
TT	33,6±8,6	H=0,50; p=0,778
TC	33,5±8,3	
CC	31,8±7,5	

Между тем при анализе связи частоты встречаемости сниженного уровня 25(OH)D (менее 30 нг/мл) с исследованными полиморфизмами генов установлено, что GA генотип *CYP24A1* (rs2248359) ассоциирован с повышенным риском развития дефицита/недостаточности витамина D как в группе больных РС, так и в группе контроля (Таблица 15). При этом не обнаружено связи содержания витамина D ни с одним из аллелей/генотипов полиморфизма *CYP27B1* (rs703842).

Таблица 15 – Относительный риск дефицита/недостаточности витамина D в зависимости от генотипов и аллелей *CYP24A1* (rs2248359), *CYP27B1* (rs703842) в группе больных рассеянным склерозом и в контрольной группе

Генотипы, аллели	Количество аллелей, генотипов абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Подгруппа 25(OH)D 10-30 нг/мл	Подгруппа 25(OH)D > 30 нг/мл		
1	2	3	4	5
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)				

Продолжение таблицы 15

1	2	3	4	5
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
G	79 (61,7)	33 (66,0)	0,76 (0,38-1,52)	0,434
A	49 (38,3)	17 (34,0)	1,20 (0,60-2,40)	0,595
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
G	39 (60,9)	64 (58,2)	1,06 (0,53-2,09)	0,874
A	25 (39,1)	46 (41,8)	0,95 (0,48-1,87)	0,874
CYP27 B1 (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
T	77 (60,2)	27 (54,0)	1,29 (0,66-2,50)	0,454
C	51 (39,8)	23 (46,0)	0,78 (0,40-1,51)	0,454
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
T	38 (59,4)	76 (69,1)	0,66 (0,34-1,27)	0,209
C	26 (40,6)	34 (30,9)	1,51 (0,79-2,90)	0,209

При анализе связи частоты встречаемости сниженного уровня 25(OH)D с исследованными полиморфизмами гена рецептора витамина D установлено, что группе контроля СТ генотип *VDR* FokI (rs2228570) ассоциирован со сниженным риском дефицита/недостаточности витамина D (Таблица 16). Подобной связи не

выявлено при анализе взаимосвязи этого полиморфизма гена *VDR* со статусом витамина D в группе больных РС (Таблица 17). Ни в одной из групп не найдено ассоциаций других исследованных полиморфизмов гена *VDR* с дефицитом/недостаточностью витамина D (Таблица 17).

Установленная связь сниженного до неадекватного уровня 25(OH)D с GA генотипом *CYP24A1* (rs2248359) свидетельствует о повышенном риске дефицита витамина D у носителей этого генотипа не только среди больных РС, но и среди жителей Алтайского края, не страдающих этим заболеванием. Гипотетически, эта связь может проявляться повышенной экспрессией и/или активностью фермента *CYP24A1*, участвующего в окислительной инактивации как 25(OH)D, так и кальцитриола. Маловероятно, что только полиморфизмом *CYP24A1* (rs2248359) может объясняться повышенная распространенность дефицита/недостаточности витамина D среди больных РС, поскольку частоты этого генотипа в группе больных РС и контрольной группе были сопоставимы (40,4% и 47,1%, соответственно; $p=0,373$).

Таблица 16 – Относительный риск дефицита/недостаточности витамина D в контрольной группе в зависимости от генотипов и аллелей *VDR* FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232)

Генотипы, аллели	Количество аллелей, генотипов абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Подгруппа 25(OH)D 10-30 нг/мл n=31	Подгруппа 25(OH)D > 30 нг/мл n=55		
1	2	3	4	5
<i>VDR</i> FokI (rs2228570)				
ТТ	8 (25,8)	10 (18,2)	1,57 (0,54-4,57)	0,405
СТ	11 (35,5)	32 (58,2)	0,40 (0,16-1,00)	0,042
СС	12 (38,7)	13 (23,6)	2,04 (0,78-5,37)	0,143
Т	27 (43,5)	52 (47,3)	0,86 (0,46-1,62)	0,638

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5
C	35 (56,5)	58 (52,7)	1,16 (0,62-2,18)	0,638
<i>VDR BSMI (rs1544410)</i>				
AA	4 (12,9)	13 (23,6)	0,48 (0,14-1,65)	0,237
GA	18 (58,1)	24 (43,7)	1,79 (0,72-4,41)	0,201
GG	9 (29,0)	18 (32,7)	0,84 (0,32-2,22)	0,723
A	26 (41,9)	50 (45,5)	0,87 (0,46-1,63)	0,656
G	36 (58,1)	60 (54,5)	1,15 (0,61-2,17)	0,656
<i>VDR TaqI (rs731236)*</i>				
CC	4 (12,9)	10 (18,5)	0,65 (0,18-2,33)	0,504
TC	17 (54,8)	24 (44,4)	1,52 (0,62-3,73)	0,357
TT	10 (32,3)	20 (37,1)	0,75 (0,29-1,92)	0,542
C	25 (40,3)	44 (40,7)	0,98 (0,52-1,87)	0,957
T	37 (59,7)	64 (59,3)	1,02 (0,54-1,93)	0,957
<i>VDR ApaI (rs7975232)</i>				
GG	6 (19,4)	10 (18,2)	1,08 (0,35-3,38)	0,893
AG	16 (51,6)	25 (45,5)	1,28 (0,52-3,13)	0,583
AA	9 (29,0)	20 (36,3)	0,61 (0,23-1,64)	0,318
G	28 (45,2)	45 (40,9)	1,19 (0,63-2,24)	0,588
A	34 (54,8)	65 (59,1)	0,84 (0,45-1,58)	0,588

Примечание: * – n=54 для группы с адекватным уровнем 25(OH)D.

Таблица 17 – Относительный риск дефицита/недостаточности витамина D у больных рассеянным склерозом в зависимости от генотипов и аллелей *VDR FokI (rs2228570)*, *BSMI (rs1544410)*, *TaqI (rs731236)*, *ApaI (rs7975232)*

Генотипы, аллели	Количество аллелей, генотипов абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	Подгруппа 25(OH)D 10-30 нг/мл n=64	Подгруппа 25(OH)D > 30 нг/мл n=26		
1	2	3	4	5
<i>VDR FokI (rs2228570)</i>				
TT	12 (18,8)	5 (19,2)	0,97 (0,30-3,18)	0,958

Продолжение таблицы 17

1	2	3	4	5
CT	31 (48,4)	15 (57,7)	0,59 (0,23-1,51)	0,262
CC	21 (32,8)	6 (23,1)	1,63 (0,56-4,73)	0,363
T	55 (43,0)	25 (48,1)	0,80 (0,27-2,37)	0,682
C	73 (57,0)	27 (51,9)	1,25 (0,42-3,71)	0,682
<i>VDR BSMI (rs1544410)</i>				
AA	11 (17,2)	4 (15,4)	1,14 (0,32-4,05)	0,835
GA	27 (42,2)	13 (50,0)	0,73 (0,29-1,85)	0,500
GG	26 (40,6)	9 (36,4)	1,29 (0,49-3,38)	0,597
A	49 (38,3)	21 (40,4)	0,54 (0,18-1,63)	0,267
G	79 (61,7)	31 (59,6)	1,84 (0,61-5,53)	0,267
<i>VDR TaqI (rs731236)</i>				
CC	11 (17,2)	2 (7,7)	2,22 (0,44-11,17)	0,326
TC	27 (42,2)	13 (50,0)	0,63 (0,25-1,58)	0,316
TT	26 (40,6)	11 (42,3)	1,00 (0,39-2,53)	0,992
C	49 (38,3)	17 (32,7)	0,92 (0,30-2,82)	0,888
T	79 (61,7)	35 (67,3)	1,08 (0,35-3,30)	0,888
<i>VDR ApaI (rs7975232)</i>				
GG	14 (21,9)	5 (19,2)	1,18 (0,37-3,74)	0,781
AG	29 (45,3)	15 (57,7)	0,61 (0,24-1,55)	0,289
AA	21 (32,8)	6 (21,3)	1,52 (0,52-4,41)	0,440
G	57 (44,5)	25 (48,1)	1,35 (0,45-4,10)	0,585
A	71 (55,5)	27 (51,9)	0,74 (0,24-2,23)	0,585

Обнаруженный протективный эффект CT генотипа *VDR* (rs2228570) в группе контроля в отношении дефицита/недостаточности витамина D, как нам представляется, требует дальнейшего специального исследования и оценки. Частота встречаемости этого генотипа в обследованных группах участников исследования была сопоставимой (51,1% и 50,6% в группе больных РС и в группе контроля, соответственно, $p=0,944$), что, также как и в случае с GA генотипом *CYP24A1* (rs2248359), указывает на малую вероятность значимого вклада в формирование различий больных РС и лиц контрольной группы по статусу витамина D. Гипотетически эта ассоциация может реализоваться через характерную для гормональной функции реципрокность процесса накопления

кальцитриола в крови, как результирующей синтеза и инактивации этого метаболита, и процесса экспрессии рецепторов к витамину D.

Отметим, что хотя в ряде исследований показано, что полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки метаболизма витамина D, включая рецепторы и ферменты (*VDR*, *CYP27B1*, *CYP24A1*), ассоциированы с дефицитом/недостаточностью витамина D при РС [155, 190, 194, 202], единство мнений по данному вопросу пока не достигнуто. Нельзя исключить разнонаправленность влияния полиморфизмов генов в различных популяциях, проживающих на территориях с различными климато-метеорологическими характеристиками. В целом, по мнению авторов недавних систематических обзоров, данные популяционных исследований по ассоциации отдельных из генетических полиморфизмов с РС и статусом витамина D у больных РС пока не позволяют сделать доказательных заключений [31, 66, 130, 184, 209].

3.5 Ассоциация полиморфизмов генов *CYP27B1* и *CYP24A1*, *VDR* с риском и особенностями течения рассеянного склероза

В ряде работ показано, что полиморфизмы генов, кодирующих ключевые белки метаболизма витамина D, включая рецепторы и ферменты (*VDR*, *CYP27B1*, *CYP24A1*), ассоциированы с риском РС [3, 48, 63, 66, 104, 105, 114, 116, 128, 141, 150, 155, 158, 177, 190]. Вместе с тем имеются работы, отрицающие такую связь [74, 84, 102, 194, 200, 202, 236]. Также весьма противоречивы выводы авторов немногочисленных публикаций о связи особенностей течения РС с полиморфизмами генов, вовлеченных в биотрансформацию и рецепцию витамина D [30, 119, 154, 179].

Можно полагать, что вклад отдельных полиморфизмов генов метаболизма и рецепции витамина D в формирование 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 связи полиморфизмов этих генов с риском и течением РС в разных популяциях больных РС с учетом региональных особенностей инсоляции. В связи с этим была оценена связь однонуклеотидных полиморфизмов генов *CYP27B1*, *CYP24A1* и *VDR* с риском и особенностями течения РС в Алтайском крае.

Логистическим регрессионным анализом установлено, что с повышенным риском РС ассоциирован ТС генотип полиморфизма *CYP27B1* (rs703842), тогда как ТТ генотип этого же полиморфизма связан с протективным влиянием в отношении предрасположенности к РС (Таблица 18). Не найдено такого рода связей ни для одного из генотипов или аллелей *CYP24A1* (rs2248359) (Таблица 18).

Таблица 18 – Относительный риск рассеянного склероза в зависимости от генотипов и аллелей *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842)

Генотипы, аллели	Количество аллелей, генотипов абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, р
	Группа РС n=89	Группа контроля n=86		
<i>CYP27B1</i> (rs703842)				
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
Т	104 (58,4)	112 (65,1)	1,74 (0,73-4,12)	0,206
С	74 (41,6)	60 (34,9)	0,58 (0,24-1,36)	0,207
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)				
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
G	112 (62,9)	103 (59,2)	0,75 (0,33-1,72)	0,491
A	66 (37,1)	71 (40,8)	1,34 (0,58-3,08)	0,491

Не найдено ассоциации риска РС ни с одним из исследуемых полиморфизмов *VDR* (Таблица 19).

Таблица 19 – Относительный риск рассеянного склероза в зависимости от генотипов и аллелей *VDR* FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232)

Генотипы, аллели	Количество аллелей, генотипов, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, р
	Группа РС n=90	Группа контроля n=87		
<i>VDR</i> FokI (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
Т	80 (44,4)	80 (46,0)	1,14 (0,48-2,67)	0,769
С	100 (55,6)	94 (54,0)	0,88 (0,37-2,09)	0,771
<i>VDR</i> BSMI (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
А	70 (38,9)	77 (44,3)	1,54 (0,66-3,56)	0,315
Г	110 (61,1)	97 (55,7)	0,65 (0,28-1,51)	0,315
<i>VDR</i> TaqI (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
С	66 (36,7)	70 (40,7)	1,40 (0,59-3,30)	0,442
Т	114 (63,3)	102 (59,3)	0,72 (0,30-1,69)	0,442
<i>VDR</i> ApaI (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
Г	82 (45,6)	74 (42,5)	0,78 (0,34-1,82)	0,569
А	98 (54,4)	100 (57,5)	1,27 (0,55-2,96)	0,570

Примечание: * – группа контроля n=86.

Проведено исследование риска высокой скорости прогрессирования РС (нарастание тяжести неврологических расстройств более 0,75 баллов по EDSS в год) в зависимости от аллелей и генотипов исследованных полиморфизмов генов. Не найдено каких-либо ассоциаций быстрого прогрессирования неврологического дефицита с полиморфизмами *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842) (Таблица 20), а также с полиморфизмами *VDR BSM1* (rs1544410), *ApaI* (rs7975232), *TaqI* (rs731236) (Таблица 21). Обнаружен протективный эффект TT генотипа *VDR FokI* (rs2228570) в отношении риска высокой скорости прогрессирования РС (Таблица 21).

Таблица 20 – Относительный риск высокой скорости прогрессирования рассеянного склероза в зависимости от генотипов и аллелей *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842)

Генотипы, аллели	Количество больных РС носителей аллели/генотипа, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	высокая СП n=12	низкая и умеренная СП n=69		
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)				
GG	6 (50,0)	27 (39,2)	0,64 (0,18-2,24)	0,482
GA	4 (33,3)	29 (42,0)	1,45 (0,39-5,39)	0,573
AA	2 (16,7)	13 (18,8)	1,16 (0,22-6,10)	0,858
G	16 (66,7)	83 (60,1)	0,61 (0,11-3,49)	0,573
A	8 (33,3)	55 (39,9)	1,64 (0,29-9,40)	0,573
<i>CYP27B1</i> (rs703842)				
TT	4 (33,3)	22 (31,9)	0,94 (0,25-3,52)	0,921
TC	7 (58,4)	38 (55,1)	0,88 (0,25-3,09)	0,834
CC	1 (8,3)	9 (13,0)	1,65 (0,18-14,85)	0,650
T	15 (62,5)	82 (59,4)	0,74 (0,10-5,30)	0,757
C	9 (37,5)	56 (40,6)	1,36 (0,19-9,77)	0,757

Таблица 21 – Относительный риск высокой скорости прогрессирования рассеянного склероза в зависимости от аллелей и генотипа *VDR FokI* (rs2228570), *BSMI* (rs1544410), *TaqI* (rs731236), *ApaI* (rs7975232)

Генотипы, аллели	Количество больных РС носителей аллели/генотипа, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, р
	Высокая СП n=12	Низкая и умеренная СП n=69		
<i>VDR FokI</i> (rs2228570)				
ТТ	5 (41,7)	10 (14,5)	0,24 (0,06-0,92)	0,034
СТ	5 (41,7)	38 (55,1)	1,72 (0,49-6,06)	0,394
СС	2 (16,6)	21 (30,4)	2,19 (0,43-11,14)	0,338
Т	15 (62,5)	58 (42,0)	0,16 (0,02-1,12)	0,061
С	9 (37,5)	80 (58,0)	6,32 (0,89-44,79)	0,061
<i>VDR BSMI</i> (rs1544410)				
АА	1 (8,3)	11 (16,0)	2,09 (0,24-18,45)	0,502
GA	6 (50,0)	29 (42,0)	0,73 (0,21-2,52)	0,608
GG	5 (41,7)	29 (42,0)	1,02 (0,30-3,47)	0,981
А	8 (33,3)	51 (37,0)	1,35 (0,22-8,20)	0,742
Г	16 (66,7)	87 (63,0)	0,74 (0,12-4,51)	0,742
<i>VDR TaqI</i> (rs731236)				
СС	1 (8,3)	10 (14,5)	1,86 (0,21-16,62)	0,571
ТС	6 (50,0)	27 (39,1)	0,64 (0,18-2,24)	0,482
ТТ	5 (41,7)	32 (46,4)	1,21 (0,34-4,27)	0,763
С	8 (33,3)	47 (34,1)	1,06 (0,18-6,36)	0,947
Т	1 (66,7)	91 (65,9)	0,94 (0,16-5,60)	0,947
<i>VDR ApaI</i> (rs7975232)				
GG	2 (16,7)	17 (24,6)	1,63 (0,32-8,42)	0,551
AG	7 (58,3)	34 (49,3)	0,69 (0,20-2,45)	0,564
AA	3 (25,0)	18 (26,1)	1,06 (0,25-4,44)	0,937
Г	11 (45,8)	68 (49,3)	1,32 (0,22-7,84)	0,754

A	13 (54,2)	70 (50,7)	0,76 (0,13-4,48)	0,754
---	-----------	-----------	------------------	-------

Выявлен протективный эффект ТТ генотипа полиморфизма TaqI (rs731236) относительно обострений РС. Не найдено ассоциации риска обострений РС с другими аллелями и генотипами полиморфизмов рецепторов кальцитриола VDR FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236) (Таблица 22), а также полиморфизмов генов ферментов биотрансформации витамина D (Таблица 23).

Таблица 22 – Относительный риск обострений рассеянного склероза чаще одного раза в год в зависимости от генотипа и аллелей VDR FokI (rs2228570), BSMI (rs1544410), TaqI (rs731236), ApaI (rs7975232)

Аллель, генотип	Количество больных РС носителей аллели/генотипа, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, р
	≤ 1 обострения в год n=51	≥ 1 обострения в год n=26		
1	2	3	4	5
VDR FokI (rs2228570)				
ТТ	8 (15,7)	7 (26,9)	0,50 (0,16-1,62)	0,244
СТ	27 (52,9)	13 (50,0)	1,13 (0,43-2,94)	0,807
СС	16 (31,4)	6 (23,1)	1,52 (0,50-4,61)	0,448
Т	43 (42,2)	27 (51,9)	0,43 (0,10-1,80)	0,242
С	59 (57,8)	25 (48,1)	2,30 (0,56-9,53)	0,242
VDR BSMI (rs1544410)				
AA	9 (17,6)	1 (3,8)	5,36 (0,62-46,43)	0,122
GA	23 (45,1)	11 (42,3)	1,12 (0,42-2,95)	0,816
GG	19 (37,3)	14 (53,8)	0,51 (0,19-1,35)	0,167
A	41 (40,2)	13 (25,0)	4,02 (0,87-18,65)	0,071
G	61 (59,8)	39 (75,0)	0,25 (0,05-1,15)	0,071
VDR TaqI (rs731236)				

CC	8 (15,7)	1 (3,8)	4,65 (0,53-40,80)	0,159
TC	24 (47,1)	9 (34,6)	1,68 (0,62-4,52)	0,297

Продолжение таблицы 22

1	2	3	4	5
ТТ	19 (37,3)	16 (61,6)	0,37 (0,14-1,00)	0,041
С	40 (39,2)	11 (21,2)	5,79 (1,14-29,27)	0,031
Т	62 (60,8)	41 (78,8)	0,17 (0,03-0,87)	0,031
<i>VDR ApaI (rs7975232)</i>				
GG	11 (21,6)	7 (26,9)	0,75 (0,25-2,27)	0,600
AG	27 (52,9)	14 (53,8)	0,96 (0,37-2,53)	0,940
AA	13 (25,5)	5 (19,3)	1,44 (0,44-4,68)	0,541
G	49 (48,0)	28 (53,8)	0,61 (0,15-2,50)	0,482
A	53 (52,0)	24 (46,2)	1,65 (0,40-6,78)	0,482

Таблица 23 – Относительный риск обострений рассеянного склероза чаще одного раза в год в зависимости от генотипа и аллелей генов *CYP24A1* (rs2248359) и *CYP27B1* (rs703842)

Аллель, генотип	Количество больных РС носителей аллели/генотипа, абс. (%)		Отношение шансов, среднее значение (95%ДИ)	Уровень значимости, p
	≤ 1 обострения в год n=51	≥ 1 обострения в год n=26		
<i>CYP24A1</i> (rs2248359)				
GG	18 (35,3)	14 (53,9)	0,86 (0,34-2,18)	0,742
GA	22 (43,1)	9 (34,6)	1,43 (0,53-3,88)	0,472
AA	11 (21,6)	3 (11,5)	0,78 (0,18-3,33)	0,728
G	58 (56,9)	37 (71,2)	0,33 (0,08-1,33)	0,112
A	44 (43,1)	15 (28,8)	3,03 (0,75-12,20)	0,112
<i>CYP27B1</i> (rs703842)				
ТТ	15 (29,4)	10 (38,5)	0,61 (0,22-1,68)	0,330
ТС	28 (54,9)	14 (53,8)	1,04 (0,40-2,74)	0,930
СС	8 (15,7)	2 (7,7)	2,23 (0,43-11,68)	0,334
Т	58 (56,9)	34 (65,4)	0,43 (0,09-2,00)	0,276
С	44 (43,1)	18 (34,6)	2,31 (0,50-10,66)	0,276

В контексте обсуждения представленных в главе результатов отметим, что наличие ассоциации ТС и ТТ генотипов полиморфизма *CYP27B1* (rs703842) с риском РС указывает на вовлеченность этого полиморфизма в формирование генетически детерминированных особенностей метаболизма витамина D у больных РС и согласуются с результатами полногеномного анализа ассоциаций с риском РС [190], а также результатами обследования больных РС в ряде других популяций [111, 157, 193, 238]. В то же время имеются отдельные сообщения об отсутствии ассоциаций РС с *CYP27B1* (rs703842) [176, 194]. Для выявления фенотипических проявлений этой ассоциации, возможно, следует оценивать концентрацию в плазме крови не только 25(OH)D, но и кальцитриола, образующегося из этого метаболита с участием фермента *CYP27B1*.

Анализ согласованности полученных данных с результатами других исследований затрудняется немногочисленностью последних в сочетании с неполнотой представления информации в публикациях, неоднородностью исследований по дизайну и этническому составу участников. Эта сложность отмечена, в частности, и при проведении метаанализа публикаций, касающихся связи РС с *CYP27B1* (rs703842) [110]. Только 7 из 114 публикаций до 2015 года признаны авторами метаанализа удовлетворяющими условиям публикаций контролируемых исследований [110]. По четырем из этих публикаций сделано предположение, что аллель С в *CYP27B1* (rs703842) связана со сниженной восприимчивостью европеоидов к РС. Этот вывод не соответствует результатам проведенного нами исследования и не согласуется с выводом опубликованной в 2017 году работы об отсутствии связи с РС этого же полиморфизма гена *CYP27B1* в Сицилии [31, 36].

Выявленные противоречия могут, отчасти, объясняться тем, что на ассоциацию *CYP27B1* (rs703842) с восприимчивостью к РС влияет аллель HLA-DRB1 * 15:01 [67]. Представляется, что целесообразность дальнейшего изучения связи полиморфизмов *CYP27B1* с риском РС в разных популяциях не отрицается указанными противоречиями результатов и поддерживается выводом о наличии

такой связи после обследования 46 членов канадских семей с четырьмя и более больными РС [179].

Учитывая отмеченную несогласованность данных, нельзя исключить того, что ассоциированные с гормональной функцией кальцитриола генетические факторы, влияющие на течение РС, также как и факторы риска РС, могут различаться в зависимости от генофонда и особенностей внешних факторов территории проживания пациентов. Представляются актуальными дальнейшее накопление и последующая систематизация фактов о генетических маркерах риска недостаточности кальцитриола и их связи с риском и течением РС в различных регионах с учетом особенностей их инсоляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышенное внимание исследователей к проблемам РС обусловлено рядом обстоятельств. Этим заболеванием страдают люди молодого, трудоспособного возраста, у которых на определенных этапах болезни неизбежно развивается инвалидизация. Регистрируется неуклонное увеличение числа больных РС в мире. В 2020 году в мире насчитывалось около 2,8 млн пациентов с этим заболеванием [39]. Сохраняется высокая стоимость лечения и социальной поддержки больных РС [1, 4, 7].

Сложности в раскрытии закономерностей развития и течения РС как мультифакторного заболевания создают широкое разнообразие региональных климатических и антропологических экологических условий, а также множество индивидуальных генетических особенностей, вовлеченных в формирование фенотипа болезни. Поэтому, несмотря на существенные достижения последних десятилетий в области диагностики и фармакотерапии РС, неясными остаются многие аспекты, касающиеся риска, патогенеза, закономерностей течения этого заболевания и ответа пациентов на терапию. В последние годы при анализе причин развития и неблагоприятного течения РС особое внимание уделяют таким модифицируемым факторам, влияющим на иммунный статус пациента, как недостаток витамина D, курение, избыточная масса тела, особенности состава микробиоты кишечника [4, 13, 111, 156].

Проведенное исследование позволило впервые в Алтайском крае оценить связь статуса витамина D больных ремиттирующим РС с инсоляцией, генетическими и клиническими особенностями.

При планировании исследования были сформулированы критерии включения с учетом данных о влиянии на статус витамина D длительности пребывания на открытом воздухе (экспозиция солнечной радиации), хронических заболеваний, при которых возможно вторичное нарушение метаболизма витамина D, и, конечно, получения витамина D и/или его активных метаболитов с пищей, лекарственными препаратами или пищевыми добавками. Дополнительными

критериями невключения в исследование больных РС был тяжелые неврологические нарушения, обострение заболевания, ограничивающие двигательную активность и, как следствие, препятствующие пребыванию пациентов на открытом воздухе.

Для достижения цели работы были полностью решены задачи, определенные при планировании диссертационного исследования.

Установлено, что уровень 25(ОН)D в сыворотке крови ниже у больных ремиттирующим РС, как у мужчин, так у женщин, по сравнению с добровольцами, не имеющими этого заболевания. Важным является то, что у 72,2% обследованных больных РС уровень сниженного 25(ОН)D соответствовал дефициту или недостаточности витамина D. При этих патологических состояниях можно ожидать клинических проявлений гиповитаминоза D, способных, в частности, усугубить синергичные по влиянию на костную ткань побочные эффекты глюкокортикоидов, стандартно применяемые для купирования обострений РС.

С учетом актуальных представлений о внешних и внутренних факторах, влияющих на обеспеченность организма витамином D, был проведен анализ возможных причин этого явления.

В качестве одной из основных причин такого рода рассматривалось меньшая экспозиция солнечной радиации, стимулирующая биосинтез витамина D в коже, больных РС по сравнению с жителями края, не имеющими этого заболевания, Эта причина была исключена из перечня высоковероятных причин с учетом критериев невключения в исследование после получения следующих результатов анализа:

- межгрупповые различия по статусу витамина D сохранялись на фоне сезонных изменений интенсивности инсоляции;
- отсутствовали значимые межгрупповые различия по длительности пребывания на открытом для солнечного излучения пространстве на протяжении 6 месяцев, предшествовавших исследованию;
- отсутствовали межгрупповые различия по статусу витамина D в зависимости от места проживания в условиях городской и сельской местности,

которые, как известно, различаются по антропогенной загрязненности атмосферного воздуха, влияющей на получаемую солнечную радиацию.

Кроме того, из возможных причин формирования особенностей иммунореактивности была с высокой вероятностью исключена разница в суммарной солнечной радиации, полученной в период внутриутробного развития, между группой больных РС и контрольной группой. Установлено, что рассчитанная суммарная солнечная радиация, полученная в период внутриутробного развития, была меньше у родившихся с апреля по ноябрь по сравнению с родившимися с декабря по март, однако различий между группой больных РС и контрольной группой по соотношению родившихся в эти периоды не найдено.

Вышеизложенные результаты исследования, свидетельствуют о малой вероятности того, что уровень солнечной радиации и его сезонное варьирование в Алтайском крае являются факторами, определяющими более высокую распространенность недостаточности/дефицита витамина D у больных РС по сравнению с контролем.

Принимая во внимание данные о возможном влиянии на статус витамина D возраста и массы жировой ткани, в исследовании оценили разницу в этих факторах в группах больных РС и в контрольной группе. Группа больных РС и контрольная группа не различались по возрасту, а также по индексу массы тела. Поэтому было сделано заключение о том, что возрастными особенностями и различиями в массе жировой ткани не могла объясняться межгрупповая разница в статусе витамина D. Выявленная только у мужчин группы контроля положительная корреляция концентрации 25(OH)D с возрастом, скорее всего, объясняется повышенным только у них индексом массы тела. Можно полагать, что связь статуса витамина D с жировой тканью проявляется лишь при избыточном накоплении этой ткани.

Не выявлено различий по концентрации 25(OH)D в сыворотке крови между подгруппами больных РС, получающих терапию различными ПИТРС, и не получающих лечения этими препаратами.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что в Алтайском крае большая распространенность недостаточности/дефицита витамина

У больных ремиттирующим РС по сравнению с индивидуумами, не страдающими этим заболеванием, не может объясняться только зависимостью статуса витамина D от сезонно варьирующей инсоляции и/или времени и площади экспозиции солнечной радиации на поверхность тела. Как у больных РС, так и у жителей края, не страдающих этим заболеванием, маловероятна зависимость статуса витамина D от проживания в сельской или городской местности, от возраста и массы жировой ткани при отсутствии ожирения.

С учетом данных последних лет о влиянии витамина D на течение дизимунных заболеваний, включая РС [81], проведена оценка связи статуса витамина D с особенностями течения РС. Ни в целом в группе больных РС, ни в подгруппах больных мужчин и женщин не было обнаружено связи уровня 25(ОН)D с возрастом дебюта, длительностью первой ремиссии РС, выраженностью неврологических расстройств на момент обследования и оцененной ретроспективно скоростью прогрессирования заболевания.

Отсутствие связи уровня 25(ОН)D с вышеперечисленными клиническими характеристиками РС согласуется с данными других авторов [107, 131], хотя анализ совокупности результатов исследований по этому вопросу не позволяет сделать однозначного заключения об ассоциации клинических характеристик РС с неадекватным статусом по витамину D [46, 192].

Полагаем, что окончательный вывод о связи динамики нарастания неврологического дефицита и частоты обострений при РС со статусом витамина D может быть сделан на основе результатов проспективного наблюдения.

Поскольку развитие дефицита/недостаточности витамина D может быть фенотипическим проявлением генетически детерминированных особенностей метаболизма витамина D, у больных РС была оценена связь уровня 25(ОН)D в сыворотке крови с полиморфизмами генов ферментов метаболизма витамина D – *CYP27B1* (rs703842) и *CYP24A1* (rs2248359), и рецепторов кальцитриола *VDR* (rs2228570, rs1544410, rs731236, rs7975232).

Независимо от результатов такой оценки нельзя было полностью исключить вероятность связи указанных полиморфизмов с предрасположенностью к РС, а

также с течением этого заболевания в период, предшествующий включению пациентов в одномоментное исследование. Поэтому была изучена ассоциация выбранных полиморфизмов с риском РС методом «случай-контроль», а также с ретроспективно рассчитанными частотой обострений и скоростью прогрессирования неврологических расстройств.

Выбор для исследования однонуклеотидных полиморфизмов 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, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>).

Не обнаружено различий средних значений уровней 25(OH)D в сыворотке крови носителей разных генотипов изученных полиморфизмов ферментов метаболизма витамина D и гена рецептора кальцитриола. Между тем методом логистического регрессионного анализа выявлен повышенный риск дефицита/недостаточности витамина D (25(OH)D менее 30 нг/мл) 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).

При оценке связей неадекватного уровня 25(OH)D в крови участников исследования с полиморфизмами гена рецептора кальцитриола *VDR* выявлена только одна зависимость: СТ генотип *VDR* FokI (rs2228570) ассоциирован со сниженным риском дефицита/недостаточности витамина D в группе контроля.

Установлено, что ТС генотип *CYP27B1* (rs703842) ассоциирован с повышенным риском РС, тогда как ТТ генотип этого полиморфизма имеет протективное влияние в отношении РС. Не найдено такого рода связей ни для одного из исследованных генотипов полиморфизма *CYP24A1* (rs2248359) и полиморфизмов рецептора витамина D.

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, а также протективный эффект ТТ генотипа *VDR TaqI* (rs731236) относительно обострений РС чаще одного раза в год.

Не найдено других ассоциаций исследованных полиморфизмов генов рецепторов кальцитриола 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 TC и TT *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.

Проведенное исследование позволяет заключить, что у проживающих в Алтайском крае больных ремиттирующим РС уровень 25(OH)D в сыворотке крови ниже по сравнению с добровольцами, не страдающих данным заболеванием. Маловероятна связь этого явления с инсоляцией, возрастом, индексом массы тела, а также особенностями течения заболевания. Полиморфизм *CYP27B1* (rs703842) при определенных внешних условиях может быть вовлечен в формирование риска РС, а полиморфизмы *VDR* (rs2228570 и rs731236) – в формирование индивидуальных неблагоприятных особенностей течения заболевания.

С учетом многофакторности статуса витамина D представляются актуальными дальнейшее накопление и последующая систематизация фактов о внешних факторах, влияющих на метаболизм витамина D, комплексная оценка средовых факторов гомеостаза кальцитриола и генетических маркеров риска недостаточности кальцитриола и их связи с течением РС в разных условиях инсоляции.

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(OH)D в сыворотке крови, соответствующий дефициту или недостаточности витамина D.
2. Различия по уровню 25(OH)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(OH)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-1а, интерфероном бета-1b, натализумабом).
4. С повышенным риском уровня 25(OH)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 ТТ генотип *VDR* FokI (rs2228570) в отношении риска высокой скорости прогрессирования неврологических расстройств и ТТ 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).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ИМТ – индекс массы тела
- ОШ – отношение шансов
- ПИТРС – препараты, изменяющие течение рассеянного склероза
- РС – рассеянный склероз
- ЦНС – центральная нервная система
- CYP27B1* – ген, кодирующий 25-гидроксивитамин D-1 альфа-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 27 подсемейство В член 1)
- CYP24A1* – ген, кодирующий 1,25-дигидроксивитамин D(3) 24-гидроксилазу, митохондриальную (цитохром P450 семейство 24 подсемейство А член 1)
- CYP2R1* – ген, кодирующий витамин D 25-гидроксилазу (цитохром P450 семейство 2 подсемейство R член 1)
- EDSS – расширенная шкала инвалидизации (Expanded Disability Status Scale)
- M – среднее арифметическое значение для выборки
- r_s – коэффициент корреляции Спирмена
- SD – стандартное отклонение
- VDR* – ген, кодирующий рецептор витамина D3 (рецептор 1,25-дигидроксивитамина D3)
- 25(OH)D – 25-гидрокси-витамин D
- 95%ДИ – 95% доверительный интервал

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аутоиммунные заболевания в неврологии. Клиническое руководство / под ред. И.А. Завалишина, М.А. Пирадова, А.Н. Бойко и др. - М.: РООИ Здоровье человека; 2014. - Т.1.
2. Бабенко, С.А. Полиморфизм гена *VDR* у больных рассеянным склерозом / С.А. Бабенко, В.М. Алифирова, Ю.Ю. Орлова, В.П. Пузырев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2009. - Т. 109, № 7-2. - С. 23-27.
3. Бабенко, С.А. Связь аллельных вариантов гена *VDRc* рассеянным склерозом / С.А. Бабенко, В.М. Алифирова, Ю.Ю. Орлова, В.П. Пузырёв // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. - № 5. - С. 40-46.
4. Бойко, А.Н. Современные алгоритмы диагностики и лечения рассеянного склероза, основанные на индивидуальной оценке состояния пациента / А.Н. Бойко, Е.И. Гусев // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, Вып. 2-2. - С. 92-106.
5. География Алтайского края: учебное пособие / авт.-сост. Ю.В. Козырева, Н.В. Рыгалова. – Барнаул : Изд-во АлтГУ, 2014.
6. Громова, О.А. Метаболиты витамина D: роль в диагностике и терапии витамин D-зависимых патологий / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, А.В. Гилельс, Т.Р. Гришина, И.К. Томилова // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. - № 4. – С. 9-18.
7. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз: научно-практическое руководство / Е.И. Гусев, А.Н. Бойко. – Москва: РООИ Здоровье человека, 2020. – В 2 т.
8. Дефицит витамина D у взрослых: диагностика, лечение, профилактика. Клинические рекомендации / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Е.А. Пигарова, Л.Я. Рожинская, Ж.Е. Белая и др.; Российская ассоциация эндокринологов; ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ. - М., 2015. – 75 с.

9. Калиниченко, С.Ю. Витамин D и репродуктивное здоровье женщин / С.Ю. Калиниченко, М.И. Жиленко, Д.А. Гусакова и др. // Проблемы репродукции. - 2016. - № 4. – С. 28-36.
10. Пигарова, Е.А. Влияние витамина D на иммунную систему / Е.А. Пигарова, А.В. Плещева, Л.К. Дзеранова // Иммунология. – 2015. – Т. 36, № 1. – С. 62–66.
11. Пигарова, Е.А. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых / Е.А. Пигарова, Л.Я. Рожинская, Ж.Е. Белая и др. // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62, № 4. – С. 60–84.
12. Плутовски, П. Практические рекомендации по поступлению витамина d и лечению его дефицита в Центральной Европе - Рекомендуемое потребление витамина d среди населения в целом и в группах риска по дефициту витамина D / П. Плутовски, Э. Карчмаревич, М. Байер и др. // Журнал ГрГМУ. - 2014. - №2 (46). – С. 109-118.
13. Попова, Е.В. Вирус Эпштейна-Барр в патогенезе рассеянного склероза (обзор) / Е.В. Попова, Н.В. Хачанова, С.Н. Шаранова, А.Н. Бойко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114. – Вып. 2-2. – С. 29-34.
14. Рассеянный склероз. Клинические рекомендации / Всероссийское общество неврологов; Национальное общество нейрорадиологов; Медицинская ассоциация врачей и центров рассеянного склероза и других нейроиммунологических заболеваний; Российский комитет исследователей рассеянного склероза. – М., 2022. - Дата размещения: 13.07.2022. - ID:739. – [URL:https://diseases.medelement.com/disease/рассеянный-склероз-кр-рф-2022/17221](https://diseases.medelement.com/disease/рассеянный-склероз-кр-рф-2022/17221)
15. Салухов, В.В. Костные и внескостные эффекты витамина D, а также возможности медикаментозной коррекции его дефицита / В.В. Салухов, Е.А. Ковалевская, В.В. Курбанова // Медицинский совет. - 2018. - №4. - С. 90-99.

16. Скоромец, А.А. Рассеянный склероз: критерии диагноза и современная терапия / А.А. Скоромец, Н.А. Тотолян, И.М. Барбас // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2005. - № 3. – С. 66–76.
17. Смагина, И.В. Рассеянный склероз в Алтайском крае: результаты проспективного эпидемиологического исследования / И.В. Смагина, Е.Ю. Ельчанинова, С.А. Ельчанинова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – Т. 119, № 2-2. – С. 7–11.
18. Смагина, И.В. Статус витамина D и полиморфизмы генов рецепторов кальцитриола *VDR* (rs1544410, rs2228570) у больных рассеянным склерозом с дебютом заболевания в детском возрасте / И.В. Смагина, Е.Ю. Ельчанинова, К.В. Лунев, О.Г. Симонова, Е.А. Назарчук // Неврологический журнал. - 2018. - Т. 23, № 3. - С. 138-143.
19. Ткачук, Е.С. Агроэкологическая оценка ландшафтных условий сельскохозяйственных организаций Алтайского края / Е.С. Ткачук // Вестник АГАУ. - 2016. - №5 (139). – С. 61-66.
20. Турова, Е.Л. Роль дефицита витамина D при рассеянном склерозе (обзор литературы) / Е.Л. Турова, С.А. Сиверцева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2014. – Т. 114, Вып. 10. – С. 18-24.
21. Харламова, Н.Ф. Туристские ресурсы Алтайского края / Н.Ф. Харламова, А.Н. Романов, Ю.И. Винокуров, С.В. Харламов. – Барнаул: АЗБУКА, 2011. - 178 с.
22. Чубарова, Н.Е. Ультрафиолетовые ресурсы при ясном небе на территории России / Н.Е. Чубарова, Е.Ю. Жданова // Вестник Московского университета. Серия 5. География. - 2012. - №6. – С. 9-19.
23. Шварц, Г.Я. Ренессанс витамина D: молекулярно-биологические, физиологические и фармакологические аспекты / Г.Я. Шварц // Медицинский Совет. – 2015. - № 18. – С.102-103.
24. Шмидт, Т.Е. Рассеянный склероз: руководство для врачей / Т.Е. Шмидт, Н.Н. Яхно. – 5-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2016. – 272 с.

25. Шмони́на, И.А. Урове́нь обеспе́ченности витами́ном D пациен́тов с рассея́нным склерозом / И.А. Шмони́на, О.В. Галкина, Н.А. Тоголя́н, Т.Л. Каро́нова // *Практическая медицина*. – 2015. – № 5(90). – С. 88-91.
26. Энциклопедия Алтайского края : в 2 т. / гл. ред. В. Т. Мищенко и др. — Барнаул: Алт. кн. изд-во, 1995–1996. — Т. 1. — 1995. — 367 с.
27. Acheson, E.D. Some comments on the relationship of the distribution of multiple sclerosis to latitude, solar radiation, and other variables / E.D. Acheson, C.A. Bachrach, F.M. Wright // *Acta Psychiatr Scand Suppl.* – 1960. – Vol. 35, № 147. – P. 132–147.
28. Adorini, L. Tolerogenic dendritic cells induced by vitamin D receptor ligands enhance regulatory T cells inhibiting auto-immune diabetes / L. Adorini // *Ann N Y Acad Sci.* – 2003. – Vol. 987. – P. 258–261.
29. Afzal, S. Reduced 25-hydroxyvitamin D and risk of Alzheimer’s disease and vascular dementia / S. Afzal, S.E. Bojesen, B.G. Nordestgaard // *Alzheimers Dement.* – 2014. – Vol. 10. – P. 296–302.
30. Agliardi, C. Vitamin D receptor (*VDR*) gene SNPs influence *VDR* expression and modulate protection from multiple sclerosis in HLA-DRB1*15-positive individuals / C. Agliardi, F.R. Guerini, M. Saresella et al. // *Brain, behavior, and immunity.* - 2011. – Vol. 25, № 7. – P. 1460–1467.
31. Agnello, L. Role of Multiple Vitamin D-Related Polymorphisms in Multiple Sclerosis Severity: Preliminary Findings / L. Agnello, C. Scazzone, B.L. Sasso et al. // *Genes (Basel).* – 2022. – Vol. 13, № 8. – P. 1307.
32. Alharbi, F.M. Update in vitamin D and multiple sclerosis / F.M. Alharbi // *Neurosciences (Riyadh).* – 2015. – Vol. 20, № 4. – P. 329-335.
33. Almerighi, C. 1Alpha,25-dihydrovitamin D3 inhibits CD40L-induced proinflammatory and immunomodulatory activity in human monocytes / C. Almerighi, A. Sinistro, A. Cavazza et al. // *Cytokine.* – 2009. – Vol. 45. – P. 90—197.

34. Annweiler, C. Low serum vitamin D concentrations in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis / C. Annweiler, D.J. Llewellyn, O. Beauchet // *J Alzheimers Dis.* – 2013. – Vol. 33. – P. 659–764.
35. Arteh, J. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease / J. Arteh, S. Narra, S. Nair // *Dig Dis Sci.* – 2010. – Vol. 55. – P. 2624–2628.
36. Agnello, L. VDBP, *CYP27B1*, and 25-Hydroxyvitamin D Gene Polymorphism Analyses in a Group of Sicilian Multiple Sclerosis Patients / L. Agnello, C. Scazzone, B. Lo Sasso et al. // *Biochem Genet.* – 2017. – Vol. 55(2). – P. 183-192.
37. Ascherio, A. Vitamin D and multiple sclerosis / A. Ascherio, K. Munger, K. Simon // *Lancet Neurol.* – 2010. – Vol. 9, № 6. – P. 599–612.
38. Ascherio, A. Vitamin D as an early predictor of multiple sclerosis activity and progression / A. Ascherio, K.L. Munger, R. White et al. // *JAMA Neurol.* – 2014. – Vol. 71. – P. 306–314.
39. Atlas of MS 2020 – Epidemiology report / Multiple Sclerosis International Federation. - 3rd Edition. - MSIF, 2020. – URL:<https://www.msif.org/resource/atlas-of-ms-2020/>
40. Autier, P. Vitamin D status and ill health: a systematic review / P. Autier, M. Boniol, C. Pizot, P. Mullie // *Lancet Diabetes Endocrinol.* – 2014. - №2. – P. 76-89.
41. Baarnhielm, M. Sunlight is associated with decreased multiple sclerosis risk: No interaction with human leukocyte antigen-DRB1*15 / M. Baarnhielm, A.K. Hedstrom, I. Kockum et al. // *Eur J Neurol.* – 2012. – Vol. 19, № 7. – P. 955-962.
42. Backe, F. Vitamin D: Modulator of the immune system / F. Backe, T. Takiishi, H. Korf et al. // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 10. – P. 482–496.
43. Balion, C. Vitamin D, cognition, and dementia: a systematic review and meta-analysis / C. Balion, L.E. Griffith, L. Strifler et al. // *Neurology.* – 2012. – Vol. 79. – P. 1397–1405.
44. Becker, J. Hypovitaminosis D association with disease activity in relapsing remitting multiple sclerosis in Brazil / J. Becker, D. Callegaro, M.A. Lana-Peixoto et al. // *J Neurol Sci.* – 2016. – Vol. 363. – P. 236-239.

45. Behrens, J.R. Low 25-hydroxyvitamin D, but not the bioavailable fraction of 25-hydroxyvitamin D, is a risk factor for multiple sclerosis / J.R. Behrens, L. Rasche, R.M. Gieß et al. // *European Journal of Neurology*. – 2016. – Vol. 23. – P. 62–67.
46. Belbasis, L. Environmental risk factors and multiple sclerosis: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses / L. Belbasis, V. Bellou, E. Evangelou et al. // *The Lancet Neurology*. - 2015. – Vol. 14. – P. 263-273.
47. Benito-Leon, J. Association between multiple sclerosis and candida species: Evidence from a case-control study / J. Benito-Leon, D. Pisa, R. Alonso, P. Calleja et al. // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. – 2010. – Vol. 29. – P. 1139–1145.
48. Bettencourt, A. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism and Multiple Sclerosis in a Northern Portuguese population / A. Bettencourt, D. Boleixa, A.L. Guimarães et al. // *J Neuroimmunol*. – 2017. – Vol. 309. – P. 34-37.
49. Bivona, G. Non-Skeletal Activities of Vitamin D: From Physiology to Brain Pathology / G. Bivona, L. Agnello, C. Bellia et al. // *Medicina*. – 2019. – Vol. 55, № 7. – P.341.
50. Bivona, G. Standardized measurement of circulating vitamin D [25(OH)D] and its putative role as a serum biomarker in Alzheimer's disease and Parkinson's disease / G. Bivona, B. Lo Sasso, G. Iacolino et al. // *Clin Chim Acta*. – 2019. – Vol. 497. – P. 82-87.
51. Bivona, G. The immunological implication of the new vitamin D metabolism / G. Bivona, L. Agnello, M. Ciaccio // *Cent Eur J Immunol*. – 2018. – Vol. 43(3). – P. 331-334.
52. Boonstra, A. 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells / A. Boonstra, F.J. Barrat, C. Crain et al. // *J Immunol*. – 2001. – Vol. 167. – P. 4974—4980.
53. Broła, W. Association of seasonal serum 25-hydroxyvitamin D levels with disability and relapses in relapsing-remitting multiple sclerosis / W. Broła, P. Sobolewski, W. Szczuchniak et al. // *Eur J Clin Nutr*. – 2016. – Vol. 70, № 9. – P. 995-999.

54. Brouwer-Brolsma, E.M. Relative importance of summer sun exposure, vitamin D intake, and genes to vitamin D status in Dutch older adults: The B-PROOF study / E.M. Brouwer-Brolsma, A.M.M. Vaes, N.L. van der Zwaluw et al. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 164. – P. 168–176.
55. Campbell, F.C. The yin and yang of vitamin D receptor (*VDR*) signaling in neoplastic progression: Operational networks and tissue-specific growth control / F.C. Campbell, H. Xu et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 79. – P. 1–9.
56. Camu, W. Cholecalciferol in relapsing-remitting MS: A randomized clinical trial (CHOLINE) / W. Camu, P. Lehert, C. Pierrot-Deseilligny et al. // *Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm.* – 2019. – Vol. 6, №5. – P. e597.
57. Cantorna, M.T. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence / M.T. Cantorna, B.D. Mahon // *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. – 2004. – Vol. 229, № 11. – P. 1136–1142.
58. Carlberg, C. Vitamin D Genomics: From In Vitro to In Vivo / C. Carlberg // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 9. – P. 250.
59. Castro, L.C. The vitamin D endocrine system / L.C. Castro // *Arq Bras Endocrinol Metabol.* – 2011. – Vol. 55, № 8. – P. 566-575.
60. Chaudury, A. Why we should offer routine supplementation of vitamin D in pregnancy and childhood to prevent multiple sclerosis / A. Chaudury // *Med Hypotheses*. – 2005. – Vol. 6, № 3. – P. 608–618.
61. Chen, S. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation / S. Chen, G.P. Sims, X.X. Chen et al. // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179. – P. 1634–1647.
62. Chen, T.C. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D / T.C. Chen, F. Chimeh, Z. Lu et al. // *Arch Biochem Biophys.* – 2007. – Vol. 460, № 2. – P. 213-217.
63. Chen, X.L. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of multiple sclerosis: An updated meta-analysis / X.L. Chen, M.L. Zhang, L. Zhu et al. // *Microb Pathog.* – 2017. – Vol. 110. – P. 594-602.

64. Christakos, S. In search of regulatory circuits that control the biological activity of vitamin D / S. Christakos // *J Biol Chem.* – 2017. – Vol. 292, № 42. – P. 17559-17560.
65. Christakos, S. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects / S. Christakos, P. Dhawan, A. Verstuyf et al. // *Physiol Rev.* – 2016. – Vol. 96, № 1. – P. 365–408.
66. Čierny, D. ApaI, BsmI and TaqI *VDR* gene polymorphisms in association with multiple sclerosis in Slovaks / D. Čierny, J. Michalik, M. Škereňová et al. // *Neurol Res.* – 2016. – Vol. 38, № 8. – P. 678-684.
67. Čierny, D. The association of rs703842 variants in *CYP27B1* with multiple sclerosis susceptibility is influenced by the HLA-DRB1*15:01 allele in Slovaks / D. Čierny, J. Michalik, P. Dubovan et al. // *J Neuroimmunol.* – 2019. – Vol. 330. – P. 123-129.
68. Cox, M.B. Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq1 with multiple sclerosis / M.B. Cox, M. Ban, N.A. Bowden et al. // *Mult Scler.* – 2012. – Vol. 18, № 1. – P. 16–22.
69. Cui, X. Vitamin D and the brain: Genomic and nongenomic actions / X. Cui, H. Gooch, A. Petty et al. // *Mol Cell Endocrinol.* – 2017. – Vol. 453. – P. 131–143.
70. Dankers, W. Vitamin D in Autoimmunity: Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential / W. Dankers, E.M. Colin, J.P. van Hamburg, E. Lubberts // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 697.
71. de Abreu, D.A.F. Vitamin D, aneuro-immunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases / D.A.F. de Abreu, D. Eyles, F. Feron // *Psychoneuroendocrinology.* – 2009. – Vol. 34, Suppl 1. – P. 265—277.
72. Deluca, H.F. Vitamin D: its role and uses in immunology / H.F. Deluca, M.T. Cantorna // *FASEB Journal.* - 2001. – Vol. 15, № 14. – P. 2579–2585.
73. Di Somma, C. Vitamin D and Neurological Diseases: An Endocrine View / C. Di Somma, E. Scarano, L. Barrea et al. // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 11. – P. E2482.

74. Dickinson, J. Past environmental sun exposure and risk of multiple sclerosis: A role for the Cdx-2 Vitamin D receptor variant in this interaction / J. Dickinson, D. Perera, A. van der Mei et al. // *Mult. Scler.* – 2009. – Vol. 15. – P. 563–570.
75. Disanto, G. The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis / G. Disanto, J.M. Morahan, M.H. Barnett et al. // *Neurology.* - 2012. – Vol. 78, № 11. – P. 823–832.
76. Dobson, R. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude / R. Dobson, S. Ramagopalan, A. Davis, G. Giovannoni // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2013. – Vol. 84, № 8. – P. 909-914.
77. Dobson, R. Multiple sclerosis—A review / R. Dobson, G. Giovannoni // *Eur. J. Neurol.* – 2019. – Vol. 26. – P. 27–40.
78. Dobson, R. The month of birth effect in multiple sclerosis: systematic review, meta-analysis and effect of latitude / R. Dobson, G. Giovannoni, S. Ramagopalan // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2013. – Vol. 84, № 4. – P. 427-432.
79. Dorr, J. High-dose vitamin D supplementation in multiple sclerosis—Results from the randomized EVIDIMS (efficacy of vitamin D supplementation in multiple sclerosis) trial / J. Dorr, P. Backer-Koduah, K.D. Wernecke et al. // *Mult. Scler. J. Exp. Transl. Clin.* – 2020. – Vol. 6, № 1. - P. 2055217320903474.
80. Epstein, S. Drug and Hormone Effects on Vitamin D Metabolism / S. Epstein, E. Schneider // *Vitamin D / P. Feldman.* - Glorueux Eds., Elsevier Inc., 2005. - 2nd Ed. – Ch. 74. - P. 1253-1290.
81. Feige, J. Vitamin D Supplementation in Multiple Sclerosis: A Critical Analysis of Potentials and Threats / J. Feige, T. Moser, L. Bieler et al. // *Nutrients.* – 2020. - Vol. 12, № 3. – P. 783.
82. Fitzgerald, K.C. Association of vitamin D levels with multiple sclerosis activity and progression in patients receiving interferon beta-1b / K.C. Fitzgerald, K.L. Munger, K. Kochert et al. // *JAMA Neurol.* – 2015. – Vol. 72. – P. 1458–1465.
83. Fukazawa, T. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese / T. Fukazawa, I. Yabe, S. Kikuchi et al. // *J. Neurol. Sci.* – 1999. – Vol. 166, № 1. – P. 47–52.

84. García-Martín, E. Vitamin D3 receptor (*VDR*) gene rs2228570 (Fok1) and rs731236 (Taq1) variants are not associated with the risk for multiple sclerosis: results of a new study and a meta-analysis / E. García-Martín, J.A. Agúndez, C. Martínez et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, № 6. – P. e65487.
85. Ghareghani, M. Latitude, Vitamin D, Melatonin, and Gut Microbiota Act in Concert to Initiate Multiple Sclerosis: A New Mechanistic Pathway / M. Ghareghani, R.J. Reiter, K. Zibara, N. Farhadi // *Front Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2484.
86. Ghasemi, N. Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy / N. Ghasemi, S. Razavi, E. Nikzad // *Cell J*. – 2017. – Vol. 19, № 1. – P. 1-10.
87. Gies, P. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis / P. Gies, I. van der Mei // *Ann. Neurol*. – 2010. – Vol. 68. – P. 193–203.
88. Golan, D. Vitamin D supplementation for patients with multiple sclerosis treated with interferon-beta: A randomized controlled trial assessing the effect on flu-like symptoms and immunomodulatory properties / D. Golan, B. Halhal, Glass- L. Marmor et al. // *BMC Neurol*. – 2013. – Vol. 13. – P. 60.
89. Goudarzvand, M. Vitamins E and D3 attenuate demyelination and potentiate remyelination processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide / M. Goudarzvand, M. Javan, J. Mirnajafi-Zadeh et al. // *Cell. Mol. Neurobiol*. – 2010. – Vol. 30. – P. 289–299.
90. Griffin, M.D. Dendritic cell modulation by 1alpha,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogs: a vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo / M.D. Griffin, W. Lutz, V.A. Phan et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2001. – Vol. 98. – P. 6800—6805.
91. Handunnetthi, L. Multiple sclerosis, vitamin D, and HLA-DRB1*15 / L. Handunnetthi, S.V. Ramagopalan, G.C. Ebers // *Neurology*. – 2010. – Vol. 74, № 23. – P. 1905-1910.

92. Hanwell, H.E. Assessment of evidence for a protective role of vitamin D in multiple sclerosis / H.E. Hanwell, B. Banwell // *Biochim Biophys Acta*. – 2011. – Vol. 1812, № 2. – P. 202-212.
93. Hausler, D. Vitamin D supplementation in central nervous system demyelinating disease-enough is enough / D. Hausler, M.S. Weber // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 218.
94. Haussler, M.R. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of $1\alpha,25(\text{OH})_2$ vitamin D₃: Genomic and non-genomic mechanisms / M.R. Haussler, P.W. Jurutka, M. Mizwicki, A.W. Norman // *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2011. – Vol. 25, № 4. – P. 543-559.
95. Herrmann, M. Assessment of vitamin D status - a changing landscape / M. Herrmann, C.L. Farrell, I. Pusceddu et al. // *Clin Chem Lab Med*. – 2017. – Vol. 55, № 1. – P.3-26.
96. Hewison, M. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells / M. Hewison, L. Freeman, S.V. Hughes et al. // *The Journal of Immunology*. – 2003. – Vol. 170, № 11. – P.5382-5390.
97. Hiremath, G.S. Vitamin D status and effect of low-dose cholecalciferol and high-dose ergocalciferol supplementation in multiple sclerosis / G.S. Hiremath, D. Cettomai, M. Baynes et al. // *Mult Scler*. – 2009. – Vol. 15, № 6. – P. 735-740.
98. Hjelmessaeth, J. Parathyroid hormone, but not vitamin D, is associated with the metabolic syndrome in morbidly obese women and men: a cross-sectional study / J. Hjelmessaeth, D. Hofso, E.T. Aasheim et al. // *Cardiovasc Diabetol*. – 2009. – Vol. 8. – P. 7.
99. Ho, S.L. Vitamin d and multiple sclerosis / S.L. Ho, L. Alappat, A.B. Awad // *Critical reviews in food science and nutrition*. – 2012. – Vol. 52. – P. 980–987.
100. Holick, M.F. Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline / M.F. Holick, N.C. Binkley, H.A. Bischoff-Ferrari et al. // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2011. – Vol. 96, № 7. – P. 1911-1930.

101. Holick, M.F. Vitamin d deficiency / M.F. Holick // The New England journal of medicine. – 2007. - №357. – P. 266–281.
102. Huang, J. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and multiple sclerosis risk: a meta-analysis of case-control studies / J. Huang, Z.F. Xie // J Neurol Sci. – 2012. – Vol. 313, № 1-2. – P. 79-85.
103. Hupperts, R. Randomized trial of daily high-dose vitamin D3 in patients with RRMS receiving subcutaneous interferon beta-1a / R. Hupperts, J. Smolders, R. Vieth et al. // Neurology. – 2019. – Vol. 93. – P. e1906–e1916.
104. Imani, D. Association between vitamin D receptor (*VDR*) polymorphisms and the risk of multiple sclerosis (MS): an updated meta-analysis / D. Imani, B. Razi, M. Motallebnezhad, R. Rezaei // BMC Neurol. – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 339.
105. International Multiple Sclerosis Genetics Consortium. - 2011. – [URL:https://imgsc.net/](https://imgsc.net/)
106. Jagannath, V.A. Vitamin d for the management of multiple sclerosis / V.A. Jagannath, Z. Fedorowicz, G.V. Asokan et al. // Cochrane database of systematic reviews. – 2010. – Vol. 12. - CD008422.
107. Jagannath, V.A. Vitamin D for the management of multiple sclerosis / V.A. Jagannath, G. Filippini, C. Di Pietrantonj et al. // Cochrane Database Syst Rev. – 2018. – Vol. 9, № 9. - CD008422.
108. Jahromi, S.R. Iranian consensus on use of vitamin D in patients with multiple sclerosis / S.R. Jahromi, M.A. Sahraian et al. // BMC Neurol. – 2016. – Vol. 16. – P. 76.
109. Jean, G. Vitamin D in Chronic Kidney Disease and Dialysis Patients / G. Jean, J.C. Souberbielle, C. Chazot // Nutrients. – 2017. – Vol. 9. – P. E328.
110. Jiang, T. The Association Between Genetic Polymorphism rs703842 in *CYP27B1* and Multiple Sclerosis: A Meta-Analysis / T. Jiang, L. Li, Y. Wang et al. // Medicine (Baltimore). – 2016. – Vol. 95, № 19. – P. e3612.
111. Kakalacheva, K. Environmental triggers of multiple sclerosis / K. Kakalacheva, J.D. Lünemann // FEBS Lett. – 2011. – Vol. 585, № 23. – P. 3724-3729.

112. Kamel, F.O. Factors Involved in Relapse of Multiple Sclerosis / F.O. Kamel // *J Microsc Ultrastruct.* – 2019. – Vol. 7, № 3. – P. 103-108.
113. Kamen, D.L. Vitamin D and molecular actions on the immune system: Modulation of innate and autoimmunity / D.L. Kamen, V. Tangpricha // *J. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 88. – P. 441–450.
114. Kamisli, O. The association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis in a Turkish population / O. Kamisli, C. Acar, M. Sozen et al. // *Mult Scler Relat Disord.* – 2018. – Vol. 20. – P. 78-81.
115. Kampman, M.T. Effect of vitamin D3 supplementation on relapses, disease progression, and measures of function in persons with multiple sclerosis: exploratory outcomes from a double-blind randomised controlled trial / M.T. Kampman, L.H. Steffensen, S.I. Mellgren, L. Jørgensen // *Mult Scler.* – 2012. – Vol. 18, № 8. – P. 1144–1151.
116. Křenek, P. The Impact of Five *VDR* Polymorphisms on Multiple Sclerosis Risk and Progression: a Case-Control and Genotype-Phenotype Study / P. Křenek, Y. Benešová, J. Bienertová-Vašků, A. Vašků // *J Mol Neurosci.* – 2018. – Vol. 64, № 4. – P. 559-566.
117. Kurtzke, J.F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS) / J.F. Kurtzke // *Neurology.* – 1983. – Vol. 33, № 11. – P. 1444-1452.
118. LaClair, R.E. Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: a cross-sectional study across latitudes in the United States / R.E. LaClair, R.N. Hellman, S.L. Karp et al. // *Am. J. Kidney Dis.* – 2005. – Vol. 45. – P. 1026–1103.
119. Laursen, J.H. Association between age at onset of multiple sclerosis and vitamin D level-related factors / J.H. Laursen, H.B. Søndergaard, P.S. Sørensen et al. // *Neurology.* – 2016. – Vol. 86, № 1. – P. 88–93.
120. Laursen, J.H. Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D levels in multiple sclerosis / J.H. Laursen, H.B. Søndergaard, A. Albrechtsen et al. // *Mult. Scler. J.* – 2015. – Vol. 21. – P. 1414–1422.

121. Lefebvre d'Hellencourt, C. Vitamin D3 inhibits proinflammatory cytokines and nitric oxide production by the EOC13 microglial cell line / C. Lefebvre d'Hellencourt, C.N. Montero-Menei, R. Bernard, D. Couez // *J. Neurosci. Res.* – 2003. – Vol. 71. – P. 575–582.
122. Lespessailles, E. Vitamin D alteration associated with obesity and bariatric surgery / E. Lespessailles, H. Toumi // *Exp Biol Med (Maywood)*. – 2017. – Vol. 242, № 10. – P.1086-1094.
123. Li, C.Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system / C.Y. Li, J. Kong et al. // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 110, № 2. – P. 229-238.
124. Littlejohns, T.J. Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease / T.J. Littlejohns, W.E. Henley, I.A. Lang et al. // *Neurology*. – 2014. – Vol. 83. – P. 920–928.
125. Lu, M. Genomic Effects of the Vitamin D Receptor: Potentially the Link between Vitamin D, Immune Cells, and Multiple Sclerosis / M. Lu, B.V. Taylor, H. Körner // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 477.
126. Lucas, R.M. Ultraviolet radiation, vitamin D and multiple sclerosis / R.M. Lucas, S.N. Byrne, J. Correale et al. // *Neurodegener Dis Manag.* – 2015. – Vol. 5, № 5. – P.413-424.
127. MacLaughlin, J. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3 / J. MacLaughlin, M.F. Holick // *J Clin Invest.* – 1985. – Vol. 76, № 4. – P.1536-1538.
128. Mamutse, G. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with reduced disability in multiple sclerosis / G. Mamutse, J. Woolmore, E. Pye et al. // *Mult. Scler.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1280–1283.
129. Marino, R. Extra-Skeletal Effects of Vitamin D / R. Marino, M. Misra // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 1460.
130. Martinez-Hernandez, A. Polymorphisms *CYP2R1* rs10766197 and *CYP27B1* rs10877012 in Multiple Sclerosis: A Case-Control Study / A. Martinez-Hernandez,

- E.E. Perez-Guerrero, M.A. Macias-Islas et al. // *J Immunol Res.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 7523997.
131. Martinez-Lapiscina, E.H. Associations of serum 25(OH) vitamin D levels with clinical and radiological outcomes in multiple sclerosis, a systematic review and meta-analysis / E.H. Martinez-Lapiscina, R. Mahatanan, C.H. Lee et al. // *J. Neurol. Sci.* – 2020. – Vol. 411. – P. 116668.
132. Mateo-Pascual, C. Vitamin D deficiency in a cohort over 65 years: prevalence and association with sociodemographic and health factors / C. Mateo-Pascual, R. Julián-Viñals, T. Alarcón-Alarcón et al. // *Rev Esp Geriatr Gerontol.* – 2014. – Vol. 49, № 5. – P. 210-216.
133. Mathieu, C. The coming of age of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ analogs as immunomodulatory agents / C. Mathieu, L. Adorini // *Trends Mol. Med.* – 2002. – Vol. 8. – P. 174-179.
134. Matías-Guío, J. Vitamin D and remyelination in multiple sclerosis / J. Matías-Guío, C. Oreja-Guevara, J.A. Matias-Guiu et al. // *Neurologia.* – 2018. – Vol. 33, № 3. – P. 177-186.
135. Matilainen, J.M. Primary effect of 1 α ,25(OH)₂D on IL-10 expression in monocytes is short-term down-regulation / J.M. Matilainen, T. Husso, S. Toropainen et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1803. – P. 1276–1286.
136. Matsui, M.S. Vitamin D Update / M.S. Matsui // *Curr Dermatol Rep.* – 2020. – Vol. 9, № 4. – P.323-330.
137. May, E. Immunoregulation through 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs / E. May, K. Asadullah, U. Zugel // *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* – 2004. – Vol. 3. – P. 377–393.
138. Mazdeh, M. Comparison of vitamin D₃ serum levels in new diagnosed patients with multiple sclerosis versus their healthy relatives / M. Mazdeh, S. Seifirad, N. Kazemi et al. // *Acta Med. Iran.* – 2013. – Vol. 51, № 5. – P. 289–292.
139. Mei, I.A. Vitamin D levels in people with multiple sclerosis and community controls in Tasmania, Australia / I.A. Mei, A.-L. Ponsonby, T. Dwyer et al. // *J Neurol.* – 2007. – Vol. 254. – P. 581—590.

140. Miclea, A. A Brief Review of the Effects of Vitamin D on Multiple Sclerosis / A. Miclea, M. Bagnoud, A. Chan, R. Hoepner // *Front Immunol.* – 2020. - № 11. – P. 781.
141. Mohammadi, A. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and the risk of multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis / A. Mohammadi, A. Azarnezhad, H. Khanbabaei et al. // *Steroids.* – 2020. – Vol. 158. – P. 108615.
142. Moorthi, R.N. Optimal vitamin D, calcitriol, and vitamin D analog replacement in chronic kidney disease: to D or not to D, that is the question / R.N. Moorthi, P. Kandula, S.M. Moe // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2011. – Vol. 20. – P. 354–359.
143. Mora, J.R. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage / J.R. Mora, M. Iwata, U.H. von Andrian // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P. 685–698.
144. Mosayebi, G. Therapeutic effect of vitamin D3 in multiple sclerosis patients / G. Mosayebi, A. Ghazavi, K. Ghasami et al. // *Immunol Invest.* – 2011. – Vol. 40, № 6. – P. 627–639.
145. Mowry, E. Vitamin D status is associated with relapse rate in pediatric-onset MS / E. Mowry, L. Krupp, M. Milazzo et al. // *Ann. Neurol.* – 2010. – Vol. 67, № 5. – P. 618–624.
146. Mowry, E.M. Vitamin D status predicts new brain magnetic resonance imaging activity in multiple sclerosis / E.M. Mowry, E. Waubant, C.E. McCulloch et al. // *Ann Neurol.* – 2012. – Vol. 72. – P. 234–240.
147. Munger, K.L. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis / K.L. Munger, S.M. Zhang, E. O'Reilly et al. // *Neurology.* – 2004. – Vol. 62. – P. 60–65.
148. Munger, L. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis / L. Munger, L.I. Levin, B.W. Hollis et al. // *JAMA.* – 2006. – Vol. 296. – P. 2832–2838.
149. Najafipoor, A. The beneficial effects of vitamin D3 on reducing antibody titers against Epstein-Barr virus in multiple sclerosis patients / A. Najafipoor, R. Roghanian, S.H. Zarkesh-Esfahani, M. Bouzari, M. Etemadifar // *Cell. Immunol.* – 2015. – Vol. 294, № 1. – P.9-12.

150. Narooie-Nejad, M. Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and the Risk of Multiple Sclerosis in South Eastern of Iran / M. Narooie-Nejad, M. Moossavi, A. Torkamanzehi et al. // *J. Mol. Neurosci.* – 2015. – Vol. 56. – P. 572–576.
151. Nieves, J. High prevalence of vitamin D deficiency and reduced bone mass in multiple sclerosis / J. Nieves, F. Cosman, J. Herbert et al. // *Neurolog.* – 1994. – Vol. 44. – P. 1678—1692.
152. Niino, M. Vitamin D receptor gene polymorphism in multiple sclerosis and the association with HLA class II alleles / M. Niino, T. Fukazawa, I. Yabe et al. // *J. Neurol. Sci.* – 2000. – Vol. 177, № 1. – P. 65–71.
153. Norman, A. Vitamin D receptor (*VDR*): New assignment for an already busy receptor / A. Norman // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147. – P. 5542–5548.
154. Noroozi, E. A review on potential roles of vitamins in incidence, progression, and improvement of multiple sclerosis / E. Noroozi, A. Mahjoob, Y. Asaadi et al. // *eNeurol. Sci.* – 2018. – Vol. 10. – P. 37–44.
155. O’Gorman, C. Environmental Risk Factors for Multiple Sclerosis: A Review with a Focus on Molecular Mechanisms / C. O’Gorman, R. Lucas, B. Taylor // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13. – P. 11718-11752.
156. Olsson, T. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis / T. Olsson, L.F. Barcellos, L. Alfredsson // *Nat Rev Neurol.* – 2017. – Vol. 13, № 1. – P.25-36.
157. Orton, S. Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis / S. Orton, A. Morris, B. Herrera et al. // *American Journal of Clinical Nutrition.* - 2008. – Vol. 88, № 2. – P. 441–447.
158. Orton, S.M. Vitamin D metabolic pathway genes and risk of multiple sclerosis in Canadians / S.M. Orton, S.V. Ramagopalan, A.E. Para et al. // *J Neurol Sci.* – 2011. – Vol. 305, № 1-2. – P.116-120.
159. Pandit, L. Association of vitamin D and multiple sclerosis in India / L. Pandit, S.V. Ramagopalan, C. Malli et al. // *Mult Scler.* – 2013. – Vol. 19, № 12. – P. 1592-1596.
160. Parnell, G.P. The Multiple Sclerosis (MS) Genetic Risk Factors Indicate both Acquired and Innate Immune Cell Subsets Contribute to MS Pathogenesis and

- Identify Novel Therapeutic Opportunities / G.P. Parnell, D.R. Booth // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 425.
161. Partridge, J.M. Susceptibility and outcome in MS: Associations with polymorphisms in pigmentation-related genes / J.M. Partridge, S.J. Weatherby, J.A. Woolmore et al. // *Neurology.* – 2004. – Vol. 62. – P. 2323–2325.
162. Pedersen, L.B. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ reverses experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting chemokine synthesis and monocyte trafficking / L.B. Pedersen, F.E. Nashold, K.M. Spach, C.E. Hayes // *J Neurosci Res.* – 2007. – Vol. 85, № 11. – P. 2480-2490.
163. Peelen, E. Effects of vitamin D on the peripheral adaptive immune system: a review / E. Peelen, S. Knippenberg, A.H. Muris et al. // *Autoimmun Rev.* – 2011. – Vol. 10. – P. 733—743.
164. Penna, G. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ selective-ly modulates tolerogenic properties in myeloid but not plasmacytoid dendritic cells / G. Penna, S. Amuchastegui, N. Giarratana et al. // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178. – P. 145–153.
165. Penna, G. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation / G. Penna, L. Adorini // *J Immunol.* – 2000. – Vol. 164, № 5. – P. 2405–2411.
166. Pereira-Santos, M. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis / M. Pereira-Santos, P.R. Costa, A.M. Assis et al. // *Obes Rev.* – 2015. – Vol. 16, № 4. – P. 341-349.
167. Peterson, A.L. Memory, mood, and vitamin D in persons with Parkinson's disease / A.L. Peterson, C. Murchison, C. Zabetian et al. // *J Park Dis.* – 2013. – Vol. 3. – P. 547–555.
168. Piemonti, L. Vitamin D₃ affects differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells / L. Piemonti, P. Monti, M. Sironi et al. // *J Immunol.* – 2000. – Vol. 164. – P. 4443—4451.

169. Pierrot-Deseilligny, C. Vitamin D and multiple sclerosis: An update / C. Pierrot-Deseilligny, J.C. Souberbielle // *Mult Scler Relat Disord.* – 2017. - № 14. – P. 35-45.
170. Pierrot-Deseilligny, C. Widespread vitamin D insufficiency: a new challenge for primary prevention, with particular reference to multiple sclerosis / C. Pierrot-Deseilligny, J.C. Souberbielle // *La Presse Médicale.* - 2011. – Vol. 40, № 4, Pt. 1. – P. 349–356.
171. Pike, J.W. Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone / J.W. Pike, S. Christakos // *Endocrinol Metab Clin North Am.* – 2017. – Vol. 46, № 4. – P.815-843.
172. Pilz, S. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence / S. Pilz, A. Zittermann, C. Trummer et al. // *Endocr Connect.* – 2019. – Vol. 8, № 2. – P. R27-R43.
173. Polman, C.H. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria / C.H. Polman, S.C. Reingold, B. Banwell et al. // *Annals of neurology.* – 2011. – Vol. 69, № 2. – P. 292–302.
174. Pourshahidi, L.K. Vitamin D and obesity: current perspectives and future directions / L.K. Pourshahidi // *Proc Nutr Soc.* – 2015. – Vol. 74, № 2. – P. 115-124.
175. Pozuelo-Moyano, B. Systematic Review of Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trials Examining the Clinical Efficacy of Vitamin D in Multiple Sclerosis / B. Pozuelo-Moyano, J. Benito-León, J.A. Mitchell, J. Hernández-Gallego // *Neuroepidemiology.* – 2013. – Vol. 40, №3. – P. 147–153.
176. Pytel, V. Exonic variants of genes related to the vitamin D signaling pathway in the families of familial multiple sclerosis using whole-exome next generation sequencing / V. Pytel, J.A. Matías-Guiu, L. Torre-Fuentes et al. // *Brain and Behavior.* – 2019. – Vol. 9, № 4. – P. e01272.
177. Ramagopalan, S.V. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution / S.V. Ramagopalan, A. Heger, A.J. Berlanga et al. // *Genome Res.* – 2010. – Vol. 20. – P. 1352–1360.

178. Ramagopalan, S.V. Expression of the multiple sclerosis-associated MHC class II Allele HLADRB1*1501 is regulated by vitamin D / S.V. Ramagopalan, N.J. Maugeri, L. Handunnetthi et al. // *PLoS Genet.* – 2009. – Vol. 5, № 2. – P. e1000369.
179. Ramagopalan, S.V. Rare variants in the *CYP27B1* gene are associated with multiple sclerosis / S.V. Ramagopalan, D.A. Dyment, M.Z. Cader et al. // *Ann. Neurol.* – 2011. – Vol. 70. – P. 881–886.
180. Ramasamy, A. Genetic evidence for a pathogenic role for the vitamin D3 metabolizing enzyme *CYP24A1* in multiple sclerosis / A. Ramasamy, D. Trabzuni, P. Forabosco et al. // *Multiple Sclerosis and Related Disorders.* – 2014. – Vol. 3, № 2. – P. 211–219.
181. Riccio, P. Diet, Gut Microbiota, and Vitamins D + A in Multiple Sclerosis / P. Riccio, R. Rossano // *Neurotherapeutics.* – 2018. – Vol. 15, № 1. – P. 75-91.
182. Rolf, L. Vitamin D effects on B cell function in autoimmunity / L. Rolf, A.-H. Muris, R. Hupperts, J. Damoiseaux // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2014. – Vol. 1317, № 1. – P. 84-91.
183. Røsjø, E. Effect of high-dose vitamin D3 supplementation on antibody responses against Epstein-Barr virus in relapsing-remitting multiple sclerosis / E. Røsjø, A. Lossius, N. Abdelmagid, J.C. Lindstrøm, M.T. Kampman, L. Jørgensen et al. // *Mult. Scler.* – 2017. – Vol. 23, № 3. – P. 395-402.
184. Ruiz-Ballesteros, A.I. Association of Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms with Autoimmunity: Evidence in Population Genetic Studies / A.I. Ruiz-Ballesteros, M.R. Meza-Meza, B. Vizmanos-Lamotte et al. // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 24. – P. 9626.
185. Runia, T.F. Lower serum vitamin D levels are associated with a higher relapse risk in multiple sclerosis / T.F. Runia, W.C.J. Hop, Y.B. de Rijke et al. // *Neurology.* – 2012. – Vol. 79. – P. 261-266.
186. Ryu, J. Profile of differential promoter activity by nucleotide substitution at GWAS signals for multiple sclerosis / J. Ryu, J. Woo, J. Shin et al. // *Medicine (Baltimore).* – 2014. – Vol. 9, № 28. – P. e281.

187. Sadeghi, A. The BsmI, FokI, ApaI and TaqI Polymorphisms in Vitamin D Receptor Gene in Iranian Multiple Sclerosis Patients: A Case-Control Study / A. Sadeghi, M. Shojapour, K. Ghassami, G. Mosayebi // *J. Iran. Clin. Res.* – 2015. – Vol. 3. – P. 28–32.
188. Sadeghi, H. *VDR* and *CYP24A1* expression analysis in Iranian relapsing-remitting multiple sclerosis patients / H. Sadeghi, M. Taheri, E. Sajadi et al. // *Cell Journal.* – 2017. – Vol. 19, № 3. – P. 352–360.
189. Saini, V. Vitamin D: Role in Pathogenesis of Multiple Sclerosis / V. Saini, M. Nadeem, C. Kolb et al. // *Multiple Sclerosis: A Mechanistic View* / eds. A. Minagar. - Ed. 1st. - Academic PressEditors: Elsevier Inc., 2016. – Ch. 7. - P.127-152.
190. Sawcer, S. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis / S. Sawcer, G. Hellenthal, M. Pirinen et al. // *Nature.* – 2011. – Vol. 476, № 7359. – P. 214–219.
191. Sempos, C.T. 25-Hydroxyvitamin D assay standardisation and vitamin D guidelines paralysis / C.T. Sempos, N. Binkley // *Public Health Nutr.* – 2020. – Vol. 23, № 7. – P. 1153–1164.
192. Shahbeigi, S. Vitamin D3 concentration correlates with the severity of multiple sclerosis / S. Shahbeigi, H. Pakdaman, S.M. Fereshtehnejad et al. // *Int J Prev Med.* – 2013. – Vol. 4, № 5. – P. 585–591.
193. Simon, K.C. Genetic predictors of 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis / K.C. Simon, K.L. Munger, P. Kraft et al. // *J Neurol.* – 2011. – Vol. 258, № 9. – P. 1676-1682.
194. Simon, K.C. Polymorphisms in vitamin D metabolism related genes and risk of multiple sclerosis / K.C. Simon, K.L. Munger, Y. Xing, A. Ascherio // *Mult. Scler.* – 2010. – Vol. 16. – P. 133–138.
195. Simon, K.C. Vitamin D and multiple sclerosis: epidemiology, immunology, and genetics / K.C. Simon, K.L. Munger, A. Ascherio // *Curr Opin Neurol.* – 2012. – Vol. 25, № 3. – P. 246-251.

196. Simpson Jr., S. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis / S. Simpson Jr., B. Taylor, L. Blizzard et al. // *Ann Neurol.* – 2010. – Vol. 68. – P. 193–203.
197. Sizar, O. Vitamin D deficiency / Sizar O. , Khare S. , Goyal A. et al. // *StatPearls.* - Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
198. Smolders, J. An update on vitamin d and disease activity in Multiple sclerosis / J. Smolders, O. Torkildsen, W. Camu, T. Holmoy // *CNS Drugs.* – 2019. – Vol. 33. – P. 1187–1199.
199. Smolders, J. Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis / J. Smolders, P. Menheere, A. Kessels et al. // *Mult Scler.* – 2008. – Vol. 14. – P. 1220–1224.
200. Smolders, J. Association study on two vitamin D receptor gene polymorphisms and vitamin D metabolites in multiple sclerosis / J. Smolders, J. Damoiseaux, P. Menheere et al. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2009. – Vol. 1173. – P. 515–520.
201. Smolders, J. Expression of vitamin D receptor and metabolizing enzymes in multiple sclerosis-affected brain tissue / J. Smolders, K.G. Schuurman, M.E. van Strien et al. // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2013. – Vol. 72, № 2. – P. 91-105.
202. Smolders, J. Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis / J. Smolders, J. Damoiseaux, P. Menheere et al. // *J Neuroimmunol.* – 2009. – Vol. 207, № 1-2. – P. 117-121.
203. Smolders, J. Vitamin D status is positively correlated with regulatory T cell function in patients with multiple sclerosis / J. Smolders, M. Thewissen, E. Peelen et al. // *PLoS One.* - 2009. – Vol. 4, № 8. – P. e6635.
204. Smolders, J. Vitamin D-related gene expression profiles in immune cells of patients with relapsing remitting multiple sclerosis / J. Smolders, M. Thewissen, R. Theunissen et al. // *Journal of Neuroimmunology.* – 2011. – Vol. 235, № 1-2. – P. 91-97.
205. Soilu-Hanninen, M. 25-Hydroxyvitamin D levels in serum at the onset of multiple sclerosis / M. Soilu-Hanninen, L. Airas, I. Mononen et al. // *Mult. Scler.* – 2005. – Vol. 11. – P. 266–271.

206. Stein, E.M. Vitamin D insufficiency prior to bariatric surgery: risk factors and a pilot treatment study / E.M. Stein, G. Strain, N. Sinha et al. // *Clin Endocrinol.* – 2009. – Vol. 71. – P. 176–183.
207. Stroud, M.L. Vitamin D – a review / M.L. Stroud, S. Stilgoe, V.E. Stott et al. // *Australian family physician.* – 2008. – Vol. 37. – P. 1002–1005.
208. Sundqvist, E. Confirmation of association between multiple sclerosis and *CYP27B1* / E. Sundqvist, M. Bäärnhielm, L. Alfredsson et al. // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2010. – Vol. 18. – P. 1349–1352.
209. Szili, B. Impact of genetic influence on serum total- and free 25-hydroxyvitamin-D in humans / B. Szili, B. Szabó, P. Horváth et al. // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2018. – Vol. 183. – P. 62-67.
210. Szodoray, P. The complex role of vitamin D in autoimmune diseases / P. Szodoray, B. Nakken, J. Gaal et al. // *Scand J Immunol.* – 2008. – Vol. 68, № 3. – P.261–269.
211. Tajouri, L. Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population / L. Tajouri, M. Ovcarić, R. Curtain et al. // *J. Neurogenet.* – 2005. – Vol. 19. – P. 25–38.
212. Thouvenot, E. Vitamin D is associated with degree of disability in patients with fully ambulatory relapsing-remitting multiple sclerosis / E. Thouvenot, M. Orsini, J.P. Daures, W. Camu // *Eur J Neurol.* – 2015. – Vol. 22, № 3. – P.564–569.
213. Tizaoui, K. Association between vitamin D receptor polymorphisms and multiple sclerosis: systematic review and meta-analysis of case-control studies / K. Tizaoui, W. Kaabachi, A. Hamzaoui, K. Hamzaoui // *Cell Mol Immunol.* – 2015. – Vol. 12, № 2. – P. 243-252.
214. Toghianifar, N. Effect of high dose vitamin D intake on interleukin-17 levels in multiple sclerosis: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial / N. Toghianifar, F. Ashtari, S.H. Zarkesh-Esfahani, M. Mansourian // *J. Neuroimmunol.* – 2015. – Vol. 285. – P. 125–128.
215. Toh, S.Y. Prevalence of nutrient deficiencies in bariatric patients / S.Y. Toh, N. Zarshenas, J. Jorgensen // *Nutrition.* – 2009. – Vol. 25, № 11-12. – P.1150-1156.

216. Tuckey, R.C. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover / R.C. Tuckey, C.Y.S. Cheng, A.T. Slominski // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 2019. – Vol. 186. – P. 4-21.
217. Unger, W.W. Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D3 or dexamethasone: differential role for PD-L1 / W.W. Unger, S. Laban, F.S. Kleijwegt et al. // *Eur J Immunol.* – 2009. – Vol. 39, № 11. – P. 3147–3159.
218. Vacek, J.L. Vitamin D deficiency and supplementation and relation to cardiovascular health / J.L. Vacek, S.R. Vanga, M. Good et al. // *Am J Cardiol.* – 2012. – Vol. 109, № 3. – P. 359-363.
219. Veldman, C.M. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system / C.M. Veldman, M.T. Cantorna, H.F. DeLuca // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* - 2000. – Vol. 374, № 2. – P. 334–338.
220. von Geldern, G. The influence of nutritional factors on the prognosis of multiple sclerosis / G. von Geldern, E.M. Mowry // *Nat Rev Neurol.* – 2012. – Vol. 8, № 12. – P. 678-689.
221. Wacker, M. Vitamin D—effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation / M. Wacker, M. Holick // *Nutrients.* – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 111–148.
222. Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation (Geneva, 8-11 December 2008) / World Health Organization. – Geneva: WHO, 2008.
223. Walsh, J.S. Vitamin D in obesity / J.S. Walsh, S. Bowles, A.L. Evans // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* – 2017. – Vol. 24, № 6. – P.389-394.
224. Wang, T.T. Large-scale in silico and microarray-based identification of direct 1,25-dihydroxyvitamin D3 target genes / T.T. Wang, L.E. Tavera-Mendoza, D. Laperriere et al. // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 2685–2695.
225. Wang, T.T. The vitamin D3 pathway in human skin and its role for regulation of biological processes / T.T. Wang // *Photochem. Photobiol.* – 2005. – Vol. 81. – P. 1246–1251.

226. Wang, X. Association between vitamin D and non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: results from a meta-analysis / X. Wang, W. Li, Y. Zhang et al. // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Vol. 8, № 10. – P. 17221-1734.
227. Wasnik, S. Vitamin D as a Potential Therapy for Multiple Sclerosis: Where Are We? / S. Wasnik, I. Sharma, D.J. Baylink, X. Tang // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, № 9. – P. 3102.
228. Wierzbicka, J. The renaissance of vitamin D / J. Wierzbicka, A. Piotrowska, M.A. Żmijewski // *Acta Biochim Pol.* – 2014. – Vol. 61, № 4. – P. 679-86.
229. Wong, K.E. Targeted expression of human vitamin D receptor in adipocytes decreases energy expenditure and induces obesity in mice / K.E. Wong, J. Kong, W. Zhang et al. // *J Biol Chem.* – 2011. – Vol. 286. – P. 33804–33810.
230. Wyskida, M. Prevalence and factors promoting the occurrence of vitamin D deficiency in the elderly / M. Wyskida, K. Wieczorowska-Tobis, J. Chudek // *Postepy Hig Med Dosw (Online).* – 2017. – Vol. 71. – P. 198-204.
231. Yamamoto, E.A. Relationships Between Vitamin D, Gut Microbiome, and Systemic Autoimmunity / E.A. Yamamoto, T.N. Jørgensen // *Front Immunol.* – 2020. – Vol. 10. – P. 3141.
232. Yao, Y. A meta-analysis of the relationship between vitamin D deficiency and obesity / Y. Yao, L. Zhu, L. He et al. // *Int J Clin Exp Med.* – 2015. – Vol. 8, № 9. – P.14977-14984.
233. Yong, H. Modulating inflammation and neuroprotection in multiple sclerosis / H. Yong, G. Chartier, J. Quandt // *J Neurosci Res.* – 2018. – Vol. 96, № 6. – P. 927–950.
234. Yu, S. Epigenetic reduction in invariant NKT cells following in utero vitamin D deficiency in mice / S. Yu, M.T. Cantorna // *J Immunol.* – 2011. – Vol. 186. – P. 1384—1390.
235. Zahoor, I.S. Vitamin D and Multiple Sclerosis: An Update / I. Zahoor, E. Haq // *Multiple Sclerosis: Perspectives in Treatment and Pathogenesis* / eds. I.S. Zagon, P.J. McLaughlin. - Brisbane (AU): Codon Publications, 2017. - Chapter 5.

236. Zhang, Y.J. Association between *VDR* polymorphisms and multiple sclerosis: systematic review and updated meta-analysis of case-control studies / Y.J. Zhang, L. Zhang, S.Y. Chen et al. // *Neurol Sci.* – 2018. – Vol. 39, № 2. – P. 225-234.
237. Zhou, S. Chronic kidney disease and vitamin D metabolism in human bone marrow-derived MSCs / S. Zhou, J. Glowacki // *Ann N Y Acad Sci.* – 2017. – Vol. 1402, № 1. – P. 43-55.
238. Zhuang, J.C. Variants of *CYP27B1* are associated with both multiple sclerosis and neuromyelitis optica patients in Han Chinese population / J.C. Zhuang, Z.Y. Huang, G.X. Zhao et al. // *Gene.* – 2015. – Vol. 557, № 2. – P. 236-239.
239. Ziemssen, T. The PANGAEA study design—a prospective, multicenter, non-interventional, long-term study on fingolimod for the treatment of multiple sclerosis in daily practice / T. Ziemssen, R. Kern, C. Cornelissen // *BMC Neurol BMC Neurology.* – 2015. – Vol. 18. – P. 1–8.
240. Zuliani, C. Vitamin D and multiple sclerosis: an update / C. Zuliani, S. Preto, E. Andretta, L. Baroni // *Mediterr J Nutr Metab.* - 2014. - Vol. 3, № 2. – P. 115-119.