

---

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

# Aspecte biochimice și genetice în scleroza multiplă

Doctorand **Ioana-Simina Gligan (Barac)**

---

Conducător de doctorat Prof.dr. **Lucia-Maria Procopciuc**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

# CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	119
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	21
<b>1. Considerații generale asupra sclerozei multiple</b>	23
<b>2. Scleroza multiplă</b>	23
2.1. Introducere	24
2.2. Prevalența sclerozei multiple în România	24
2.3. Factorii de risc	25
2.3.1. Vârsta și sexul pacientului	25
2.3.2. Latitudinea	26
2.3.3. Infecțiile	26
2.3.4. Deficitul de vitamina D	26
2.3.5. Factori care țin de stilul de viață	27
2.4. Etiopatogeneză	27
2.4.1. Demielinizarea axonală	27
2.4.2. Remielinizarea axonală	27
2.4.3. Neuroplasticitatea în scleroza multiplă	28
2.5. Semne și simptome în scleroza multiplă	29
2.6. Clasificarea sclerozei multiple	31
2.7. Diagnosticul pozitiv și diferențial	31
2.8. Tratament	32
2.9. Evoluția clinică	34
<b>3. Modificări imunologice în scleroza multiplă</b>	34
3.1. Considerații generale de imunologie	34
3.2. Imunopatogeneza sclerozei multiple	36
3.3. Sistemul glimfatic și rolul lui în scleroza multiplă	37
3.4. Rolul interleukinelor în scleroza multiplă	39
3.4.1. Inteterleukina 23	39
3.4.2. Inteterleukina 27	39
<b>4. Genetica în scleroza multiplă</b>	40

4.1	Introducere	40
4.2	Polimorfismele genetice	42
	<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	45
	<b>1. Ipoteza de lucru/obiective</b>	47
	<b>2. Metodologie generală</b>	48
	<b>3. Studiul 1- Polimorfismul IL-27 T4730C și nivelul seric de IL-27 în scleroza multiplă</b>	55
3.1.	Introducere	55
3.2.	Ipoteza de lucru/obiective	56
3.3.	Material și metodă	56
3.3.1.	Grupuri de studiu	56
3.3.2.	Metode de evaluare	57
3.3.3.	Analiza statistică	59
3.4.	Rezultate	60
3.5.	Discuții	66
3.6.	Concluzii	68
	<b>4. Studiul 2 - Potențialele contribuții ale polimorfismelor genetice IL-27 A964G, IL-27 T4730C și IL-23 R381Q în susceptibilitatea de a dezvolta scleroză multiplă</b>	69
4.1.	Introducere	69
4.2.	Ipoteza de lucru/obiective	71
4.3.	Material și metodă	71
4.3.1.	Grupuri de studiu	71
4.3.2.	Metode de evaluare	72
4.3.3.	Analiza statistică	74
4.4.	Rezultate	75
4.5.	Discuții	86
4.6.	Concluzii	90
	<b>5. Studiul 3 - Nivelele serice de IL-23 și IL-27: în relație cu polimorfismele genetice și formele clinice de scleroză multiplă la pacienții sub tratament cu interferon beta și glatiramer acetat</b>	91
5.1.	Introducere	91
5.2.	Ipoteza de lucru/obiective	92

5.3. Material și metodă	93
5.3.1. Grupuri de studiu	93
5.3.2. Metode de evaluare	93
5.3.3. Analiza statistică	94
5.4. Rezultate	95
5.5. Discuții	106
5.6. Concluzii	110
<b>6. Concluzii generale</b>	<b>111</b>
<b>7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei</b>	<b>113</b>
<b>REFERINȚE</b>	<b>115</b>

## INTRODUCERE

Scleroza multiplă (SM) este o afecțiune demielinizantă, inflamatorie și neurodegenerativă a sistemului nervos central (SNC). SM afectează frecvent persoanele cu vârste cuprinse între 20-40 de ani, fiind principala cauză de dizabilitate neurologică în rândul tinerilor. La nivel global, incidența și prevalența ei sunt în continuă creștere, generând astfel, o serie de costuri financiare, economice și sociale. Conform ultimului raport publicat de Asociația Națională de Scleroză Multiplă în anul 2020, la fiecare 5 minute se formulează un nou diagnostic de SM, la nivel mondial fiind diagnosticate 2,8 milioane de persoane cu SM. Conform Federației Internaționale de Scleroză Multiplă, în Europa, în ultimii trei ani incidența bolii a crescut cu 35%, în prezent fiind diagnosticați peste un milion de pacienți. Prevalența europeană a SM este de 108 la 100.000 de locuitori.

Nevoia reală de a prelungi funcționarea adecvată a SNC, armonizată cu menținerea unui status cognitiv corespunzător vârstei, precum și menținerea integrării sociale a pacienților cu SM au contribuit la inițierea acestui studiu.

Cercetarea actuală își propune studiul nivelului plasmatic și al polimorfismelor genetice ale interleukinelor (IL) IL-23 și IL-27 la pacienții cu SM din România. Originalitatea acestui proiect constă în evaluarea complexă a pacientului cu diagnosticul de SM din punct de vedere clinic, serologic și genetic cu impact important asupra screening-ului și prognosticului bolii.

Polimorfismele genetice studiate, au fost evaluate separat în numeroase boli autoimune, dar în ceea ce privește implicarea lor comună în SM, până în prezent nu sunt disponibile informații. Polimorfismele genetice ale IL-27 în SM nu au fost studiate anterior.

## STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Scleroza multiplă (SM) este o boală inflamatorie, mediată autoimun, a sistemului nervos central (SNC), care determină modificări ale tecii de mielină și ale axonilor. Procesele inflamatorii desfășurate la nivelul SNC, au ca și consecință disfuncția oligodendrocitelor cu apariția leziunilor de demielinizare la nivelul nervului optic, trunchiului cerebral, cerebelului, măduvei spinării (MS) și a substanței albe periventriculare.

Manifestările neurologice din SM sunt complexe, astfel încât această afecțiune se prezintă clinic sub mai multe forme: episod clinic izolat (CIS), sindrom radiologic izolat (RIS), forma recurent remisivă (RR), primar progresivă (PP) și secundar progresivă (SP). Aceste forme cu caracteristici diferite, evidențiază complexitatea mecanismelor fiziopatologice, evoluția tabloului clinic în timp și explică în unele cazuri întârzierea diagnosticului sau diagnosticarea greșită.

Diagnosticul de SM se bazează pe criteriile Mc Donald revizuite în anul 2017 care țin cont de diseminarea leziunilor de demielinizare în timp și spațiu, cuprinzând evaluarea imagistică prin rezonanță magnetică (RM) cerebrală cu substanță de contrast și doar în cazuri strict selectate, puncția lombară cu determinarea benzilor oligoclonale (OCB).

Factorii de risc identificați pentru declanșarea SM sunt reprezentați de: vârstă, sex, latitudine, infecții, nivel de vitamina D, factori care țin de stilul de viață- alimentație, sedentarism, fumat.

Implicarea factorilor genetici în SM este susținută de studiile de asociație genomică (GWAS), dar și de studiile genetice care au evaluat agregarea familială a cazurilor cu SM. Aceste studii au evidențiat un risc de 10-15 ori mai mare pentru rudele pacienților cu SM de a dezvolta această afecțiune, comparativ cu populația generală. Evaluarea factorilor de risc genetici prin intermediul GWAS, a pus în evidență prezența a numeroase locus-uri asociate cu un risc crescut de a dezvolta SM, acestea fiind reprezentate de polimorfismele nucleotidice (PN). Din totalitatea PN evaluate în SM, 30% dintre acestea au fost localizate în regiunile imune strategice care controlează producerea de citokine și molecule de semnalizare intercelulară. PN pot fi localizate în exoni, regiuni genetice cu rol important în codificarea proteică sau în introni, regiuni genetice fără rol direct în codificarea proteică. Dacă PN este localizat în exon, sinteza proteică va fi alterată prin modificarea compoziției proteice în aminoacizi. Prezența PN în introni poate determina de asemenea susceptibilitate față de boală și poate modula relația genotip-fenotip, dacă PN sunt cu caracter funcțional. Majoritatea PN funcționale sunt în realitate localizate la zona de joncțiune exon-intron cu rol în procesul de splicing, amplificând procesul de splicing sau activitatea transcripțională.

## CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

În prezenta cercetare ne-am propus să abordăm și să încercăm să descriem într-o manieră cât mai complexă elementele imunologice, biochimice și genetice care definesc SM. Adicional, am dorit să evaluăm legătura complexă dintre sistemul nervos central și sistemul imun, să conturăm o parte din fondul genetic și imunologic din SM cu dorința de a transpune rezultatele obținute în practica clinică. În lucrarea de față am cuprins 3 studii prospective, observaționale.

În primul studiu am avut următoarele obiective:

Obiectiv general: stabilirea unei relații între polimorfismul genetic *T4730C* și nivelele serice de IL-27 la pacienții cu scleroză multiplă și la controlii

Obiectivul 1: determinarea nivelului seric de IL-27 la pacienții cu scleroză multiplă fără terapii imunomodulatoare anterioare și la controlii

Obiectivul 2: determinarea genotipurilor pentru polimorfismul *T4730C* (rs181206) la pacienți diagnosticați cu scleroză multiplă fără terapie imunomodulatoare anterioară și în lotul de control

Obiectivul 3: evaluarea polimorfismului genetic *T4730C* (rs181206) la pacienți diagnosticați cu scleroză multiplă fără terapie imunomodulatoare anterioară

Concluzii

Purtătorii polimorfismului IL-27 *T4730C* (rs181206) au un risc mai mare de a dezvolta SM. Nivelul seric de IL-27 a fost mai scăzut în lotul de pacienți fără tratament, comparativ cu lotul de control. Studiul nostru aduce o perspectivă nouă legată de contribuția variațiilor genetice ale IL-27 în susceptibilitatea de a dezvolta SM și susține rolul vital pe care aceasta îl are în autoimunitate.

În al doilea studiu am avut următoarele obiective:

Obiectiv general: evaluarea asocierii polimorfismelor IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* și IL-23R *R381Q* cu susceptibilitatea de a dezvolta scleroză multiplă

Obiectivul 1: determinarea genotipurilor pentru polimorfismele IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* și IL-23R *R381Q* la pacienții cu scleroză multiplă

Obiectivul 2: evaluarea relației dintre polimorfismele IL-27 *A964G* și IL-27 *T4730C* și caracteristicile clinice ale pacienților cu scleroză multiplă

Obiectivul 3: evaluarea relației dintre polimorfismul IL-23R *R381Q* și caracteristicile clinice ale pacienților cu scleroză multiplă

#### Concluzii

Prezența polimorfismelor funcționale IL-27 *T4730C* și IL-27 *A964G* se asociază cu un risc semnificativ de a dezvolta SM. Analiza haplotipică a propus haplotip-ul G-C (IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C*) ca și haplotip cu risc semnificativ pentru SM. Alela A (IL-23R *R381Q*), este o alelă cu rol protector pentru SM în populația pe care am studiat-o.

În cel de al treilea studiu am avut următoarele obiective

Obiectiv general: evaluarea profilului seric de IL-23 și IL-27 la pacienții cu forma clinică de boală CIS, RR și SP aflați sub tratament cu glatiramer acetat și interferon-β

Obiectivul 1: determinarea nivelelor serice de IL-23 și IL-27 la pacienții cu forma clinică de boală CIS, RR și SP aflați sub tratament cu glatiramer acetat și interferon-β

Obiectivul 2: evaluarea asocierii dintre nivelele serice de IL-23 și IL-27 și caracteristicile clinice ale pacienților din fiecare grup studiat

Obiectivul 3: evaluarea asocierii dintre nivelele serice de IL-23 și IL-27 cu polimorfismele IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* și IL-23 *R381Q* în fiecare grup studiat

#### Concluzii

Între nivelul de IL-27 și debutul precoce al bolii în grupul de pacienți RR există o relație semnificativă din punct de vedere statistic, existând un nivel mai ridicat de IL-27 la pacienții cu debut al bolii la o vârstă mai tânără (debutul bolii < 28 de ani). Legat de nivelul de IL-23, acest nivel a fost mai scăzut în grupul pacienților RR purtători ai genotipurilor AG și GG pentru polimorfismul *R381Q*. Rezultatele noastre sugerează o posibilă interacțiune între nivelul de IL-23 și prezența polimorfismului *A964G* la pacienții cu SM forma RR. O corelație pozitivă între nivelul de IL-23 și durata terapiei a fost observată în grupul de pacienți SP.

Originalitatea studiului nostru aduce o perspectivă nouă legată de contribuția variațiilor genetice localizate în genele care codifică interleukinele IL-27 și IL-23 în susceptibilitatea de a dezvolta SM și susține rolul pe care acestea îl au în autoimunitate. Ambele interleukine au fost studiate separat, în diverse afecțiuni autoimune, dar niciodată nu au mai fost evaluate împreună.

Polimorfismele genetice ale IL-27 în SM nu au mai fost studiate anterior. Rezultatele noastre au demonstrat că șansa de a dezvolta SM, dacă unul dintre aceste polimorfisme este prezent, IL-27 *T4730C*, IL-27 *A964G*, IL-23R *R381Q*, nu este influențată de prezența unui alt polimorfism investigat. Nu am găsit alte studii care să fi analizat această asociere de polimorfisme în relație cu riscul de a dezvolta SM.

Studiul nostru a pornit de la premiza că IL-23 și polimorfismul ei, *R381Q* ar putea avea rol în declanșarea și menținerea autoimunității și ar reprezenta factori de risc pentru susceptibilitatea de a dezvolta SM. Cu toate acestea, rezultatele noastre au confirmat rolul protector al polimorfismului IL-23R *R381Q* pentru SM. De asemenea, pacienții diagnosticați cu SM forma RR, pozitivi pentru această variație genetică au prezentat nivele mai reduse de IL-23.

---

SUMMARY OF THE Ph. D THESSIS

# Biochemical and genetical aspects of Multiple Sclerosis

PhD Student **Ioana-Simina Barac**

---

PhD Coordinator Prof.dr. **Lucia-Maria Procopciuc**

---





# Table of content

<b>Introduction</b>	119
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b>	21
<b>1. General considerations in Multiple sclerosis</b>	G
<b>2. Multiple sclerosis</b>	23
2.1. Introduction	24
2.2 Prevalence of multiple sclerosis in Romania	24
2.3 Risk factors	25
2.3.1. Age and gender	25
2.3.2. Latitude	26
2.3.3. Infections	26
2.3.4. Vitamin D deficiency	26
2.3.5. Lifestyle factors	27
2.4 Ethiopathogenesis	27
2.4.1. Axonal demyelination	27
2.4.2. Axonal remyelination	27
2.4.3. Neuroplasticity in multiple sclerosis	28
2.5 Signs and symptoms in multiple sclerosis	29
2.6 Multiple sclerosis classification	31
2.7 Positive and differential diagnosis	31
2.8 Treatment	32
2.9 Clinical evolution	34
<b>3. Immunological changes in Multiple sclerosis</b>	34
3.1. General immunological considerations	34
3.2 Multiple sclerosis immunopathogenesis	36
3.3 Glymphatic system in multiple sclerosis	37
3.4 Roles of interleukines in multiple sclerosis	39
3.4.1. Inteterleukine 23	39
3.4.2. Inteterleukine 27	39
<b>4. Genetics in Multiple sclerosis</b>	40

4.1 Introduction	40
4.2 Genetic polymorphisms	42
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	45
<b>1. Objectives</b>	47
<b>2. General Metodology</b>	48
<b>3. Study 1- IL 27 T4730C Polymorphism and Serology in Multiple Sclerosis</b>	55
3.1. Introduction	55
3.2. Aims	56
3.3. Patients and Methods	56
3.3.1. Patients	56
3.3.2. Methods	57
3.3.3. Statistical analysis	59
3.4. Results	60
3.5. Discussions	66
3.6. Conclusions	68
<b>4. Study 2 - Potential Contribution of IL-27 and IL-23 Gene Polymorphisms to Multiple Sclerosis Susceptibility: An Association Analysis at Genotype and Haplotype Level</b>	69
4.1. Introduction	69
4.2. Aims	71
4.3. Patients and Methods	71
4.3.1. Patients	71
4.3.2. Methods	72
4.3.3. Statistical analysis	74
4.4. Results	75
4.5. Discussions	86
4.6. Conclusions	90
<b>5. Study 3 - Interleukins (IL-23 and IL-27) Serum Levels: Relationships with Gene Polymorphisms and Disease Patterns in Multiple Sclerosis Patients under Treatment with Interferon and Glatiramer Acetate</b>	91
5.1. Introduction	91

5.2. Aims	92
5.3. Patients and Methods	93
5.3.1.	93
5.3.2.	93
5.3.3.	94
5.4.	95
5.5.	106
5.6.	110
<b>6. General conclusions</b>	<b>111</b>
<b>7. Originality and innovative contribution of the thesis</b>	<b>113</b>
<b>REFERENCES</b>	<b>115</b>

# INTRODUCTION

Multiple sclerosis (MS) is a demyelinating, inflammatory and neurodegenerative condition of the central nervous system (CNS). MS frequently affects people between the ages of 20-40 and is the leading cause of neurological disability among young people. Globally, its incidence and prevalence are constantly increasing, thus generating a range of financial, economic and social costs. According to the latest report published by the National Multiple Sclerosis Association in 2020, a new diagnosis of MS is made every 5 minutes, worldwide being diagnosed 2.8 million people with MS. According to the International Federation of Multiple Sclerosis, in Europe, the incidence of the disease has increased by 35% over the last three years, with more than one million patients currently diagnosed. The European prevalence of MS is 108 per 100,000 inhabitants.

The real need to prolong the proper functioning of the CNS, harmonized with maintaining age-appropriate cognitive status, as well as maintaining the social integration of patients with MS contributed to the initiation of this study.

The current research aims to study the plasma level and genetic polymorphisms of interleukin (IL) IL-23 and IL-27 in patients with MS in Romania. The originality of this project consists in the complex evaluation of the patient with the diagnosis of MS from clinical, serological and genetic point of view, with an important impact on the screening and prognosis of the disease.

The genetic polymorphisms studied, have been evaluated separately in many autoimmune diseases, but in terms of their involvement in MS, no information is available so far. The genetic polymorphisms of IL-27 in MS have not been studied previously.

# CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory, autoimmune-mediated disease of the central nervous system (CNS) that causes changes in the myelin sheath and axons. Inflammatory processes carried out at the CNS, have as consequence the dysfunction of oligodendrocytes with the appearance of demyelination lesions in the optic nerve, brain stem, cerebellum, spinal cord and periventricular white substance.

Neurological manifestations in MS are complex, so this condition presents itself clinically in several forms: isolated clinical episode (CIS), isolated radiological syndrome (RIS), recurrent remitting form (RR), primary progressive (PP) and secondary progressive (SP). These forms with different characteristics, highlight the complexity of the pathophysiological mechanisms, the evolution of the clinical picture over time, and in some cases explain the delay in diagnosis or the wrong diagnosis.

The diagnosis of MS is based on the Mc Donald criteria reviewed in 2017, that take into account the dissemination of demyelination lesions in time and space, including the evaluation of brain magnetic resonance imaging (MRI) with contrast enhancement and only in strictly selected cases, the lumbar puncture with the determination of oligoclonal bands (OCB).

The risk factors identified for the onset of MS are: age, sex, latitude, infections, vitamin D levels, lifestyle factors – diet, sedentary, smoking.

The involvement of genetic factors in MS is supported by genomic association studies (GWAS), but also by genetic studies that evaluated the family aggregation of MS cases. These studies showed a 10-15-fold higher risk for relatives of MS patients to develop the condition compared to the general population. The assessment of genetic risk factors through GWAS has revealed the presence of numerous genetic sites associated with an increased risk of developing MS, which are represented by nucleotide polymorphisms

(NP). Of the total NP evaluated in MS, 30% of these were located in strategic immune regions that control the production of cytokines and intercellular signaling molecules. NP can be located in exons, genetic regions with an important role in protein coding, or introns, genetic regions with no direct role in protein coding. If NP is located in the exon, the protein synthesis will be altered by changing the protein composition into amino acids. The presence of NP in introns may also cause susceptibility to disease and modulate the genotype-phenotype relationship, if the NP is functional. Most functional NP are actually located at the exon-intron junction area with a role in the splicing process, amplifying the splicing process or transcriptional activity.

## PERSONAL CONTRIBUTION

In this research, we aimed to approach and to describe in a complex manner, the immunological, biochemical and genetic elements that define MS. In addition, we wanted to assess the complex connection between the central nervous system and the immune system, to outline a part of the genetic and immunological background of MS with the desire to translate the results obtained in clinical practice. In this thesis we have included 3 prospective, observational studies.

In the first study we had the following objectives:

General objective: To establish a relationship between *genetic* polymorphism *T4730C* and serum IL-27 levels in multiple sclerosis patients and controls

Goal 1: Determination of serum IL-27 levels in patients with multiple sclerosis without prior immunomodulatory therapies and in controls

Objective 2: Determination of genotypes for polymorphism *T4730C* (rs181206) in patients diagnosed with multiple sclerosis without prior immunomodulatory therapy and in the control group

Objective 3: Assessment of *genetic* polymorphism *T4730C* (rs181206) in patients diagnosed with multiple sclerosis without prior immunomodulatory therapy

Conclusions

Carriers of polymorphism IL-27 *T4730C* (rs181206) have a higher risk of developing MS. The serum level of IL-27 was lower in the patient group compared to the control group. Our study brings a new perspective on the contribution of IL-27 genetic variations in susceptibility to MS and supports its vital role in autoimmunity.

In the second study we had the following objectives:

General objective: To assess the association of polymorphisms IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* and IL-23R *R381Q* with susceptibility to multiple sclerosis

Objective 1: Determination of genotypes for polymorphisms IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* and IL-23R *R381Q* in patients with multiple sclerosis

Objective 2: To assess the relationship between IL-27 *A964G* and IL-27 *T4730C* polymorphisms and the clinical characteristics of patients with multiple sclerosis

Objective 3: Assess the relationship between IL-23R *R381Q* polymorphism and clinical characteristics of multiple sclerosis patients

## Conclusions

The presence of functional polymorphisms IL-27 *T4730C* and IL-27 *A964G* is associated with a significant risk of developing MS. Haplotype analysis proposed G-C haplotype (IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C*) as a haplotype with significant risk for MS. Allele A (IL-23R *R381Q*) is a protective allele for MS in the population we have studied.

In the third study we had the following objectives

General objective: Assessment of the serum profile of IL-23 and IL-27 in patients with the clinical form of CIS, RR and SP disease treated with glatiramer acetate and interferon- $\beta$

Objective 1: Determination of serum IL-23 and IL-27 levels in patients with the clinical form of CIS, RR and SP disease treated with glatiramer acetate and interferon- $\beta$

Objective 2: To assess the association between IL-23 and IL-27 serum levels and the clinical characteristics of patients in each study group

Objective 3: Assessment of the association of serum IL-23 and IL-27 levels with polymorphisms IL-27 *A964G*, IL-27 *T4730C* and IL-23 *R381Q* in each study group

## Conclusions

There is a statistically significant relationship between IL-27 and early onset of disease in the RR patient group, with higher IL-27 levels in patients with onset of disease at a younger age (onset of disease < 28 years). Related to IL-23, this level was lower in the RR patients group carrying AG genotypes and GG for *R381Q* polymorphism. Our results suggest a possible interaction between IL-23 levels and the presence of *A964G* polymorphism in patients with RR-form MS. A positive correlation between IL-23 level and duration of therapy was observed in the SP patient group.

Our study brings a new perspective on the contribution of genetic variations in the genes that encode IL-27 and IL-23 in susceptibility to MS and supports their role in autoimmunity. Both interleukins have been studied separately in various autoimmune conditions, but have never been evaluated together.

The genetic polymorphisms of IL-27 in MS have not been studied before. Our results showed that the chance of developing MS, if one of these polymorphisms is present, IL-27 *T4730C*, IL-27 *A964G*, IL-23R *R381Q*, is not influenced by the presence of another polymorphism investigated. We have not found any other studies that have looked at this association of polymorphisms in relation to the risk of developing MS.

Our study was based on the assumption that IL-23 and its polymorphism, *R381Q*, could play a role in triggering and maintaining autoimmunity and may be a risk factor for MS. However, our results confirmed the protective role of IL-23R *R381Q* polymorphism for MS. Also, patients diagnosed with MS RR form, positive for this genetic variation, showed lower levels of IL-23.