



**МЕТОДИКА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ  
РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА НА ОСНОВЕ ТИПИРОВАНИЯ  
ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ IL2RA И IL7RA**  
(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: Ф.В. Багинский, д.м.н., проф. В.Я. Латышева, к.м.н. Е.В.Воропаев,  
к.б.н. О.Ю. Баранов, О.В. Осипкина

Гомель, 2012

Целью инструкции является применение метода дополнительной диагностики рассеянного склероза (РС) на основе разработанного технологического процесса анализа полиморфизма генов, отвечающих за синтез альфа-субъединиц рецепторов к интерлейкинам 2 и 7 (IL2RA и IL7RA), играющих одну из ключевых ролей в формировании и дальнейшем функционировании иммунного ответа, в т.ч. на собственные антигены. Методологические принципы выявления маркеров в генах IL2RA и IL7RA основаны на определении точечных мутаций методом ПЦР–ПДРФ (полимеразная цепная реакция для определения полиморфизма длинных рестрикционных фрагментов). Предлагаемый метод позволяет обнаружить мутации G7261A (rs12722489, NCBI), C22585T (rs6897932, NCBI) и A10228G (rs2104286, NCBI) в амплифицированных фрагментах генов IL2RA, IL7RA при использовании рестриктаз MboI и NdeI. В качестве материала для исследований использована ДНК, выделенная из цельной крови пациентов. Данная технология предназначена для определения наследственной предрасположенности пациентов к РС. Молекулярно-генетическое типирование полиморфизма гена IL2RA (мутации A10228G, G7261A) и гена IL7RA (мутация C22585T) является дополнительным критерием для постановки диагноза РС. Технология разработана для использования в специализированных лабораториях областных и республиканских организациях здравоохранения.

**Перечень необходимого оборудования, реактивов, изделий медицинской техники и пр.**

Лабораторное оборудование, применяемое для анализа полиморфных маркеров различных генов, должно позволять проводить все необходимые этапы работы с дезоксирибонуклеиновыми кислотами: выделение из биологического материала, амплификацию и рестрикцию с детекцией продуктов методом гель-электрофореза.

В таблице 1 приведен оптимальный вариант набора оборудования для организации работ, связанных с анализом полиморфных маркеров различных генов методом ПЦР–ПДРФ и применяемых в диагностике РС и других демиелинизирующих заболеваний.

Таблица 1 — Оптимальный набор оборудования при проведении исследований методом ПЦР–ПДРФ

<b>Наименование оборудования и основные характеристики</b>	<b>Количество</b>
<i>Пробоподготовка</i>	
Высокоскоростная центрифуга (не менее 10 000×g) с ротором для пробирок типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл.	1
Термостат или твердотельный термоблок (для пробирок типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл), с диапазоном рабочих температур 25–65 °С	1
Микроцентрифуга-вортекс	1
Комплект пипеточных дозаторов (0,5–10 мкл, 5–50 мкл; 20–200 мкл; 100–1000 мкл)	1
Насос с колбой–ловушкой	1
ПЦР-бокс с УФ–рециркулятором воздуха	1
Холодильник с диапазоном рабочих температур 2–4 °С с морозильной камерой (–18 °С)	1
<i>Проведение ПЦР</i>	
Амплификатор (термоциклер), предназначенный для проведения ПЦР	1
ПЦР-бокс с УФ–рециркулятором воздуха	1
Микроцентрифуга–вортекс	1
Комплект пипеточных дозаторов (0,5–10 мкл; 5–50 мкл (2 шт); 20–200 мкл; 100–1000 мкл)	1
Твердотельный термостат с диапазоном рабочих температур от 0–4 °С	1
Холодильник с диапазоном рабочих температур 2–4 °С с морозильной камерой (–18 °С)	1
<i>Проведение рестрикции</i>	
ПЦР-бокс с УФ–рециркулятором воздуха	1
Микроцентрифуга–вортекс	1
Комплект пипеточных дозаторов (0,5–10 мкл, 5–50 мкл; 20–200 мкл)	1
Термостат или твердотельный термоблок (для пробирок объемом 0,2 мл), с диапазоном рабочих температур 25–65 °С	1
Холодильник с диапазоном рабочих температур 2–4 °С с морозильной камерой (–18 °С)	1
<i>Анализ результатов рестрикции методом электрофореза</i>	
Система для проведения горизонтального гель-электрофореза с набором модулей (включая источник питания) и аксессуаров	1
Микроволновая печь или электрическая плитка для приготовления агарозных гелей	1
Весы лабораторные (диапазон взвешивания 0,1–500 г)	1
Комплект пипеточных дозаторов (0,5–10 мкл, 5–50 мкл, 20–200 мкл)	1
УФ–трансиллюминатор	1
Видеосистема для регистрации гелей в комплекте с компьютером и принтером	1
Холодильник с диапазоном рабочих температур 2–4 °С	1

Кроме того, при проведении исследований методом ПЦР–ПДРФ необходимы следующие расходные материалы: халаты, резиновые перчатки, наконечники для пипеток с фильтром до 10, 20, 200, 1000 мкл, наконечники без фильтра, фильтровальная бумага, микроцентрифужные пробирки на 1,5 мл, ПЦР-пробирки соответствующие типу используемого амплификатора (термоциклера), штативы для пробирок, стеклянная химическая посуда и др.

В таблице 2 приведен список основных реагентов и готовых коммерческих наборов для проведения анализа полиморфных маркеров различных генов методом ПЦР–ПДРФ. Качество используемых реагентов, включая воду и солевые растворы, должно соответствовать техническим требованиям, предъявляемым к реагентам для проведения молекулярно-генетических исследований.

Таблица 2 — Список основных реагентов, необходимых для проведения анализа полиморфных маркеров

<b>Название реагента</b>	<b>Применение</b>
Агароза	электрофоретическая детекция
Ацетат аммония	выделение ДНК
Борная кислота	электрофоретическая детекция
Бромид цетилтриметиламмония	выделение ДНК
Бромид этидия	окраска ДНК
Бромфеноловый синий	электрофоретическая детекция
Вода деионизированная	широкий спектр применения
Глицерин	широкий спектр применения
Термостабильная ДНК-полимераза	проведение ПЦР
Изопропанол	выделение ДНК
Лаурилсульфат натрия	выделение ДНК
Маркер молекулярной массы	электрофоретический маркер
dНТФ (АТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ)	проведение ПЦР
Праймеры	проведение ПЦР
Соляная кислота	широкий спектр применения
Трис	широкий спектр применения
Уксусная кислота	широкий спектр применения
Хлорид калия	проведение ПЦР
Хлорид магния	проведение ПЦР
Хлорид натрия	выделение ДНК
Хлороформ	выделение ДНК
ЭДТА	широкий спектр применения
Этиловый спирт	осаждение ДНК
Рестриктазы (эндонуклеазы) MboI и NdeI	проведение рестрикционного анализа

## **Показания к применению**

1) Генетический скрининг наследственной предрасположенности к развитию РС у лиц с отягощенным семейным анамнезом по данной нозологии и другим демиелинизирующим заболеваниям центральной нервной системы.

2) Дополнительный лабораторный критерий для постановки диагноза РС в сложных клинических случаях.

Технология, изложенная в настоящей инструкции, является оптимальным лабораторным методом, позволяющим выявлять полиморфизм гена IL2RA (мутации A10228G, G7261A) и гена IL7RA (мутация C22585T), что является необходимым для идентификации лиц с высоким прогнозом развития РС и может быть применена в специализированных лабораториях медицинских и научных учреждениях.

## **Противопоказания для применения**

Отсутствуют.

## **Описание технологии используемого метода**

### **1 Материал для исследования**

Материалом для выделения ДНК с целью определения полиморфизма гена IL2RA (мутации A10228G, G7261A) и гена IL7RA (мутация C22585T) является цельная венозная кровь, взятая утром у пациентов натощак. Кровь для анализа объемом около 1000 мкл помещается в центрифужную пробирку 1,5 мл, содержащую 100 мкл 0,25М ЭДТА для предотвращения свертывания. Хранение образцов крови производится в холодильной камере при 2–4<sup>0</sup>С до 24 ч.

### **2 Выделение ДНК**

Для получения препаратов ДНК можно использовать готовые коммерческие наборы, в альтернативном случае предлагается протокол выделения, основанный на изопропанольном осаждении.

В одноразовые пробирки типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл вносится по 400 мкл экстрагирующего буфера ( $t=65^{\circ}\text{C}$ ) следующего состава: 2% раствор бромида цетилтриметиламмония, 0,1 М раствор трис, 1,4 М раствор хлорида натрия, 20 мМ раствор ЭДТА (рН буфера довести HCl до значения 8,0), промаркировать пробирки. Затем в каждую пробирку внести по 100 мкл крови, закрыть крышки, перемешать содержимое на вортексе, поместить в термостат и инкубировать в течение 30 мин при 65<sup>0</sup>С. Затем пробирки

охладить до комнатной температуры, добавить к образцам по 500 мкл хлороформа и тщательно перемешать содержимое на вортексе в течение 20 мин. Далее центрифугировать при 13000 об/мин ( $t=18-20^{\circ}\text{C}$ ) в течение 10 мин. После этого необходимо пипеткой отобрать 300 мкл супернатанта, перенести в другую пробирку типа «Eppendorf» объемом 1,5 мл, добавить 210 мкл охлажденного изопропанола, перемешать содержимое на вортексе и инкубировать при комнатной температуре в течение 20 мин. Затем центрифугировать при 13000 об/мин ( $t=18-20^{\circ}\text{C}$ ) в течение 15 мин. Полученный осадок ДНК промыть двукратно 1 мл 70% этанола, охлажденного до температуры  $10^{\circ}\text{C}$ . После промывания содержимое пробирки центрифугировать при 15000 об/мин ( $t=4^{\circ}\text{C}$ ) в течение 10 мин. После промывки этанолом открытые пробирки разместить в твердотельном термостате при температуре  $45^{\circ}\text{C}$  и просушить осадок ДНК в течение 30–40 мин до полного испарения этанола. Высушенный осадок растворить в 50 мкл деионизированной воды при  $40^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин. Растворенную ДНК хранить при  $t=4^{\circ}\text{C}$  для последующего анализа.

### 3 Проведение ПЦР

Для проведения ПЦР используются два специфических праймера: прямой (1) и обратный (2). Структура праймеров, используемых для детекции мутаций A10228G, G7261A гена IL2RA и мутации C22585T гена IL7RA, представлена в таблице 3.

Таблица 3 — Структура праймеров, используемых для детекции мутаций генов IL2RA и IL7RA

Анализируемая мутация	Название праймера	Нуклеотидная последовательность	Размер амплифицируемого участка (в п.н.)
A10228G	A10228G 1	ACCACCTGCTGCCCTGTGT	363
	A10228G 2	TGGCAGCCAGCATGACCCAC	
G7261A	G7261A 1	CATGCTCTGCCTCTGGAAGACACA	100
	G7261A 2	CCCCTGCTCCCTCCAAGACCA	
C22585T	C22585T 1	GATGGATCCTATCTTACTGA	129
	C22585T 2	CCCACACAATCACCTCTTT	

Состав компонентов реакционной смеси для выявления исследуемых участков генов IL2RA и IL7RA представлен в таблице 4.

Таблица 4 — Состав компонентов реакционной смеси для выявления исследуемых участков генов IL2RA и IL7RA

Название компонентов смеси	Объем компонентов (мкл)
Вода деионизированная	18,8
10×ПЦР-буфер (100 мМ раствор Трис-НСl, рН 9,0, 500 мМ раствор хлорида калия, 25 мМ раствор хлорида магния)	2,5
Смесь нуклеотидтрифосфатов (дНТФ, 10 мМ раствор каждого)	0,5
Раствор праймера (1) (10 мМ)	1,0
Раствор праймера (2) (10 мМ)	1,0
ДНК-полимераза (5 ед/мкл)	0,2
Образец ДНК (20 нг/мкл)	1,0
Общий объем реакционной смеси	25,0

Для проведения ПЦР более 1 образца готовится общий раствор, в который входят все компоненты смеси (кроме образца ДНК) в количестве, соответствующем числу образцов. Образец вносится индивидуально в каждую пробирку, содержащую аликвотированный на 1 образец общий раствор.

Программы амплификации исследуемых участков генов IL2RA и IL7RA представлены в таблицах 5–7 (для *Taq* ДНК-полимеразы).

В результате амплификации получают фрагменты ДНК исследуемых генов, которые в дальнейшем используются для проведения рестрикции. Мутации в генах IL2RA и IL7RA определяют при помощи рестриктаз MboI (G7261A и C22585T) и NdeI (A10228G). Для проведения рестрикции в ПЦР-пробирки объемом 0,2 мл внести по 6 мкл ПЦР-продукта и инкубировать в термостате при 37°C в течение 16ч с 1 единицей рестриктазы MboI для идентификации мутаций G7261A и C22585T и при 37°C в течение 16ч с 1 единицей рестриктазы NdeI для обнаружения мутации A10228G.

Таблица 5 — Программа амплификации участка гена IL2RA, содержащего мутацию A10228G

№	Этап	Температура, градусы Цельсия	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	3 мин	1
2	Денатурация	95	25 с	30
	Отжиг	68	20 с	
	Элонгация	72	25 с	
3	Охлаждение	4	3 мин	1

Таблица 6 — Программа амплификации участка гена IL2RA, содержащего мутацию G7261A

№	Этап	Температура, °С	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	3 мин	1
2	Денатурация	95	15 с	30
	Отжиг	67	15 с	
	Элонгация	72	15 с	
3	Охлаждение	4	3 мин	1

Таблица 7 — Программа амплификации участка гена IL7RA, содержащего мутацию C22585T

№	Этап	Температура, °С	Продолжительность	Количество циклов
1	Денатурация	95	3 мин	1
2	Денатурация	95	25 с	30
	Отжиг	57	20 с	
	Элонгация	72	25 с	
3	Охлаждение	4	3 мин	1

Для детекции продуктов рестрикции используют метод электрофореза. Метод электрофоретического фракционирования в агарозном геле фрагментов ДНК основан на том, что смесь их макромолекул под действием электрического поля делится на ряд фракций в зависимости от размера фрагмента. Для агарозных гелей в основном применяются горизонтальные камеры. Однородные по размеру фрагменты ДНК представляют собой на электрофореграмме единую фракцию. Продукты рестрикции анализируют в 2,5% агарозном геле. Для приготовления 2,2% агарозного геля 2,5 г агарозы необходимо растворить в 100 мл 1×Трис-ЭДТА-Боратного (ТВЕ) буфера путем нагревания смеси. Состав 1×ТВЕ-буфера представлен в таблице 8.

Таблица 8 — Состав 1×ТВЕ буфера (pH 8,3)

Наименование компонента	Количество
Трис	12,1 г
Борная кислота	5,1 г
ЭДТА	0,37 г
Дистиллированная вода	1000 мл

Затем горячий раствор залить в специальную кювету в объеме, рекомендованном фирмой-изготовителем камеры. Вставить пластмассовые гребенки для формирования лунок в геле, после полимеризации гель поместить в камеру. Далее отсеки камеры наполнить электрофоретическим буфером, так, чтобы слой буфера над гелем составил 5–7 мм. В лунки геля с



помощью пипетки внести образцы (5 мкл), смешанные с 2 мкл буфера для загрузки (50% дистиллированной воды, 50% глицерина, 0,25% бромфенолового синего). Присутствие красителя, например, бромфенолового синего, облегчает внесение в лунки образцов и позволяет наблюдать за перемещением фрагментов в геле. Камеру плотно закрыть, подсоединить электроды и подключить к универсальному источнику питания. Параметры тока должны соответствовать рекомендациям фирмы-изготовителя, представленным в инструкции, прилагаемой к электрофоретической камере.

После электрофоретического фракционирования гель поместить в кювету, где произвести окрашивание в растворе бромистого этидия (1 мг/л) с последующей визуализацией под ультрафиолетовым светом. Для визуализации используют любую стандартную видеосистему (трансиллюминатор с видеосистемой). Для переноса изображения на компьютер используется программное обеспечение, позволяющее фиксировать полученные изображения гелей. Оценка размеров амплификационных фрагментов ДНК и продуктов их рестрикции проводится путем сравнения электрофоретической подвижности этих участков с подвижностью маркерных фрагментов ДНК.

### **Выявление точечной мутации A10228G гена IL2RA**

Фрагмент ДНК гена IL2RA, содержащий дикий аллель (A), расщепляется рестриктазой NdeI, в то время как фрагмент ДНК, содержащий мутантный аллель (G), не расщепляется. На рисунке 1 приведена электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL2RA (мутация A10228G).

1 2 3 4 5 6 7 8 M 9 10 11 12 13 14 15 16 17

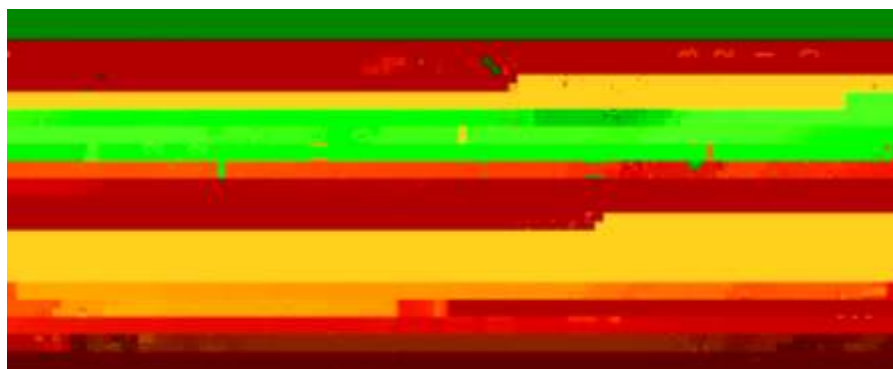


Рисунок 1 — Электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL2RA (мутация A10228G).

Как видно из рисунка 1, спектр гомозигот по аллелю дикого типа (AA) — образцы № 7, 10, 13 — представлен двумя зонами (220 и 143 п. н.), гомозиготы-мутанты (GG) имеют одну зону размером 363 п. н. (№ 3, 5); остальные образцы являются гетерозиготами (AG), им соответствуют три зоны на фореграмме — 363, 220 и 143 п. н.

### Выявление точечной мутации G7261A гена IL2RA

Фрагмент ДНК гена IL2RA, содержащий мутантный аллель (A) расщепляется рестриктазой MboI, образуя продукты размером 71 и 29 п. н., в то время как фрагмент ДНК, содержащий дикий аллель (G), не расщепляется. На рисунке 2 приведена электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL2RA (мутация G7261A).

На рисунке 2 спектр гомозиготы по аллелю дикого типа (GG) представлен одной зоной (100 п.н.) — образцы № 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17; гетерозиготного организма (AG) — тремя зонами (100, 71 и 29 п.н.) — образцы № 1, 5, 6, 7, 11, 13, 16; гомозиготного по мутантному аллелю (AA) — двумя зонами (71 и 29 п.н.). М – маркер молекулярного веса (50 п.н.).

1 2 3 4 5 6 7 8 М 9 10 11 12 13 14 15 16 17

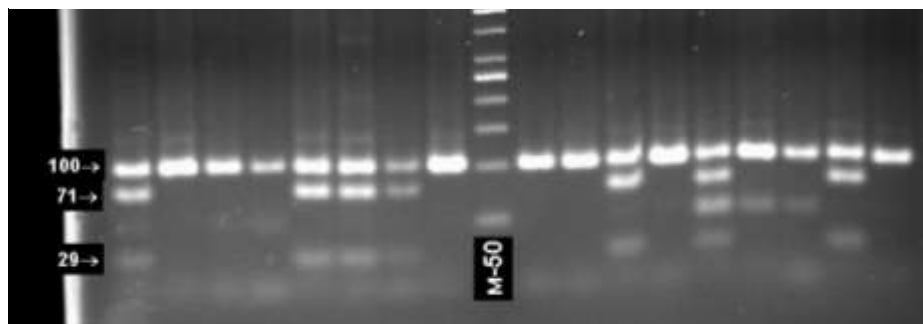


Рисунок 2 — Электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL2RA (мутация G7261A)

### Выявление точечной мутации C22585T гена IL7RA

Фрагмент ДНК гена IL7RA, содержащий дикий аллель (C) расщепляется рестриктазой MboI на две зоны — 125 и 4 п.н., а фрагмент ДНК, содержащий мутантный аллель (T), — на три (111, 14 и 4 п. н.).

Спектр гомозиготы по аллелю дикого типа представлен двумя зонами (125 и 4 п. н.) — образцы № 1, 4, 6, 7, 8; гетерозиготного организма четырьмя зонами (125, 111, 14 и 4 п.н.) — образцы № 2, 3; гомозиготного по мутантному аллелю тремя зонами (111, 14 и 4 п. н.) — образец № 5.

На рисунке 3 представлена электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL7RA (мутация C22585T).

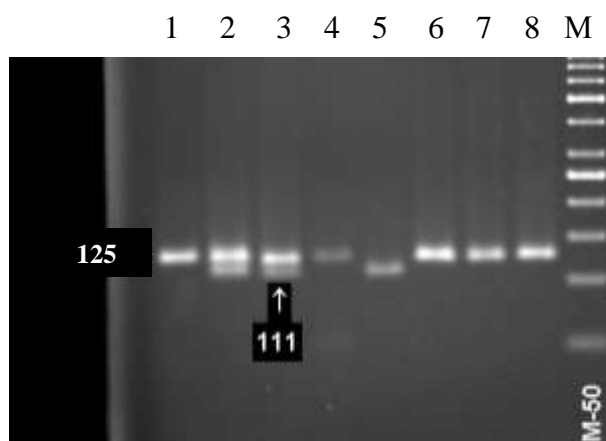


Рисунок 3 — Электрофореграмма продуктов рестрикционного анализа фрагмента гена IL7RA (мутация C22585T)

### **5 Интерпретация результатов:**

- пациенты, образцы которых идентифицируются как гомозиготы-мутанты по мутациям A10228G, G7261A, C22585T, имеют наследственную предрасположенность к развитию РС по результатам генотипирования IL2RA и IL7RA;
- пациенты, образцы которых идентифицируются как гомозиготы дикого типа или гетерозиготы по мутациям A10228G, G7261A, C22585T, не имеют наследственной предрасположенности к развитию РС по результатам типирования генов IL2RA и IL7RA.

### **6 Возможные ошибки при проведении ПЦР**

При использовании молекулярно-генетических методов необходимо соблюдать правила по их организации и проведению. Несоблюдение этих правил — причина ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Основные ошибки, возникающие в ходе пробоподготовки — неправильный забор, доставка и хранение образцов. Не рекомендуется в качестве антикоагулянта при заборе крови использовать гепарин, т.к. он ингибирует ПЦР. Время от момента забора проб до их доставки в лабораторию должно составлять не более 6 часов при комнатной температуре (18–25<sup>0</sup>С) и не более 24ч при температуре 2–8<sup>0</sup>С. Хранение образцов плазмы крови осуществляют при температуре 2–8<sup>0</sup>С не более 1 сут; при температуре минус 18–60<sup>0</sup>С в течение 1 мес; при температуре ниже минус 60<sup>0</sup>С — длительно (до 1 года).

Не допускается повторное замораживание–оттаивание проб. Транспортировка проб должна осуществляться в специальных термоконтейнерах с хладогеном, термосах с термопакетами.

При несоблюдении технологии выделения нуклеиновых кислот и проведения ПЦР возникают следующие ошибки: неправильный выбор способа выделения нуклеиновых кислот и, как следствие, их низкий количественный выход, загрязнение и деградация препаратов ДНК, контаминация продуктами ПЦР реагентов, клинического материала и инструментария, перекрестная контаминация от пробы к пробе, наличие ингибиторов ПЦР и др.

Таким образом, необходимо строго соблюдать стандартные правила стерильной работы и биологической безопасности, игнорирование которых представляет опасность для самого сотрудника и может привести к неверной диагностике, выбору неправильной схемы лечения и причинить вред пациенту.

## **Обоснование целесообразности практического использования молекулярно-генетической диагностики рассеянного склероза на основе типирования полиморфизма генов IL2RA и IL 7RA**

Рассеянный склероз (РС) - хроническое прогрессирующее заболевание центральной нервной системы, обычно начинающееся у лиц молодого возраста. Оно часто приводит к быстрой инвалидизации пациентов. Ранняя диагностика данного заболевания и своевременно начатая

терапия может упредить выход пациентов в молодом возрасте на инвалидность. Несмотря на наличие к настоящему времени таких методов обследования как МРТ, вызванные потенциалы, иммунологическое исследование крови и цереброспинальной жидкости, диагностика РС на ранних стадиях болезни остается достаточно сложной проблемой в неврологии [1,2,3].

РС относится к заболеваниям с наследственной предрасположенностью. Разработка методик выявления конкретных генов, продукты которых участвуют в его патогенезе, могут способствовать диагностике данного заболевания на ранних этапах, а также разработке комплекса мероприятий по его профилактике у лиц-носителей мутаций по этим генам, т.е. людей с высокой предрасположенностью к изучаемому заболеванию. К ним могут относиться помимо лиц, чьи родственники страдают названной патологией, также люди, не болеющие РС и не имеющие среди своих кровных родственников больных этим заболеванием, но выявленные при скрининговых мероприятиях [4,5]. В связи с этим решение проблемы генетической диагностики РС имеет большую медицинскую и социально-экономическую значимость.

В последние годы молекулярно-генетическими методами исследования установлено, что изменения в генах IL2RA и IL 7RA определяют развитие РС [6,7,8]. Однако к настоящему времени методик выявления полиморфизма в указанных генах для практического здравоохранения не разработано. Во многих странах, в том числе и в Беларуси, такие работы еще не проводились. Поэтому работа в названном направлении актуальна, имеет научно-практическое и социально-экономическое значение [9].

В силу вышесказанного очень важно разработать и внедрить инструкцию по применению определения мутантных аллелей IL2RA и IL 7RA генов у пациентов с РС, что делает возможным разработку методов ранней диагностики и лечения данного заболевания.

Литература:

1. Гусев, Е.И. Рассеянный склероз и другие демиелинизирующие заболевания I Е.И. Гусев, И.А. Завалишин, А.Н. Бойко. - М.: Миклош, 2004. - 540с.
2. Compston, A. Multiple sclerosis I A. Compston, A. Coles II Lancet. - 2002. -Vol. 359. -P. 1221-1231.
3. Лихачев, С.А. Рассеянный склероз: диагностика и лечение I С.А. Лихачев, В.В. Войтов, В.В. Ващилин, Г.Д. Ситник II Неврология и нейрохирургия в Беларуси. - 2009. - NQ1. - С. 18-31.
4. Hafler, D.A. Multiple sclerosis I D.A. Hafler I/J. Clin. Invest. - 2004.- Vol. 113. - P. 788-794.
5. Sawcer, S. Refining genetic associations in multiple sclerosis I S. Sawcer II Lancet Neurol. - 2008. - Vol.7. - P. 567-569.
6. Hafler, D.A. Risk alleles for multiple sclerosis indentified by a genomewide study I D.A. Hafler [et al.] II N. Engl. J. Med. - 2007.- Vol.357., NQ9. - P. 851-862.
7. R del, Rio. SNPs upstream of the minimal promoter control IL-2 expression and are candidates for the autoimmune disease-susceptibility locus Aod2/Idd3/Eae3 / R del Rio [et al.] // Genes and Immunity.- 2008. - N29. - P.115-121.
8. McKay, F.C. Haplotypes of the interleukin 7 receptor alpha gene are correlated with altered expression in whole blood cells in multiple sclerosis / F.C. McKay [et al.] // Genes and Immunity. - 2008. - N29.- P.1-6.
9. Недзведь, Г.К. Этиопатогенетические варианты демиелинизации / Г.К. Недзведь, М.К. Недзведь, А.Г. Буняк // Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. - 2011. - N24 (12). - С. 140-148.