

«УТВЕРЖДАЮ»

директор ФГБНУ НЦН,

академик РАН

М.А. ПИРАДОВ



« 11 » сентября 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии»

Диссертационная работа «Церебральная микроангиопатия: профиль экспрессии генов, ассоциированных с воспалением (клинико-лабораторное исследование)» выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр неврологии»; клиническая часть – на базе 3-го неврологического отделения; лабораторные исследования – в отделе лабораторной диагностики; нейровизуализационная часть – в отделе лучевой диагностики.

В период подготовки диссертации Макарова Ангелина Геннадьевна работала в ФГБНУ «Научном центре неврологии» в должности врача-невролога отдела трансляционных нейронаук, научно-консультативного отделения, группы круглосуточного медицинского наблюдения, а также третьего неврологического отделения.

В 2018 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тулский государственный университет» Медицинский институт по специальности «лечебное дело». С 2018 по 2020 годы обучалась в клинической ординатуре Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии» по специальности неврология. С 2020 по 2023 годы обучалась в очной аспирантуре в ФГБНУ «Научный центр неврологии».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2023 году в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр неврологии».

Научные руководители:

Добрынина Лариса Анатольевна, заведующая 3-м неврологическим отделением, главный научный сотрудник, доктор медицинских наук.

Шабалина Алла Анатольевна, заведующая отделом лабораторной диагностики, ведущий научный сотрудник, доктор медицинских наук.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы диссертации обусловлена высокой распространенностью церебральной микроангиопатии и, ассоциированных с ней, когнитивных расстройств, а также когнитивных расстройств смешанных с нейродегенерацией; кроме того, церебральная микроангиопатия является причиной четверти всех инсультов, значимой причиной инвалидизации и смертности. До сих пор заболевание остается с неуточненными патогенетическими механизмами и как следствие – отсутствием модифицирующего лечения. Несмотря на интенсивное медикаментозное лечение основного фактора риска церебральной микроангиопатии – артериальной гипертензии, не достигнуто снижение частоты когнитивных расстройств в популяции.

Проведенные в последнее десятилетие гистологические, иммуногистохимические и клинические исследования указывают на значимую роль воспаления, сопряженного с эндотелиальной дисфункцией, повреждением гематоэнцефалического барьера и развитием нейровоспаления в патогенезе церебральной микроангиопатии. Проведенные полногеномные исследования ассоциаций при ЦМА подтвердили высокую значимость воспаления и функционирования иммунной системы в развитии заболевания и установили повторяющиеся (конвергирующие) от исследования к исследованию локусы и гены риска развития. Данный подход к формированию исследовательской панели обусловлен современной тенденцией к дополнению GWAS-данных исследованиями профилей экспрессии генов, ассоциированных с заболеваниями.

NanoString nCounter – относительно новая платформа для количественного определения РНК, которая отличается высокой степенью автоматизации и эффективностью по времени, а ее чувствительность сравнима с ПЦР в реальном времени.

Уточнение связи ЦМА и ее клинических проявлений с экспрессией генов, ассоциированных с воспалением, позволит определить значимые маркеры прогрессирования заболевания и связанные с ними молекулярные патогенетические пути. Выявление общих для ЦМА и БА механизмов, может стать основанием для создания диагностической панели индивидуального риска коморбидности патологий и соответственно утяжеления течения заболевания, поиска таргетных молекул для иммунотерапии.

Связь темы с планом научных исследований центра. Диссертационная работа Макаровой Ангелины Геннадьевны выполнена в соответствии с планом НИР в рамках темы

научно-исследовательской работы "Мультидисциплинарные подходы к изучению цереброваскулярной патологии" (внутренний номер 208), регистрационный номер ЦИТиС 122041300193-8.

Личное участие автора в получении результатов. Автору принадлежит определяющая роль в разработке протокола исследования, в постановке цели и задач, обосновании основных положений, формулировании выводов и практических рекомендаций. Отобраны пациенты, проведен сбор анамнеза, подробный клинико-неврологический осмотр, тестирование когнитивных функций, оценка сосудистых факторов риска, сбор и обработка биоматериала (образцы крови), интерпретация и анализ полученных результатов молекулярно-генетического тестирования (под руководством д.м.н. Шабалиной А.А. – заведующей отделом лабораторной диагностики ФГБНУ НЦН). Автором проанализированы основные отечественные и зарубежные источники литературы, проведены аналитическая и статистическая обработка, а также обобщены полученные данные.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Степень достоверности результатов обоснована достаточной когортой обследованных пациентов, применением современных методов нейровизуализации и молекулярно-генетической диагностики, адекватной статистической обработкой полученных результатов.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые разработана, создана и апробирована панель оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением при ЦМА. Использован оригинальный подход к формированию панели оценки экспрессии генов на основе отбора конвергирующих генов воспалительного профиля при повторных GWAS при ЦМА и БА, а также генов циркулирующих маркеров, ассоциированных с повреждением сосудистой стенки и мозга при ЦМА.

Впервые методом NanoString nCounter осуществлена оценка экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, при ЦМА с когнитивными расстройствами на российской популяции.

Впервые выявлены гены, изменение экспрессии которых, позволяет предсказывать развитие ЦМА и ее более тяжелое течение, а также указывает на развитие клинически выраженных КР. Установлены гены, изменение экспрессии которых ассоциировано с тяжестью артериальной гипертензии.

Определен дифференциальный профиль экспрессии генов для вариантов течения ЦМА, описанных ранее на основании группирования диагностических МРТ-признаков ЦМА. Ассоциация второго МРТ-типа с изменением экспрессии генов, участвующих в процессах воспаления, позволяет предполагать более значимый вклад воспалительных реакций в его развитие.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Оригинальный подход к созданию панели определения экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, позволил вычлнить из них ключевые для оценки прогноза тяжести течения ЦМА и связанных с ней КР. На основе установленных генов может быть создана новая панель определения экспрессии генов, значимых для индивидуального прогноза прогрессирования ЦМА с КР.

Вновь установленные молекулярные маркеры ассоциированы с прогрессированием ЦМА и КР, формированием разных форм ЦМА и могут использоваться для диагностики разных форм течения заболевания, прогноза развития выраженных КР, тактики ведения пациентов.

Изменение экспрессии установленных генов потенциально может быть иницирующим в развитии коморбидности ЦМА и болезни Альцгеймера с развитием смешанных сосудисто-дегенеративных форм.

Ценность научных работ соискателя.

Настоящее исследование было направлено на уточнение роли в развитии клинических и МРТ-проявлений ЦМА изменений экспрессии генов, ассоциированных с воспалением. Для проведения настоящего исследования производителем NanoString Technologies по запросу исследователей была создана индивидуальная панель оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением. Использовался оригинальный подход в отборе генов на основе гипотезы. Поскольку ЦМА является главным фактором риска БА и доминирующим в популяции смешанных форм, определение при ЦМА изменений в экспрессии генов, характеризующих ЦМА и БА, может установить общность механизмов заболеваний и их коморбидность.

В панель было включено 58 генов из числа регуляторных, конвергирующих при повторных GWAS при ЦМА и БА, а также циркулирующих маркеров крови, ассоциированных с воспалительными путями при ЦМА. Использовалась технология количественного определения РНК NanoString nCounter, отличающаяся высокой степенью

автоматизации, эффективности по времени, с чувствительностью сравнимой с ПЦР в реальном времени.

В исследовании получены взаимосвязи, подтвердившие предположение. Установлено влияние сниженной экспрессии генов, ранее упоминаемых, в основном, в связи с патогенезом БА, на прогрессирование ЦМА с КР.

Установлено снижение экспрессии BIN1 и VEGFA при ЦМА и их диагностические возможности в предикции заболевания. Показано, что снижение экспрессии VEGFA, CD2AP, ACE, VEGFC, MRPL38 и BIN1 ассоциировано с ухудшением нейропсихологического профиля и развитием более выраженных КР, характерных для смешанных форм заболеваний. Выявлено, что снижение экспрессии генов, ассоциированных с механизмами воспаления, – ACOX1, CD33, CD2AP, TNFR1 и VEGFC характеризует МРТ-тип 2 ЦМА, имеющий свои диагностические МРТ-признаки.

Гены, экспрессия которых показала свою значимость в развитии ЦМА с КР, МРТ-особенностей, позволили составить набор (панель) генов (BIN1, VEGFA, FGB, VEGFC, CD2AP, ACE, MRPL38, ACOX1, CD33, TNFR1) и рекомендовать для использования у пациентов с ЦМА. Уточнение профиля экспрессии указанных генов позволит прогнозировать тяжесть поражения мозга, выраженность КР, а в последующем способствовать разработке патогенетического лечения для разных форм ЦМА.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов. По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Статьи в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России:

1. Добрынина Л.А. Кластеризация диагностических МРТ-признаков церебральной микроангиопатии и ее связь с маркерами воспаления и ангиогенеза / Добрынина Л.А., Гнедовская Е.В., Забитова М.Р., Кремнева Е.И., Шабалина А.А., Макарова А.Г., Цыпуштанова М.М., Филатов А.С., Калашникова Л.А., Кротенкова М.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. – 2020. – Т. 120. – №. 12-2. – С. 22-31. – (К1).

2. Добрынина Л.А. Связь нарушений кровотока и ликворотока с повреждением стратегических для когнитивных расстройств зон мозга при церебральной микроангиопатии / Добрынина Л.А., Гаджиева З.Ш., Шамтиева К.В., Кремнева Е.И., Ахметзянов Б.М., Цыпуштанова М.М., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Кротенкова М.В. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. - 2022. - Т. 16. - №2. - С. 25-35. – (К1).

3. Добрынина Л.А. Выживаемость, изменения когнитивных функций и состояния головного мозга у пациентов с церебральной микроангиопатией (болезнью мелких сосудов): 5-летнее наблюдение / Добрынина Л.А., Гаджиева З.Ш., Кремнева Е.И., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Бициева Е.Т., Филатов А.С., Бырочкина А.А., Кротенкова М.В. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2022. – Т. 16. – №. 4. – С. 18-28. – (К1).

4. Добрынина Л.А. Роль изменения экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами / Добрынина Л.А., Макарова А.Г., Шабалина А.А., Бурмак А.Г., Шлапакова П.С., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Трубицына В.В., Гнедовская Е.В. // *Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова* – 2023. – Т. 123. – № 9. – С. 58-68. – (К1).

5. Добрынина Л.А. Биохимические маркеры нейродегенерации при церебральной микроангиопатии (болезни мелких сосудов) и болезни Альцгеймера / Добрынина Л.А., Цыпуштанова М.М., Шабалина А.А., Шамтиева К.В., Макарова А.Г., Трубицына В.В., Забитова М.Р., Гаджиева З.Ш., Бициева Э.Т., Бырочкина А.А., Гейнц А.А. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2023. – Т. 17. – №. 3. – С. 21-30. – (К1).

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендована к защите.

Материалы диссертационной работы отвечают требованиям соответствия избранным специальностям 3.1.24 – Неврология и 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика. Высказанные в процессе обсуждения замечания и пожелания будут учтены при подготовке окончательного варианта диссертации.

Заключение.

Диссертационная работа Макаровой Ангелины Геннадьевны **«Церебральная микроангиопатия: профиль экспрессии генов, ассоциированных с воспалением (клинико-лабораторное исследование)»** рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.24 – Неврология и 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика.

Заключение принято на расширенном заседании научных сотрудников 1-го, 2-го, 3-го, 5-го, 6-го неврологических отделений, отделения анестезиологии-реанимации с палатами реанимации и интенсивной терапии, консультативного-диагностического отделения, лаборатории ультразвуковых исследований, лаборатории клинической нейрофизиологии,

отдела лучевой диагностики, отдела лабораторной диагностики института клинической и профилактической неврологии, лаборатории нейроморфологии отдела исследований мозга Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии» от 30 июня 2023 года.

На заседании присутствовали 27 человек. Результаты голосования: «за» – 27 человек, «против» – нет, «воздержались» – нет.

Протокол № 5 от 30 июня 2023 года.

Председатель заседания:

Заведующая б-м неврологическим отделением,
главный научный сотрудник,
доктор медицинских наук



Захарова М.Н.

Подпись заведующей б-м неврологическим отделением, главного научного сотрудника,
доктора медицинских наук Захаровой М.Н. ЗАВЕРЯЮ
Ученый секретарь ФГБНУ НЦН,
кандидат медицинских наук



Сергеев Д.В.