

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНЫЙ ЦЕНТР НЕВРОЛОГИИ»**

На правах рукописи

МАКАРОВА АНГЕЛИНА ГЕННАДЬЕВНА

**ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ МИКРОАНГИОПАТИЯ: ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОСПАЛЕНИЕМ
(КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.24 – Неврология

3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Л.А. Добрынина

доктор медицинских наук

А.А. Шабалина

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Эпидемиология и диагностика церебральной микроангиопатии	10
1.2. Факторы риска и механизмы развития церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами	15
1.3. Роль воспаления в развитии церебральной микроангиопатии.....	21
1.3.1. Определение понятий системное воспаление, локальное воспаление и нейровоспаление	21
1.4. Нейровоспаление – потенциальный механизм формирования коморбидности сосудистой и нейродегенеративной патологии	31
1.5. Определение экспрессии генов на анализаторе NanoString nCounter	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Клинико-нейровизуализационная характеристика групп исследования	40
2.2. Лабораторные методы исследования.....	47
2.2.1. Формирование оригинальной панели генов, ассоциированных с воспалением, для NanoString nCounter	47
2.2.2. Оценка экспрессии генов на оригинальной панели для NanoString nCounter	48
2.2.3. Оценка экспрессии генов методом обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР в реальном времени.....	50
2.3. Статистическая обработка полученных результатов	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	55
3.1. Клинико-нейровизуализационная характеристика основной и контрольной групп .	55
3.2. Молекулярно-генетическое исследование: оценка экспрессии генов при церебральной микроангиопатии.....	62
3.2.1. Сопоставление экспрессии генов при церебральной микроангиопатии и в группе контроля	64

3.2.2. Сопоставление факторов риска, клинических и нейровизуализационных проявлений церебральной микроангиопатии с экспрессией генов	66
3.2.3. Подтверждение результатов методом количественной ПЦР в реальном времени.	76
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
ВЫВОДЫ.....	95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	99
ПРИЛОЖЕНИЯ	144

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Возраст-зависимая церебральная микроангиопатия (ЦМА) (болезнь мелких сосудов) – основная причина сосудистых и смешанных с нейродегенерацией когнитивных расстройств (КР), четверти всех инсультов, значимая причина инвалидизации и смертности [Боголепова А.Н., 2015; Парфенов В.А., 2017; Pantoni L., 2010; Wardlaw J.M. et al., 2013; Feigin V.L. et al., 2019]. В то же время ЦМА остается заболеванием с неуточненными патогенетическими механизмами и как следствие – отсутствием модифицирующего лечения [Wardlaw J.M. et al., 2019]. Терапевтическая стратегия, направленная на коррекцию артериальной гипертензии как основного фактора риска, не привела к снижению частоты КР в популяции [SPRINT M. et al., 2019].

Проведенные в последние десятилетия гистологические и иммуногистохимические исследования на экспериментальных животных и аутопсийных образцах мозга указывают на значимую роль воспаления, сопряженного с эндотелиальной дисфункцией, повреждением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и нейровоспалением, в развитии ЦМА [Gouw A.A. et al., 2011]. Общность воспаления и ассоциированных с ним механизмов для развития ЦМА и болезни Альцгеймера (БА) [Zimmer E.R. et al., 2014; Gomez-Nicola D., 2015; Chandra A. et al., 2019], позволяет предполагать, что хронические воспалительные реакции с устойчивым присутствием в ЦНС цитокинов, свободных радикалов и окислительного стресса являются потенциальными факторами формирования коморбидности двух заболеваний [Jian B. et al., 2020; Poudel P., 2022]. Подтверждением роли воспаления и связанных с ним механизмов при ЦМА являются и установленные взаимосвязи когнитивных и психоэмоциональных расстройств, разных вариантов течения заболевания с циркулирующими биомаркерами воспаления [Добрынина Л.А. и др., 2018; 2020; Poggesi A. et al., 2016; Dobrynina L.A. et al., 2020; Low A. et al., 2021].

Проведенные в последние годы полногеномные исследования ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) при ЦМА и БА подтвердили высокую значимость воспаления и функционирования иммунной системы в развитии заболеваний и выявили повторяющиеся от исследования к исследованию локусы и гены

риска их развития («GWAS Catalog», <https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>). До 90% всех установленных значимых GWAS-локусов расположены в некодирующих регионах, связанных с регуляцией транскрипции и трансляции генов. Эти данные при учете многофакторности в развитии ЦМА позволяют предполагать большую актуальность для прогрессирования заболевания изменений в экспрессии установленных генов. Известно, что именно эпигенетические факторы регуляции транскрипции способны увеличивать и уменьшать вклад GWAS-локусов в патогенез заболевания.

Для проведения настоящего исследования по уточнению роли изменений экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, в развитии ЦМА с КР, была отобрана группа генов на основе анализа исследований GWAS при ЦМА и ее МРТ-признаков, БА, АГ, а также гены циркулирующих маркеров крови. На основе уточненных генов было сформировано техническое задание производителю «NanoString Technologies» (Вашингтон, США) на создание оригинальной панели оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, у пациентов ЦМА с КР для анализатора NanoString nCounter. NanoString nCounter – относительно новая система количественного определения РНК, которая обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционными методами, включая ПЦР в реальном времени (qPCR) и секвенирование РНК. Она отличается высокой степенью автоматизации и эффективностью по времени, а ее чувствительность сравнима с qPCR [Geiss G.K. et al., 2008; Reis P.P. et al., 2011; Prokopc S.D. et al., 2013]. Технология NanoString основана на визуализации отдельных молекул штрих-кодов с цветовой кодировкой, привязанных к специфическим для мишени зондам [Leek J.T. et al., 2010; Parker H.S. et al., 2012].

Уточнение связи ЦМА и ее клинических проявлений с экспрессией генов, ассоциированных с воспалением, позволит определить значимые маркеры прогрессирования заболевания и возможные, потенциально связанные с ними молекулярные патогенетические пути. Уточнение 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.

Цель исследования: изучить связи клинических и нейровизуализационных проявлений ЦМА с особенностями профиля экспрессии генов, ассоциированных с воспалением.

Задачи исследования:

1. Оценить профиль экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, у пациентов с ЦМА в сравнении со здоровыми добровольцами.
2. Уточнить связи сосудистых факторов риска развития ЦМА с изменением экспрессии генов, ассоциированных с воспалением.
3. Оценить связь нейropsychологических типов и выраженности КР с профилем экспрессии исследуемых генов у пациентов с ЦМА.
4. Уточнить связи МРТ-признаков и волюмометрических показателей головного мозга с профилем экспрессии исследуемых генов у пациентов с ЦМА.
5. Оценить влияние изменений экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, на формировании диагностических форм (МРТ-типов) ЦМА.

Методология и методы исследования

Работа проводилась в ФГБНУ «Научный центр неврологии» (г. Москва) с 2020 по 2022 гг. Клиническая часть исследования выполнялась в 3-м неврологическом отделении, лабораторная и нейровизуализационная – в отделах лабораторной и лучевой диагностики соответственно. Использовался дизайн одномоментного сплошного исследования. Объектом изучения послужили пациенты ЦМА с КР и контрольная группа без сосудистой / дегенеративной патологии головного мозга. Обследование основной и контрольной групп проводилось однократно и включало:

- Клиническое обследование, анализ течения заболевания с оценкой основных сосудистых факторов риска;
- Когнитивное тестирование с использованием общепризнанных шкал, методик и тестов углубленного изучения когнитивных функций;
- Лабораторное исследование: определение экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, с помощью оригинальной панели для анализатора NanoString nCounter;
- МРТ головного мозга.

Научная новизна

Впервые разработана, создана и апробирована панель оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением при ЦМА. Использован подход к формированию панели оценки экспрессии генов на основе отбора генов воспалительного профиля, установленных при повторных GWAS 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, развитие клинически выраженных КР. Установлены гены, изменение экспрессии которых ассоциировано с тяжестью артериальной гипертензии.

Определен профиль дифференциально экспрессирующихся генов для двух МРТ-типов 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 установить значимые гены-маркеры 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, ассоциированные с прогрессированием ЦМА и КР, формированием разных форм ЦМА, 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 (смешанные сосудисто-дегенеративные формы).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Более тяжелое течение ЦМА ассоциировано со снижением уровня экспрессии генов BIN1 и VEGFA.
2. Нарастание тяжести АГ ассоциируется со снижением экспрессии генов FBN2, PLAT и NOS3, а АГ кризового течения – с WBP2.
3. Основные пути, поддерживающие прогрессирование ЦМА и ее коморбидность с БА, вероятно, связаны со снижением VEGF-A-ангиогенеза и VEGF-C-лимфангиогенеза и BIN-опосредованного трансцитоза амилоида-β.
4. Развитие клинически выраженных КР ассоциировано со снижением экспрессии генов VEGFA, VEGFC, CD2AP, ACE, BIN1 и MRPL38.
5. Выраженные изменения белого вещества связаны со снижением уровня экспрессии VEGFA и связанного с ним ангиогенеза.
6. МРТ-тип 2 ЦМА на стадии ГИБВ Fazekas 3 характеризуется снижением экспрессии генов ACOX1, CD33, CD2AP, TNFR1 и VEGFC.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов обоснована достаточной когортой обследованных, применением современных методов нейровизуализации и молекулярно-генетической диагностики, адекватной статистической обработкой полученных результатов. Диссертация апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании научных сотрудников клинических отделений и лабораторий клинической и профилактической неврологии, института мозга, института нейрореабилитации и восстановительных технологий ФГБНУ «Научный центр неврологии» (Протокол № 5 от года). Материалы диссертации представлены на 9-м Конгрессе Европейской академии неврологии, XII Всероссийской научно-практической конференции «Поленовские чтения», Нейрофоруме-2023, Российском конгрессе лабораторной медицины-2023.

Публикации

По материалам диссертации подготовлено 13 публикаций, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в разработке протокола исследования, в постановке цели и задач, обосновании основных положений, формулировании выводов и практических рекомендаций. Отобраны пациенты, проведен 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 заведующей отделом лабораторной диагностики ФГБНУ НЦН, доктора медицинских наук Шабалиной А.А.). Автором проанализированы основные отечественные и зарубежные источники литературы, проведены аналитическая и статистическая обработка, а также обобщены полученные данные.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста, содержит 11 таблиц и иллюстрирована 17 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, общей характеристики обследованных лиц и методов исследования, главы собственных результатов исследования, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и литературного указателя, содержащего 43 отечественных, 435 зарубежных источников и 13 публикаций автора, подготовленных по теме диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Церебральная микроангиопатия (ЦМА) / болезнь мелких сосудов (БМС) (англ. cerebral Small Vessel Disease, SVD), ассоциированная с возрастом и сосудистыми факторами риска, – комплекс клинических, нейровизуализационных и морфологических проявлений, обусловленный поражением перфорирующих артерий, артериол, капилляров и венул размером 50-400 мкм [Pantoni L., 2010]. Данный термин широко используется в зарубежной литературе с начала 2000-х годов, тогда как в нашей стране до недавнего времени патология мелких сосудов рассматривалась вариантом дисциркуляторной энцефалопатии / хронической ишемии головного мозга при артериальной гипертензии [Коган В.М., Максудов Г.А., 1958; Левин О.С., 2006; Калашникова Л.А. и др., 2018]. Внедрение терминов ЦМА / БМС в отечественную неврологическую практику и литературу произошло вскоре после публикации нейровизуализационных критериев диагностики ЦМА / БМС (Standards for Reporting Vascular Changes on Neuroimaging, STRIVE) [Wardlaw J. M. et al., 2013a].

1.1 Эпидемиология и диагностика церебральной микроангиопатии

Распространенность ЦМА для разных возрастных групп неизвестна, так как в большинстве случаев заболевание распознается на стадии поздних клинических проявлений. Многоцентровое исследование Международной ассоциации неврологии и нейронаук (МАНН) лиц трудоспособного возраста установило, что МРТ-признаки ЦМА являются наиболее ранними проявлениями сосудистого поражения головного мозга и причиной тревоги, депрессии и субклинических когнитивных расстройств (КР) [Белова Л.А. и др., 2014; Добрынина Л.А. и др., 2016a; 2016b; Гнедовская Е.В. и др., 2018]. Эпидемиологические исследования показывают, что, по крайней мере, у одной трети бессимптомных пожилых людей (от 8% до 31%) выявляются лакуны [Vermeer S.E. et al., 2007]. Наличие и выраженность гиперинтенсивности белого вещества (ГИБВ) нарастает с возрастом и к 90 годам выявляется почти у 100% лиц [Cannistraro R.J. et al., 2019; De Silva T.M., Faraci F.M., 2020]. Распространенность внутримозговых микрокровоизлияний, аналогично другим признакам ЦМА, увеличивается с возрастом от 6,5% людей в возрасте 45-50 лет, до примерно 36% людей в возрасте 80-89 лет [Poels M.M.F. et al., 2010]. Бессимптомные лакуны, ГИБВ и микрокровоизлияния более чем в

два раза увеличивают риск последующего инсульта и развития деменции, а также ассоциированы с худшим прогнозом после перенесенного инсульта [Gorelick P.B. et al., 2011; Wardlaw J.M. et al., 2013b; Akoudad S. et al., 2015].

В большинстве исследований не получено четких половых различий в распространенности ЦМА [Hilal S. et al., 2017]. Однако, по данным Исследования здоровья сердечно-сосудистой системы (Cardiovascular Health study) и Роттердамского исследования (Rotterdam Scan study) распространенность ГИБВ и бессимптомных лакунарных инфарктов среди женщин на 30-40% выше, чем среди мужчин [Vermeer S.E. et al., 2002; Sachdev et al., 2016].

Клинические проявления ЦМА у старших и пожилых имеют высокую распространенность, что позволяет ее рассматривать в качестве одной из ведущих причин инвалидизации в данных возрастных группах [Feigin V.L. et al., 2019; Liu X. et al., 2019; Pasi M., Cordonnier C., 2020; Lam B.Y.K. et al., 2023]. ЦМА является причиной 25% ишемических инсультов и 85% всех внутримозговых кровоизлияний [Pantoni L., 2010; Wardlaw J. M. et al., 2019], основной причиной развития сосудистых и смешанных с нейродегенерацией КР, объясняя до 45% деменций [Gorelick P.B. et al., 2011; Bos D. et al., 2018; Nachinski V. et al., 2019; Wardlaw J.M. et al., 2019], а также нарушений походки и функции тазовых органов [Poggesi A. et al., 2008; De Laat K.F. et al., 2011].

По данным клинических и эпидемиологических исследований распространенность сосудистых КР составляет в среднем от 0,42 до 2,68 на 1000 человек в год, увеличиваясь с возрастом [Román G.C. et al., 2002; Jellinger K.A., 2013]. Однако истинная оценка распространенности КР в настоящее время затруднена в связи с отсутствием общепризнанных диагностических критериев КР вследствие ЦМА. В последнее десятилетие было предпринято много усилий для достижения консенсуса в определении сосудистых КР и создании стандартизированных критериев диагностики [Sachdev P. et al., 2014; Skrobot O.A. et al., 2017]. В 2014 году Обществом по изучению сосудистых поведенческих и когнитивных расстройств (VASCOG), опираясь на критерии DSM-5, были предложены критерии диагностики сосудистых КР, которые для ЦМА предполагают наличие дизрегуляторных КР и изменений на МРТ, соответствующих стадиям Fazekas 2 и 3 [DSM-5, 2013; Sachdev P. et al., 2014]. В 2017 году на основе консенсусного соглашения они были дополнены классификацией сосудистых КР (The Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study),

приведших к созданию критериев VICCCS [Skrobot O.A. et al., 2017].

Еще более сложным является диагностика смешанных КР при коморбидности ЦМА и болезни Альцгеймера (БА). В настоящее время отсутствуют стандартизованные и общепринятые клинические, нейровизуализационные и патологические критерии их диагностики, что ограничивает изучение механизмов формирования коморбидности данных патологий, прогрессирования поражения мозга и обосновывает разработку подходов в их дифференцировании [Kalaria R.N., Ballard C., 1999; Jellinger K.A., 2002; Scott T.M. et al., 2018]. Имеются значительные расхождения в оценке распространенности смешанных сосудистых и нейродегенеративных форм КР по данным клинических и патологических исследований [Боголепова А.Н., 2015; Zaccai J. et al., 2006], а также патологических исследований в зависимости от используемых критериев диагностики [Kalaria R.N., 2000; Boyle P.A. et al. 2018]. В клинической практике их верификация и риск развития основана на сочетании диагностических признаков обоих заболеваний. МРТ-признаки ЦМА (ГИБВ, микрокровоизлияния и лакуны) и наличие генотипа *APOE ε4* рассматриваются в качестве факторов риска развития и прогрессирования БА и смешанных форм [Cai Z. et al., 2015; Liu Y. et al., 2018]. По данным ряда исследований, МРТ-признаки повреждения белого вещества головного мозга выявляется примерно у 60% пациентов с БА [Меркулова М.С. и др., 2018; Kalaria R.N., 2000; Schneider J.A. et al., 2007; Li Y. et al., 2022] и до 25% пациентов с ЦМА имеют атрофию гиппокампов, характерную для БА [Lee J.H. et al., 2011]. Несколько крупных патологических исследований показали, что смешанные формы являются наиболее распространенным типом КР при старении, составляя до 50% случаев. [Schneider J.A. et al., 2007; Sonnen J.A. et al., 2011; Toledo J.B. et al., 2013; Kapasi A. et al., 2017]. В исследовании, проведенном в рамках проекта Religious Orders Study and Memory and Aging Project, только 9% пациентов имели изолированную БА, тогда как 40% пациентов сочетали БА и ЦМА [Boyle P.A. et al., 2018]. Ряд экспериментальных исследований показал, что ишемическое повреждение, вероятно, способствует накоплению амилоида-бета (Аβ) за счет нарушения регуляции процессинга и клиренса амилоидных белков [Меркулова М.С. и др., 2018; Love S., Miners J.S., 2016; Tayler H. et al., 2021]. В свою очередь, амилоидные пептиды нарушают функцию гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), снижая экспрессию белков плотных контактов, включая окклюдин и клаудин [Tai L.M. et al., 2010; Biron K.E. et al., 2011; Hartz A.M. et

al., 2012]. Исходя из представленных данных, существует сложная взаимосвязь между снижением мозгового кровотока и повреждением ГЭБ с поражением белого вещества (БВ) и накоплением А β в развитии смешанной сосудистой и нейродегенеративной патологии головного мозга, что требует дальнейшего изучения.

Методы нейровизуализации имеют определяющее значение в диагностике ЦМА. В силу ограничения визуализации мелких церебральных сосудов *in vivo* диагностика ЦМА проводится на основе МРТ-признаков поражения вещества головного мозга. В 2013 году J.M. Wardlaw и соавт. (2013) систематизировали имеющиеся данные о нейровизуализационных маркерах ЦМА, рекомендовали диагностические критерии STRIVE [Wardlaw J.M. et al., 2013a], которые включают недавние малые субкортикальные инфаркты, ГИБВ, лакуны, церебральные микрокровоизлияния (ЦМК), расширенные периваскулярные пространства (ПВП) и церебральную атрофию.

Недавние малые субкортикальные инфаркты формируются в результате острой ишемии в бассейне одной перфорирующей артериолы, развившейся в течение предыдущих нескольких дней / недель перед исследованием [Максимова М.Ю., 2002; Максимова М.Ю., Гулевская Т.С., 2019; Wardlaw J.M. et al., 2013a]. Они могут проявляться лакунарными синдромами [Максимова М.Ю., 2002; Максимова М.Ю., Гулевская Т.С., 2019; Fisher С.М., 1982] или быть бессимптомными, что обусловлено их локализацией. Бессимптомные инфаркты локализуются в перивентрикулярном БВ и семиовальных центрах, клинически значимые инфаркты располагаются в проекции сенсорных и двигательных путей [Максимова М.Ю., Гулевская Т.С., 2019; Kaiser D. et al., 2014; Wharton S.B. et al., 2015]. На МРТ по своим характеристикам соответствуют очагам острой / подострой ишемии диаметром менее 20 мм [Wardlaw J.M. et al., 2013a].

Лакуны сосудистого происхождения представляют собой полости, заполненные цереброспинальной жидкостью (ЦСЖ), диаметром 3-15 мм, локализующиеся в глубоком БВ, базальных ядрах, стволе головного мозга и мозжечке [Hilal S. et al., 2017]. Они являются вторичными по отношению к предшествующим небольшим подкорковым инфарктам или кровоизлияниям [Wardlaw J.M. et al., 2013a]. По своим МРТ-характеристикам они соответствуют сигналу ЦСЖ в режимах T2-ВИ и T1-ВИ, а на FLAIR – участку гипоинтенсивного сигнала, окруженного ободком гиперинтенсивности [Wardlaw J.M. et al., 2013a].

ГИБВ определяется как двусторонние относительно симметричные

перивентрикулярные / распространяющиеся на глубокое БВ отдельные или сливающиеся в зависимости от их стадии развития и тяжести участка повышения сигнала на T2-ВИ и FLAIR МР-последовательностях, изоинтенсивные или гипоинтенсивные на T1-ВИ. Наиболее часто распространенность ГИБВ оценивается по шкале Fazekas от 0 до 3 степени (0 - отсутствие ГИБВ; 1 – единичные несливные участки ГИБВ; 2 – сливные участки; 3 – распространенная сливающаяся ГИБВ, охватывающая отдельные области головного мозга) [Fazekas F. et al., 1987]. Морфологически в проекции ГИБВ определяются демиелинизация, аксональная дегенерация, глиоз, соответствующие хронической гипоперфузии / ишемии и повышенной проницаемости ГЭБ [Pantoni L., Garcia J.H., 1997; Pantoni, L., 2010; Debette S., Markus H.S., 2010; De Silva T.M., Miller A.A., 2016; Wardlaw J.M. et al., 2019].

ЦМК располагаются в коре, корково-подкорковой зоне, глубоком БВ полушарий, стволе и мозжечке [Wardlaw J.M. et al., 2013a]. Они выявляются на МРТ в режимах T2*-градиентное эхо или SWI как небольшие (5–10 мм) круглые гипоинтенсивные участки [Cheng A.L. et al., 2013]. Гистопатологически ЦМК соответствуют периваскулярному отложению гемосидерина в макрофагах, реже выявляются псевдокальцификация сосудов, старые гематомы, микроаневризмы [Shoamanesh A. et al., 2011].

Периваскулярные пространства – это субарахноидальные полости, окружающие перфорирующие артериолы и венулы в паренхиме мозга, заполненные ЦСЖ [Wardlaw J.M. et al., 2013a], которые являются важным компонентом лимфатической системы, одним из основных путей выведения бета-амилоидных белков [Piff J.J. et al., 2015]. Расширенные ПВП на аксиальных срезах выявляются как круглые или овальные участки, на коронарных и сагиттальных срезах – как линейные.

Атрофия вещества головного мозга сосудистого происхождения включает центральную атрофию (увеличение размеров желудочков мозга, дегенерация подкоркового серого вещества, разрежение глубокого БВ), корковую атрофию вследствие гибели нейронов, атрофию мозолистого тела и вторичные нейродегенеративные изменения [Appelman A.P.A. et al., 2009; Aribisala B.S. et al., 2013]. Выраженность церебральной атрофии оценивается по расширению наружных и внутренних ликворных пространств по отношению к интракраниальному объёму в режиме T1-ВИ [Wardlaw J.M. et al., 2013a].

Повреждение головного мозга при ЦМА может проявляться формированием

корковых микроинфарктов, которые визуализируются при МРТ высокого разрешения, а также микроструктурными изменениями визуально неизменного белого вещества (НИБВ) при разных методиках диффузионной МРТ (д-МРТ).

Оценка микроструктуры НИБВ головного мозга с помощью модификации диффузионно-тензорной МРТ (ДТ-МРТ, Diffusion-weighted imaging, DTI) позволяет прогнозировать развитие ГИБВ и связанных с ней клинических проявлений ЦМА [Pasi M. et al., 2016]. Установлено, что по мере повреждения БВ фракционная анизотропия (Fractional Anisotropy, FA) снижается, а средний коэффициент диффузии (Mean Diffusivity, MD) увеличивается по сравнению с контрольной группой, что соотносится с когнитивным статусом, включая управляющие функции, рабочую память и скорость обработки информации [Blair G.W. et al., 2017]. Исследование по оценке показателей ДТ-МРТ в стратегически значимых для развития КР зонах, проведенные в Научном центре неврологии (НЦН), установило микроструктурные предикторы КР, позволяющие диагностировать их на основании индивидуальных значений аксиальной диффузии (Axial Diffusivity, AD) в перивентрикулярном НИБВ задних отделов левой лобной доли, в среднем отделе правой поясной извилины и в заднесреднем отделе мозолистого тела [Добрынина Л.А. и др, 2022a; 2022b; Dobrynina L.A. et al., 2020a].

Таким образом, для более точной диагностики ЦМА рутинное нейровизуализационное обследование должно включать несколько основных последовательностей МРТ – T1-ВИ, T2-ВИ, FLAIR, SWI или T2*GRE и DWI. Методики исследования микроструктурных изменений вещества головного мозга в настоящее время используются в основном в научно-исследовательских целях, но в дальнейшем могут использоваться для диагностики на ранних стадиях заболевания и оценки эффективности лечения.

1.2. Факторы риска и механизмы развития церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами

Исследования, проводимые на протяжении многих десятилетий, подтверждают ведущее значение в развитии спорадической ЦМА возраста [Sachdev P. et al., 2014; Boyle P.A. et al., 2019; Li T. et al., 2020], классических сердечно-сосудистых факторов риска [Соловьева Э.Ю., Амелина И.П., 2020; Iadecola C. et al., 2019; Wang Z. et al., 2021] и генетической предрасположенности [Marini S. et al., 2020; Rutten-Jacobs L. C. A. et al.,

2018; 2020]. В недавнем систематическом обзоре и мета-анализе Z. Wang и соавт. (2021) на выборке из более 16-ти тысяч человек подтвердили приоритетность артериальной гипертензии (АГ) в развитии ЦМА, а также значение сахарного диабета, гиперлипидемии и курения [Wang Z. et al., 2021].

АГ – главный модифицируемый фактор риска развития ЦМА [Верещагин Н.В. и др., 2004; Гераскина Л.А. и др., 2006; Суслина З.А. и др., 2006; Гераскина, Л.А., 2008; Калашникова и др., 2018; Pantoni L., 2010; Hilal S. et al., 2017]. Морфологические признаки поражения церебральных микрососудов при АГ включают артериолосклероз, липогиалиноз, фибриноидный некроз [Fisher С.М., 1982], потерю гладкомышечных клеток, дегенерацию внутренней эластичной мембраны, пролиферацию фибробластов [Людковская И.Г. и др., 1982; Гулевская Т.С., Людковская И.Г., 1992; Гулевская Т.С., Моргунов В.А., 2009].

Практически до конца прошлого века единственным механизмом поражения мозга при ЦМА с АГ рассматривалась хроническая ишемия (гипоксия) вследствие нарастания артериолосклероза и липогиалиноза, приводящая к формированию лакун и диффузному поражению БВ головного мозга. Однако, показано, что мозговой кровоток (cerebral blood flow, CBF) может быть увеличен у лиц с КР, а его снижение и гипоперфузия не прогнозируют прогрессирование ГИБВ [Shi Y. et al., 2016; Stewart С.Р. et al., 2021]. Исследования показали, что развитие ГИБВ предшествует снижению CBF, а не наоборот [van der Veen Р.Н. et al., 2015]. По мере изучения роли АГ в развитии ЦМА было выявлено несоответствие между тяжестью АГ и выраженностью ЦМА, а именно развитие заболевания при легкой АГ или ее отсутствии, а также отсутствие поражения мозга при тяжелой АГ [Sachdev Р. et al., 2007; Weber R. et al., 2012; SPRINT M. et al., 2019]. Следует также отметить, что эффективное лечение АГ не привело к ожидаемому снижению бремени ЦМА и связанных с ней КР в популяции [Weber R. et al., 2012; SPS3 Study Group et al., 2013; SPRINT M. et al., 2019], обосновывая поиск иных (неишемических) механизмов развития ЦМА.

Нарушения функционирования нейроваскулярной единицы – эндотелиальная дисфункция и повышенная проницаемость гематоэнцефалического барьера при церебральной микроангиопатии

Данные экспериментальных и патологоанатомических исследований, проводимых в НЦН еще во второй половине 20-го века, указывали на значение эндотелиальной дисфункции (ЭД) и повышенной проницаемости ГЭБ в иницировании и прогрессировании заболевания [Ганнушкина И.В., Лебедева Н.В., 1987; Гулевская Т.С., 1994]. Изучение данных механизмов нашло продолжение в активно обсуждаемой в последние годы концепции нейроваскулярной единицы (НВЕ), подчеркивающей уникальную взаимосвязь клеточных компонентов головного мозга и кровеносных сосудов [Iadecola C., 2010; 2017; Salmina A.V. et al., 2021]. НВЕ состоит из нейронов, астроцитов, микроглии, перицитов, эндотелиальных клеток и их базальной мембраны (Рисунок 1) [Iadecola C., 2017]. Основными функциями НВЕ является поддержание гомеостаза головного мозга через регуляцию локального церебрального кровотока, целостность ГЭБ, обеспечение иммунной и трофической функций [Добрынина Л.А., 2018a; Iadecola C., 2010]. Взаимосвязь между структурами НВЕ (нейроваскулярная связь) поддерживается механизмом функциональной гиперемии – увеличением перфузии в метаболически активных нейрональных пулах при задании [Добрынина Л.А., 2018a; Hillman E.M.C., 2014].

Эндотелиальные клетки (ЭК) являются важнейшим структурно-функциональным компонентом НВЕ [Sandoval K.E., Witt K.A., 2008]. Церебральный эндотелий, представляет собой непрерывный слой клеток с хорошо выраженной базальной мембраной, поддерживающий сосудистый гомеостаз путем выработки широкого спектра факторов в ответ на физические и химические воздействия [Гулевская Т.С., Моргунов В.А., 2009; Горина Я.В. и др., 2022; Гулевская Т.С. и др., 2022]. ЭК регулируют тонус сосудов, фибринолиз и свертывание крови, пролиферацию гладкомышечных клеток, врожденный иммунитет и клиренс амилоидных белков [Poggesi A. et al., 2016].

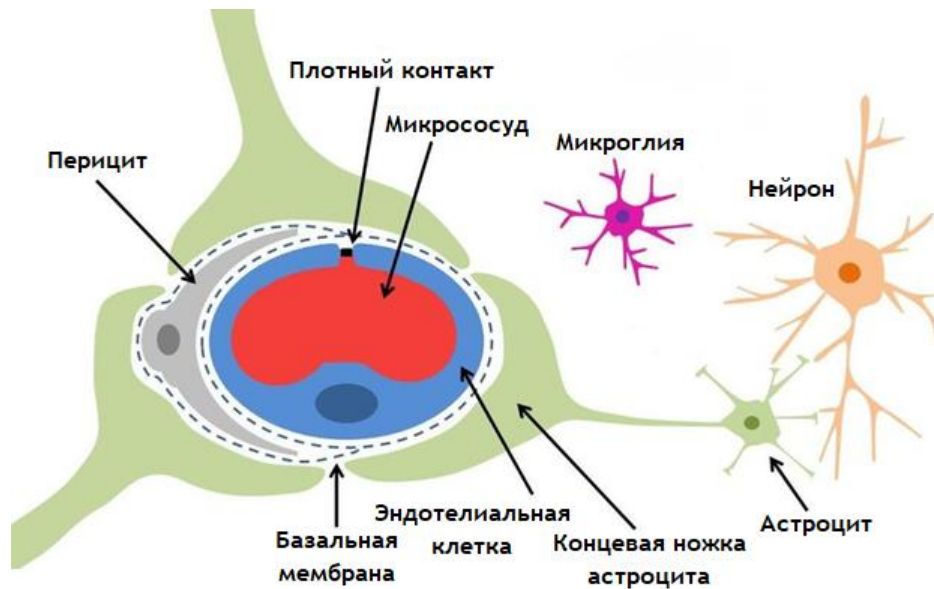


Рисунок 1 – Строение нейроваскулярной единицы

Многочисленными исследованиями показана роль сердечно-сосудистых факторов риска в развитии ЭД [Гераскина Л.А., Фонякин А.В., 2009; Wardlaw J.M. et al., 2013b; Ihara M., Yamamoto Y., 2016; Poggesi A. et al., 2016]. Воздействие на эндотелий сосудистых факторов риска, а также иных стимулов, включая провоспалительные, смещает равновесие в сторону вазоконстрикторного [Гераскина Л.А., Фонякин А.В., 2009; Michiels C., 2003; Poggesi A. et al., 2016], протромботического [Pearson J.D., 1999] и провоспалительного фенотипов эндотелиальной стенки [Гулевская Т.С., 1994; Бакулин И.С. и др., 2018; Poggesi A. et al., 2016]. Обязательным проявлением ЭД является снижение биодоступности оксида азота (NO) [Lüscher T.F., 1990], сопряженное с повышением проницаемости ГЭБ посредством модификации белков плотных контактов, склонности к вазоконстрикции и воспалению. ЭД при ЦМА сопряжена с повышением таких вазоконстрикторных факторов, как эндотелин-1, тромбоксан A₂, активных форм кислорода (АФК) [Michiels C., 2003]; экспрессией на поверхности эндотелия молекул межклеточной (ICAM-1) и сосудистой адгезии (VCAM-1) [Springer T.A., 1990; Markus H.S. et al., 2005; Wiseman S. et al., 2014; Poggesi A. et al., 2016], адгезирующих и активирующих лейкоциты, что в последующем способствует их трансэндотелиальной миграции и соответственно воспалительной реакции. Контроль ангиогенеза осуществляется за счет выработки факторов роста, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A), цитокины, хемокины, матриксные металлопротеиназы (ММП) и

макромолекулы внеклеточного матрикса [Burger D., Touyz R.M., 2012; Pescini F., Abbate R., 2014].

ГЭБ представляет собой специализированный физический и метаболический барьер между кровью и паренхимой головного мозга, обеспечивающий строго регулируемый двунаправленный транспорт растворенных веществ [Sandoval K.E., Witt K.A., 2008; Abbott N.J. et al., 2010; Stamatovic S.M. et al., 2016]. Капилляры являются основным местом расположения ГЭБ, но он также функционирует в церебральных артериях, артериолах и венулах [Cipolla M.J., 2009]. Он образован непрерывным слоем ЭК, соединенных непроницаемыми плотными контактами, их базальной мембраной, перицитами и концевыми ножками астроцитов [Cipolla M.J., 2009; Wardlaw J.M. et al., 2019]. ЭК экспрессируют три типа соединительных белков, которые образуют соединительные комплексы между соседними клетками: слипчивые соединения (кадгерины), плотные контакты и щелевые соединения (коннексины) [Stamatovic S.M. et al., 2016]. Плотные контакты (Tight Junctions, TJ), образованные белками клаудинами и окклюдинами, предотвращают пассивное проникновение клеток и молекул в мозг [Sandoval K.E., Witt K.A., 2008; Stamatovic S.M. et al., 2016]. Перициты также участвуют в образовании плотных эндотелиальных контактов, поддерживают целостность ГЭБ, играют определяющую роль в ангиогенезе, структурной целостности сосудов и фагоцитозе метаболитов [Armulik A. et al., 2010; Winkler E.A. et al., 2011]. Таким образом, жестко регулируемая структура и функция ГЭБ необходимы для поддержания гомеостаза ЦНС, а нарушение ГЭБ сопряжено с поражением головного мозга.

Проницаемость ГЭБ в норме и при патологии оценивалась при помощи различных инвазивных и не инвазивных методов *in vivo*. Эти методы включают фармакологические, позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ), МРТ и исследование прижизненной микроскопии [Zlokovic B.V. et al., 1986; Cornford E.M. et al., 1992; Wang R. et al., 2007; Zlokovic B.V., 2008; Fu B.M. et al., 2021]. На основании чего доказано, что нормально функционирующий ГЭБ обеспечивает чрезвычайно низкую трансэндотелиальную проницаемость – наблюдается минимальная пассивная экстравазация белков плазмы, неорганических растворенных веществ и молекул воды [Zlokovic B.V., 2008; Abbott N.J. et al., 2010]. Подтверждено, что проницаемость ГЭБ повышается с возрастом [Simpson J.E. et al., 2007a; Farrall A.J., Wardlaw J.M., 2009], однако в настоящее время существуют исследования, показавшие ассоциацию

нарушения ГЭБ с поражением БВ головного мозга [Забитова М.Р., 2019; Wardlaw J.M. et al., 2017]. Многочисленные исследования с иммуногистохимическим мечением белков плазмы (например, фибриногена, IgG, альбумина и др.) продемонстрировали наличие экстравазации плазмы при заболеваниях головного мозга, включая рассеянный склероз, эпилепсию, болезнь Альцгеймера, острые и хронические ишемические поражения [Tomimoto H. et al., 1996; Simpson J.E. et al., 2007b; Young V.G. et al., 2008; Liu J.Y.W. et al., 2012; Hultman K. et al., 2013; Sengillo J.D. et al., 2013; Bridges L.R. et al., 2014]. Исследования Т1-динамического контрастирования, в том числе и проведенные в НЦН, подтверждают повышенную проницаемость ГЭБ в сером веществе в областях ГИБВ и НИБВ головного мозга у больных с ЦМА по сравнению с лицами контрольной группы [Забитова М.Р., 2019; Wardlaw J.M. et al., 2017]. Также имеются данные о большей распространенности несостоятельности ГЭБ у пациентов с АГ [Добрынина Л.А. и др., 2016а; Wardlaw J.M. et al., 2017].

Как только ГЭБ скомпрометирован, происходит экстравазация жидкой части крови, белков плазмы, патогенов и иммунных клеток в периваскулярное пространство. Значимость вазогенного отека вследствие повышенной проницаемости ГЭБ в развитии микроструктурных изменений вещества головного мозга подтверждается результатами ДТ-МРТ, указывающими на увеличение диффузии свободной воды и повреждение миелина [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2016а; 2022]. Белки крови, которые обычно не проникают через ГЭБ, при его повреждении выходят в периваскулярную ткань и действуют как молекулярный фактор повреждения, активируя микроглию, что не только инициирует продукцию цитокинов, но и посредством активации НАДФ-оксидазы вызывает нерегулируемое высвобождение АФК и окислительный стресс [Воробьева О.В. 2020; Merlini M. et al., 2019; Evans L.E. et al., 2021]. АФК могут напрямую изменять экспрессию белков плотных контактов дополнительно активируя ММП, что усугубляет повреждение ГЭБ с повышенной его проницаемостью [Candelario-Jalil E. et al., 2022]. Клинические исследования, в свою очередь, показывают связь повреждения ГЭБ со снижением когнитивных функций и других проявлений ЦМА [Wardlaw J.M. et al., 2017].

1.3. Роль воспаления в развитии церебральной микроангиопатии

По мере накопления данных о патофизиологии ЦМА становилось очевидным патогенетическое значение воспаления и ассоциированных с ним механизмов в развитии и прогрессировании заболевания. Подтверждающие данные были получены из клинических исследований с использованием биохимических маркеров воспалительного профиля и методов нейровизуализации у пациентов с ЦМА [Добрынина Л.А. и др., 2018с; Забитова М.Р., 2019; Dobrynina L.A. et al., 2020b; Evans L.E. et al., 2021; Low A. et al., 2021]. Одновременно получаемые доказательства роли воспаления в развитии нейродегенеративных заболеваний [Akiyama H. et al., 2000; Eikelenboom P. et al., 2012; Heneka M.T. et al., 2015] позволили сделать предположение о воспалении как условии коморбидности ЦМА и БА [Liu Y. et al., 2018]. Уточнение механизмов, лежащих в основе ЦМА и смешанных с нейродегенерацией форм, в том числе изучение роли воспаления в их развитии могут улучшить диагностику заболеваний и привести к появлению новых подходов к лечению и профилактике ЦМА и нейродегенеративных заболеваний.

1.3.1. Определение понятий системное воспаление, локальное воспаление и нейровоспаление

В соответствии с общепринятым определением, воспаление – это неспецифическая биологическая реакция на действие патогенного фактора [Литвицкий П.Ф., 2015]. Признание роли эндотелиальной дисфункции и повышенной проницаемости ГЭБ в иницировании и прогрессировании ЦМА, обосновывает изучение роли воспаления, сопряженного с данными процессами. Исследования, посвященные воспалению в качестве патогенетического механизма ЦМА и связанных с нею КР малочисленны [Evans L.E. et al., 2021]. Полученные данные указывают на сложные взаимосвязи системного асептического воспаления, локального воспаления сосудистой стенки и нейровоспаления при ЦМА и целесообразность дифференцирования вклада разных видов воспаления в развитие заболевания.

Для обозначения хронического системного асептического воспаления в зарубежной литературе используются термины «low-grade inflammation» и «inflammaging» [Li T. et al., 2020; Del Cuore A. et al., 2022]. Данными терминами обозначается слабовыраженное персистирующее асептическое системное воспаление

(далее по тексту системное воспаление), связанное со старением и активацией врожденной иммунной системы и характеризующееся повышенным уровнем циркулирующих воспалительных цитокинов [Li T. et al., 2020; Del Cuore A. et al., 2022]. К последним относятся различные компоненты воспалительного каскада – С-реактивный белок, фибриноген, интерлейкин-6, фактор некроза опухолей-альфа (Tumor necrosis factor, TNF- α) и его рецепторы и другие [Low A. et al., 2019].

Локальное воспаление сосудистой стенки (далее по тексту локальное воспаление) характеризуется функциональными и структурными изменениями эндотелия и гладкомышечных клеток сосудов [El Assar M. et al., 2013]. А. Low и соавт. (2019) рассматривают локальное воспаление эквивалентом ЭД, сопряженной с секрецией воспалительных цитокинов [Low A. et al., 2019]. К ведущим маркерам локального воспаления относят ICAM-1, VCAM-1, селектины и гомоцистеин [Gearing A.J.H. et al., 1992; Shoamanesh A. et al., 2015; Walker K.A. et al., 2018; Low A. et al., 2019].

Нейровоспаление может быть определено как процесс, при котором собственная иммунная система мозга, представленная микроглией и астроцитами, активируется в результате воздействия различных факторов (ишемия, выход жидкой части плазмы в мозг, вазогенный отек, нейродегенерация, старение, отложение патологических белков и другие) и запускает секрецию цитокинов, хемокинов и АФК [Estes M.L., McAllister A.K., 2014; DiSabato D.J. et al., 2016]. Острая нейровоспалительная реакция является защитным механизмом, поддерживающим гомеостаз нейронов и способствующим нейрогенезу, тогда как переход к хронической фазе нейровоспаления, оказывает повреждающее действие на структуры нервной системы [Russo M.V., McGavern D.B., 2016; Shabab T. et al., 2017].

Системное воспаление: маркеры и механизмы повреждения сосудов и мозга при церебральной микроангиопатии

Роль системного воспаления в развитии ЦМА стала обсуждаться лишь в последние десятилетия [Markus H.S. et al., 2005; Aribisala B.S. et al., 2013; Rosenberg G.A. et al., 2014; Low A. et al., 2019]. Одним из определяющих изучение иных механизмов развития ЦМА стала недостаточная эффективность лечения ЦМА, направленного на контроль ее основного фактора риска – АГ. Выявление в крови пациентов ЦМА маркеров воспаления, включая С-реактивный белок (СРБ), фибриноген и интерлейкины

[Rosenberg G.A. et al., 2014; Shoamanesh A. et al., 2015; Low A. et al., 2019], позволило предположить роль системного воспаления в развитии ЦМА. Получаемые данные указывали, что каскад запускаемых патологических реакций связан с поражением компонентов НВЕ [Eldahshan W. et al., 2019; Candelario-Jalil E. et al., 2022]. Предполагалось, что на начальном этапе происходит воздействие на ЭК, что приводит к ЭД [Markus H.S. et al., 2005] и повреждению ГЭБ [Abbott N.J. et al., 2010]. Позднее это подтвердилось гистопатологическими исследованиями, выявившими воспалительные клетки в периваскулярных пространствах глубокой и перивентрикулярной ГИБВ [Gouw A.A. et al., 2011]. Подтверждением роли системного воспаления в поддержании ведущих механизмов ЦМА – ЭД и повышенной проницаемости ГЭБ является наличие у пациентов ЦМА повышенного коэффициента соотношения альбумина в ЦСЖ и крови [Satizabal C.L. et al., 2012; Gu Y. et al., 2017]. В настоящее время установлено, что хроническое воспаление длительно протекает бессимптомно и приводит к микроструктурным изменениям в мозге задолго до клинических проявлений [Добрынина Л.А. и др., 2016b; Walker K.A. et al., 2017; Li H. et al., 2021; Solé-Guardia G. et al., 2023]. Однако вероятно, что в данный период времени у пациентов с ЦМА и микроструктурными изменениями нарастают процессы нейровоспаления. На это указывает то, что наличие системного воспаления у экспериментальных животных тесно связано с активацией нейроглии и поддержанием нейровоспаления [Silverman H.A. et al., 2014; Murta V. et al., 2015; Но У.Н. et al., 2015], а также тот факт, что хроническое воспаление в среднем возрасте значительно повышает риск развития цереброваскулярной патологии у пожилых людей [Walker K.A. et al., 2018].

Подтверждением вклада системного воспаления в развитие ЦМА являются результаты недавнего исследования по изучению поражения БВ головного мозга, ассоциированного с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). В исследовании показана связь уровня СРБ как маркера системного воспаления с микроструктурными изменениями БВ (измеряемыми по apparent diffusion coefficient, ADC) в передней части лучистого венца, колоне мозолистого тела и наружной капсуле. Отрицательный результат ПЦР на SARS-CoV-2 в ЦСЖ, позволил авторам сделать предположение, что патология БВ связана не с вирусной инфекцией, а именно с воспалительной реакцией [Rhally A. et al., 2021].

Маркеры системного воспаления в крови

Наибольшее число исследований циркулирующих в крови маркеров системного воспаления при ЦМА посвящено С-реактивному белку, фибриногену, цитокинам.

СРБ – чувствительный неспецифический маркер острой фазы воспаления [Perus M.V. et al., 2003; Low A. et al., 2019]. Убедительно показана независимая от наличия сердечно-сосудистых факторов риска связь повышенного уровня СРБ с тяжестью и прогрессированием ГИБВ [Walker K.A. et al., 2018; Gu Y. et al., 2019], а также с наличием микроструктурных изменений БВ лобных и височных долей [Wersching H. et al., 2010; Arfanakis K. et al., 2013] и дегенерацией передних отделов мозолистого тела [Cyprien F. et al., 2019]. Имеются данные о связи высокого уровня СРБ с развитием иных МРТ-признаков ЦМА – лакун [Mitaki S. et al., 2016] и ЦМК [Miwa K. et al., 2011], а также со снижением памяти, зрительно-пространственными нарушениями [Noble J.M. et al., 2010], управляющими функциями мозга [Wersching H. et al., 2010]. Следует, однако, отметить, что рядом исследований закономерности в отношении связи высокого уровня СРБ с развитием ЦМА не подтверждены [Avci A.Y. et al., 2015; Walker K.A. et al., 2017; Silbert L.C. et al., 2018].

Фибриноген является другим активно изучаемым маркером системного воспаления. Гиперфибриногенемия ассоциирована с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, инсульт, смертность после инсульта [Шабалина А.А., 2008; Del Zoppo G.J. et al., 2009; You S. et al., 2017], развитие БА и деменции [Davalos D., Akassoglou K., 2012].

Молекула фибриногена имеет множество сайтов для разных рецепторов и белков, регулирующих ключевые функции нервной системы [Mosesson M.W., 2005]. Способность фибриногена связываться с различными интегриновыми рецепторами обеспечивает плейотропность его действия. Он опосредует клеточную пролиферацию, продукцию цитокинов, выживание клеток или их апоптоз, а активация различных интегринов гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов вызывает вазодилатацию либо вазоконстрикцию соответственно [Petersen M. et al., 2018]. Кроме того, гиперфибриногенемия приводит к повышенной проницаемости ГЭБ путем взаимодействия фибриногена с молекулами адгезии и активации ММП [Muradashvili N. et al., 2012; Sulimai N., Lominadze D., 2020]. Фибриноген, являясь крупной макромолекулой крови, в норме не проникает через ГЭБ. Его иммуногистохимическое

выявление в мозге или ЦСЖ свидетельствует о повреждении ГЭБ и об иницировании нейровоспаления [Lominadze D. et al., 2010; Davalos D., Akassoglou K., 2012; Muradashvili N. et al., 2012]. Проникнув через ГЭБ фибриноген посредством тромбина активируется до нерастворимого фибрина, который в свою очередь активирует микроглию за счет взаимодействия с CD11b/CD18, CD11c/CD18 и неинтегриновым толл-подобным рецептором-4 (TLR-4), что опосредует высвобождение хемокинов, цитокинов и стимулирует роллинг лейкоцитов [Davalos D., Akassoglou K., 2012; Clark V.D. et al., 2018; Wardlaw J.M. et al., 2019; Sulimai N., Lominadze D., 2020]. Роль фибриногена и фибрина в активации микроглии при воспалительных и нейродегенеративных заболеваниях показана при патоморфологических и экспериментальных исследованиях [Davalos D., Akassoglou K., 2012; Yates R.L. et al., 2017].

Интерлейкин 6 (ИЛ-6) представляет собой плеiotропный цитокин, который регулирует иммунный и воспалительный ответы. ИЛ-6 продуцируется в основном макрофагами, Т- и В-лимфоцитами. Показана ассоциация повышенного уровня ИЛ-6 с большим объемом ГИБВ [Wright C.V. et al., 2009], асимптомными инфарктами [Fornage M. et al., 2008], кортикальной атрофией и уменьшением объема гиппокампов [Satzabal C., et al., 2012; Aribisala V. et al., 2013].

TNF- α и его рецепторы. TNF- α играет ключевую роль в регуляции врожденного иммунного ответа, является основным системным провоспалительным цитокином, регулирует продукцию провоспалительных интерлейкинов, интерферона γ , ядерного транскрипционного фактора NF- κ B [Bradley J.R., 2008; Falvo J.V. et al., 2010]. TNF- α кодируется геном TNF и опосредует свои регуляторные функции через рецепторы клеточной мембраны – TNFR1 и TNFR2 [Sethi J.K., Notamisliligil G.S., 2021]. Провоспалительные и апоптотические эффекты реализуются через активацию TNFR1, а активация, пролиферация и миграция клеток через TNFR2 [Falvo J.V. et al., 2010; Sethi J.K., Notamisliligil G.S., 2021]. Провоспалительные эффекты TNF- α и его способность индуцировать апоптотический путь митохондрий эндотелия мелких сосудов увеличивают проницаемость сосудов и отек тканей [Sawant D.A. et al., 2014]. Его повышение ассоциировано с гибелью олигодендроцитов и деструкцией основного белка миелина [Walker E.J., Rosenberg G.A., 2009; Yang Y. et al., 2011]. В исследовании *in vitro* показано, что применение TNF- α приводит к повышению проницаемости ГЭБ, за счет

экспрессии эндотелина-1 и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) [Didier N. et al., 2003]. Чрезмерная стимуляция микроглии при повышенной проницаемости ГЭБ приводит к еще большему выделению TNF- α , запуская «порочный круг».

В относительно небольшом количестве исследований оценивалась связь TNF- α в крови с МРТ-признаками ЦМА и КР. Установлена прямая связь повышенного уровня TNF- α с объемом ГИБВ [Smagula S.F. et al., 2020], с ЦМК в глубоком БВ [Shoamanesh A. et al., 2015].

Участие TNF- α в развитии ЦМА активно изучается в клинико-лабораторных исследованиях НЦН. У пациентов с начальными МРТ-признаками ЦМА без сопутствующих сосудистых факторов риска установлена зависимость объема ГИБВ от уровня TNF- α [Добрынина Л.А. и др., 2018с]. Полученные данные нашли свое продолжение у пациентов с развернутой ЦМА с ГИБВ стадии Fazekas 3. Проведенный кластерный иерархический анализ МРТ-признаков установил возможность выделения двух групп, не различающихся по наличию сосудистых факторов риска, одна из которых (МРТ-тип два) была связана с повышением TNF- α , что позволило авторам предположить значение TNF- α -опосредованного воспаления, повреждения сосудистого эндотелия и проницаемости ГЭБ в качестве одного из механизмов развития ЦМА вне зависимости от наличия сосудистых факторов риска [Забитова, М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et al., 2020b].

Локальное сосудистое воспаление: маркеры и механизмы повреждения сосудистой стенки и мозга при церебральной микроангиопатии

В дополнение к системным воспалительным и иммунным маркерам в недавнем систематическом обзоре литературы показана прочная связь между ЦМА и сосудистыми маркерами воспаления (молекулы адгезии, Р-селектин и гомоцистеин), что свидетельствует об участии локального сосудистого воспаления в развитии и прогрессировании заболевания [Low A. et al., 2019].

Локальное сосудистое воспаление является важным звеном в развитии сосудистых заболеваний, включая ЦМА и АГ [Kamat P.K. et al., 2013; Han S. et al., 2015]. При сосудистом воспалении эндотелиальные клетки синтезируют воспалительные цитокины, вазоактивные вещества и протеазы, что приводит к инфильтрации лейкоцитов, деградации внеклеточного матрикса, пролиферации и миграции

гладкомышечных клеток [Gulati A., 2016] Воспалительные цитокины в свою очередь индуцируют экспрессию молекул клеточной адгезии и еще большее высвобождение вазоактивных веществ эндотелием [Donato A.J. et al., 2015].

Наиболее широко исследованным маркером сосудистого воспаления является гомоцистеин. Гомоцистеин представляет собой серосодержащую аминокислоту, образующуюся при метаболизме метионина, накопление которой может быть вызвано генетическими дефектами или дефицитом витамина В12 и фолиевой кислоты. Механизмы, посредством которых гипергомоцистеинемия вызывает патологию мелких сосудов, включают окислительный стресс, дисфункцию эндотелия, хроническое локальное воспаление, нарушение целостности ГЭБ, протромботическое состояние и пролиферацию гладкомышечных клеток [Gu Y. et al., 2017; Balint B. et al., 2020; Quick S. et al., 2021].

Молекулярные взаимодействия между эндотелием и циркулирующими лейкоцитами в основном опосредованы тремя группами молекул клеточной адгезии: селектинами, суперсемейством иммуноглобулинов (ICAM-1 и VCAM-1) и интегринами [Gearing A.J.H. et al., 1992; Shoamanesh A. et al., 2015; Walker K.A. et al., 2018; Low A. et al., 2019]. Как уже сообщалось в предыдущем разделе, эти молекулы экспрессируются эндотелиальными клетками в повышенных количествах при эндотелиальной дисфункции.

Селектины представляют собой связанные с мембраной гликопротеины, состоящие из трех членов: эндотелиальные (E-), тромбоцитарные (P-) и лейкоцитарные (L-) селектины [Ley K., 2003]. S. Wiseman и соавт. (2014) провели систематический обзор и мета-анализ, показав связь повышенных уровней E-селектина и P-селектина с развитием лакунарных инфарктов [Wiseman S. et al., 2014].

Адгезивные рецепторы суперсемейств иммуноглобулинов (ICAM-1 и VCAM-1) подтвердили свою роль в патогенезе ЦМА. Экспрессия молекул эндотелиальной клеточной адгезии приводит к плотной адгезии, трансэндотелиальной миграции и рекрутированию циркулирующих лейкоцитов в очаги воспаления [Muller W.A., 2002]. На животных моделях подтверждена ключевая роль ICAM-1 в регуляции инфильтрации лейкоцитов через ГЭБ при инсульте [Yang C. et al., 2019]. Показана ассоциация VCAM-1 с ГИБВ и числом асимптомных лакун [Забитова М.Р., 2019; Rouhl R.P.W. et al., 2012; Huang C.W. et al., 2015; Shoamanesh A. et al., 2015; Arba F. et al., 2019].

Нейровоспаление: гистологические, иммуногистохимические и генетические свидетельства при церебральной микроангиопатии

Нейровоспаление, как указывалось ранее, это процесс, при котором иммунная система мозга, представленная микроглией и астроцитами, активируется под воздействием различных факторов и запускает секрецию цитокинов, хемокинов, АФК, приводящих к изменениям нервной ткани [Estes M.L., McAllister A.K., 2014; DiSabato D.J. et al., 2016].

Микроглия – это резидентные макрофаги головного мозга, которые регулируют множество процессов, таких как миграция предшественников нервных клеток, выживание нейронов коры, дифференцировка олигодендроцитов и миелинизация [Schafer D.P. et al., 2012; Torres L. et al., 2016; Hagemeyer N. et al., 2017]. Активация микроглии является первым этапом нейровоспалительной реакции [Jha M.K. et al., 2016]. В нормальных условиях она развивается в ответ на повреждающий стимул и разрешается по мере его устранения, тогда как при патологии микроглия остается хронически активированной [Lan X. et al., 2017]. Активированная микроглия приобретает фенотипические модификации – изменяет свою форму, пролиферирует, мигрирует в поврежденную область, где может высвобождать провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 β , TNF- α и ИЛ-6, а также другие потенциальные цитотоксические молекулы, включая NO, АФК и простагландины [Jha M.K. et al., 2016; Lan X. et al., 2017; Shi Y. et al., 2017].

Астроциты – другой вид глиальных клеток, имеющий определяющее значение для функционирования мозга и поддержания нейровоспалительных реакций. Это наиболее многочисленный вид глиальных клеток. Астроциты являются важным компонентом НВЕ и ГЭБ, обеспечивают структурную и метаболическую поддержку, регуляцию мозгового кровотока и синаптической передачи, поддержание гомеостаза жидкости и нейротрансмиттеров [Pekny M. et al., 2016; Newcombe E.A. et al., 2018]. Активации астроцитов при нейровоспалительных реакциях приводит к изменению их морфологии [Pekny M. et al., 2016], секреции цитокинов и АФК [Norden D.M. et al., 2014]. Вслед за активацией микроглии и астроцитов возникает инфильтрация ЦНС периферическими лейкоцитами, что дополнительно стимулирует выработку цитокинов с привлечением еще большего пула лейкоцитов, запуская «порочный круг» и усугубляя нейровоспаление [Becher V. et al., 2017].

Первые прямые доказательства глиальной активации периферическими макрофагами и системными провоспалительными цитокинами вследствие повышенной проницаемости ГЭБ и значение нейровоспаления в развитии ЦМА были получены при гистологических и иммуногистохимических исследованиях мозга экспериментальных животных [Jalal F.Y. et al., 2012; Kaiser D. et al., 2014] и аутопсийных образцов мозга пациентов [Tomimoto H. et al., 1996; Akiguchi I. et al., 1997; Simpson J. E. et al., 2007a; Gouw A.A. et al., 2011; Wharton S. B. et al., 2015; Forsberg K.M.E. et al., 2018].

Последующие исследования, в том числе с использованием посмертной 7Т МРТ головного мозга подтвердили участие нейровоспаления в развитии ЦМА, выявив участки активации микроглии и астроцитов как в областях ГИБВ, так и НИБВ, но степень активации глии была выше у пациентов с большим объемом ГИБВ [Solé-Guardia G. et al., 2023]. Показана зависимость изменений морфологии микроглии и астроцитов, соответствующих их активации, от наличия АГ [Solé-Guardia G. et al., 2023].

Клинические исследования нейровоспаления у пациентов с ЦМА малочисленны. Новый инновационный подход оценки нейровоспаления *in vivo* открывает использование ПЭТ с радиолигандом [¹¹С]ПК11195, связывание которого повышается в зонах с активированной микроглией. Единичные исследования ПЭТ с радиолигандом показали наличие участков активации микроглии, а, следовательно нейровоспаления в областях ГИБВ и НИБВ у пациентов со спорадической ЦМА [Low A. et al., 2021; Walsh J. et al., 2021].

Существуют и генетические доказательства роли воспалительных реакций в патогенезе ЦМА. Установлена связь полиморфизмов в генах цитокинов с МРТ-признаками заболевания. Полиморфизмы в гене *IL1B* значимо чаще выявляются при лакунарном инсульте по сравнению с другими подтипами инсультов [Dziedzic T. et al., 2005], а полиморфизм rs16944 – при распространенной прогрессирующей ГИБВ [Raz N. et al., 2012]. Некоторые полиморфизмы в гене *IL6* (rs1800795, rs1800796) ассоциированы с развитием лакунарных инфарктов и большим объемом ГИБВ [Fornage M. et al., 2008]. Также выявлены аллельные варианты генов *ММП* сопряженные с риском развития лакунарных инфарктов и ГИБВ [Zhang M. et al., 2015]. Показана ассоциация полиморфизма (rs1801133) в гене *MTHFR*, кодирующем метилентетрагидрофолатредуктазу и участвующем в метаболизме гомоцистеина, с прогрессированием ГИБВ [Paternoster L. et al., 2009] и развитием сосудистых КР

[Skrobot O.A. et al., 2017]. С большим объемом ГИБВ показана ассоциация специфического генотипа (аллель Val66Met) нейротрофического фактора мозга (*BDNF*) [Kim J.M. et al., 2008]. Имеются данные о повышении экспрессии мРНК *VEGFA*, кодирующего фактор роста сосудистого эндотелия-А, на животной модели при хронической цереброваскулярной патологии. Авторами сделано предположение о компенсаторном повышении экспрессии в ответ на церебральное повреждение путем ремоделирования мелких церебральных сосудов [Shimotake J. et al., 2010; Dzierko M. et al., 2013; Park J.M. et al., 2018].

Развитие современных высокопроизводительных методов генетической диагностики привело к прогрессу в идентификации генетических вариантов, связанных с ЦМА, ее клиническими проявлениями и нейровизуализационными маркерами. Полногеномные исследования ассоциаций (Genome-wide association study, GWAS) позволяют идентифицировать связи между однонуклеотидными полиморфизмами (Single nucleotide polymorphisms, SNP) и исследуемым признаком [Visscher P.M. et al., 2017]. Преимуществом данного метода является то, что он не требует точных знаний о молекулярных механизмах или биохимической природе изучаемых признаков или заболеваний, что позволяет идентифицировать неизвестные ранее механизмы и задействованные в них гены, влияющие на исследуемую патологию [Shashkova T.I. et al., 2020].

На сегодняшний день GWAS позволили установить в общей сложности 44 независимых локуса генетического риска для развития ЦМА на уровне полногеномной значимости [Fornage M. et al., 2011; Verhaaren B.F.J. et al., 2015; Haffner C. et al., 2016; Traylor M. et al., 2016; Jacobs L.C.A. et al., 2018; Armstrong N.J. et al., 2020; Knol M.J. et al., 2020; Persyn E. et al., 2020; Sargurupremraj M. et al., 2020]. Используя большие базы данных пациентов, в том числе Британского биобанка (UK Biobank) [Miller K.L. et al., 2016; Alfaro-Almagro F. et al., 2018] и консорциума CHARGE (Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology) [Psaty B.M. et al., 2009; Verhaaren B.F.J. et al., 2015], GWAS выявили генетические локусы риска развития ГИБВ, ЦМК и малых инфарктов [Woo D. et al., 2014; Traylor M. et al., 2017; 2021; Malik R. et al., 2018; Marini S. et al., 2018; Chung J. et al., 2019; von Berg J. et al., 2020]. Локусы chr10q24, chr2p21, chr1q22, chr2p16 и chr17q25 являются наиболее значимыми для ЦМА, и их ассоциация

была воспроизведена при повторных GWAS [Tabara Y. et al., 2013; Adib-Samii P. et al., 2014; Verhaaren B.F.J. et al., 2015].

В результате ассоциативного анализа данных локусов показана связь генов *TRIM65*, *TRIM47*, *WBP2*, *MRPL38*, *FBF1* и *ACOX1* (локус chr17q25); *NOS3* (chr7q36); *PLEKHG1* (chr6q25), *AGT*, *ICAM1* и некоторых других с объемом ГИБВ; *FBN2* (chr5q23) и *ULK4* (chr3p22) – с развитием малых субкортикальных инфарктов; *APOE* (19q13) как с объемом ГИБВ, так и развитием микрокровоизлияний, а *SLC25A44*, *PMF1* (chr1q22) и *COL4A2* (13q34) с ГИБВ, малыми инфарктами и микрокровоизлияниями [Fornage M. et al., 2011; Woo D. et al., 2014; Rannikmäe K. et al., 2017; Persyn E. et al., 2020; Sargurupremraj M. et al., 2020; Traylor M. et al., 2021; Bordes C. et al., 2022]. Данные гены кодируют белки, участвующие в апоптозе, врожденном иммунитете, регуляции клеточного цикла, везикулярном транспорте и нейропротекции [Fornage M. et al., 2011] и могут рассматриваться подтверждением значения нейровоспалительных реакций в патогенезе заболевания.

В последующем для уточнения функциональной характеристики генов, связанных с нейровизуализационными маркерами ЦМА, было предложено исследование ассоциаций в масштабах всего транскриптома (Transcriptomic wide association studies, TWAS) [Gusev A. et al., 2016]. Начиная с 2020 года проведены единичные TWAS при ЦМА. Выявлена ассоциация лакунарных инфарктов и ГИБВ с изменением экспрессии генов, участвующих в следующих молекулярных путях: ангиогенезе и миграции клеток, иммунном и воспалительном ответах, миелинизации и ремиелинизации [Traylor M. et al., 2021; Mitroi D.N. et al., 2022].

1.4. Нейровоспаление – потенциальный механизм формирования коморбидности сосудистой и нейродегенеративной патологии

Накапливаются убедительные доказательства коморбидности ЦМА и нейродегенеративных заболеваний, а также роли ЦМА в развитии и прогрессировании БА и связанных с ней КР [Cai Z. et al., 2015; Love S., Miners J.S., 2016; Kim H.W. et al., 2020; Low A. et al., 2021]. Как и при ЦМА, роль нейровоспаления в развитии БА показана на животных моделях [Löffler T. et al., 2014; Nazem A. et al., 2015], при патоморфологических исследованиях [Cribbs D.H. et al., 2012; Gomez-Nicola D., Boche D., 2015; Wilcock D.M. et al., 2015; Sudduth T.L. et al., 2013; Brenowitz W.D. et al., 2017], с

помощью ПЭТ визуализации активированной микроглии [Zimmer E.R. et al., 2014; Knezevic D., Mizrahi R., 2018; Lagarde J. et al., 2018; Chandra A. et al., 2019], а также при транскриптомном анализе [Chew G., Petretto E., 2019; Hashemiaghdam A., Mroczek M., 2020; Schwabe T. et al., 2020]. Хронические нейровоспалительные реакции с активацией микроглии и астроцитов, устойчивым присутствием в ЦНС воспалительных цитокинов, свободных радикалов и окислительного стресса все чаще рассматриваются потенциальными механизмами формирования коморбидности сосудистой и нейродегенеративной патологии [Calsolaro V., Edison P., 2016; Liu Y. et al., 2019; Zou C. et al., 2022; Poudel P., Park S., 2022].

Генетические исследования, предполагающие коморбидность сосудистой и дегенеративной патологии

Генетические методы диагностики подтверждают вклад воспалительных реакций в патогенез как ЦМА, так и БА. Начиная с 2011г. проведено несколько GWAS при спорадической БА, которые выявили более 50 генов, ассоциированных с риском ее развития. Воспроизводимые результаты в независимой популяции, достигающие общегеномной статистической значимости, показаны для генов, участвующих в иммунном ответе (*CD33*, *CR1*, *EPHA1*, *CD2AP*, *ABCA7* и *MSA4A*), клиренсе Аβ (*PICALM*, *BINI*, *CD33* и *ABCA7*), метаболизме липидов (*APOE*, *CLU*, *ABCA7*) и везикулярном транспорте (*PICALM*, *BINI*) [Seshadri S. et al., 2010; Hu X. et al., 2011; Naj A.C. et al., 2011; Lambert J.C. et al., 2013; Almeida J.F.F. et al., 2018; McQuade A., Blurton-Jones M., 2019; Bellenguez C. et al., 2020].

Проведены единичные исследования по изучению установленных генетических факторов риска БА, ассоциированных с процессами воспаления, при цереброваскулярной патологии. S. Blumenau и соавт. (2020), исследовав аллели АРОЕ ε2, ε3 и ε4, гены метаболизма Аβ и локусы GWAS, наиболее значимые в отношении риска развития БА, у пациентов со спорадической ЦМА (96 пациентов, ср. возраст 51,5 лет) и в контрольной группе, установили роль *CD33* в подострой ишемии головного мозга и развитии ЦМА [Blumenau S. et al., 2020]. Белок *CD33* (ген *CD33*) представляет собой трансмембранный рецептор, связывающий сиаловую кислоту на поверхности клеток микроглии и участвующий в противовоспалительном иммунном ответе [Chan G. et al., 2015]. *CD33* экспрессируется в клетках с фагоцитарной активностью, таких как

макрофаги, моноциты, дендритные клетки и микроглия. Участие *CD33* в развитии БА установлена при GWAS [Griciuc A. et al., 2013; 2020]. При БА rs3865444 и rs12459419 являются двумя основными протекторными SNP в гене *CD33* [Jiang Y.T. et al., 2018]. Данные полиморфизмы кодируют нефункциональный из-за альтернативного сплайсинга и потери домена, связывающего сиаловую кислоту, белок *CD33*, обеспечивающий клиренс А β и снижение секреции воспалительных цитокинов (TNF- α и интерлейкины) [Griciuc A. et al. 2013; Lambert J.C. et al. 2013; Malik M. et al., 2013; Dos Santos L.R. et al., 2017]. При БА показана дифференциальная экспрессия мРНК *CD33* в периферической крови, но эти данные противоречивы [Hu N. et al., 2014; Heidari F. et al., 2022]. С одной стороны, установлено, что повышенная экспрессия *CD33* подавляет воспаление, нарушая синтез воспалительных цитокинов и снижая уровни TNF- α , ИЛ-8 и ИЛ-1 β [Lajaunias F. et al., 2005], с другой стороны – повышение экспрессии *CD33* ассоциировано с активацией микроглии, поддержанием нейровоспаления и снижением фагоцитоза А β [Bertram L., Tanzi R.E., 2008; Chan G. et al., 2015]. Сверхэкспрессия *CD33* при сосудистой патологии ассоциирована с инфильтрацией микроглии в области инфаркта и периинфарктной области после подострой гипоперфузии [Blumenau S. et al., 2020]. На основании чего авторы предположили роль активации *CD33* в разрешении воспаления вследствие ишемического поражения.

G. Chauhan и соавт. (2015) проанализировали ассоциации 24 локусов GWAS (в том числе *BINI*, *APOE*, *PICALM*, *CLU*, *CRI*, *ABCA7*, *MS4A6A*, *EPHA1*, *CD33*, *SORL1*, *SLC24A4*), значимых для риска БА, с МРТ-маркерами ЦМА (ГИБВ и лакуны) и объемными показателями головного мозга (общий интракраниальный объем, общий объем мозга и объем гиппокампа) на выборке более 8-ми тысяч пожилых участников без деменции сообщества CHARGE [Chauhan G. et al., 2015]. Авторы показали связь вариантов генетического риска БА с МРТ-маркерами структурного старения мозга на данной выборке – ассоциация SNP в генах *CRI* и *CD33* с общим объемом мозга, *BINI* и *MS4A6A* с объемом гиппокампа, *ABCA7* с ГИБВ, однако после проведения поправки на множественное сравнение, данные зависимости теряют свою значимость [Chauhan G. et al., 2015].

Белок АТФ-связывающий транспортер А7 (ген *ABCA7*) участвует в липидном обмене, осуществляя высвобождение липидов из клеточных мембран и их транспорт, необходимые для клиренса А β , и, следовательно, нарушение его функции приводит к

накоплению амилоидных пептидов в головном мозге [Kim B. et al., 2009; Satoh J. et al., 2014]. Наиболее высокая экспрессия *ABCA7* в головном мозге обнаружена в микроглии. Повышенные уровни *ABCA7* способствуют микроглиальному фагоцитозу и клиренсу Аβ, предположительно, через путь комплемента C1q [Satoh J. et al., 2014; Sakae N. et al., 2016; Pimenova A.A. et al., 2021]. Выявлена ассоциация как генетических, так и эпигенетических изменений *ABCA7* с отложением амилоида, атрофией головного мозга и снижением когнитивных функций при БА [Hollingworth P. et al., 2011; Sakae N. et al., 2016; De Roesck A. et al., 2017; 2019].

Гены *BINI*, *PICALM* и *CD2AP* являются компонентами эндолизосомальной системы и участвуют в механизмах клатрино-опосредованного транспорта [Andrews S.J. et al., 2020].

Связующий интегратор 1 (ген *BINI*) принадлежит к семейству амфифизинов (амфифинин II), функционирует как адаптерный белок и является установленным регулятором эндоцитоза [Andrews S.J. et al., 2020]. В настоящее время ген *BINI* рассматривается одним из основных, после *APOE*, генетических факторов риска развития БА [Seshadri S. et al., 2010; Chapuis J. et al., 2013; Lambert J.C. et al., 2013]. Установлено несколько тканеспецифических изоформ *BINI* – мышечно-специфическая, нейрональная и повсеместно экспрессируемая [Prokic I. et al. 2014], которые обеспечивают ремоделирование мембран, нейротрансмиссию, регуляцию клеточного цикла и клатрин-опосредованный эндоцитоз [Prokic I. et al. 2014; De Rossi P. et al., 2016; 2020]. Показана связь *BINI* с тау и амилоидной патологией [Miyagawa T. et al., 2016; Wang Y. et al., 2017; Ubelmann F. et al., 2017; Almeida J.F.F. et al., 2018]. На животных моделях показано, что ингибирование *BINI* в нейронах коры головного мозга и гиппокампа приводит к повреждению эндосомальной мембраны [Calafate S. et al., 2016], а также блокирует транспортировку в лизосомы бета-секретазы-1 (фермента, расщепляющего белок-предшественник бета-амилоида) [Miyagawa T. et al., 2016]. Кроме того, *BINI* принимает участие в воспалении [Tan M.S. et al., 2013], апоптозе [Esmailzadeh W. et al., 2015] и миелинизации [De Rossi P. et al., 2016]. Экспериментально подтверждено, что *BINI* является ключевым регулятором экспрессии генов микроглии как при гомеостатических, так и при воспалительных состояниях, регулируя продукцию цитокинов и экспрессию генов, связанных с нейродегенерацией [Sudwarts A. et al., 2022]. Однако, конкретные механизмы, с помощью которых *BINI* вовлечен в патогенез

БА и поражения мозга обсуждается, согласно одним исследованиям, общая и нейрональная экспрессия *BINI* снижена при БА [De Rossi P. et al., 2016; McKenzie A.T. et al., 2017; Marques-Coelho D. et al., 2021], согласно другим – повышена [Charpuis J. et al., 2013; Martiskainen H. et al., 2015].

Фосфатидилинозитол-связывающий белок сборки клатрина (ген *PICALM*) является мономерным адапторным белком, который рекрутирует клатрин к клеточной мембране [Miller S.E. et al., 2015] и опосредует транспорт между комплексом Гольджи и эндосомами [Tebar F. et al., 1999]. *PICALM* экспрессируется практически во всех тканях организма [The Human Protein Atlas. (accessed on 1 June 2022)]. В головном мозге человека *PICALM* экспрессируется в микроглии, олигодендроцитах, эндотелиальных клетках, нейронах и клетках сосудистого сплетения. Исследования *PICALM* в нейрональных клетках показывают, что он регулирует расщепление С-концевого фрагмента белка-предшественника амилоида через аутофагосомы [Tian Y. et al., 2013] и клатрин-опосредованный эндоцитоз гамма-секретазы [Kanatsu K. et al., 2014]. Предполагается, что *PICALM* участвует не только в образовании и клиренсе А β , но и в тау-опосредованной нейродегенерации [Ando K. et al., 2022].

CD2-ассоциированный белок (ген *CD2AP*) – адапторный белок, регулирующий сигнальную передачу и поддерживающий связь между образованием синаптических пузырьков и актиновым цитоскелетом [Kelly B.T. et al., 2014; Kadlecova Z. et al., 2017]. *CD2AP* экспрессируется повсеместно с более высокими уровнями в иммунных, эпителиальных клетках, а также нейронах [Li C. et al., 2000]. Установлено несколько SNP в гене *CD2AP*, связанных с повышенным риском развития БА, а уровни экспрессии мРНК *CD2AP* снижаются в лимфоцитах периферической крови у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой [Tao Q.Q. et al., 2017]. Кроме того, ингибирование *CD2AP* связано с образованием А β , тау-индуцированной нейротоксичностью и нарушением целостности ГЭБ [Shulman J.M. et al., 2014; Cochran J.N. et al., 2015; Tao Q.Q. et al., 2019].

Транскриптомный анализ показал, что описанные выше гены риска БА дифференциально экспрессируются не только в микроглии, но и в эндотелии и перицитах [Darmanis S. et al., 2015; Wang P. et al., 2018], что позволяет рассматривать основные механизмы ЦМА – эндотелиальную дисфункцию и повышенную

проницаемость ГЭБ в патогенезе БА [Kelleher R.J., Soiza R.L., 2013; Yang A.C. et al., 2022].

Иммунотерапия – перспективный метод подавления хронического нейровоспаления при церебральной микроангиопатии

Признание актуальности хронического нейровоспаления в прогрессировании ЦМА и ее коморбидности с БА обосновывает поиск мишеней для иммунотерапии. Данные исследования немногочисленны и носят экспериментальный характер. Одним из разрабатываемых подходов предотвращения нейровоспаления является избирательное ингибирование активации микроглии и / или секреции цитокинов [Mishra M.K. et al., 2014]. Исследования показали, что регулирование экспрессии генов и изменение фенотипов микроглии уменьшает воспаление и замедляет прогрессирование поражения мозга [Guan D. et al., 2018]. Другим подходом предотвращения нейровоспаления может быть восстановление утраченных функций иммунных клеток – фагоцитоза в макрофагах и хемотаксиса в других иммунных клетках, блокирование гиперпродукции провоспалительных цитокинов [Doring A. et al., 2015].

В эксперименте показана роль глюкокортикоидов в подавлении провоспалительной реакции. Установлена возможность дексаметазона ингибировать микроглиальный NO и экспрессию *IL1 β* и *TNF*, предотвращая нейродегенерацию [Higaki H. et al., 2016], увеличивать экспрессию мРНК нейропротекторных факторов [Tanaka J., 2020]. К настоящему времени применение глюкокортикоидов при ЦМА не вошло в клиническую практику.

Среди препаратов, влияющих на усиление нейропротекторной функции микроглии, особое место занимает миноциклин. Это антибиотик тетрациклинового ряда, который оказывает иммуномодулирующее действие за счет снижения уровней воспалительных маркеров, таких как ИЛ-6, а также активации микроглии [Cheng S. et al., 2015]. Показано, что миноциклин уменьшал вызванную гипоксией инфильтрацию лейкоцитов, уменьшал повреждение белого вещества, улучшал поведение и продлевал жизнь в моделях ЦМА [Jalal F.Y. et al., 2012; 2015]. Миноциклин также уменьшает размер инфаркта в клинических испытаниях острого инсульта [Lampf Y. et al., 2007; Fagan S.C. et al., 2010]. Таким образом, множественные нейропротекторные эффекты миноциклина

в моделях повреждения сосудов поддерживают его использование в качестве потенциального терапевтического средства для лечения ЦМА [Manso Y. et al., 2018].

Другим потенциальным подходом к терапии ЦМА может быть использование препаратов, которые применяются для лечения нейровоспалительных заболеваний, таких как рассеянный склероз [Fu Y., Yan Y., 2018]. Текущие исследования оценивают эффективность противовоспалительных препаратов для ЦМА, но клинические данные все еще отсутствуют [Bath P.M., Wardlaw J.M., 2015]. Финголимод оказывает иммуномодулирующее действие, снижает окислительный стресс, активацию микроглии и связанную с ней экспрессию провоспалительных цитокинов [Noda H. et al., 2013; Serdar M. et al., 2016]. Однако следует отметить, что финголимод из-за активации сфингозин-1 фосфата в астроцитах приводит к нарушению целостности ГЭБ [Brait V.H. et al., 2016]. В моделях острого инсульта диметилфумарат предотвращал прогрессирование отека мозга в острой стадии и способствовал восстановлению в хронической стадии [Zhao X. et al., 2015; Yao Y. et al., 2016; Clausen B.H. et al., 2017]. На мышинных моделях показано, что диметилфумарат снижает активацию микроглии, уменьшает нейровоспаление и уменьшает выраженность когнитивных нарушений [Fowler J.H. et al., 2018].

Полученные данные позволяют рассматривать нейровоспаление важным фактором коморбидности патологии церебральных сосудов и нейродегенеративных заболеваний. Однако конкретные маркеры, позволяющие диагностировать переход от ЦМА к БА, а также прогрессирование патологии, в настоящее время не установлены. Всестороннее понимание точных молекулярных и клеточных механизмов, участвующих в развитии патологии мелких церебральных сосудов и ассоциации с нейродегенеративными процессами, необходимо для диагностики и разработки потенциальных терапевтических мишеней. Существующие на данный момент единичные исследования по изучению иммунотерапии в лечении ЦМА находятся в самом начале поиска эффективной патогенетической терапии.

1.5. Определение экспрессии генов на анализаторе NanoString nCounter

Оценка экспрессии генов может служить важным связующим звеном генетических вариаций с признаками заболевания. Н. Ху и соавт. (2010) исследовали связь экспрессии генов методом микрочипов в крови пациентов с распространенной

сливной ГИБВ и участников с начальными изменениями БВ. Авторы выявили 240 дифференциально экспрессируемых ($p < 0,005$) генов, многие из которых вовлечены в регуляцию клеточного цикла, воспаление и окислительный стресс [Xu H. et al., 2010]. В другом исследовании J.E. Simpson и соавт. (2009) изучали связь экспрессии генов на малой выборке (7 пациентов, 7 участников контрольной группы) в областях ГИБВ на посмертной ткани головного мозга и выявили 502 гена, которые дифференциально экспрессируются у пациентов с ЦМА и в контроле [Simpson J.E. et al., 2009]. Данные исследования инициировали поиск ассоциации изменения профилей экспрессии генов и конкретных патогенетических путей, задействованных в развитии заболевания.

Одним из условий изучения патогенетических основ заболевания с целью поиска маркеров прогрессирования заболевания и разработки мишеней лечения является наличие технологий, позволяющих оценивать предполагаемые молекулярные изменения в клинической практике. Одной из таких технологий является NanoString nCounter (NanoString Technologies, Вашингтон, США), позволяющая проводить прямое количественное определение экспрессии генов по подсчету нуклеиновых кислот и белков с использованием небольшого количества общей РНК [Geiss G.K. et al., 2008; Malkov V.A. et al., 2009; Kolbert C.P. et al., 2013; Lee J. et al., 2014; Mazumder S. et al., 2019]. Чувствительность nCounter сопоставима с ПЦР в реальном времени [Geiss G.K. et al., 2008; Reis P.P. et al., 2011; Prokopc S.D. et al., 2013]. Преимуществами данной технологии по сравнению с традиционными методами анализа экспрессии генов является высокая автоматизация, производительность и воспроизводимость полученных результатов, а также отсутствие предварительной обратной транскрипции и амплификации [Malkov V.A. et al., 2009; Kolbert C.P. et al., 2013; Lee J. et al., 2014; Mazumder S. et al., 2019]. Метод основан на фотофиксации флуоресцентных меток на специфических молекулах штрих-кодах [Geiss G.K. et al., 2008]. Для каждого интересующего гена (или белка) синтезируются уникальные пары зондов, состоящие из таргетной захватывающей и репортерной (флуоресцирующей) частей. nCounter не требует использования контрольных образцов, поскольку абсолютное количество транскриптов определяется для каждого отдельного образца и нормализуется относительно экспрессии эталонных генов «домашнего хозяйства» (housekeeping genes) в том же образце [Geiss G.K. et al., 2008].

Анализ экспрессии генов с использованием анализатора NanoString nCounter

нашел наибольшее применение в диагностике онкологических заболеваний. Создание панелей «Neuroinflammation», «Neuropathology», содержащих 770 генов, участвующих в путях нейротрансмиссии, взаимодействия нейронов и глии, нейропластичности, целостности клеток, нейровоспаления и метаболизма инициировали ряд исследований в области нейродегенеративных и воспалительных неврологических заболеваний, таких как БА, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз и др. Нам не удалось выявить подобных исследований при ЦМА, проведенных к настоящему времени.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась в ФГБНУ «Научный центр неврологии» (г. Москва) с 2020 по 2022 гг. Клиническая часть выполнялась на базе 3-го неврологического отделения. Лабораторная и нейровизуализационная части исследования – в отделе лабораторной диагностики и отделе лучевой диагностики, соответственно. Использовался дизайн одномоментного сплошного исследования.

2.1. Клинико-нейровизуализационная характеристика групп исследования

Критерии включения в основную группу:

1. возраст 46-75 лет
2. изменения вещества головного мозга, соответствующие ЦМА по критериям STRIVE [Wardlaw J.M. et al., 2013a], 2-й и 3-й стадии T2 / FLAIR ГИБВ (Fazekas 2 и 3) [Fazekas F. et al., 1987];
3. наличие когнитивных жалоб;
4. наличие подписанного информированного согласия на проведение исследования и обработку персональных данных.

Критерии невключения в основную группу:

1. ЦМА вследствие других причин; наличие изменений при МРТ, кроме соответствующих ЦМА;
2. атеросклеротический стеноз экстра- / интракраниальных артерий > 50%;
3. амнестический тип КР вследствие вероятной БА или выявление в ЦСЖ маркеров нейродегенеративного процесса;
4. острый и подострый период малого субкортикального инфаркта (до 3 месяцев);
5. перенесенная острая инфекция, включая COVID-19, или обострение хронического заболевания за 3 месяца до забора крови;
6. декомпенсированная соматическая патология:
 - кардиальная патология со снижением фракции выброса < 50%;
 - эндокринная патология (сахарный диабет I типа; тяжелый СД II типа; некомпенсированная дисфункция щитовидной железы);
 - хроническая болезнь почек со снижением скорости клубочковой фильтрации < 30 мл/мин;

7. противопоказания для проведения МРТ исследования.

В соответствии с основными критериями включения / невключения в исследование в регистр ожидания было отобрано 66 пациентов. В ходе тщательного анализа перед забором крови 10 пациентов были исключены из данного исследования: 7 пациентов перенесли острую вирусную инфекцию в период проведения исследования; у 3 пациентов в ЦСЖ выявлено повышение тау-протеина и снижение А β , вследствие чего пациенты отнесены к форме ЦМА смешанной с нейродегенеративным процессом. Алгоритм отбора пациентов для молекулярно-генетического тестирования и характеристика пациентов приведены на Рисунке 2.

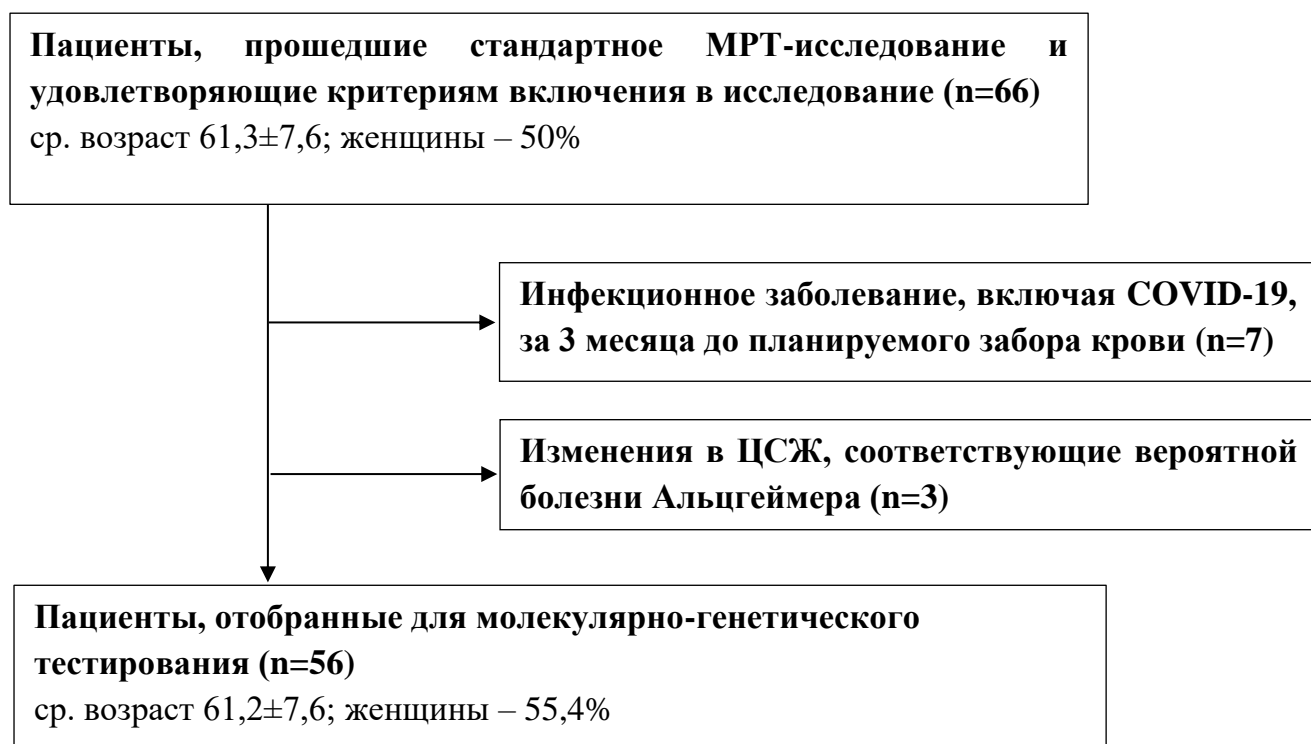


Рисунок 2 – Блок-схема алгоритма отбора пациентов для молекулярно-генетического исследования

Для проведения молекулярно-генетического исследования отобраны 56 пациентов (ср. возраст 61,2 ± 7,6; женщины – 55,4%). Контрольную группу составили 20 добровольцев (ср. возраст 57,3 ± 6,1; женщины – 61,1%) без клинических и нейровизуализационных признаков сосудистой и дегенеративной патологии головного мозга сопоставимые по возрасту и полу.

Обследование основной и контрольной групп проводилось однократно. Исследование и его протокол были одобрены локальным Этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол №10-6/20 от 27.11.2020г).

Клиническое обследование

Клиническое обследование включало сбор жалоб, общего анамнеза, анализ течения заболевания, оценку основных сосудистых факторов риска, тщательный соматический и неврологический осмотр, а также скрининговое нейропсихологическое тестирование.

Анализ факторов риска. Артериальная гипертония диагностировалась при наличии анамнестических данных о повышении АД $\geq 140/90$ мм рт.ст. Степень АГ оценивались согласно рекомендациям Европейского Общества Гипертонии и Европейского Общества Кардиологов [Mancia G. et al., 2014; Williams B. et al., 2018] и клинических рекомендаций Российского кардиологического общества от 2022 года [Крючкова О.Н. и др., 2022], где АГ 1 степени соответствует АД 140-159 / 90-99 мм рт. ст., АГ 2 степени – АД 160-179 / 100-109 мм рт. ст., АГ 3 степени – АД $> 180/110$ мм рт. ст. Дополнительно оценивались возраст дебюта (до 40 лет и после), длительность течения АГ (менее 10 лет, 10-25 лет и более 25 лет), наличие и частота гипертонических кризов и антигипертензивная терапия. Гипертонический криз диагностировался по наличию в анамнезе эпизодов значительного повышения АД, сопровождающегося острым поражением органов-мишеней [Крючкова О.Н. и др., 2022]. Схема антигипертензивной терапии оценивалась по количеству принимаемых препаратов из разных групп на момент включения в исследование и по степени комплаентности участников. СД 2-го типа и курение оценивались качественно по их наличию или отсутствию. Оценивался средний уровень холестерина в крови в группах. Гиперхолестеринемия диагностировалась при выявлении повышения уровня холестерина в крови ($> 6,2$ ммоль/л) или при наличии компенсированных цифр на фоне гиполипидемической терапии. Ожирение диагностировалось на основании результатов расчета индекса массы тела (ИМТ) по стандартной формуле (ожирению соответствует ИМТ более $30 \text{ кг} / \text{м}^2$): $\text{ИМТ} = \text{масса тела} / \text{рост}^2 \text{ (кг} / \text{м}^2)$.

Анализ клинических проявлений. Оценивались основные клинические проявления ЦМА: наличие и степень когнитивных и эмоциональных расстройств, нарушение походки, наличие псевдобульбарного синдрома и тазовых нарушений.

Общий когнитивный уровень и тяжесть КР оценивались по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA) [Nasreddine Z.S. et al., 2005]. Бытовая независимость и инструментальная активность в повседневной жизни оценивались по шкале базовой активности (индекс Бартел) и шкале инструментальной активности (Шкала Лоутон) соответственно [Mahoney F.I., Barthel D.W., 1965; Graf C., 2008]. По результатам тестирования пациенты были разделены на 3 группы тяжести КР: 1 группа – субъективные КР (СубКР) (наличие когнитивных жалоб и MoCA \geq 26), 2 группа – умеренные когнитивные нарушения (УКР) (MoCA < 26 и сохраненная независимость в повседневной жизни), 3 группа – деменция (MoCA < 26 и утрата независимости в повседневной жизни) [Arlington V.A., 2013].

Тяжесть нарушений ходьбы, не связанных с гемипарезом, оценивались по предложенной оригинальной клинической шкале оценки походки [Лагода Д.Ю. и др., 2018]. Шкала оценки походки представлена в Приложении 1. Гемипарез определялся как остаточный неврологический дефицит после перенесенного лакунарного инсульта. Тазовые расстройства диагностировались по их наличию при исключении иных причин (урологическая и гинекологическая патология). Псевдобульбарный синдром оценивался по наличию дизартрии и/или дисфагии при исключении иных вероятных причин (гастроэнтерологическая патология, отсутствие зубов и т.д.).

Расширенное когнитивное тестирование. Продолжительность расширенного когнитивного обследования одного пациента составила 40-60 мин. Оценка когнитивного статуса проводилась всем участникам исследования с использованием методик и тестов углубленного изучения когнитивных функций (КФ), подтвердивших свою значимость в определении преобладающего типа КР в предыдущих исследованиях при ЦМА [Гаджиева З.Ш., 2019; Лагода Д.Ю. и др., 2021; Добрынина Л.А. и др., 2022]:

- память (тест заучивания 10 слов) [Лурия А.Р., 1969];
- управляющие функции мозга (УФМ): переключаемость (Trail Making Test B-A (ТМТ B-A)) [Lezak M.D. et al., 2004], ингибирование (тест Струпа на интерференцию)

[Stroop J.R., 1935], продуктивность (тест беглости речи) [Лурия А.Р., 1969], рабочая память (тест прямого и обратного повторения чисел) [Wechsler D. et al., 2008];

- зрительно-пространственный гнозис и праксис (тест рисования часов с расставлением стрелок в соответствии с заданным исследователем временем) [Sunderland T. et al., 1989]; конструктивный праксис (изображение рисунка по инструкции).

Тяжесть нарушения каждой КФ определялась на основании критериев VASCOG по отклонению от результатов участников контрольной группы в σ , где отклонение на 1-2 σ соответствует умеренному нарушению, $> 2 \sigma$ – выраженному [Sachdev P. et al., 2014]. Затем, на основании преобладающего нарушения в домене КФ каждый пациент с результатом тестирования по MoCA < 26 был отнесен к одному из типов КР: преимущественно амнестическому (выраженное нарушения памяти, умеренное – остальных функций), преимущественно дизрегуляторному (выраженное нарушение УФМ по любому из использованных тестов, умеренное – остальных функций) и смешанному [Добрынина Л.А., 2018b; Гаджиева З.Ш., 2019].

Психоэмоциональные расстройства оценивались по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (ГШТД) [Zigmond A.S., Snaith R.P., 1983], где 0-7 баллов соответствовали норме; 8-10 баллов – субклинической тревоге / депрессии; ≥ 11 баллов – клинически выраженной тревоге / депрессии. При выявлении отклонений при тестировании по ГШТД, каждый участник дополнительно осмотрен опытным нейропсихологом для объективизации психоэмоциональных нарушений.

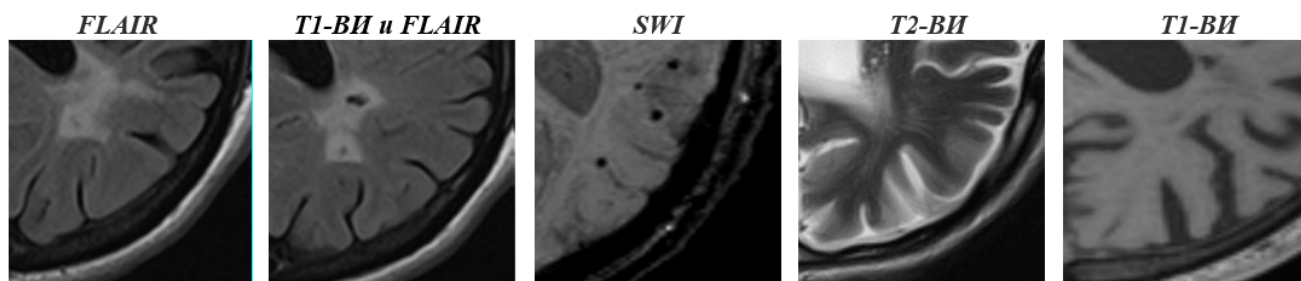
Нейровизуализационное исследование. Всем обследуемым проведено МРТ-исследование головного мозга. Исследование проводилось на магнитно-резонансных томографах Siemens MAGNETOM Verio (Siemens AG, Erlangen, Германия) или Siemens Magnetom Prisma с величиной магнитной индукции 3 Тл (Siemens AG, München, Германия). Протокол включал в себя следующие режимы:

- 1) T2-спиновое эхо в аксиальной проекции (time repetition (TR) – 4000 мсек, time echo (TE) – 118 мсек, толщина среза 5 мм, продолжительность 2 мин 2 сек);
- 2) 3D T1-mpr эхо в сагиттальной проекции (TR – 1900 мсек, TE – 2,5 мсек; толщина среза 1 мм; продолжительность: 4 мин 16 сек);

- 3) 3D FLAIR в сагиттальной проекции (TR – 6000 мсек, TE – 395 мсек; толщина среза 1 мм, продолжительность – 7 мин 12 сек);
- 4) DWI (diffusion-weighted image) в аксиальной проекции (TR – 6600 мсек, TE – 100 мсек, толщина среза 4 мм, 2 b-фактора = 0 и 1000 с/мм², 3 направления диффузии; продолжительность: 2 мин 4 сек);
- 5) SWI (susceptibility-weighted imaging) в аксиальной проекции (TR – 28 мсек, TE – 20 мсек, фазовые и магнитудные изображения с толщиной среза 1,2 мм, а также mIP-изображения с толщиной среза 9,6 мм; продолжительность: 7 мин 50 сек).

Всем пациентам проведен анализ МРТ-изображений в соответствии с диагностическими нейровизуализационными критериями STRIVE [Wardlaw J.M. et al., 2013a]. Оценивались локализация и выраженность ГИБВ, лакун, ЦМК, расширенных ПВП, атрофии головного мозга (Рисунок 3). На основании сочетания данных признаков и их выраженности определялись общий балл и МРТ-типы ЦМА. Общий балл ЦМА определялся по порядковой шкале от 0 до 4 баллов, где балл присуждался за наличие каждого из МРТ-признаков ЦМА: лакун, ЦМК, расширенных ПВП в подкорковых структурах и распространенной ГИБВ [Klarenbeek P. et al., 2013].

Для данного исследования использовались результаты иерархического кластерного анализа на основе группирования МРТ-признаков и их выраженности у 188 пациентов с ЦМА, проведенного ранее. Анализ позволил выделить два диагностических МРТ-типа (варианты) ЦМА, имеющие различия в клинических и лабораторных проявлениях [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et al., 2020b]. Нейровизуализационная и клиничко-лабораторная характеристика двух МРТ-типов ЦМА представлены в Приложении 3.

**ГИБВ:**

1) распространенность ГИБВ – шкала Fazekas (F): 0 – отсутствие ГИБВ, F1 – единичные очаги, F2 – наличие как единичных, так и частично сливных очагов, F3 – сливные очаги;

2) выраженность (нет / единичные очаги / частично сливные очаги / сливные очаги) в отдельных областях мозга: передние и задние отделы лобных долей, теменные, височные и затылочные доли отдельно по зонам – юстакортикальное (до 4 мм от границы коры с белым веществом), перивентрикулярное (до 13 мм от стенки боковых желудочков) и глубокое (зона между перивентрикулярным и глубоким белым веществом) БВ.

Лакуны оценивались количественно (0 / < 5 / 5-10 / > 10 лакун) отдельно в БВ полушарий, подкорковых структурах, стволе мозга и мозжечке.

Микрокровоизлияния оценивались отдельно в подкорковых структурах, в юстакортиальном, глубоком и перивентрикулярном БВ по категориям 0 / < 5 / 5-10 / > 10.

Расширенные ПВП оценивались в семеновальных центрах и подкорковых структурах количественно (0 / < 5 / 5-10 / > 10) и по размеру (от 1 до 4 мм).

Атрофия оценивалась качественно по выраженности расширения субарахноидальных пространств: норма / раскрытие борозд / снижение объема извилин / атрофия извилин по типу «лезвия ножа» (шкала общей атрофии коры).

Рисунок 3 – Диагностические МРТ-признаки ЦМА и соответствующие им основные режимы МРТ (критерии STRIVE, 2013)

Всем обследуемым методом воксельной морфометрии (voxel-based morphometry, VBM) [Ashburner J., Friston K.J., 2000] (программа SPM12 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>)) оценивались общий объем ГИБВ и следующие показатели интракраниального пространства – общий объем головного мозга (Total Brain Volume, TBV), объем серого и белого вещества (Gray Matter Volume, GM; White Matter Volume, WM), цереброспинальной жидкости (Cerebral Spine Fluid, CSF). Для исключения индивидуальных и половых различий для каждого участника проводилась нормализация оцениваемых показателей на общий интракраниальный объем (Total Intracranial Volume, TIV).

2.2. Лабораторные методы исследования

2.2.1. Формирование оригинальной панели генов, ассоциированных с воспалением, для NanoString nCounter

Для формирования индивидуальной диагностической панели оценки экспрессии генов воспаления и связанных с ним путей, были проанализированы результаты полногеномных исследований ассоциаций при возраст-зависимой ЦМА, ГИБВ, лакунарных инсультах и микрокровоизлияниях, при АГ и БА. С использованием базы данных «GWAS Catalog» (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/home>) были отобраны повторяющиеся при исследованиях гены, которые стали основой создания панели оценки экспрессии генов для анализатора NanoString nCounter. Данный подход к формированию исследовательской панели обусловлен современной тенденцией к дополнению данных GWAS исследованиями профилей экспрессии генов, ассоциированных с заболеваниями. До 90% всех выявленных значимых GWAS-локусов расположены в некодирующих регионах, то есть могут быть связаны с регуляцией транскрипции и трансляции генов [Wainberg M. et al., 2019]. Для данного исследования мы отобрали гены из значимых по данным GWAS локусов, для оценки их экспрессии и определения их вклада в развитие заболевания.

Также в панель были включены гены, кодирующие провоспалительные цитокины и белки участвующие в проницаемости ГЭБ, регуляции клеточного цикла, ангиогенезе, фибринолизе, врожденном иммунитете, воспроизводимые при повторных исследованиях и продемонстрировавшие свою роль в патогенезе ЦМА [Добрынина Л.А. и др., 2018с; Забитова М.Р., 2019; Wright C.B., 2009; Shoamanesh A., 2015; Poggesi A., 2016; Dobrynina L.A., 2019; Gu Y., 2019; Arba F., 2019; Low A., 2019; Evans L.E. et al., 2021].

Таким образом, для создания собственной оригинальной панели было отобрано 58 генов. Оценивалась кластеризация отобранных генов в функциональные группы с помощью программы «STRING» (<https://string-db.org/>) на основе построения сетей белок-белкового взаимодействия. Названия генов приведены в соответствии с международной номенклатурой (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human/>).

2.2.2. Оценка экспрессии генов на оригинальной панели для NanoString nCounter

Исследование крови пациентов и лиц из группы контроля проводилось в лаборатории, аккредитованной в соответствии с принятым регламентом.

Из образцов венозной крови, полученной при кубитальной венепункции натошак в пробирки-вакутейнеры, выделяли лейкоцитарную фракцию, затем тотальную РНК на сорбирующих колонках с помощью набора «MagMAX mirVana Total RNA Isolation Kit» (Thermo Fisher Scientific Inc, США) согласно прилагаемому протоколу производителя. Степень деградации и концентрацию полученной РНК измеряли на флуориметре Qubit 4 (ThermoFS) с использованием набора Qubit RNA IQ. Определение экспрессии генов проводилось анализаторе NanoString nCounter с использованием панели, изготовленной биотехнологической компанией NanoString Technologies по индивидуальному заказу (CodeSet Design). Образцы помещали в цифровой анализатор «nCounter Analysis System» («NanoString Technologies», Вашингтон, США). Принцип данной технологии основан на методе «молекулярных штрих-кодов» – цифровом обнаружении и прямом молекулярном штрихкодировании отдельных молекул-мишеней за счет использования таргетной пары зондов (репортерного или флуоресцентного и захватывающего для иммобилизации на поверхности чипа) без необходимости обратной транскрипции и амплификации (Рисунок 4) [Leek J.T. et al., 2010; Parker H.S., Leek J.T., 2012].



Рисунок 4 – Принцип работы метода NanoString – цифровое обнаружение и прямое молекулярное штрихкодирование молекул-мишеней за счет использования таргетной пары зондов (репортерного / флуоресцентного и захватывающего)

Процесс обработки образца включал несколько последовательных этапов [Geiss G.K. et al., 2008]: 1-й этап – гибридизация – инкубация образца со смесью зондов; 2-й этап – иммобилизация – зонды захватившие мишень иммобилизуются на поверхности

картриджа и выравниваются, а не связавшиеся зонды удаляются в автоматизированном режиме; 3-й этап – подсчет РНК – значения экспрессии РНК измеряется непосредственно в виде количества молекул РНК, связавшихся с зондом.

Обработку полученных «сырых» данных, контроль качества и нормализацию проводили с использованием программного обеспечения «nSolver 4.0» согласно руководству пользователя. Контроль качества (КК) осуществлялся после импорта данных с оценкой следующих параметров: качество визуализации (Imaging QC) – > 75% поля зрения; плотность связывания (Binding Density QC) – в диапазоне значений 0,1-2,25; линейность положительного контроля (Positive Control Linearity QC) – > 0,95; предел обнаружения для положительного контроля (Positive Control Limit of Detection QC) – установлен как 0,5 fM. Нормализация выполнялась на 4 «эталонных» гена – AARS, ASB7, CCDC127, CNOT10, подобранных и включенных в панель биотехнологической компанией NanoString Technologies.

При анализе полученных результатов из исследования исключен 21 участник (ЦМА – 12 человек, контроль – 9) по причине недостаточного качества образцов (качество визуализации < 75% поля зрения; плотность связывания < 0,1) (Рисунок 5).

Последующий анализ выполнялся в среде Rstudio с пользовательским кодом и «SPSS Statistics v. 26» («IBM SPSS»).

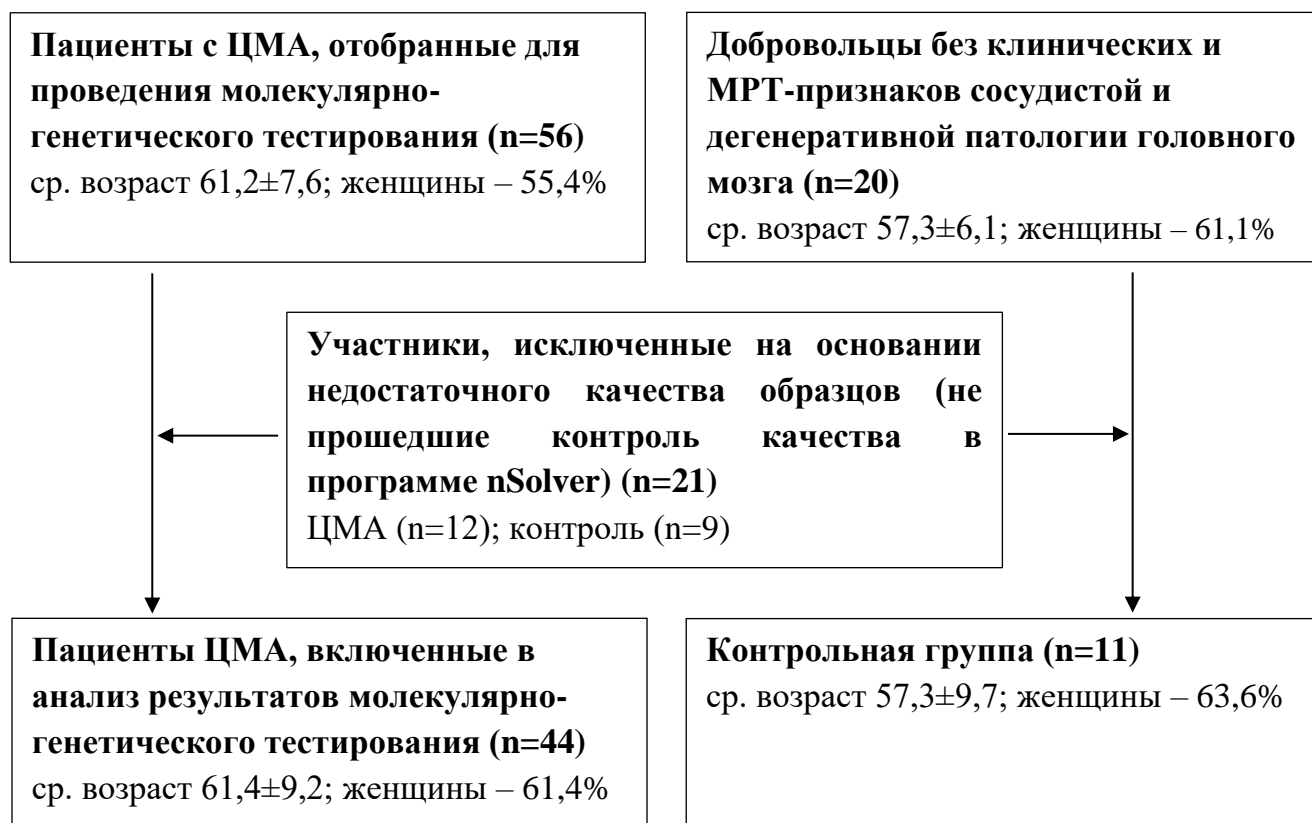


Рисунок 5 – Блок-схема отбора пациентов для анализа результатов молекулярно-генетического исследования

2.2.3. Оценка экспрессии генов методом обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР в реальном времени

Для генов, проявивших значимые различия в экспрессии по результатам анализа на платформе NanoString nCounter, проводилось дополнительное подтверждение полученных находок методом обратной транскрипции с последующей количественной ПЦР в режиме реального времени. Подтверждающее исследование проводилось для тех же участников основной и контрольной групп, которым проводился повторный забор крови. Для анализа были отобраны гены, показавшие значимые изменения уровня экспрессии для всей группы ЦМА и второго МРТ-типа ЦМА по сравнению с контрольной группой – ACOX1, BIN1, CD2AP, TNFR1, VEGFA. Для нормализации были использованы 2 референсных гена AARS, ASB7, из числа референсных генов, применявшихся при проведении NanoString. Оригинальные олигонуклеотидные праймеры были разработаны с помощью программы Vector NTI и синтезированы компанией Thermo FS (США).

Обратная транскрипция. Экстракцию суммарной клеточной РНК осуществляли с использованием реактива TRIzol (Thermo FS, США). Обратную транскрипцию для синтеза первой цепи кДНК проводили с помощью набора RevertAid (Thermo FS). Реакционная смесь содержала следующие компоненты: 4 мкл 5-кратного буфера; 2 мкл смеси; 2 мкл 20 мМ дитиотреитола; 2 мкл праймера oligo-dT (20 мкМ); 2 мкл раствора MMLV-ревертазы, 100 е.а./мкл (Thermo FS, США); 2 мкл РНК-матрицы (~500 нг-2 мкг); 6 мкл стерильной воды до конечного объема 20 мкл. Перед постановкой реакции смесь праймеров и РНК-матрицы прогревали в течение 2 мин. при 70°C. Ревертирование проводили на амплификаторе «ДТ-лайт» (ДНК-технология, Россия), время – 60 мин., температура – 42°C. Для остановки реакции смесь прогревали в течение 10 мин. при 70°C.

ПЦР в режиме реального времени. Количественную ПЦР в режиме реального времени для каждой полученной кДНК соответствующего гена, включая референсные, проводили отдельно в трех повторах. Реакционная смесь включала 5 мкл 5-кратного готового буфера qPCRmixHS-SYBR (Thermo FS, США) с интеркалирующим красителем SYBR Green I (Мастер – микс PowerTrack SYBR Green, Thermo FS), высокоточной Taq-полимеразой и ингибиторами её активности для «горячего старта»; 2,5 мкл раствора MgCl₂; 2 нг полученной в ходе ревертирования кДНК; 2,5 мкл праймеров с концентрацией 4 мкМ; стерильную воду до конечного объема 25 мкл. Оценку экспрессии осуществляли с использованием оригинальных праймеров, разработанных с помощью программы Vector NTI и синтезированных компанией ThermoFS (США). Перечень праймеров приведен в Таблице 1.

Отрицательным контролем служили пробы без добавления кДНК. Амплификацию в реальном времени проводили на термоциклере CFX-96 (BioRad, США). Перед постановкой реакции смесь прогревали при температуре 95°C в течение 5 мин. Цикл проводили по следующей схеме: денатурация – 95°C, 10 сек., отжиг праймеров – 55,5°C, 10 сек., синтез – 72°C, 10 сек., оценка уровня SYBR-флуоресценции. Количество циклов – 40. Нормировку проводили по экспрессии референсных генов – AARS, ASB7 (внутренний контроль).

Полученные результаты анализировали с помощью программного обеспечения CFX Manager BioRad (расчет уровня относительной экспрессии). Критерием уровня экспрессии мРНК служил показатель C(t) – пороговый цикл реакции для

соответствующей мРНК. Уровень экспрессии исследуемых генов рассчитывали методом $\Delta\Delta Ct$.

Таблица 1

Последовательности специфических олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентных зондов для исследуемых и референсных генов

Название олигонуклеотида	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'
<i>AARS1</i>	F: GATTACTTTAAGGAATTGGCATGTAA
	R: CAATGGGAATGCCAAACTCT
	P: 5'-(FAM)-GGCTCTGGAACCTCCTACCC-(BHQ1)- 3'
<i>ASB7</i>	F: GCATCGTCTGTAAAGGTTAAGAAG
	R: GGGAGGGGCTTCAAAGTA
	P: 5'-(FAM)-TTTTTGCTCTGTAGCCTGGACG-(BHQ1)- 3'
<i>ACO1</i>	F: CTGGTGGGCTTGGAAGA
	R: TTCCCCTTAGTGATGAGCTG
	P: 5'-(FAM)-TTCAAATCATGCAATAGTTCTTGCC-(BHQ1)- 3'
<i>BIN1</i>	F: TCCGTCAAAGCCATGCAC
	R: CCAATCGGGCTCATAACCT
	P: 5'-(FAM)-GAGGCTTCCAAGAAGCTGAATGA-(BHQ1)- 3'
<i>CD2AP</i>	F: AGGACGATTCAGAACTGTTTTG
	R: CCAGATGCAGTTTCACTCACA
	P: 5'-(FAM)-GCTGGGCCTACTTCACCTATACC-(BHQ1)- 3'
<i>TNFR1</i>	F: CCTGAAAAAGAGGGGGAGCT
	R: GTGAAGCCTGGAGTGGGACT
	P: 5'-(FAM)-CTACTAAGCCCCTGGCCCA-(BHQ1)- 3'
<i>VEGFA</i>	F: GAATCATCACGAAGTGGTGAAG
	R: AAGATGTCCACCAGGGTCTC
	P: 5'-(FAM)-TCAGCGCAGCTACTGCCATC-(BHQ1)- 3'
Сокращения: F – forward primer – прямой праймер; R – reverse праймер – обратный праймер; P – probe – зонд; FAM – флуоресцентная метка; BHQ1 – молекула-гаситель	

2.3. Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ проводился с помощью программного обеспечения «IBM SPSS Statistics, version 26.0» (IBM) и на языке программирования R версии 4.2.2 с использованием «RStudio» (версия 2022.12.0-353).

Показатели описательной статистики для категориальных и порядковых переменных – частота и доля (%), для количественных – медиана и 1-й и 3-й квартили (Me [Q25%; Q75%]) или среднее и стандартное отклонение ($\text{mean} \pm \text{SD}$). Во всех случаях использовали двусторонние варианты статистических критериев. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$.

Сравнительный анализ качественных показателей проводили при помощи критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера. Корреляционный анализ между количественными переменными проводился по методу Пирсона, с оценкой значимости корреляции.

Проверка гипотезы о нормальности распределения признаков производилась с помощью критериев Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова, а также при помощи построения и оценки частотных гистограмм. Количественные показатели с нормальным типом распределения сравнивали при помощи t-критерия Стьюдента, с типом распределения отличающимся от нормального, – при помощи критерия Манна-Уитни или Краскела-Уоллиса с последующим внутригрупповым попарным анализом по методу Манну-Уитни. Для апостериорных попарных сравнений использовался критерий Манна-Уитни с последующей поправкой Бонферрони на множественность сравнений.

Оценка дифференциальной экспрессии генов проводилась путем определения двоичного логарифма отношения величин, полученных в группах ($\log_2\text{FC}$ (fold change)), значимым считалось изменение экспрессии гена при $|\log_2\text{FC}| > 1$.

Для оценки прогностической ценности изменения экспрессии генов в отношении развития признака проводилась бинарная логистическая регрессия. Адекватность выбранной логистической модели подтверждалась ROC-анализом. С помощью построения ROC-кривых были определены оптимальные пороговые значения экспрессии генов с определением их чувствительности и специфичности для каждого показателя.

Визуализации относительного уровня экспрессии исследованных генов проводилась путем построения «тепловой карты» в «RStudio», пакет «gplots», Первым

этапом с целью стандартизации данных для последующего построения тепловой карты проведено их масштабирование – из каждого значения вычиталось среднее по переменной и делилось на стандартное отклонение. В представленных тепловых картах каждая строка соответствует одному наблюдению, а столбец – гену. Значение экспрессии генов преобразовано в Z-показатель (z-score), который является мерой относительного разброса уровней экспрессии в стандартных отклонениях относительно среднего значения, чему соответствует представленная цветовая шкала. Иерархическая кластеризация проведена с использованием метода «ward.D2», на евклидовых расстояниях между точками и визуализирована с помощью дендрограмм.

При отсутствии значимой взаимосвязи экспрессии генов с наличием КР, проверялась гипотеза об опосредующей роли третьих переменных (медиаторов). Использовался каузальный медиаторный анализ в «RStudio», пакеты «mediation» и «lavaan», квази-Байесовский метод Монте Карло [Tingley D. et al., 2014]. Обеспечение удовлетворительной сходимости результатов достигалась использованием 100 000 симуляций [Tingley D. et al., 2014]. Нормализованные объемные показатели интракраниального пространства были использованы в качестве потенциальных медиаторов связей экспрессии генов (независимая переменная) и балла по MoCA (зависимая переменная).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клинико-нейровизуализационная характеристика основной и контрольной групп

Демографическая характеристика и основные факторы риска пациентов с ЦМА и участников контрольной группы представлены в Таблице 2.

Таблица 2

Общая характеристика обследуемых основной и контрольной групп

Показатели	Основная группа (n = 44)	Контрольная группа (n = 11)	p
Возраст (mean±SD)	61,4±9,2	57,3±9,7	0,293
Пол (n, %)			1,000
женский	27 (61,4%)	7 (63,6%)	
мужской	17 (38,6%)	4 (36,4%)	
АГ (n, %)	44 (100%)	4 (36,7%)	0,001
Степень АГ:			0,001
1 степень	4 (9,1%)	2 (18,2%)	
2 степень	14 (31,8%)	2 (18,4%)	
3 степень	26 (59,1%)	0 (0%)	
Дебют АГ (n, %)			0,001
до 40 лет	15 (34,1%)	0 (0%)	
после 40 лет	29 (65,9%)	4 (36,4%)	
Длительность АГ (n, %)			0,065
< 10 лет	16 (36,4%)	4 (36,4%)	
10-25 лет	18 (40,9%)	0 (0%)	
> 25 лет	10 (22,7%)	0 (0%)	
Кризовое течение АГ (n, %)	21 (47,7%)	1 (9,1%)	0,036
Частота кризов (n, %):			
редкие (1-2 в год)	16 (36,4%)	1 (9,1%)	0,092
частые (3 и более в год)	5 (11,4%)	0 (0%)	
Приверженность лечению АГ после установки диагноза (n, %)			0,001
регулярный прием	33 (75%)	2 (18,4%)	
эпизодический прием	6 (13,6%)	0 (0%)	
не лечится	5 (11,4%)	2 (18,4%)	
Схема терапии АГ при регулярном приеме (n, %)			0,001
1 препарат	6 (13,6%)	2 (18,4%)	
2 препарата	12 (27,3%)	0 (0%)	
3 и более препаратов	15 (34,1%)	0 (0%)	
Сахарный диабет 2 типа (n, %)	10 (22,7%)	0 (0%)	0,184
Гиперхолестеринемия (n, %)	13 (29,6%)	1 (9,1%)	0,255

Таблица 2

Продолжение

Показатели	Основная группа (n = 44)	Контрольная группа (n = 11)	p
Уровень холестерина (ммоль/л) (Me [Q25%; Q75%])	5,6 [4,6; 6,7]	5,2 [4,8; 5,8]	0,652
Курение (n, %)	19 (43,2%)	3 (27,3%)	0,713
Ожирение (n, %)	17 (38,6%)	3 (27,3%)	0,105

Участники основной и контрольной групп были сопоставимы по возрасту и полу. В обеих группах преобладали женщины – 61,4% в основной и 63,6% в контрольной. Группы статистически различались по наличию и степени основного фактора риска ЦМА – АГ. У пациентов с ЦМА преобладала АГ 3 степени (59,1%), тогда как в контрольной группе выявлена АГ 1 и 2 степени. Длительность АГ была выше у пациентов с ЦМА и у большинства пациентов превышала 10 лет (63,6%), в контрольной группе у всех участников длительность АГ была менее 10 лет. Дебют АГ в молодом возрасте (до 40 лет) установлен у 34,1% пациентов с ЦМА, в контрольной группе АГ диагностирована после 40 лет у всех участников. Кризовое течение АГ имели 47,7% пациентов, из них 16 (36,4%) имели редкие гипертонические кризы, а 5 пациентов (11,4%) имели частоту кризов 3 и более раз в год. В группе контроля только один участник имел редкие гипертонические кризы. Регулярный прием антигипертензивных препаратов был необходим 75% пациентов с ЦМА, из них монотерапия была эффективна лишь у 13,6% больных, а большинство пациентов (34,1%) получали препараты 3-х и более фармакологических групп. В контрольной группе двум участникам был необходим регулярный прием антигипертензивной терапии (монотерапия у 100%). По наличию других сосудистых факторов риска, таких как сахарный диабет, гиперхолестеринемия, курение и ожирение достоверных различий между группами не выявлено.

Клинические проявления церебральной микроангиопатии

Результаты оценки ведущих клинических проявлений ЦМА в основной группе представлены в Таблице 3.

Таблица 3

Клиническая характеристика пациентов основной группы

Показатель	ЦМА (n = 44)
MoCA (mean±SD)	22,1±4,5
КР (n, %)	44 (100%)
СубКР	11 (25%)
УКР	21 (47,7%)
Деменция	12 (27,3%)
Когнитивные функции (Me [Q25%; Q75%])	
• УФМ	
- ингибирование – тест Струпа (сек)	173,5 [138; 254]
- переключение – тест ТМТ В-А (сек)	104 [52; 180]
- продуктивность – тест беглости речи (слова)	9 [6; 11]
• Память – тест заучивания 10 слов (слова)	5 [3; 7]
Тип КР (MoCA < 26 б) (n, %)	33 (75%)
дизрегуляторный	8 (18,2%)
амнестический преимущественно	6 (13,6%)
смешанный	19 (43,2%)
Психоэмоциональные нарушения (n, %)	
• Тревога	17 (38,6%)
- субклиническая	10 (22,7%)
- клинически выраженная	7 (15,9%)
• Депрессия	20 (45,5%)
- субклиническая	11 (25%)
- клинически выраженная	9 (20,5%)
Нарушения ходьбы, не связанные с гемипарезом (n, %)	29 (65,9%)
• Легкие	12 (27,3%)
• Умеренные	10 (22,7%)
• Выраженные:	7 (15,9%)
- лобно-мозжечковый тип	3 (6,8%)
- лобно-подкорковый тип	4 (9,1%)
Гемипарез	2 (4,6%)
Псевдобульбарный синдром (n, %)	22 (50%)
Тазовые нарушения (n, %)	16 (36,4%)

В основной группе КР выявлены у всех пациентов (100%). Согласно результатам нейропсихологического тестирования, СубКР (средний балл MoCA 28±2) выявлены у 11 пациентов (25%), УКР (средний балл MoCA 22±2 балла) – 21 (47,7%), КР на стадии деменции (средний балл MoCA 17±4 балла) – 12 (27,3%). Согласно преобладанию нарушений в одном из доменов КФ преимущественно дизрегуляторный тип КР – имели 8 (18,2%) пациентов, преимущественно амнестический – 6 (13,6%), и смешанный – 19 (43,2%).

Психоэмоциональные нарушения характеризовались наличием тревоги у 38,6% пациентов (субклинической и клинически выраженной у 22,7% и 15,9% соответственно) и депрессии – 45,5% пациентов (субклинической и клинически выраженной – 25% и 20,5% соответственно).

У двоих пациентов (4,6%) выявлялся остаточный гемипарез после перенесенного лакунарного инсульта. Нарушения походки, не связанные с гемипарезом, выявлены у 29 пациентов (65,9%), из них легкие и умеренные были выявлены у 12 и 10 пациентов соответственно (27,3% и 22,7%), выраженные – у 7 пациентов (15,9%). Среди последних, в соответствии с используемой шкалой оценки, лобно-мозжечковый тип имели 3 пациента, лобно-подкорковый – 4 пациента. Тазовые нарушения в виде учащенного мочеиспускания отмечены у 16 пациентов (36,4%), псевдобульбарный синдром выявлен у половины пациентов (22 человека).

В группе контроля отклонений при неврологическом и нейропсихологическом обследовании не выявлено, за исключением субклинически и клинически выраженной тревоги у 2 (18,2%) и 1 (9,1%) участников соответственно.

МРТ-признаки церебральной микроангиопатии и объемные показатели компонентов интракраниального пространства

Результаты качественного анализа макроструктурных МРТ-признаков ЦМА представлены в Таблице 4.

Таблица 4

Характеристика МРТ-признаков ЦМА

Показатель	Основная группа (n = 44)
ГИБВ, стадии по шкале Fazekas (F) (n, %)	44 (100%)
F2	10 (22,7%)
F3	34 (77,3%)
Лакуны (n, %)	35 (79,6%)
- в БВ головного мозга (n, %)	32 (72,7%)
< 5 / 5-10 / > 10	17 (38,6%) / 7 (15,9%) / 8 (18,2%)
- в подкорковых структурах (n, %)	24 (54,6%)
< 5 / 5-10 / > 10	18 (40,9%) / 5 (11,4%) / 1 (2,3%)
- в мозжечке (n, %)	5 (11,4%)
< 5 / 5-10	3 (6,8%) / 2 (4,6%)
- в стволе головного мозга (< 5) (n, %)	16 (36,4%)

Таблица 4

Продолжение

Показатель	Основная группа (n = 44)
ЦМК в БВ головного мозга (n, %)	31 (70,5%)
ЦМК в подкорковых структурах (n, %)	24 (54,6%)
Расширенные ПВП в подкорковых структурах, мм 1 / 2 / 3 / 4	44 (100%) 9 (20,5%) / 22 (50%) / 11 (25%) / 2 (4,6%)
Расширенные ПВП в семиовальных центрах, мм 1 / 2 / 3	44 (100%) 23 (52,3%) / 19 (43,2%) / 2 (4,6%)
Наружная атрофия (n, %)	32 (72,7%)
Общий балл ЦМА (n, %) 1 / 2 / 3 / 4	44 (100%) 3 (6,8%) / 5 (11,4%) / 14 (31,8%) / 22 (50%)

У пациентов с ЦМА степень ГИБВ, оцененная по шкале Fazekas, соответствовала стадии F2 у 10 пациентов (22,7%), F3 – у 34 (77,3%). Лакуны в различных отделах головного мозга имели 79,6% пациентов: преимущественно они располагались в БВ головного мозга – 72,7%, в подкорковых структурах – 54,6%, в стволе головного мозга – 36,4% и в мозжечке – 11,4%. Микрокровоизлияния в БВ головного мозга определялись у 70,5% пациентов, в подкорковых структурах – у 54,6%. Множественные расширенные ПВП (> 10) выявлялись у всех пациентов как в семиовальных центрах, так и в подкорковых структурах и их диаметр преимущественно составил ≤ 3 мм, за исключением двух пациентов (расширенные ПВП в подкорковых структурах более 3 мм). Оценивался общий балл ЦМА – большинство пациентов имели 3 и 4 нейровизуализационных признака (31,8% и 50%).

Результаты оценки объема поражения белого вещества и объемные характеристики основных компонентов интракраниального пространства обследуемых представлены в Таблице 5.

Все пациенты основной группы имели ГИБВ стадии F2 и F3 и показатели ее объема составили 11,7 см³ [8,1; 13,8] и 41,6 см³ [26,7; 68,8] соответственно. При оценке остальных объемных характеристик интракраниального пространства у пациентов с ЦМА выявлено статистически значимое ($p < 0,005$) уменьшение общего объема головного мозга, белого и серого вещества, а также увеличение объема ЦСЖ по сравнению с группой контроля.

Таблица 5

Объемные характеристики изменений белого вещества и основных компонентов головного мозга у пациентов с ЦМА и контрольной группы

Показатель (Me [Q25%; Q75%])	Основная группа (n = 44)	Контрольная группа (n = 11)	p
Объем ГИБВ, см³			
F2	11,7 [8,1; 13,8]	-	
F3	41,6 [26,7; 68,8]	-	
TBV/TIV	0,737 [0,715; 0,763]	0,798 [0,774; 0,817]	0,001
WM/TIV	0,320 [0,301; 0,341]	0,352 [0,347; 0,361]	0,001
GM/TIV	0,417 [0,40; 0,435]	0,442 [0,427; 0,465]	0,004
CSF/TIV	0,263 [0,237; 0,285]	0,202 [0,183; 0,226]	0,001
Сокращения: TBV/TIV – общий объем головного мозга, WM/TIV – общий объем белого вещества, GM/TIV – общий объем серого вещества, CSF/TIV – общий объем цереброспинальной жидкости. Все показатели нормализованы на общий интракраниальный объем (TIV).			

Клиническая характеристика МРТ-типов церебральной микроангиопатии

Среди пациентов с ЦМА первый МРТ-тип изменений отмечался у 18 пациентов (F3 – 17 и F2 – 1), второй МРТ-тип – 26 (F3 – 17 и F2 – 9). В связи с неравномерным распределением пациентов по выраженности ГИБВ и связанных с этим статистических ограничений в проведении последующих этапов анализа, дальнейший анализ между МРТ-типами осуществлялся для пациентов стадии Fazekas 3.

Сравнительная характеристика основных факторов риска и клинических проявлений ЦМА пациентов двух МРТ-типов на стадии F3 представлена в Таблице 6.

Таблица 6

Сравнительная характеристика факторов риска и клинических проявлений пациентов двух МРТ-типов с ГИБВ стадии F3

Показатель	Тип 1 F3 (n = 17)	Тип 2 F3 (n = 17)	p
Возраст (mean±SD)	56,4±8,1	67,1±6,3	0,001
Пол (n, %)			0,010
женский	10 (58,8%)	2 (11,8%)	
мужской	7 (41,2%)	15 (88,2%)	

Таблица 6

Продолжение

Показатель	Тип 1 F3 (n = 17)	Тип 2 F3 (n = 17)	p
АГ (n, %)	17 (100%)	17 (100%)	0,721
Степень АГ:			
1 степень	-	1 (5,9%)	
2 степень	5 (29,4%)	6 (35,3%)	
3 степень	12 (70,6%)	10 (58,8%)	
Сахарный диабет (n, %)	3 (17,7%)	5 (29,4%)	0,688
Курение (n, %)	10 (58,8%)	7 (41,2%)	0,663
Ожирение (n, %)	5 (29,4%)	10 (58,8%)	0,085
MoCA (Me [Q25%; Q75%])	21 [17; 23]	24 [21; 26]	0,043
Когнитивные функции (Me [Q25%; Q75%])			
• УФМ			
- ингибирование–тест Струпа (сек)	226 [211; 301]	150 [135; 206]	0,009
- переключение–тест ТМТ В-А (сек)	91 [45; 223]	115 [70; 171]	0,986
- продуктивность–тест беглости речи (слова)	7 [4; 9]	11 [8; 13]	0,006
• Память – тест заучивания 10 слов (слова)	3 [2; 6]	6 [5; 8]	0,026
Тяжесть КР (n, %)	17 (100%)	17 (100%)	0,110
Деменция	6 (35,3%)	5 (29,4%)	
УКР	10 (58,8%)	6 (35,3%)	
СубКР	1 (5,9%)	6 (35,3%)	
Тип КР (MoCA < 26 б) (n, %)	16 (94,1%)	11 (64,7%)	0,243
дизрегуляторный	4 (23,5%)	3 (17,7%)	
амнестический преимущественно	2 (11,8%)	2 (11,8%)	
смешанный	10 (58,8%)	6 (35,3%)	
Психоэмоциональные нарушения (n, %)			
• Тревога	5 (29,4%)	7 (41,2%)	0,873
- субклиническая	3 (17,7%)	5 (29,4%)	
- клинически выраженная	2 (11,8%)	2 (11,8%)	
• Депрессия	7 (41,2%)	9 (52,9%)	0,816
- субклиническая	4 (23,5%)	5 (29,4%)	
- клинически выраженная	3 (17,7%)	4 (23,5%)	
Нарушения ходьбы, не связанные с гемипарезом (n, %)	12 (70,6%)	14 (82,4%)	0,652
• Лёгкие	3 (17,7%)	7 (41,2%)	
• Умеренные	5 (29,4%)	4 (23,5%)	
• Выраженные:	4 (23,5%)	3 (17,7%)	
- лобно-мозжечковый тип	1 (5,9%)	2 (11,8%)	
- лобно-подкорковый тип	3 (17,7%)	1 (5,9%)	
Гемипарез	2 (11,8%)	0 (0%)	
Псевдобульбарный синдром (n, %)	11 (64,7%)	6 (35,3%)	0,169
Тазовые нарушения (n, %)	7 (41,2%)	9 (52,9%)	0,732

Два МРТ-типа статистически значимо различались по возрасту – пациенты первого типа были моложе (ср. возраст $56,4 \pm 8,1$ против $67,1 \pm 6,3$). Среди пациентов первого типа преобладали женщины (58,8%), а второго – мужчины (88,2%). Оба типа не различались по наличию и выраженности сосудистых факторов риска – АГ, СД 2-го типа, ожирению и курению ($p > 0,05$). Пациенты МРТ-типа 1 имели более выраженные КР и меньший балл по МоСА – 21 [17; 23] балл против 24 [21; 26] у второго типа. Согласно результатам нейропсихологического тестирования, КР на стадии деменции выявлены у 35,3% пациентов 1-го типа, 29,4% – у пациентов 2-го типа, УКР у 58,8% и 35,3%, СубКР у 5,9% и 35,3% соответственно. Однако эти данные не достигли статистической значимости. Что касается типов КР, в обеих группах преобладал смешанный тип. Тяжесть нарушения походки у пациентов двух МРТ типов также не достигла статистической значимости, однако, во втором типе преобладали легкие нарушения ходьбы (41,2%), а в первом – умеренные и выраженные (52,9%), кроме того, 2 пациента 1-го типа имели остаточный гемипарез. Наличие тазовых нарушений и псевдобульбарного синдрома также не достигли статистической значимости среди двух типов.

3.2. Молекулярно-генетическое исследование: оценка экспрессии генов при церебральной микроангиопатии

Основные функциональные кластеры оцениваемых генов

Проведена оценка кластеризации отобранных генов, которая установила их принадлежность к 5 функциональным группам регуляции (Рисунок 6):

- 1) провоспалительных реакций, клеточного и гуморального иммунитета, оксидативного стресса;
- 2) сосудистой проницаемости и поддержания ГЭБ, клеточной пролиферации;
- 3) сосудистого тонуса и ренин-альдостерон-ангиотензиновой системы, гормонального контроля гомеостаза сосудистой стенки;
- 4) коагуляции, фибринолиза и организации внеклеточного матрикса;
- 5) клеточного метаболизма, в том числе амилоидогенеза, клиренса В-амилоида, внутриклеточной организации.

В отношении генов данных кластеров ранее были установлены взаимосвязи разной степени выраженности и направленности. Семь генов, имевших разные функциональные свойства, объединились в изолированный кластер.

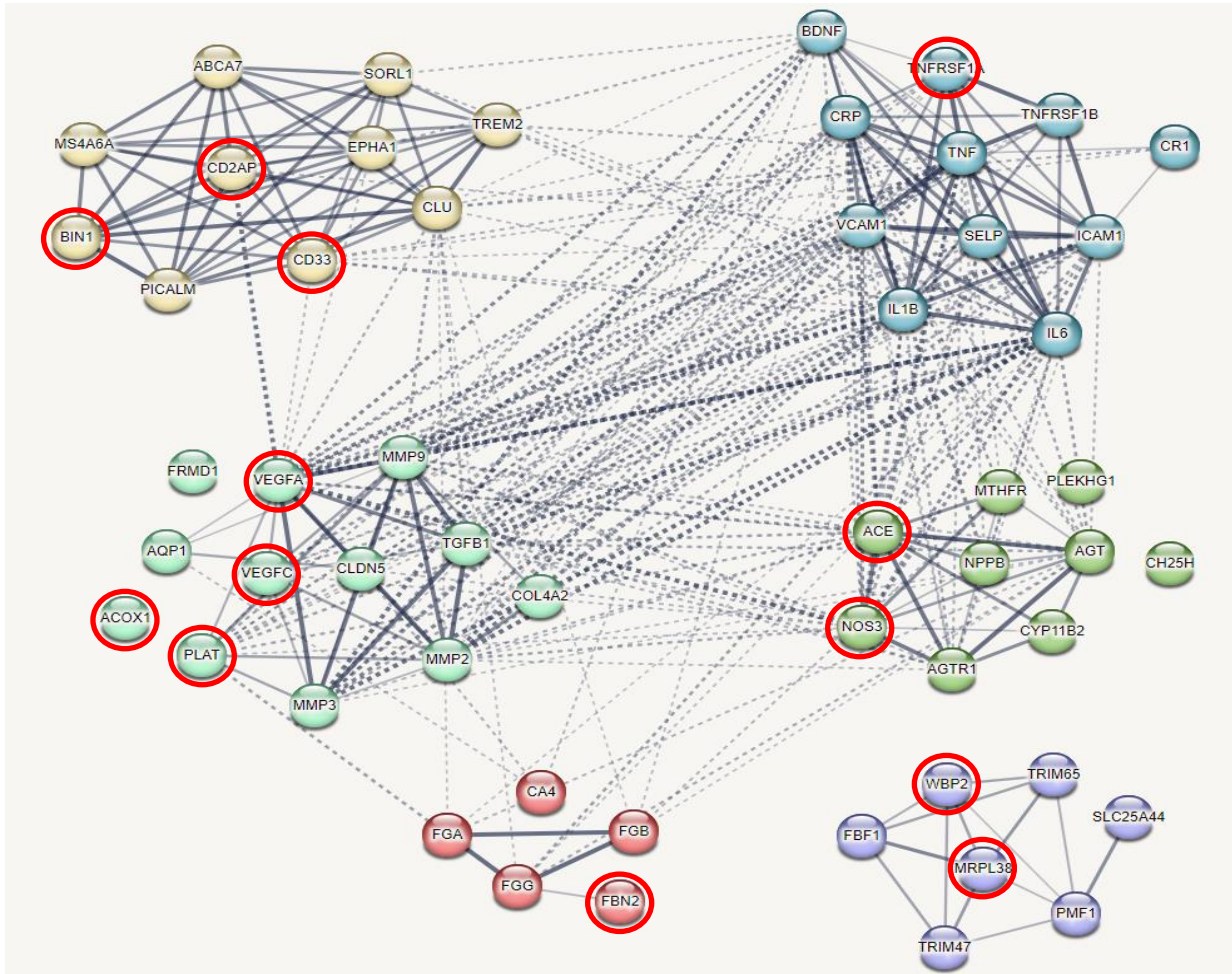


Рисунок 6 – Кластеризация отобранных генов в функциональные группы на основе литературных данных и информации из международных баз данных с умеренным и высоким уровнем достоверности (толщина линий отражает уровень достоверности): желтый – регуляция клеточного метаболизма, в том числе амилоидогенеза, клиренса В-амилоида, внутриклеточной организации; голубой – регуляция провоспалительных реакций, клеточный и гуморальный иммунитет, оксидативный стресс; салатовый – регуляция сосудистой проницаемости, поддержание ГЭБ, клеточная пролиферация; зеленый – васкулярный гормональный контроль, сосудистая ауторегуляция, регуляция ренин-альдостерон-ангиотензиновой системы; красный – коагуляция, фибринолиз и организация внеклеточного матрикса; фиолетовый – изолированный кластер. На рисунке отмечены гены, показавшие свою значимость в данном исследовании

3.2.1. Сопоставление экспрессии генов при церебральной микроангиопатии и в группе контроля

Для визуализации уровня экспрессии генов всех участников построена тепловая карта, которая представлена на Рисунке 7.

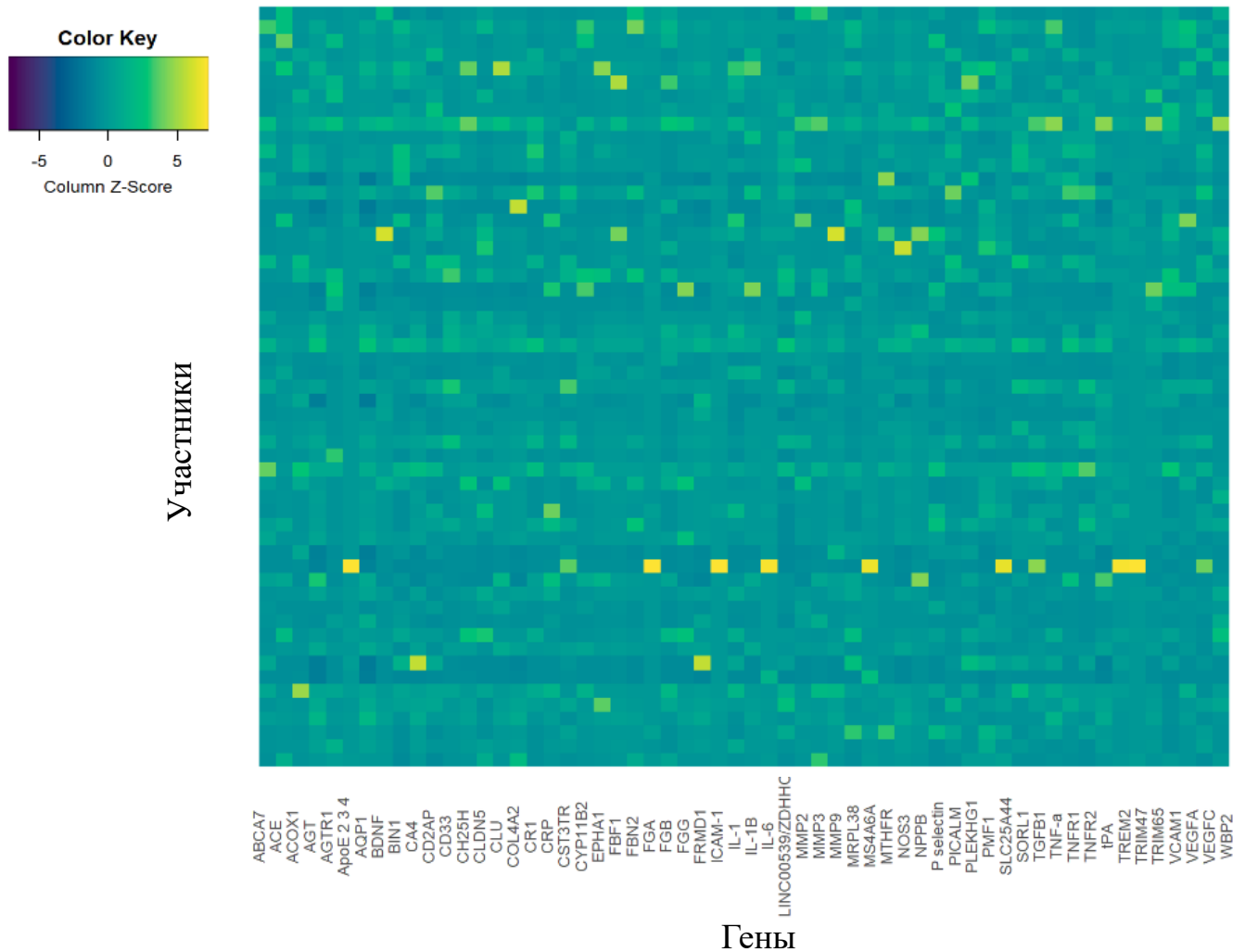


Рисунок 7 – Тепловая карта уровня экспрессии генов обследуемых. Интенсивность синей шкалы отражает снижение, жёлтой — повышение уровня экспрессии

Сравнительный анализ уровней экспрессии генов между пациентами с ЦМА и контрольной группой показал значимое снижение экспрессии *BIN1* ($\log_2FC = -1,272$; $p = 0,039$) и *VEGFA* ($\log_2FC = -1,441$; $p = 0,038$) в основной группе по сравнению с контрольной. Уровень экспрессии *BIN1* у больных ЦМА составил 3,59 [2,24; 6,47] у.е. против 8,65 [4,27; 12,72] у.е. в группе контроля, *VEGFA* – 3,49 [2,28; 7,73] у.е. против 9,54 [2,9; 13,37] у.е., соответственно. Уровни их экспрессии представлены на Рисунке 8.

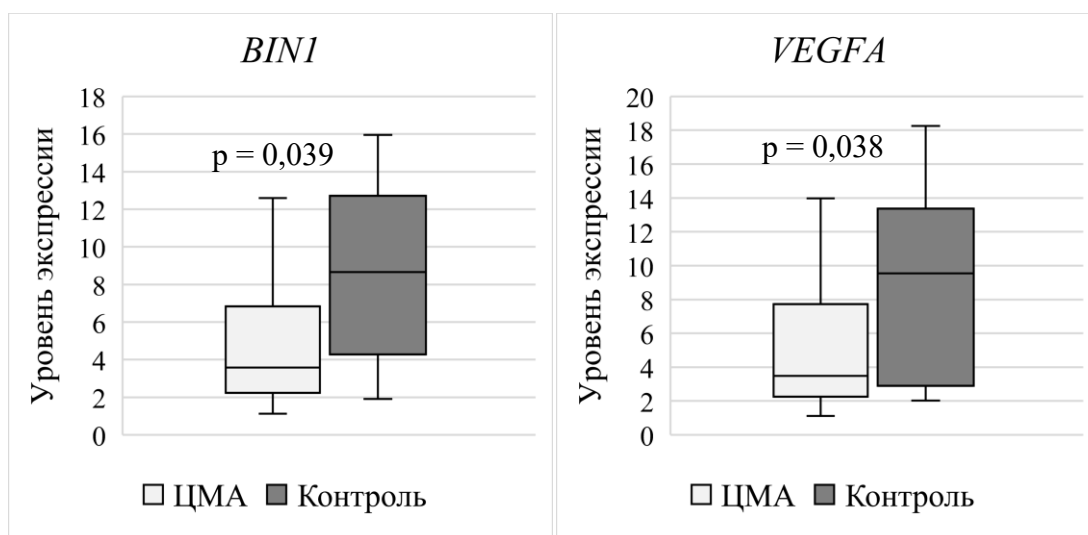


Рисунок 8 – Уровни экспрессии генов *BIN1* и *VEGFA* при ЦМА и в контрольной группе

Методом бинарной логистической регрессии показана предсказательная способность для сниженной экспрессии генов *BIN1* и *VEGFA* в отношении развития ЦМА. Пороговые значения экспрессии данных генов определялись с помощью ROC-анализа (Рисунок 9).

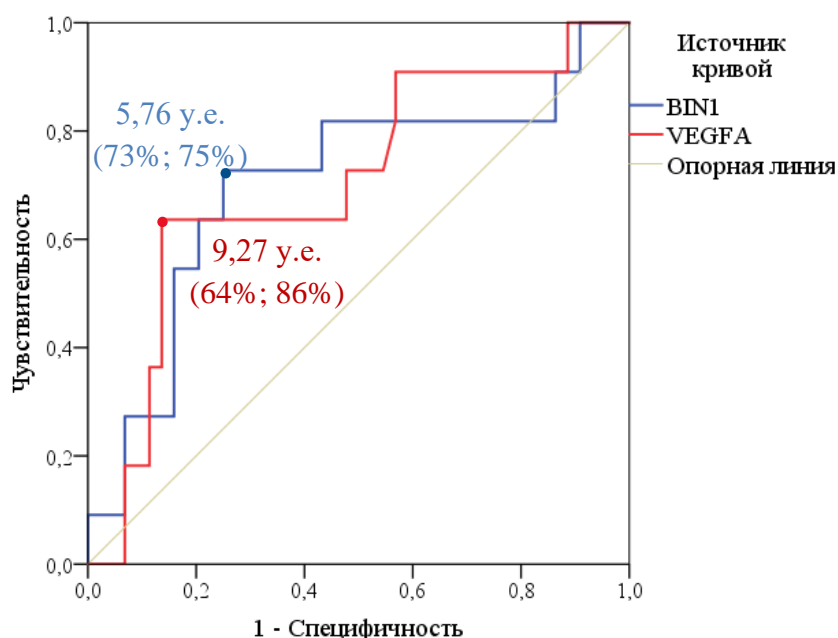


Рисунок 9 – ROC-кривые экспрессии генов *BIN1* и *VEGFA* при ЦМА

Пороговые значения и характеристики области под кривой для генов *BIN1* и *VEGFA* представлены в Таблице 7. Пороговое значение экспрессии гена *BIN1* составило 5,76 у.е. (чувствительность – 73%, специфичность – 75%), *VEGFA* – 9,27 у.е.

(чувствительность – 64%, специфичность – 86%).

Таблица 7

Пороговые значения и характеристики области под кривой экспрессии генов *BINI* и *VEGFA*

Ген	Пороговое значение, у.е.	Чувствительность, %	Специфичность, %	Площадь под кривой	95% ДИ, границы		p
					Нижняя граница	Верхняя граница	
<i>BINI</i>	5,76	73	75	0,702	0,51	0,89	0,039
<i>VEGFA</i>	9,27	64	86	0,704	0,53	0,88	0,038

Аннотация данных генов по Gene Ontology представлена в Приложении 2.

3.2.2. Сопоставление факторов риска, клинических и нейровизуализационных проявлений церебральной микроангиопатии с экспрессией генов

Факторы риска церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Пол и возраст. Сравнительный анализ уровня экспрессии генов у мужчин и женщин установил значимое изменение активности генов *FGA* ($p = 0,035$) и *FGB* ($p = 0,041$). Уровень экспрессии гена *FGA* был выше у мужчин – 12,84 [3,78; 18,38] у.е. против 6,38 [2,76; 10,69] у.е. у женщин, гена *FGB* выше у женщин – 3,82 [2,13; 7,20] у.е. против 2,18 [1,51; 2,93] у.е. у мужчин.

Корреляционный анализ уровня экспрессии генов и возраста не показал значимых взаимосвязей.

Артериальная гипертензия. У пациентов с ЦМА и АГ по сравнению с контролем без АГ выявлено значимое снижение экспрессии *FGB* ($\log_2FC = -1,847$; $p = 0,003$) и *VEGFA* ($\log_2FC = -1,866$; $p = 0,004$). Сравнительный анализ экспрессии генов у пациентов ЦМА с АГ 2-й и 3-й степеней и контролем без АГ установил значимое снижение экспрессии генов *FBN2*, *PLAT* и *NOS3* с нарастанием тяжести АГ. Результаты представлены на Рисунке 10.

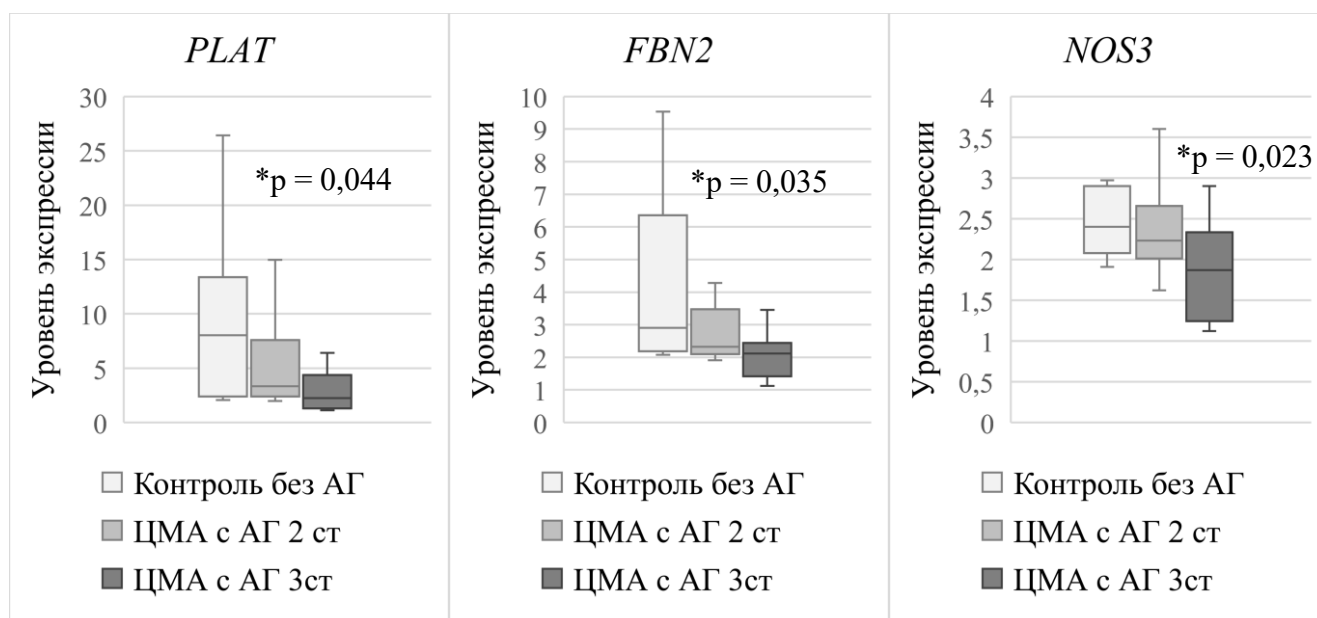


Рисунок 10 – Экспрессия генов *FBN2*, *PLAT* и *NOS3* у пациентов ЦМА с АГ 2-й и 3-й степеней и в группе контроля. * – значимые различия для АГ 2 степени и АГ 3 степени при ЦМА

Сопоставление экспрессии генов с наличием гипертонических кризов выявило снижение экспрессии *WBP2* ($\log_2FC = -2,03$; $p = 0,01$) у пациентов с АГ кризового течения, по сравнению с пациентами без кризов. Уровень экспрессии *WBP2* составил 13,72 [2,00; 52,30] у.е. при АГ кризового течения, против 56,04 [12,92; 119,49] у.е. при АГ без кризов.

Аннотация данных генов по Gene Ontology представлена в Приложении 2.

При проведении сравнительного анализа остальных оцениваемых сосудистых ФР (сахарный диабет, гиперлипидемия, ожирение и курение) с экспрессией отобранных генов значимых различий не выявлено.

Клинические проявления церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Для уточнения роли изменения экспрессии отобранных генов в развитии и тяжести КР при ЦМА, проводился сравнительный анализ уровня их экспрессии с результатами нейропсихологического тестирования.

Установлены значимые связи сниженной экспрессии генов *VEGFA* ($p = 0,011$), *VEGFC* ($p = 0,017$) и *CD2AP* ($p = 0,044$) и развитием более тяжелых КР (УКР и деменция) (Рисунок 11). При сопоставлении СубКР с уровнем экспрессии генов значимых различий не получено.

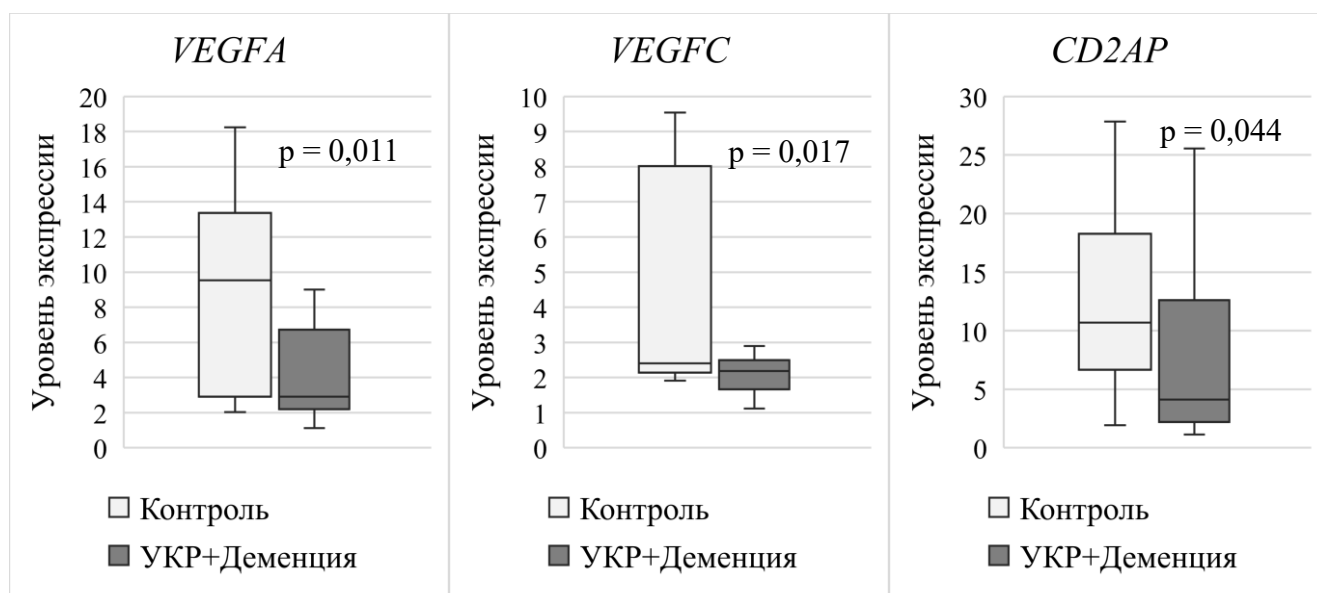


Рисунок 11 – Экспрессия генов *VEGFA*, *VEGFC* и *CD2AP* у пациентов с ЦМА и клинически выраженными КР (УКР и деменция) и в группе контроля

Корреляционный анализ уровня экспрессии генов и результатов расширенного когнитивного тестирования выявил значимые прямые корреляционные связи баллов по МоСА с активностью генов *ACE* и *VEGFC*; значений теста беглости речи – с *ACE*, *VEGFA* и *VEGFC* и теста заучивания 10 слов – с *BINI* и *VEGFC*. Результаты анализа представлены в Таблице 8.

Таблица 8

Взаимосвязи экспрессии генов с результатами когнитивного тестирования
(корреляционный анализ Пирсона ** $p < 0,001$, * $p < 0,05$)

Ген	Шкала МоСА (баллы)	Беглость речи (слова)	Тест заучивания 10 слов (слова)
<i>ACE</i>	0,300*	0,288*	0,259
<i>BINI</i>	0,188	0,081	0,277*
<i>VEGFA</i>	0,260	0,320*	0,235
<i>VEGFC</i>	0,381**	0,334*	0,293*

Для генов, экспрессия которых не показала непосредственных связей с КР ($p > 0,05$), был проведен медиаторный анализ (Рисунок 12). Установлены значимые связи балла по МоСА с экспрессией гена *MRPL38* через нормализованный объем цереброспинальной жидкости (эффект медиатора 94%).

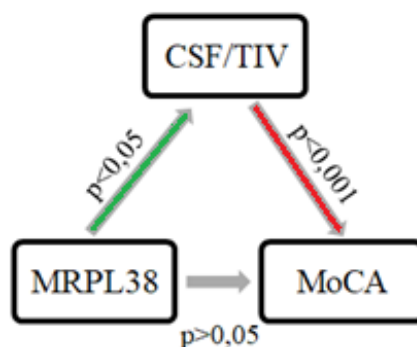


Рисунок 12 – Связь экспрессии *MRPL38* с баллом MoCA через медиатор. Зеленая стрелка – прямая связь, красная стрелка – обратная связь. CSF/TIV – общий объем цереброспинальной жидкости, нормализованный на общий интракраниальный объем. MoCA – Монреальская шкала оценки когнитивных функций

Сопоставление экспрессии генов между типами КР и контролем показало значимые различия для ряда из них. Результаты представлены в Таблице 9. Оба гена имели сниженную экспрессию относительно группы контроля. Среди типов КР уровень *CD2AP* был выше при амнестическом типе и ниже при дизрегуляторном и смешанном типах. Уровень экспрессии *VEGFA* среди типов КР был выше при дизрегуляторном типе и ниже при смешанном и амнестическом типах. Однако, статистически значимые различия при межгрупповом сравнении были получены только для смешанного типа КР относительно группы контроля ($p < 0,05$). Аннотация данных генов по Gene Ontology представлена в Приложении 2.

Таблица 9

Сравнительный анализ уровней экспрессии генов при разных типах КР и в группе контроля

Ген	Контроль (0) (n=11)	MoCA < 26			p	p, post-hoc
		Преим. амнестическ. тип КР (1) (n=6)	Преим. дизрегулятор. тип КР (2) (n=8)	Смешанн. тип КР (3) (n=19)		
<i>CD2AP</i>	10,69 [6,67; 18,28]	9,41 [3,39; 15,21]	8,12 [2,40; 10,80]	3,59 [1,90; 5,49]	0,022	3 - 0, p = 0,05
<i>VEGFA</i>	9,54 [2,90; 13,37]	4,33 [2,83; 6,74]	4,87 [2,40; 6,42]	2,28 [1,87; 4,08]	0,021	3 - 0, p = 0,023

Сопоставление экспрессии генов с наличием и тяжестью психоэмоциональных нарушений (тревога / депрессия) не выявило значимых различий.

Нейровизуализационные проявления церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

В отношении генов, изменение экспрессии которых показали значимость в развитии ЦМА и ее клинических проявлений, проводилось сопоставление с МРТ-признаками ЦМА.

Анализ взаимосвязей уровня экспрессии генов с выраженностью ГИБВ установил значимое снижение экспрессии *VEGFA* с нарастанием ГИБВ по шкале Fazekas ($p = 0,009$). В отношении экспрессии данного гена проведен внутригрупповой сравнительный анализ – сопоставление уровней экспрессии генов с выраженностью ГИБВ по шкале Fazekas. Результаты представлены на [Рисунке 13](#).

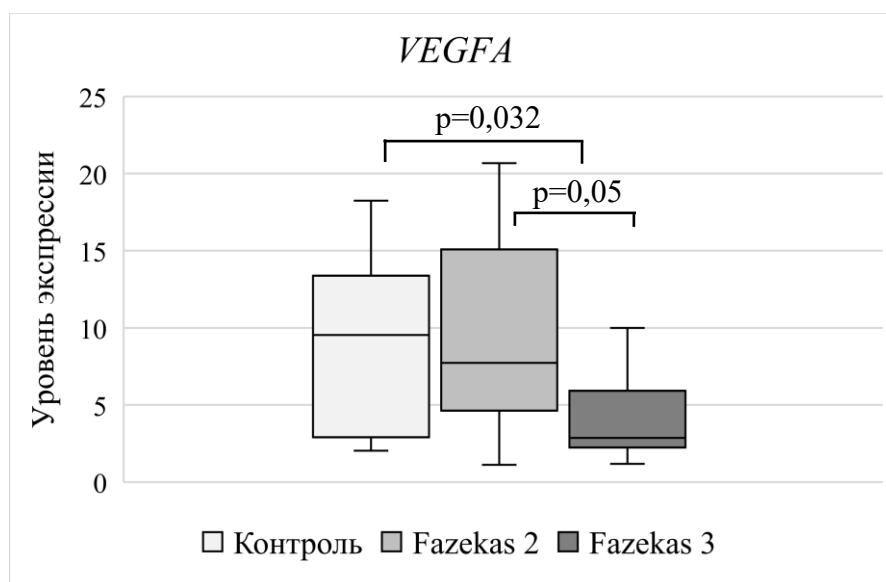


Рисунок 13 – Сравнение уровня экспрессии *VEGFA* при ЦМА с ГИБВ стадий Fazekas 2 и 3 и в контрольной группе

Другие нейровизуализационные признаки ЦМА (лакуны, ЦМК, расширенные ПВП, церебральная атрофия) а также общий балл ЦМА значимых ассоциаций с отобранными генами не показали.

Объемные МРТ-показатели и экспрессия генов

В Таблице 10 представлены результаты корреляционного анализа основных объемных МРТ-показателей изменений белого вещества и компонентов интракраниального пространства с экспрессией генов.

Таблица 10

Взаимосвязи объемных МРТ-показателей с уровнем экспрессии генов (корреляционный анализ Пирсона ****p < 0,001, *p < 0,05**)

Ген	TBV/TIV	WM/TIV	GM/TIV	CSF/TIV	Объем ГИБВ, см ³
<i>BINI</i>	0,337*	0,232	0,276*	-0,337*	-0,173
<i>MRPL38</i>	0,277*	0,154	0,268*	-0,277*	-0,118
<i>VEGFA</i>	0,278*	0,260	0,150	-0,278*	-0,142
<i>VEGFC</i>	0,397**	0,282*	0,315*	-0,397**	-0,130

Сокращения: TBV/TIV – общий объем головного мозга, WM/TIV – общий объем белого вещества, GM/TIV – общий объем серого вещества, CSF/TIV – общий объем цереброспинальной жидкости. Все показатели нормализованы на – общий интракраниальный объем (TIV).

Выявлены значимые корреляции между исследуемыми объемными МРТ-показателями и экспрессией ряда генов. Общий нормализованный объем головного мозга (TBV/TIV) показал прямые, а объем ЦСЖ (CSF/TIV) обратные взаимосвязи с уровнем экспрессии генов *BINI*, *MRPL38*, *VEGFA* и *VEGFC*. Установлены прямые взаимосвязи объема белого вещества головного мозга (WM/TIV) с уровнем экспрессии *VEGFC*; объема серого вещества (GM/TIV) – с *BINI*, *MRPL38* и *VEGFC*. Достоверных корреляций экспрессии генов и показателей объема ГИБВ, измеренного методом повоксельной морфометрии, не получено. Аннотация данных генов по Gene Ontology представлена в Приложении 2.

МРТ-типы церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Сравнительный анализ экспрессии генов между МРТ-типами пациентов стадии Fazekas 3 и контролем выявил значимые различия ($p < 0,05$) для генов *ACO1*, *CD33*, *CD2AP*, *TNFR1* и *VEGFC*. Два МРТ-типа различались по уровню экспрессии *CD33*, при значимом снижении его экспрессии при МРТ-типе 2 по сравнению с контролем ($p = 0,05$). Экспрессия генов при МРТ-типе 1 не имела значимых различий с группой

контроля. МРТ-тип 2 характеризовался снижением экспрессии генов *ACOX1*, *CD2AP*, *CD33*, *TNFR1*, *VEGFC* по сравнению с контролем. Результаты сравнительного анализа двух МРТ-типов и контрольной группы по уровню экспрессии генов представлены на Рисунке 14.

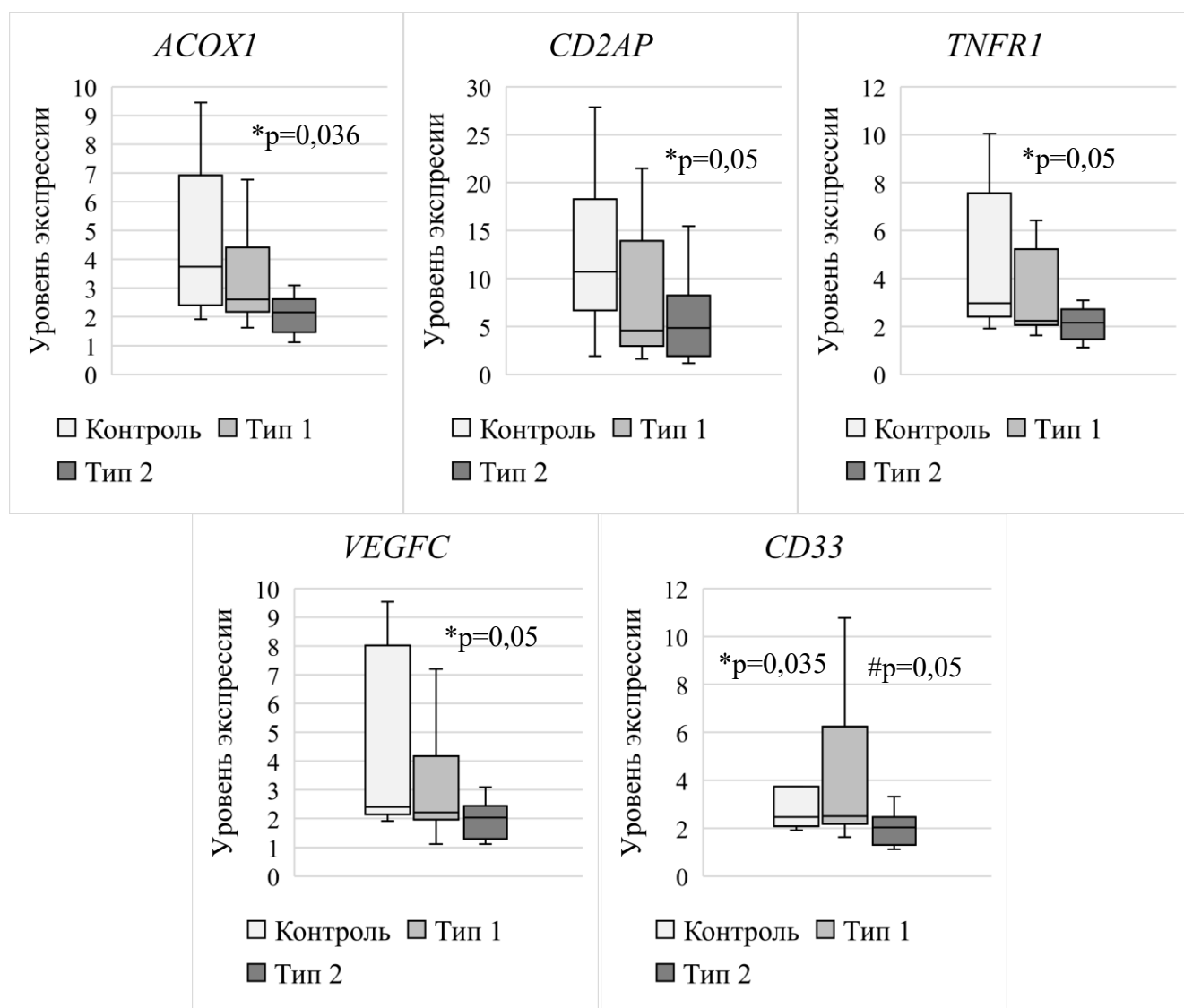


Рисунок 14 – Сопоставление уровня экспрессии генов между двумя МРТ-типами ЦМА с ГИБВ стадии Fazekas 3 и контролем. * – значимые различия с контролем; # – значимые различия между МРТ-типами

На Рисунке 15 представлена тепловая карта результатов иерархического кластерного анализа экспрессии генов пациентов МРТ-типа 2 с ГИБВ стадии F3 и группы контроля. В анализ были включены гены, показавшие значимые различия от

контроля для всей группы ЦМА и МРТ-типа 2 с ГИБВ стадии F3 – *BIN1*, *VEGFA*, *VEGFC*, *CD2AP*, *CD33*, *TNFR1* и *ACOX1*.

В первый кластер вошли участники контрольной группы и 3 пациента МРТ-типа 2 с ГИБВ стадии F3, имеющие в соответствии с цветовой шкалой более высокий уровень экспрессии генов, чем во втором кластере, объединивших пациентов МРТ-типа 2 с ГИБВ стадии F3 со сниженной экспрессией.

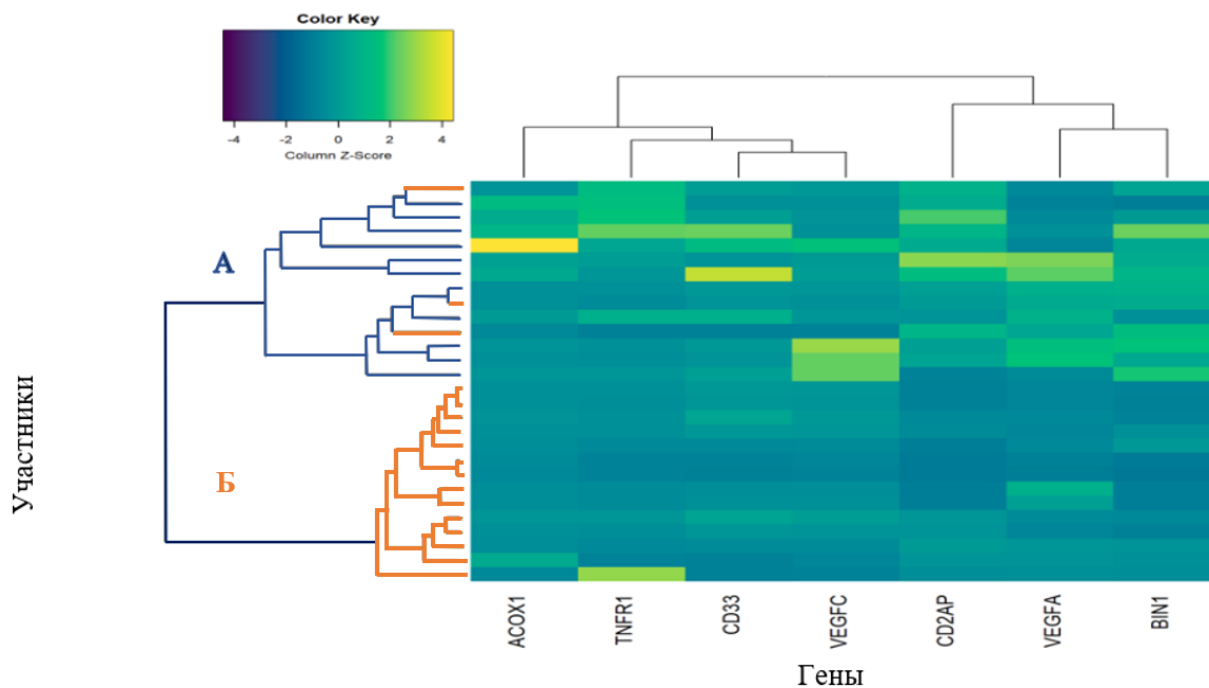


Рисунок 15 – Тепловая карта экспрессии генов пациентов МРТ-типа 2 с ГИБВ стадии F3 и группы контроля. А – группа контроля, Б – основная группа. Нарастание интенсивности синей шкалы отражает снижение уровня экспрессии, жёлтой – увеличение

Сравнительный анализ экспрессии генов пациентов второго МРТ-типа ЦМА стадии F3 с клинически выраженными КР (УКР и деменция) и группой контроля установил значимые различия ($p < 0,05$) для генов *ACOX1*, *BIN1*, *CD2AP*, *CD33*, *TNFR1*, *VEGFA* и *VEGFC* (Рисунок 16).

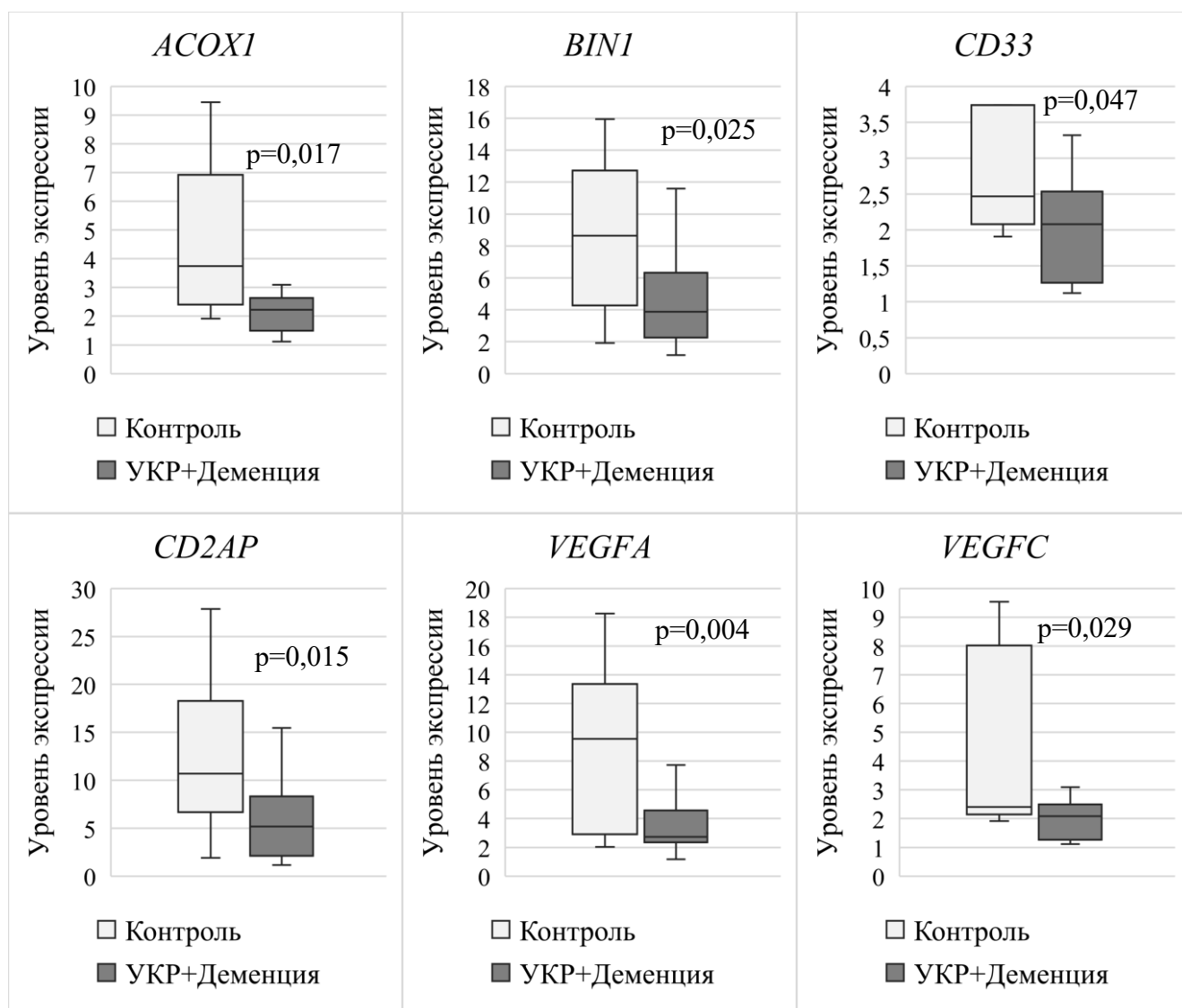


Рисунок 16 – Экспрессия генов у пациентов второго МРТ-типа ЦМА с клинически выраженными КР (УКР и деменция) и группе контроля

Потенциальная прогностическая ценность изменения экспрессии данных генов в отношении развития клинически выраженных КР у пациентов второго МРТ-типа оценивалась с помощью ROC-анализа (Рисунок 17).

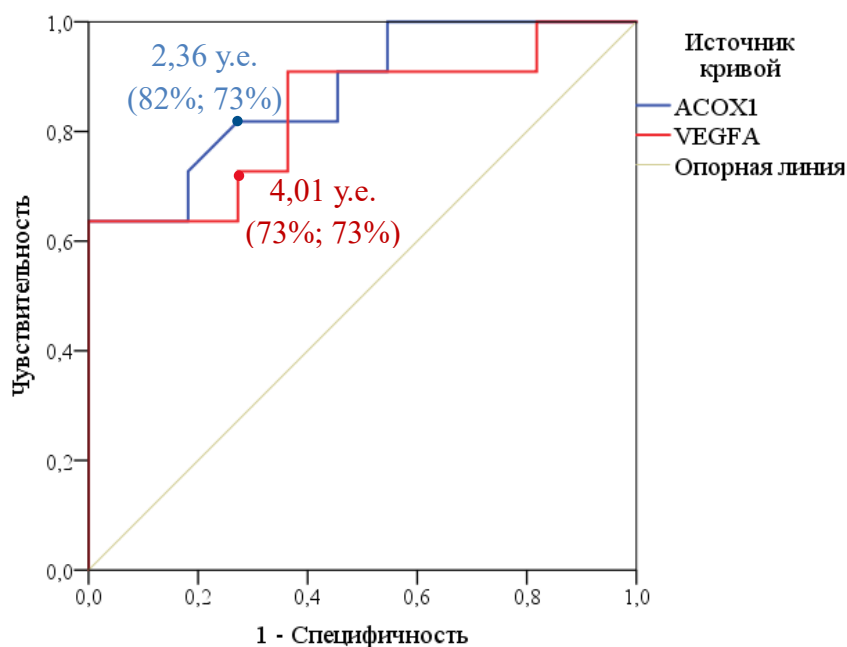


Рисунок 17 – ROC-кривая прогностической ценности сниженной экспрессии *ACOX1* и *VEGFA* в отношении развития клинически значимых КР (УКР и деменции) при ЦМА второго МРТ-типа с ГИБВ стадии F3

ROC-анализ показал умеренную прогностическую ценность снижения экспрессии установленных генов в отношении развития УКР и деменции при втором МРТ-типе ЦМА. Характеристики и пороговые значения экспрессии генов с наибольшей предсказательной способностью для развития клинически выраженных КР при втором МРТ-типе ЦМА представлены в Таблице 11. Аннотация данных генов по Gene Ontology представлена в Приложении 2.

Таблица 11

Пороговое значение и характеристики области под кривой генов *ACOX1* и *VEGFA* в отношении развития УКР и деменции при МРТ-типе 2 ЦМА

Ген	Пороговое значение, у.е.	Чувствительность, %	Специфичность, %	Площадь под кривой	95% ДИ, границы		p
					Нижняя граница	Верхняя граница	
<i>ACOX1</i>	2,36	82	73	0,872	0,73	1,00	0,003
<i>VEGFA</i>	4,01	73	73	0,835	0,66	1,00	0,008

3.2.3. Подтверждение результатов методом количественной ПЦР в реальном времени

Результаты, полученные на платформе NanoString nCounter, были подтверждены методом ПЦР в реальном времени. Экспрессия мРНК исследуемых генов была снижена в основной группе по сравнению с контрольной: *ACOX1* ($p = 0,021$), *BIN1* ($p = 0,013$), *CD2AP* ($p = 0,019$), *TNFR1* ($p = 0,026$), *VEGFA* ($p = 0,011$).

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Настоящее исследование было направлено на изучение связи клинических и нейровизуализационных проявлений ЦМА с особенностями профиля экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, оцененной на анализаторе NanoString nCounter.

ЦМА – крайне актуальное неврологическое заболевание, поскольку является значимой причиной развития ишемических и геморрагических инсультов, когнитивных расстройств, в том числе и смешанных с нейродегенерацией форм, а также значимым фактором инвалидизации у пациентов старших возрастных групп. ЦМА остается заболеванием с неуточненными патогенетическими механизмами. Классически заболевание рассматривается в рамках патологии, ассоциированной с факторами сосудистого риска. По мере изучения патогенетических путей стала очевидна роль эндотелиальной дисфункции, повышенной проницаемости ГЭБ и воспаления в развитии и прогрессировании ЦМА. Данные механизмы показаны в клинических исследованиях с использованием биохимических маркеров воспалительного профиля [Добрынина Л.А. и др., 2016; Забитова М.Р., 2019; Evans L.E. et al., 2021; Low A. et al., 2019], патоморфологических исследованиях [Tomimoto H. et al., 1996; Akiguchi I. et al., 1998; Simpson J.E. et al., 2007b; Gouw A.A. et al., 2011; Wharton S.B. et al., 2015; Forsberg K.M.E. et al., 2018] и методами нейровизуализации у пациентов с ЦМА [Low A. et al., 2021; Walsh J. et al., 2021; Solé-Guardia G. et al., 2023].

Кроме того, общность воспаления и ассоциированных с ним механизмов в развитии ЦМА и БА [Cribbs D.H. et al., 2012; Zimmer E.R. et al., 2014; Gomez-Nicola D., Boche D., 2015; Nazem A. et al., 2015; Wilcock D.M. et al., 2015; Lagarde J. et al., 2018; Chandra A. et al., 2019], позволяет предполагать роль хронического воспаления в формировании коморбидности двух патологий [Jian B. et al., 2020; Poudel P., Park S., 2022]. Развитие высокопроизводительных генетических методов диагностики позволило установить гены, участвующие в воспалении, ассоциированных с ним процессах и функционировании иммунной системы при ЦМА [Fornage M. et al., 2011; Verhaaren B.F.J. et al., 2015; Haffner C. et al., 2016; Armstrong N.J. et al., 2020; Knol M.J. et al., 2020; Li H.Q. et al., 2020; Persyn E. et al., 2020; Sargurupremraj M. et al., 2020] и БА [Naj A.C. et al., 2011; Kamboh M.I. et al., 2012; Lambert J.C. et al., 2013; Almeida J.F.F. et al., 2018; McQuade A., Blurton-Jones M., 2019; Bellenguez C. et al., 2020].

Нами был использован оригинальный подход к созданию индивидуальной панели экспрессии генов для анализатора NanoString nCounter. При отборе ключевых генов, ассоциированных с путями воспаления, на первом этапе были проанализированы результаты полногеномных исследований ассоциаций в отношении ЦМА – самой ЦМА, АГ – ее основного фактора риска, диагностических нейровизуализационных признаков (ГИБВ, лакуны и ЦМК), а также при БА. На втором этапе были проанализированы исследования по изучению циркулирующих воспалительных маркеров в крови, которые показали свою значимость в повреждении мозга и сосудистой стенки при ЦМА с КР и определены, соответствующие им гены. На третьем этапе были отобраны гены, показавшие воспроизводимые результаты при повторных GWAS при ЦМА и БА, а также гены циркулирующих маркеров, ассоциированных с поражением сосудистой стенки и мозга при ЦМА. Таким образом, проект вновь созданной панели оценки экспрессии генов для платформы NanoString nCounter включил 58 генов, ассоциированных с путями воспаления.

Кластеризация отобранных генов на основе литературных данных и информации из международных баз данных с умеренным и высоким уровнем достоверности установила их принадлежность в 5-ти функциональным группам регуляции: провоспалительных реакций, клеточного и гуморального иммунитета, оксидативного стресса; сосудистой проницаемости и поддержания ГЭБ, клеточной пролиферации; сосудистого тонуса и ренин-альдостерон-ангиотензиновой системы, гормонального контроля гомеостаза сосудистой стенки; коагуляции, фибринолиза и организации внеклеточного матрикса; клеточного метаболизма, в том числе амилоидогенеза, клиренса В-амилоида, внутриклеточной организации. Семь генов, имевших разные функциональные свойства, объединились в изолированный кластер. Все установленные в результате кластеризации пути ранее продемонстрировали значимость в патогенезе ЦМА [Wardlaw J.M. et al., 2013b; 2019; Poggesi A. et al., 2016; Low A. et al., 2019; Evans L.E. et al., 2021].

В исследование были включены пациенты, которые обратились в ФГБНУ «НЦН» с когнитивными жалобами и имели признаки ЦМА по данным МРТ (в соответствии с критериями STRIVE). Мы тщательно отбирали пациентов для забора крови и проведения молекулярно-генетического исследования, исключая факторы, которые потенциально могли способствовать изменению уровня экспрессии отобранных генов. В

исследование не включались пациенты в остром или подостром периоде (до 3-х месяцев) малого субкортикального инфаркта; пациенты, перенесшие острые инфекционные заболевания, в том числе COVID-19, обострение хронического заболевания (в течение 3-х месяцев); пациенты, имеющие декомпенсированную соматическую и аутоиммунную патологию. Кроме того, мы исключили из исследования пациентов с ЦМА, у которых в ЦСЖ были выявлены маркеры БА (снижение Аβ, повышение тау-протеина), что соответствует смешанным с нейродегенерацией формам. По результатам молекулярно-генетического исследования мы также исключили участников, чьи образцы не прошли контроль качества в программе nSolver.

На первом этапе мы оценили демографические данные, основные факторы сердечно-сосудистого риска, клинические проявления заболевания и нейровизуализационные признаки. Наша группа имела классические клинические проявления и факторы риска, что соотносится с предыдущими исследованиями ЦМА отечественных и зарубежных авторов [Кулеш А.А. и др., 2018; Воробьева О.В., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2022с; Wardlaw J.M. et al., 2013а; 2019; Cannistraro R.J. et al., 2019; Low A. et al., 2022]. Среди факторов сосудистого риска группа ЦМА отличалась от контрольной по наличию и тяжести течения АГ, остальные факторы риска (СД, курение, ожирение, дислипидемия) значимых различий не показали. Ведущими клиническими проявлениями ЦМА были КР, которые имели 100% пациентов, нарушение походки, псевдобульбарный синдром, психоэмоциональные нарушения и тазовые расстройства. КР представлены субъективными – 25% пациентов, умеренными – 47,7% и деменцией – 27,3%. Нейровизуализационные проявления ЦМА соответствовали диагностическим критериям STRIVE – ГИБВ, лакуны, ЦМК, расширенные ПВП и церебральная атрофия. Большинство пациентов имели 2 и более диагностических МР-признака.

При сравнении двух МРТ типов ЦМА, установленных в предыдущих исследованиях на основании кластеризации диагностических МРТ-признаков ЦМА, на стадии ГИБВ Fazekas 3 показаны различия в тяжести течения заболевания. Пациенты 1-го МРТ-типа ЦМА по сравнению со 2-м МРТ-типом, имели более выраженные КР, меньший балл по MoCA и более выраженные нарушения походки, что соответствует предыдущим исследованиям [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et al., 2020b]. Однако в нашем исследовании данные по нарушению походки не достигли статистической значимости, что вероятно связано с небольшим

размером выборки. В подтверждение более тяжелого течения и быстрого прогрессирования заболевания нами показано, что пациенты 1-го типа были моложе.

Оценка экспрессии генов на оригинальной панели для анализатора NanoString nCounter у пациентов с церебральной микроангиопатией и в группе контроля

Мы оценили экспрессию генов с использованием собственной оригинальной панели для анализатора NanoString nCounter у участников основной и контрольной групп. Для уточнения генов, изменение экспрессии которых может быть значимо в развитии и прогрессировании ЦМА, проведено сравнение их экспрессии в основной и контрольной группах. Установлена возможность предикции ЦМА на основе снижения экспрессии *BINI* и *VEGFA* ниже порогового уровня.

Нам не удалось обнаружить в доступной литературе исследований по изучению уровня экспрессии *BINI* при ЦМА. Исходя из изученных функций *BINI*, установленная в данном исследовании возможность предикции ЦМА по сниженному уровню экспрессии данного гена, может быть сопряжена с истощением его возможности осуществлять трансцитоз А β из головного мозга через ГЭБ в просвет сосуда. Данное предположение подтверждается результатами проспективного когортного исследования на популяции в 75 тысяч человек, показавшего, что генотип *BINI rs673383* имеет высокий шанс развития сосудистой деменции – 1,71 (95% доверительный интервал 1,18 – 2,49) по сравнению с 1,42 (1,22 – 1,64) при БА и 1,12 (1,04 – 1,22) при инсульте. Что демонстрирует важность клатрин-опосредованного эндоцитоза при клиренсе А β через ГЭБ для целостности как мозговой ткани, так и церебральных сосудов [Juul Rasmussen I. et al., 2019]. Другим обсуждаемым механизмом участия измененной экспрессии *BINI* в развитии ЦМА может быть установленная для него роль в поддержании нейровоспаления и ассоциированных с ним путей [Tan M.S. et al., 2013; Miyagawa T. et al., 2016]. Нельзя исключить и связь сниженной экспрессии *BINI* с характерными для ЦМА процессами демиелинизации, обусловленными ишемией / гипоксией в зоне стенозированных мелких сосудов и вазогенного отека из-за повреждения ГЭБ [Добрынина Л.А. и др., 2016а; Добрынина Л.А. и др., 2018с; Zhang C.E. et al., 2019], как это установлено в отношении рассеянного склероза [De Rossi P. et al., 2016].

Другим установленным геном, чья сниженная экспрессия ассоциирована с тяжелым течением ЦМА, был *VEGFA*. Среди исследователей нет однозначного

понимания о вкладе гена *VEGFA* в развитие и прогрессирование хронической цереброваскулярной патологии. Семейство белков VEGF обладает нейропротекторными свойствами за счет ингибирования апоптоза и стимуляции роста нейронов и клеток глии во время нейрогенеза после острого повреждения [Tsukahara T. et al., 1994; Lange C. et al., 2016]. В эксперименте установлено повышение уровня VEGF-A в ткани головного мозга и крови в условиях острой ишемии [Zhang Z.G. et al., 2000; Prodjoardjono A. et al., 2020]. Ранее проведенные исследования при хронической цереброваскулярной патологии установили повышение экспрессии гена *VEGFA* [Shimotake J. et al., 2010; Dzierko M. et al., 2013; Park J.M., 2018], что рассматривалось авторами как компенсаторное повышение для ремоделирования мелких церебральных сосудов. Несогласованность данных результатов с нашими данными может быть объяснена разной длительностью заболевания и тяжестью поражения мозга и эндотелия сосудов, который синтезирует VEGF-A. Так Т.С. Гулевская и соавт. (1992) установили значимое повреждение эндотелия при тяжелой гипертонической ЦМА, предполагая его функциональную несостоятельность [Гулевская Т.С., Людковская И.Г., 1992]. Ранее у пациентов с ЦМА на стадии распространенной сливной ГИБВ был выделен МРТ-вариант (первый МРТ-тип ЦМА), соответствующий более тяжелым КР и нарушениям ходьбы, связанный со снижением VEGF-A в крови [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina, L.A. et al., 2020b]. Поскольку VEGF-A синтезируется в основном в эндотелии [Miyamoto N. et al., 2014], снижение его уровня позволяет предположить связь данного МРТ-варианта с истощением и значимым повреждением эндотелия мелких церебральных сосудов [Добрынина Л.А. и др., 2020]. Данное предположение подтверждается наличием при первом МРТ-типе значительного числа лакун в белом веществе и подкорковых структурах. Другими отечественными исследователями также показано снижение VEGF-A в крови у пациентов с хронической ишемией головного мозга [Воскресенская О.Н. и др., 2016].

Факторы риска церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

АГ – основной фактор риска развития ЦМА. Для уточнения генов, изменение экспрессии которых связано с особенностями АГ, было проведено сопоставление их экспрессии у пациентов с ЦМА и АГ и участников контрольной группы без АГ. Установлены различия в экспрессии генов *FGF* и *VEGFA* у пациентов с ЦМА и АГ по

сравнению с контролем. При сопоставлении уровней экспрессии генов у пациентов с АГ 2-й и 3-й степеней и группы контроля установлено, что с нарастанием степени АГ снижается экспрессия *FBN2*, *PLAT* и *NOS3*. Сопоставление наличия гипертонических кризов с экспрессией генов выявило снижение экспрессии *WBP2* у пациентов с АГ кризового течения, по сравнению с пациентами без кризов.

VEGF-A (ген *VEGFA*), как уже указывалось выше, является основным фактором ангиогенеза и экспрессируется преимущественно эндотелиальными клетками [Ferrara N., 2005]. Установлено несколько полиморфизмов в гене *VEGFA*, ассоциированных со снижением его экспрессии и уровня VEGF-A в крови (генотип AA для полиморфизмов *g-2578C>A* или *g.-1154G>A*) [Shahbazi M. et al., 2002; Lambrechts D. et al., 2003]. Роль VEGF-A в развитии АГ показана как на экспериментальных лабораторных животных, так и людях [Li B. et al., 2002; Sane D.C. et al., 2004]. Помимо того, что VEGF-A является мощным ангиогенным фактором и обеспечивает пролиферацию, миграцию и выживание эндотелиальных клеток [Ferrara N., 2005], он еще способствует регуляции АД за счет активации эндотелиальной синтазы оксида азота и стимуляции синтеза эндогенного NO и вазодилатации [Facemire C.S. et al., 2009; Messadi E. et al., 2014]. Ингибирование VEGF-A приводит к снижению выработки NO и блокированию связанной с ним эндотелийзависимой вазодилатации, что приводит к вазоконстрикции, увеличению периферического сопротивления в микроциркуляторном русле и гипертензии [Moslehi J.J., 2016; Quintanilha J.C.F. et al., 2022]. Известно, что внутривенное введение VEGF-A сопряжено со снижением АД у людей и лабораторных животных [Messadi E. et al., 2014]. Показано, что пациенты с АГ имеют более низкие уровни VEGF-A и NO-ассоциированных маркеров по сравнению со здоровыми субъектами [Vyzantiadis T. et al., 2006], а лечение ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) сопряжено с увеличением экспрессии VEGF-A [Ebrahimian T.G. et al., 2005; Yazawa H. et al., 2011]. Кроме того, известно, что подавление факторов ангиогенеза и следовательно снижение плотности капилляров и артериол повышает периферическое сосудистое сопротивление, что также приводит к АГ [Ciuffetti G. et al., 2003].

Ген *FGB* кодирует бета-цепь фибриногена. В доступной литературе нет однозначного мнения по поводу участия фибриногена и кодирующих его генов в развитии АГ. Установлены полиморфизмы в гене *FGB*, ассоциированные с развитием АГ преимущественно у мужчин [Ong K.L. et al., 2010]. В нескольких исследованиях

показана связь уровня фибриногена плазмы с развитием АГ у мужчин [Shankar A. et al., 2006; Ong K.L. et al., 2010; Jae S.Y. et al., 2015]. Роль сниженной экспрессии *FGB* в развитии АГ при ЦМА, установленная нами, требует дальнейшего уточнения на большей группе пациентов.

Ген *NOS3* экспрессируется преимущественно эндотелиальными клетками сосудов и кодирует эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS), катализирующую превращение L-аргинина в оксид азота, который является системным вазодилататором и за счет расширения сосудов способствует снижению артериального давления [Gamboa A. et al., 2007]. Эндотелиальная дисфункция и сниженная продукция или биодоступность NO являются установленными факторами развития АГ [Xu S., Touyz R.M., 2006]. Механизмы, лежащие в основе снижения доступности NO при АГ многофакторны. Одним из них является сниженная экспрессия eNOS. В многочисленных исследованиях на лабораторных животных показано, что экспрессия eNOS значительно снижена в артериях у крыс со спонтанной гипертензией [Ulker S. et al., 2003; Sanchez M. et al., 2006; Leo F. et al., 2021], а сверхэкспрессия eNOS позволяет предотвратить развитие гипертензии у лабораторных животных [Gava A.L. et al., 2008; Jian J., Xia L., 2021]. Низкая экспрессия eNOS приводит к снижению синтеза NO, нарушению вазодилатации и развитию АГ [Touyz R.M., Schiffrin E.L., 2004; El-Remessy A.B. et al., 2010]. С чем согласуются полученные в данном исследовании результаты о снижении экспрессии гена *NOS3* при АГ 2-й и 3-й степеней по сравнению с контролем. В свою очередь, артериальная гипертензия дополнительно усугубляет эндотелиальную дисфункцию, тем самым запуская «порочный круг». Кроме того, повреждение эндотелия и его функциональная несостоятельность при тяжелой ЦМА [Гулевская Т.С., Людковская И.Г., 1992], еще больше снижает экспрессию *NOS3*, что нарушает церебральную ауторегуляцию.

Ген *PLAT* кодирует белок тканевой активатор плазминогена (tPA), синтезируемый эндотелиальными клетками, основной функцией которого является активация плазминогена с образованием его активной формы плазмина, участвующего в фибринолизе. Эндотелиальная дисфункция, играющая значимую роль в развитии АГ и дополнительно усугубляемая на фоне АГ, приводит к нарушению фибринолитической функции эндотелия и снижению секреции tPA [Giannarelli C. et al., 2008; Lip G.Y., Blann A.D., 2008]. Нам не удалось обнаружить в доступной литературе данных по

исследованиям экспрессии гена *PLAT* при АГ. Однако, установленная нами сниженная экспрессия гена *PLAT* при АГ 2-й и 3-й степеней наиболее вероятно связана с развитием эндотелиальной дисфункции при тяжелой АГ и снижением фибринолитической активности эндотелия сосудов.

Ген *FBN2* кодирует белок фибриллин-2, который является структурной частью микрофибрилл соединительной ткани и участвует в образовании эластических волокон клетки [Trask T.M. et al., 1999]. Фибриллин-2 играет ведущую роль в формировании внеклеточного матрикса соединительной ткани, в том числе в кровеносных сосудах, обеспечивая структурную функцию и придавая упруго-эластические свойства сосудистой стенке. Мутации в гене *FBN2* ассоциированы с развитием наследственной патологии соединительной ткани – врожденной контрактурной арахнодактилии, которая фенотипически сходна с синдромом Марфана. Кроме того, установлена роль полиморфизмов в гене *FBN2* в развитии сердечно-сосудистых заболеваний [Kunnas T. et al., 2018]. Исследования по уточнению роли гена *FBN2* в развитии АГ малочисленны. В GWAS на выборке из 422 604 человек показана связь систолической артериальной гипертензии и SNP в гене *FBN2* (*rs6595838*) [Warren H.R. et al., 2017]. Другой SNP в гене *FBN2* (*rs39938*) является значимым локусом для развития лакунарных инфарктов. [Chauhan G. et al. 2019]. На основании известных функций фибриллина-2 можно предположить, что установленное нами снижение экспрессии гена *FBN2* по мере нарастания степени АГ, связано с дисфункцией внеклеточного матрикса и нарушением структурных и эластических свойств сосудистой стенки как крупных артерий, так и сосудов микроциркуляторного русла. Изменение структурных и эластических свойств сосудистой стенки с последующим нарушением ауторегуляции сосудов и развитием эндотелиальной дисфункции может быть одним из компонентов патогенеза АГ.

Ген *WBP2* кодирует белок-2, связывающий домен WW, который является транскрипционным коактиватором альфа-рецептора эстрогена и рецептора прогестерона [Dhananjayan S.C. et al., 2006]. *WBP2* наиболее часто изучается при онкологических заболеваниях. Его функциональная роль в норме и при патологии окончательно не установлена. Исследования по уточнению роли белка или гена *WBP2* при ЦМА или АГ не проводились. Существует единственный мета-анализ данных GWAS при ГИБВ на группе из 9361 человек европейского происхождения, установивший ассоциацию SNP в гене *WBP2* с ГИБВ [Fornage M. et al., 2011]. Так же есть единичные исследования,

предполагающие роль белка WBP2 в функционировании эпителиальных натриевых каналов и развитии редкой наследственной формы резистентной АГ (Синдром Лиддла) [Sudol M., 1996; Staub O. et al., 1997]. Можно предполагать, что установленное в исследовании снижение экспрессии гена *WBP2* при АГ кризового течения, обусловлено патологией эпителиальных натриевых каналов, что приводит к увеличению реабсорбции натрия в собирательных канальцах и секреции калия, подобно тому, как это происходит при синдроме Лиддла [Sudol M., 1996; Staub O. et al., 1997].

Клинические проявления церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Сравнение экспрессии генов у пациентов с клинически значимыми КР (УКР и деменция) и участников контрольной группы установило значимое снижение экспрессии генов *VEGFA*, *VEGFC* и *CD2AP*.

Как уже упоминалось выше, для пациентов с ЦМА на стадии распространенной сливной ГИБВ и тяжелых КР характерно снижение уровня VEGF-A в крови [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina, L.A. et al., 2020b]. В нашем исследовании показана значимая связь снижения экспрессии гена *VEGFA* с нарастанием ГИБВ по шкале Fazekas и ухудшением результата теста беглости речи. Наиболее вероятно, снижение уровня экспрессии *VEGFA* происходит в условиях гибели эндотелия мелких церебральных артерий на развернутой стадии заболевания [Людковская И.Г. и др., 1982; Гулевская Т.С., Людковская И.Г., 1992], что ассоциировано с тяжелым ишемическим поражением белого вещества, развитием распространенной ГИБВ и множественных лакун, в том числе в базальных ядрах, что в свою очередь приводит к синдрому разобщения коры и глубоких структур и развитию выраженных КР. Уровень экспрессии *VEGFA* также снижался по сравнению с контролем при разных типах КР (дизрегуляторном, смешанном и амнестическом).

VEGF-C (ген *VEGFC*) является основным фактором лимфангиогенеза [Morfoisse F., Noel A., 2019]. Его активация связана с усиленным клиренсом лимфы, провоспалительных медиаторов и иммунных клеток, выявляемых при различных воспалительных заболеваниях кожи, кишечника и др. [Schwager S. et al., 2019]. В ЦНС *VEGFC* экспрессируется гладкомышечными клетками кровеносных сосудов [Detry B. et al., 2012]. Он индуцирует менингеальный лимфангиогенез [Cao X. et al., 2018], обеспечивает функционирование лимфатической системы и сдерживание

нейровоспаления [Louveau A. et al., 2018; Hsu S.J. et al., 2021]. В литературе мы не встретили исследований по оценке роли экспрессии *VEGFC* при ЦМА и его влияния на развитие КР. Однако установленная нами связь данного пути важна для сохранности когнитивных функций, что полностью соответствует установленной ранее ключевой роли VEGF-C в глимфатическом дренировании мозга, сдерживании нейровоспаления и соответственно нарушению в балансе данных процессов при его сниженной экспрессии. Нами установлена прямая корреляционная связь уровня экспрессии *VEGFC* с общим когнитивным уровнем по МоСА, результатами тестирования по тесту отсроченного запоминания и беглости речи, что также подтверждает роль сниженной экспрессии *VEGFC* в развитии КР.

Ген *CD2AP*, как и *BINI*, является компонентом эндолизосомальной системы и участвует в клатрино-опосредованном эндоцитозе [Andrews S.J. et al., 2020]. В доступной литературе нами обнаружено только одно исследование, в котором обсуждается роль *CD2AP* в развитии сосудистой деменции и КР при БА [Juul Rasmussen I. et al., 2019]. Вероятно, сниженная экспрессия *CD2AP* приводит к нарушению клиренса Аβ через ГЭБ, что способствует повреждению церебральных сосудов и ткани мозга, а следовательно, развитию КР [Juul Rasmussen I. et al., 2019]. Среди типов КР уровень *CD2AP* был выше при амнестическом типе и ниже при дизрегуляторном и смешанном типах.

Корреляционный анализ дополнительно позволил выявить гены, изменение экспрессии которых показало связь с результатами когнитивного тестирования.

Установлена прямая корреляционная связь между экспрессией *BINI* и результатами теста запоминания 10 слов, что подтверждает описанную ранее роль сниженной экспрессии *BINI* в развитии ЦМА с КР.

Установлена прямая корреляционная связь между экспрессией гена ангиотензинпревращающего фермента *ACE* и результатами теста МоСА и беглости речи. Участие гена *ACE* в развитии и прогрессировании КР в литературе рассматривалось преимущественно в рамках БА [Sleegers K. et al., 2005; Li Y. et al., 2017]. Установлено несколько полиморфизмов в данном гене, ассоциированных с нарастанием выраженности КР [Sleegers K. et al., 2005; Li Y. et al., 2017], а полиморфизма I/D – с патологией белого вещества головного мозга [Li Y. et al., 2017]. Локальная ренин-ангиотензиновая система мозга оказывает прямое влияние на когнитивные функции.

Ангиотензин II и его метаболиты, образующиеся под действием АПФ, стимулируют нейроны в гиппокампе и миндалинах [Von Bohlen Und Halbach O., 2003], которые являются структурами, важными для памяти и познания. Исследования показали, что АПФ в головном мозге может модулировать мозговой кровоток [Janciauskiene S.M. et al., 2009], разрушать А β [Hemming M.L., Selkoe D.J., 2005] и уменьшать высвобождение ацетилхолина [Richard F., Amouyel P., 2001], тем самым влияя на когнитивные функции.

Установлена обратная связь уровня экспрессии *MRPL38* с общим когнитивным уровнем по MoCA опосредованная через нормализованный объем ЦСЖ. В доступной литературе мы не нашли сведений о роли *MRPL38* в развитии КР в том числе при ЦМА. Митохондриальный рибосомный белок L38 является важным компонентом большой субъединицы митохондриальных рибосом, ответственных за сборку белков, необходимых для окислительного фосфорилирования [Brown A. et al., 2014]. Точная функция *MRPL38* не установлена, но показано, что нарушение митохондриальной трансляции приводит к ряду неврологических заболеваний [Boczonadi V., Horvath R., 2014]. Обнаружена активация родственного *MRPL18* в очагах рассеянного склероза [Fischer M.T. et al., 2012], связь с ГИБВ в мозге спонтанно гипертензивных крыс, склонных к инсульту [Lopez L.M. et al., 2015]. GWAS установили ассоциацию *MRPL38* с наличием ГИБВ [Lopez L.M. et al., 2015; Jian X. et al., 2018]. Медиаторная роль ЦСЖ в установленной обратной связи экспрессии *MRPL38* с уровнем MoCA, учитывая агрессивность высокой экспрессии гена к белому веществу головного мозга, вероятно, следует рассматривать в рамках сопряженности митохондриальной дисфункции с возраст-зависимыми изменениями в мозге и нейродегенерацией [Trigo D., 2023], возможно вследствие атрофии, имеющей обратную связь с объемом ЦСЖ.

Нейровизуализационные проявления церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Для сопоставления с МР-признаками ЦМА мы отобрали гены, изменение экспрессии которых продемонстрировало свое значение в развитии ЦМА и КР (гены *BIN1*, *VEGFA*, *VEGFC*, *CD2AP*, *CD33*, *TNFR1* и *ACOX1*).

Среди оцениваемых МР-признаков ЦМА сравнительный анализ позволил выявить достоверную связь снижения экспрессии *VEGFA* по мере нарастания ГИБВ, оцененной

по шкале Fazekas, от стадии F2 к F3. Остальные МРТ-признаки, в том числе и общий балл ЦМА не показали достоверных различий по уровню экспрессии генов.

Корреляционный анализ установил связи нормализованных объемных показателей интракраниального пространства и экспрессии нескольких генов. Уровень экспрессии генов *BIN1*, *MRPL38*, *VEGFA* и *VEGFC* показал прямую связь с общим объемом головного мозга, обратную – с объемом ЦСЖ. Установлены прямые корреляции экспрессии *VEGFC* с объемом белого вещества, экспрессии *BIN1*, *MRPL38* и *VEGFC* с объемом серого вещества головного мозга. Эти данные согласуются с представленными ранее результатами о роли сниженной экспрессии данных генов в поражении мозга, развитии ЦМА и ее клинических проявлений.

МРТ-типы церебральной микроангиопатии и экспрессия генов

Ранее в НИЦН проведено исследование, которое на основании сочетания и особенностей расположения МРТ-признаков ЦМА позволило установить два МРТ-типа ЦМА, различающихся по тяжести течения заболевания и по лабораторным показателям. Так было показано, что первый МРТ-тип ЦМА ассоциирован со снижением уровня VEGF-A в крови, а второй МРТ-тип связан с повышением уровня TNF- α в крови и имеет меньшую выраженность КР. На основании установленных различий в нейровизуализационных и клинических проявлениях предположены различные механизмы развития двух типов ЦМА, предполагается, что в развитии первого МРТ-типа преобладают ишемические механизмы, а повышение провоспалительного маркера TNF- α при МРТ-типе два позволило авторам предположить больший вклад воспаления в его развитие [Забитова М.Р., 2019; Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et al., 2020b].

В связи с неравномерным распределением пациентов по выраженности ГИБВ, оцененной по шкале Fazekas, анализ между МРТ-типами в данном исследовании осуществлялся для пациентов стадии F3. Показана сниженная экспрессия генов *ACOX1*, *CD33*, *CD2AP*, *TNFR1* и *VEGFC* при втором МРТ-типе ЦМА с ГИБВ стадии F3 по сравнению с группой контроля. Это может служить подтверждением вклада воспалительных реакций в развитие данного типа ЦМА, что согласуется с предыдущими данными. Между собой два МРТ-типа различались по уровню экспрессии *CD33*, которая была снижена при втором типе. Значимых отличий по уровню

экспрессии генов первого МРТ-типа и группы контроля нами не получено, что согласуется с предположением о разных механизмах развития двух МРТ-типов ЦМА. При сравнительном анализе мы установили снижение экспрессии генов *ACOX1*, *VIN1*, *CD2AP*, *CD33*, *TNFR1*, *VEGFA* и *VEGFC* при клинически выраженных КР при втором МРТ-типе ЦМА по сравнению с группой контроля. Сниженная экспрессия генов *ACOX1* и *VEGFA* показала прогностическую способность для развития более выраженных КР.

ACOX1 кодирует ацил-КоА-оксидазу-1 – первый фермент пути β -окисления длинноцепочечных жирных кислот, который катализирует десатурацию ацил-КоА, образуя перекись водорода. В мозге *ACOX1* экспрессируется в глиальных клетках [Chung H. et al., 2020]. Дефицит ацил-КоА-оксидазы-1 приводит к нарушению миелинизации белого вещества [Ferdinandusse S. et al., 2007; El Hajj H.I. et al., 2012; Raas Q. et al., 2019] за счет накопления длинноцепочечных жирных кислот, окислительного стресса и гиперпродукции АФК [Baarjine M. et al., 2012]. Генетический дефицит *ACOX1* вызывает псевдонеонатальную аденолейкодистрофию [Ferdinandusse S. et al., 2007], характеризующуюся тяжелой патологией белого вещества вследствие воспалительной демиелинизации [Ferdinandusse S. et al., 2007; El Hajj H.I. et al., 2012]. GWAS установили ассоциацию полиморфизмов в гене *ACOX1* с развитием ГИБВ [Fornage M. et al., 2011]. Установленная нами сниженная экспрессия *ACOX1* указывает на важную роль окислительного стресса, гиперпродукции АФК и процессов воспаления в развитии патологии белого вещества при втором МРТ-типе ЦМА.

VEGF-C – установленный фактор лимфангиогенеза, необходимый для глимфатического и менингеального клиренса лимфы и сдерживания нейровоспаления [Louveau A. et al., 2018; Hsu S.J. et al., 2021]. Установленная нами сниженная экспрессия *VEGFC* при втором типе ЦМА свидетельствует о вкладе воспаления в его развитие за счет дисфункции глимфатической и менингеальной лимфатической систем [Xue Y. et al., 2020]. Это подтверждается данными нейровизуализации – МРТ-тип два характеризуется наличием расширенных ПВП в базальных ядрах [Добрынина Л.А. и др., 2020]. Способность VEGF-C уменьшать нейровоспаление посредством усиления глимфатической и менингеальной лимфатической функции может стать новым терапевтическим подходом к лечению ЦМА и КР [Tian Y. et al., 2022].

Рецептор фактора некроза опухоли-1 (ген *TNFR1*) является одним из рецепторов TNF- α . Передача сигналов, опосредованная через *TNFR1*, имеет решающее значение для

регуляции воспалительных и апоптотических реакций [Gough P., Myles I.A., 2020]. Исследования по изучению роли TNF-R1 в крови в развитии ЦМА и КР неоднозначны. С одной стороны, установлено, что у пациентов с КР сосудистого и дегенеративного характера уровень TNF-R1 в плазме крови повышен по сравнению контрольной группой [Buchhave P. et al., 2010; Zhang J. et al., 2013; 2014] и достоверно связан с наличием лакун при ЦМА [Salai K.H.T. et al., 2023]. С другой стороны, показана протекторная роль повышенного уровня TNF-R1 – при хронических воспалительных состояниях. TNF- α индуцирует секрецию растворимого TNF-R1 в системный кровоток, который сдерживает воспаление [Dri P. et al., 2000]. Гиперпродукция растворимого TNF-R1 может, ослаблять TNF-индуцированные воспалительные процессы, действуя как рецепторы-приманки для циркулирующего TNF- α [Cheng X. et al., 2010]. Эти данные подтверждены на животных моделях церебрального инфаркта после окклюзии средней мозговой артерии [Barone F.C. et al., 1997; Works M.G. et al., 2013]. Вероятно, установленная нами сниженная экспрессия *TNFR1* при втором типе ЦМА является результатом хронического воспаления и истощения TNF-R1-протекторных механизмов. Что согласуется с предыдущими исследованиями, установившими повышенный уровень TNF- α в крови при втором МРТ-типе ЦМА [Добрынина Л.А. и др., 2020; Dobrynina L.A. et al., 2020b].

Хроническое воспаление и ассоциированные с ним процессы являются одним из патогенетических механизмов, лежащих в основе как ЦМА, так и БА [Calsolaro V., Edison P., 2016; Liu Y. et al., 2018; Zou C. et al., 2022]. Раскрытие общих механизмов, значимых для двух заболеваний, а также выявление потенциальных биомаркеров развития коморбидности позволит прогнозировать течение заболевания и тяжесть его клинических проявлений. Гены *BINI*, *CD2AP*, *CD33* и *VEGFA* в литературе рассматриваются в качестве факторов риска развития БА. Выявленная нами дифференциальная экспрессия данных генов при МРТ-типе 2 и в группе контроля свидетельствует об общности патогенетических путей для данного типа ЦМА и нейродегенеративной патологии.

Ген *CD2AP* – значимый фактор риска БА, установленный при повторных GWAS. Как указывалось ранее, *CD2AP* участвует в клатрино-опосредованном транспорте А β через ГЭБ. Кроме того, кодируемый данным геном CD2-ассоциированный белок является каркасным белком, высоко экспрессируемым в эндотелиальных клетках

церебральных сосудов и способствует межклеточным соединениям эндотелиальных клеток [Li C. et al., 2000; Lehtonen S. et al., 2008]. В эксперименте на лабораторных животных установлена ключевая роль *CD2AP* в поддержании гематоэнцефалического барьера при БА [Cochran J.N. et al., 2015]. Подобно БА, в патогенезе ЦМА доказана роль повышенной проницаемости ГЭБ [Wardlaw J.M. et al., 2019]. Установленная нами, сниженная экспрессия *CD2AP* при МРТ-типе 2 ЦМА свидетельствует о его важной роли в развитии повышенной проницаемости ГЭБ при данном варианте ЦМА. Другим механизмом повреждения церебральных сосудов и вещества мозга может быть, описанное ранее, нарушение клиренса Аβ [Karch C.M., Goate A.M., 2015].

Ген *CD33* экспрессируется в клетках с фагоцитарной активностью и модулирует воспалительный и иммунный ответы [Chan G. et al., 2015]. *CD33* – установленный при повторных GWAS фактор риска БА. Как уже указывалось выше, нет однозначного мнения по поводу роли *CD33* в воспалении. Установлено, что повышение экспрессии *CD33* нарушает синтез воспалительных цитокинов, что приводит к снижению уровней TNF-α, ИЛ-8 и ИЛ-1β [Lajaunias F. et al., 2005], а подавление экспрессии *CD33* связано с активацией иммунных клеток, повышенной продукцией TNF-α и воспалением [Gonzalez Y. et al., 2012]. Выявленная нами сниженная экспрессия *CD33* при втором МРТ-типе относительно группы контроля, подтверждает роль воспаления в развитии данного варианта за счет активации иммунных клеток, повышенной продукции цитокинов.

Как уже указывалось ранее, *BIN1* является вторым по значимости после *APOE* фактором риска развития БА [Chapuis J. et al., 2013]. Показана связь *BIN1* с тау и амилоидной патологией [Miyagawa T. et al., 2016], участие в воспалительных реакциях [Tan M.S. et al., 2013] и апоптозе [Esmailzadeh S. et al., 2015]. В последние годы активно обсуждается иницирующая роль сосудистого повреждения в развитии БА. Накоплены весомые доказательства связи дефицита *VEGFA* с БА за счет антагонизма накапливающегося Аβ с *VEGFA*, угнетения VEGF-А-индуцированной миграции эндотелиальных клеток, ангиогенеза, нейрогенеза и нейропластичности [Patel N.S. et al., 2010; Huang C.W. et al., 2013; Martin L. et al., 2021]. Таким образом, процессы, связанные с установленными генами, имеют значимость в развитии как ЦМА, так и БА. Выявленные сходные изменения профиля экспрессии этих генов при ЦМА могут быть одним из условий коморбидности ЦМА с нейродегенеративной патологией. Снижение BIN-опосредованного транцитоза Аβ, антагонистические отношения последнего с VEGF-

А-ангиогенезом и VEGF-С-лимфангиогенезом вероятно являются основными путями, поддерживающими механизмы воспаления при ЦМА [Добрынина Л.А. и др., 2023].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 панель оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением. Использовался оригинальный подход в отборе генов. Поскольку ЦМА является главным фактором риска болезни Альцгеймера и доминирующими в популяции смешанных форм, определение при ЦМА изменений в экспрессии генов, характеризующих ЦМА и болезнь Альцгеймера, может установить общность механизмов заболеваний и их коморбидность.

В панель было включено 58 генов из числа регуляторных, установленных при повторных GWAS для ЦМА и болезни Альцгеймера, а также гены 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.

Установлено влияние сниженной экспрессии генов, ранее упоминаемых, в основном, в связи с патогенезом болезни Альцгеймера, на прогрессирование ЦМА с когнитивными расстройствами. Установлено снижение экспрессии генов 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 когнитивных расстройств, 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 и 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 когнитивных

расстройств, а в последующем способствовать разработке патогенетического лечения для разных форм ЦМА.

ВЫВОДЫ

1. При ЦМА изменение уровня экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, является ценным прогностическим маркером. ЦМА характеризуется снижением экспрессии генов BIN1 и VEGFA. Снижение уровня их экспрессии ниже установленного порогового значения с высокой чувствительностью и специфичностью потенциально позволяет прогнозировать тяжелое течение заболевания.

2. У пациентов с ЦМА нарастание тяжести артериальной гипертензии ассоциируется со снижением экспрессии генов FBN2, PLAT и NOS3, что согласуется с перестройкой сосудистой стенки при ЦМА с тяжелой артериальной гипертензией. Кризовое течение артериальной гипертензии ассоциировано со снижением экспрессии гена WBP2.

3. Одним из условий формирования коморбидности ЦМА с болезнью Альцгеймера является снижение экспрессии генов VEGFA, VEGFC и BIN1, и, соответственно, угнетение VEGF-A-ангиогенеза, VEGF-C-лимфангиогенеза и BIN-опосредованного транцитоза Aβ.

4. Развитие умеренных когнитивных расстройств и деменции сопряжено непосредственно со снижением экспрессии генов VEGFA, VEGFC и CD2AP и опосредованно с экспрессией MRPL38 через объем цереброспинальной жидкости. Смешанный (дизрегуляторно-амнестический) тип КР характеризовался значимым снижением экспрессии генов CD2AP и VEGFA по сравнению с контролем и амнестическим типом когнитивных расстройств.

5. Прогрессирующее поражение белого вещества с нарастанием гиперинтенсивности на МРТ ассоциируется постепенным снижением уровня экспрессии гена VEGFA.

6. МРТ-типы ЦМА различаются по профилю экспрессии генов. В развитии МРТ-типа 2 в отличие от МРТ-типа 1, большее значение имеет нарушение путей, ассоциированных с воспалением. Формирование МРТ-типа 2 сопряжено со снижением экспрессии ACOX1, CD33, CD2AP, TNFR1 и VEGFC по сравнению с контролем.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно создание и использование в клинической практике у пациентов с МРТ-признаками ЦМА панели оценки экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, включающей BIN1, VEGFA, VEGFC, CD2AP, ACE, ACOX1, TNFR1, CD33 и MRPL38.

2. Сниженная экспрессия BIN1 и VEGFA у пациентов ЦМА может рассматриваться фактором прогрессирования заболевания и коморбидности с болезнью Альцгеймера.

3. Сниженная экспрессия генов VEGFA, VEGFC, CD2AP, ACE, BIN1 и MRPL38 позволяет прогнозировать нарастание выраженности КР при ЦМА.

4. Сниженная экспрессия генов ACOX1, CD33, CD2AP, TNFR1 и VEGFC соответствует условиям формирования МРТ-типа 2 ЦМА, в формировании которого преобладают механизмы воспаления.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертония
 АПФ – ангиотензинпревращающий фермент
 АФК – активные формы кислорода
 БА – болезнь Альцгеймера
 БВ – белое вещество
 БМС – болезнь мелких сосудов
 ГИБВ – гиперинтенсивность белого вещества
 ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
 ДТ-МРТ – диффузионно-тензорная магнитно-резонансная томография
 ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β
 ИЛ-6 – интерлейкин-6
 КР – когнитивные расстройства
 ММП – матриксная металлопротеиназа
 мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
 МРТ – магнитно-резонансная томография
 НВЕ – нейроваскулярная единица
 НИБВ – неизмененное белое вещество
 НЦН – Научный центр неврологии
 ПВП – периваскулярные пространства
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 СубКР – субклинические когнитивные расстройства
 УКР – умеренные когнитивные расстройства
 УФМ – управляющие функции мозга
 ЦМА – церебральная микроангиопатия
 ЦМК – церебральные микрокровоизлияния
 ЦСЖ – цереброспинальная жидкость
 ЭД – эндотелиальная дисфункция
 ЭК – эндотелиальные клетки
ACE – angiotensin i converting enzyme gene / ген ангиотензинпревращающего фермента
ACOX1 – Acyl-CoA Oxidase 1 gene / ген пероксисомальной ацил-КоА-оксидазы-1
APOE4 – apolipoprotein E gene / ген, кодирующий аполипопротеин E
 А β – амилоид-бета
BIN1 – bridging integrator 1 gene / ген мостового интегратора-1
 CBF – cerebral blood flow
CD2AP – CD2 associated protein gene / ген CD2-ассоциированного белка
CD33 – CD33 molecule gene / ген белка CD33
 COVID-19 – COronaVIrus Disease 2019 / коронавирусная инфекция 2019 года
 CSF – cerebral spine fluid / цереброспинальная жидкость
 DWI – diffusion-weighted imaging / диффузионно-взвешенное изображение

- FGB* – fibrinogen beta chain gene / ген β -цепи фибриногена
- FLAIR* – fluid-attenuated inversion recovery / инверсия-восстановление с подавлением сигнала свободной жидкости
- GM* – gray matter volume / объем серого вещества головного мозга
- GWAS* – genome-wide association studies / полногеномные исследования ассоциаций
- ICAM-1* – intercellular adhesion molecule-1 / молекула межклеточной адгезии-1 *IL1 β* – interleukin-1 beta gene / ген интерлейкина-1 β
- IL6* – interleukin-6 gene / ген интерлейкина-6
- MRPL38* – mitochondrial ribosomal protein L38 gene / ген митохондриального рибосомального белка L38
- MoCA* – Montreal Cognitive Assessment / Монреальская шкала оценки когнитивных функций
- PICALM* – ген фосфатидилинозитол-связывающего белка сборки клатрина
- SNP* – single nucleotide polymorphism / однонуклеотидный полиморфизм
- STRIVE* – Standards for Reporting Vascular Changes on Neuroimaging / МРТстандарты исследования церебральной микроангиопатии при старении и
- SWI* – susceptibility weighted imaging / последовательность, взвешенная по магнитной восприимчивости
- TBV* – total brain volume / общий объем головного мозга
- TIV* – total intracranial volume / общий интракраниальный объем
- TNF* – tumor necrosis factor gene / ген фактора некроза опухолей
- TNFR1* – tumor necrosis factor receptor 1 gene / ген рецептора-1 фактора некроза опухолей
- TNFR2* – tumor necrosis factor receptor 2 gene / ген рецептора-2 фактора некроза опухолей
- TNF- α* – tumor necrosis factor / фактора некроза опухолей- α
- VEGFA* – vascular endothelial growth factor A gene / ген фактора роста эндотелия сосудов-А
- VEGFC* – vascular endothelial growth factor C gene / ген фактора роста эндотелия сосудов-С
- WBP2* – WW domain binding protein 2 gene / ген белка, связывающего домен WW
- WM* – white matter volume / объем белого вещества головного мозга

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакулин, И.С. Эндотелиальная дисфункция и окислительный стресс при церебральном атеросклерозе и возможности их патогенетической коррекции / Бакулин И. С., Танащян М. М., Раскуражев А. А. // Нервные болезни. – 2018. – №. 2. – С. 3-10.
2. Белова, Л.А. Структура цереброваскулярной патологии в открытой популяции работоспособного населения г. Ульяновска / Белова Л.А. и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2014. – Т. 8. – №4. – С. 4-8.
3. Боголепова, А.Н. Современная концепция смешанной деменции / Боголепова А.Н. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2015. – Т. 115. – №. 5. – С. 120-126.
4. Верещагин, Н.В. Артериальная гипертензия и цереброваскулярная патология: современный взгляд на проблему / Верещагин Н.В., Суслина З.А., Максимова М.Ю. // Кардиология. – 2004. – Т. 44. – №. 3. – С. 4-8.
5. Воробьева, О.В. Ассоциированная с возрастом и/или артериальной гипертензией церебральная микроангиопатия (клинико-патогенетические аспекты, подходы к терапии) / Воробьева О.В. // Фарматека. – 2019. – Т. 26. – №. 9. – С. 92-7.
6. Воробьева, О.В. Окислительный стресс-целевая мишень для профилактики и лечения спорадической церебральной микроангиопатии, ассоциированной с возрастом и/или артериальной гипертензией / Воробьева О.В. // Нервные болезни. – 2020. – №. 2. – С. 80-84.
7. Воскресенская, О.Н. Маркеры воспаления и ангиогенеза при хронических цереброваскулярных заболеваниях / Воскресенская О.Н. и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2016. – Т. 116. – №. 12. – С. 3-6.
8. Гаджиева, З.Ш. Нейропсихологический профиль и структурно-функциональные механизмы когнитивных нарушений при церебральной микроангиопатии: дис...канд. мед. наук. 14.01.11, 14.01.13 / З. Ш. Гаджиева –Москва, 2019. – 163 с.
9. Ганнушкина, И.В. Гипертоническая энцефалопатия / Ганнушкина И.В., Лебедева Н.В. // Москва: Медицина, 1987. – 224 с.
10. Гераскина, Л.А. Особенности суточного профиля артериального давления у больных гипертонической энцефалопатией и хронической сердечной недостаточностью

/ Гераскина Л.А. и др. // Артериальная гипертензия – 2006.– Т. 12. – №3. – С. 227-231.

11. Гераскина, Л.А. Хронические цереброваскулярные заболевания при артериальной гипертонии: кровоснабжение мозга, центральная гемодинамика и функциональный сосудистый резерв: дис...док. мед. наук. 14.00.13 / Гераскина Л.А. – Москва, 2008. – 334 с.

12. Гераскина, Л.А. Эндотелиальная функция и эластические свойства сосудистой стенки при гипертонических ишемических цереброваскулярных заболеваниях / Гераскина Л.А., Фонякин А.В. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2009. – Т. 3. – №2. – С. 4-8.

13. Гнедовская, Е.В. Когнитивные нарушения у лиц среднего возраста и факторы риска цереброваскулярных заболеваний / Гнедовская Е.В. и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 6. – №. 2.

14. Горина, Я.В. Влияние лактата на митохондриальную активность в клетках эндотелия при остром токсическом действии бета-амилоида *in vitro* / Горина Я.В. и др. // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2022. – Т. 108. – №. 6. – С. 712-724.

15. Гулевская, Т.С. Артериальная гипертония и патология белого вещества головного мозга / Гулевская Т.С., Людковская И.Г. // Архив патологии. –1992. – Т. 54. – №. 2. – С. 53-59.

16. Гулевская, Т.С. Патология белого вещества полушарий головного мозга при артериальной гипертонии с нарушениями мозгового кровообращения: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: 14.00.15 / Гулевская Т.С. – М. – 1994 – 41 с.

17. Гулевская, Т.С. Патологическая анатомия нарушений мозгового кровообращения при атеросклерозе и артериальной гипертонии / Гулевская Т.С., Моргунов В.А. – М.: Медицина, 2009. – 296 с.

18. Гулевская, Т.С. Морфология и патогенез изменений белого вещества при хронической цереброваскулярной патологии / Гулевская Т.С., Ануфриев П.Л., Танащян М.М. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2022. – Т. 16. – №. 2. – С. 78-88.

19. Добрынина, Л.А. МРТ изменения головного мозга при асимптомной впервые диагностированной артериальной гипертензии / Добрынина Л.А. и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2016а. Т.10. №3. С. 25-32.

20. Добрынина, Л.А. Субклинические церебральные проявления и поражение головного мозга при асимптомной впервые диагностированной артериальной гипертензии / Добрынина Л.А. и др. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2016b. – Т. 10. – №. 3. – С. 33-39.
21. Добрынина, Л.А. Нейроваскулярное взаимодействие и церебральная перфузия при старении, церебральной микроангиопатии и болезни Альцгеймера / Добрынина Л.А. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2018a. – Т. 12. – №. 5. – С. 87-94.
22. Добрынина, Л.А. Нейропсихологический профиль и факторы сосудистого риска у больных с церебральной микроангиопатией / Добрынина Л.А. и др. // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2018b. – Т. 12. – №4. – С. 5-15.
23. Добрынина, Л.А. Биомаркеры и механизмы раннего повреждения сосудистой стенки / Добрынина Л.А. и др. // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. – 2018с. – Т. 12. – №. 2 – С. 23-32.
24. Добрынина, Л.А. Артериальная гипертензия и церебральная микроангиопатия: генетические и эпигенетические аспекты взаимосвязи / Л.А. Добрынина и др. // *Acta Naturae*. – 2018d. – Т. 10. – №. 2. – С. 4-16.
25. Добрынина, Л.А. Предикторы и интегративный показатель тяжести когнитивных расстройств при церебральной микроангиопатии (болезни мелких сосудов) / Добрынина Л.А. и др. // *Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова*. – 2022. – Т. 122. – №. 4. – С. 52-60.
26. Забитова, М.Р. Повреждение сосудистой стенки и проницаемость гематоэнцефалического барьера у больных с церебральной микроангиопатией: клинико-нейровизуализационное исследование: дис...канд. мед. наук. 14.01.11, 14.01.13 / Забитова М.Р. – Москва, 2019. – 134 с.
27. Калашникова, Л.А. Актуальные проблемы патологии головного мозга при церебральной микроангиопатии / Калашникова Л.А., Гулевская Т.С., Добрынина Л.А. // *Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова*. – 2018. – Т. 118. – №. 2. – С. 90-99.
28. Коган, В.М. О дисциркуляторной энцефалопатии. Конференция по вопросам патофизиологии высшей нервной деятельности человека применительно к задачам психиатрической и нервной клиник / Коган В.М., Максудов Г.А. // *Тезисы докладов*. М. – 1958.

29. Крючкова, О.Н. Проект обновленных клинических рекомендаций "артериальная гипертензия у взрослых 2022". Основные новые позиции / Крючкова О. Н. и др. // Крымский терапевтический журнал. – 2022. – №. 4. – С. 35-41.
30. Кулеш, А.А. Церебральная спорадическая неамилоидная микроангиопатия: патогенез, диагностика и особенности лечебной тактики / Кулеш А.А., Дробаха В.Е., Шестаков В.В. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2018. – Т. 10. – №. 4. – С. 13-22.
31. Лагода, Д.Ю. Оценка нарушений ходьбы у больных с церебральной микроангиопатией / Лагода Д.Ю., Забитова М.Р., Добрынина Л.А. // Материалы III Национального конгресса Кардионеврология – 2018 – С. 99.
32. Лагода, Д.Ю. Ритмическая транскраниальная магнитная стимуляция в терапии умеренных когнитивных расстройств при церебральной микроангиопатии / Лагода Д.Ю. и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2021. – Т. 15. – №4. – С. 5-14.
33. Левин, О.С. Дисциркуляторная энцефалопатия: современные представления о механизмах развития и лечения / Левин О.С. // Consilium medicum. – 2006. – Т. 8. – №. 8. – С. 72-79.
34. Литвицкий, П.Ф. Патифизиология. Клиническая патофизиология: учебник / Литвицкий П.Ф. – М.: Практическая медицина, 2015. – 776 с.
35. Лурия, А.Р. Высшие корковые функции человека. Второе дополненное издание / Лурия А.Р. // М.: Издательство Московского университета. 1969. С. 223.
36. Людковская, И.Г. Деструктивные изменения средних размеров интрацеребральных артерий при артериальной гипертензии / Людковская И.Г., Гулевская Т.С., Моргунов В.А. // Архив заболеваний. – 1982. – Т. 44. – № 9. – С. 66-72.
37. Максимова, М.Ю. Малые глубинные (лакунарные) инфаркты головного мозга при артериальной гипертензии и атеросклерозе: автореф. дис. ... док. мед. наук: 14.00.13, 03.00.04 / М.Ю. Максимова – М. – 2002. – 51 с. 106 18.
38. Максимова, М.Ю. Лакунарный инсульт / Максимова М.Ю., Гулевская Т.С. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2019. – 119(8-2). С. 13-27.
39. Меркулова, М.С. Метод спиновой маркировки артериальной крови в оценке регионарного церебрального кровотока у пациентов с болезнью Альцгеймера / Меркулова М.С. и др. // Неврологический журнал – 2018. – Т. 23. – №. 6. – С. 290-298.

40. Парфенов, В.А. Дисциркуляторная энцефалопатия и сосудистые когнитивные расстройства / В.А. Парфенов – М.: ИМА-ПРЕСС, 2017. – 128 с.
41. Соловьева, Э.Ю. Церебральная микроангиопатия в развитии хронической ишемии мозга: подходы к лечению / Соловьева Э.Ю., Амелина И.П. // Медицинский совет. – 2020. – №. 2. – С. 15-23.
42. Суслина З.А. Артериальная гипертония, сосудистая патология мозга и антигипертензивное лечение / Суслина З.А., Гераскина Л.А., Фонякин А.В. // М.: Солвей Фарма, 2006. — 201 с.
43. Шабалина А.А. Гемостаз и биохимические маркеры повреждения ткани мозга при атеротромботическом и лакунарном подтипах ишемического инсульта: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: Д 001.006.01/ 441 / Шабалина А.А. М. – 2009 – 32 с.
44. Abbott, N.J. Structure and function of the blood–brain barrier / Abbott N.J. et al. // *Neurobiology of disease*. – 2010. – Т. 37. – №. 1. – С. 13-25.
45. Adib-Samii, P. Genetic architecture of white matter hyperintensities differs in hypertensive and nonhypertensive ischemic stroke / Adib-Samii P. et al. // *Stroke*. – 2015. – Т. 46. – №. 2. – С. 348-353.
46. Akiguchi, I. Blood-brain barrier dysfunction in Binswanger’s disease; an immunohistochemical study / Akiguchi I. et al. // *Acta neuropathologica*. – 1997. – Т. 95. – С. 78-84.
47. Akiyama, H. Inflammation and Alzheimer’s disease / Akiyama H. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2000. – Т. 21. – №. 3. – С. 383-421.
48. Akoudad, S. Cerebral microbleeds are associated with an increased risk of stroke: the Rotterdam Study / Akoudad S. et al. // *Circulation*. – 2015. – Т. 132. – №. 6. – С. 509-516.
49. Alfaro-Almagro, F. Image processing and Quality Control for the first 10,000 brain imaging datasets from UK Biobank / Alfaro-Almagro F. et al. // *Neuroimage*. – 2018. – Т. 166. – С. 400-424.
50. Almeida, J.F.F. Updated meta-analysis of BIN1, CR1, MS4A6A, CLU, and ABCA7 variants in Alzheimer’s disease / Almeida J.F.F. et al. // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2018. – Т. 64. – С. 471-477.
51. American Psychiatric Association et al. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5®) American Psychiatric Pub. – 2013.

52. Ando, K. PICALM and Alzheimer's disease: an update and perspectives / Ando K. et al. // *Cells*. – 2022. – T. 11. – №. 24. – C. 3994.
53. Andrews, S.J. Interpretation of risk loci from genome-wide association studies of Alzheimer's disease / Andrews S.J., Fulton-Howard B., Goate A. // *The Lancet Neurology*. – 2020. – T. 19. – №. 4. – C. 326-335.
54. Appelman, A.P.A. White matter lesions and brain atrophy: more than shared risk factors? A systematic review / Appelman A.P.A. et al. // *Cerebrovascular Diseases*. – 2009. – T. 28. – №. 3. – C. 227-242.
55. Arba, F. Small vessel disease and biomarkers of endothelial dysfunction after ischaemic stroke / Arba F. et al. // *European stroke journal*. – 2019. – T. 4. – №. 2. – C. 119-126.
56. Arfanakis, K. Systemic inflammation in non-demented elderly human subjects: brain microstructure and cognition / Arfanakis K. et al. // *PloS one*. – 2013. – T. 8. – №. 8. – C. e73107.
57. Aribisala, B.S. Brain atrophy associations with white matter lesions in the ageing brain: the Lothian Birth Cohort 1936 / Aribisala B.S. et al. // *European radiology*. – 2013. – T. 23. – C. 1084-1092.
58. Arlington, V.A., American Psychiatric Association / Arlington V.A. // *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 2013. – T. 5. – №. 5.
59. Armstrong, N.J. Common genetic variation indicates separate causes for periventricular and deep white matter hyperintensities / Armstrong N.J. et al. // *Stroke*. – 2020. – T. 51. – №. 7. – C. 2111-2121.
60. Armulik, A. Pericytes regulate the blood–brain barrier / Armulik A. et al. // *Nature*. – 2010. – T. 468. – №. 7323. – C. 557-561.
61. Ashburner, J. Voxel-based morphometry – the methods / Ashburner J., Friston K.J. // *Neuroimage*. – 2000. – T. 11. – №. 6. – C. 805-821.
62. Avci, A.Y. High sensitivity C-reactive protein and cerebral white matter hyperintensities on magnetic resonance imaging in migraine patients / Avci A.Y. et al. // *The journal of headache and pain*. – 2015. – T. 16. – №. 1. – C. 1-10.
63. Baarine, M. Evidence of oxidative stress in very long chain fatty acid–treated oligodendrocytes and potentialization of ROS production using RNA interference-directed knockdown of ABCD1 and ACOX1 peroxisomal proteins / Baarine M. et al. // *Neuroscience*.

– 2012. – T. 213. – C. 1-18.

64. Balint, B. Mechanisms of homocysteine-induced damage to the endothelial, medial and adventitial layers of the arterial wall / Balint B. et al. // *Biochimie*. – 2020. – T. 173. – C. 100-106.

65. Barone, F.C. Tumor necrosis factor- α : a mediator of focal ischemic brain injury / Barone F.C. et al. // *Stroke*. – 1997. – T. 28. – №. 6. – C. 1233-1244.

66. Bath, P.M. Pharmacological treatment and prevention of cerebral small vessel disease: a review of potential interventions / Bath P.M., Wardlaw J.M. // *International Journal of Stroke*. – 2015. – T. 10. – №. 4. – C. 469-478.

67. Becher, B. Cytokine networks in neuroinflammation / Becher B., Spath S., Goverman J. // *Nature Reviews Immunology*. – 2017. – T. 17. – №. 1. – C. 49-59.

68. Bellenguez, C. Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going / Bellenguez C., Grenier-Boley B., Lambert J.C. // *Current opinion in neurobiology*. – 2020. – T. 61. – C. 40-48.

69. Bertram, L., Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses / Bertram L., Tanzi R.E. // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2008. – T. 9. – №. 10. – C. 768-778.

70. Biron, K.E. Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease / Biron K.E. et al. // *PloS one*. – 2011. – T. 6. – №. 8. – C. e23789.

71. Blair, G.W. Advanced neuroimaging of cerebral small vessel disease / Blair G.W. et al. // *Current treatment options in cardiovascular medicine*. – 2017. – T. 19. – C. 1-17.

72. Blumenau, S. Investigating APOE, APP-A β metabolism genes and Alzheimer's disease GWAS hits in brain small vessel ischemic disease / Blumenau S. et al. // *Scientific Reports*. – 2020. – T. 10. – №. 1. – C. 7103.

73. Boczonadi, V. Mitochondria: impaired mitochondrial translation in human disease / Boczonadi V., Horvath R. // *The international journal of biochemistry & cell biology*. – 2014. – T. 48. – C. 77-84.

74. Bordes, C. Genetics of common cerebral small vessel disease / Bordes C. et al. // *Nature Reviews Neurology*. – 2022. – T. 18. – №. 2. – C. 84-101.

75. Bos, D. Cerebral small vessel disease and the risk of dementia: a systematic review and meta-analysis of population-based evidence / Bos D. et al. // *Alzheimer's &*

Dementia. – 2018. – T. 14. – №. 11. – C. 1482-1492.

76. Boyle, P.A. Person-specific contribution of neuropathologies to cognitive loss in old age / Boyle P.A. et al. // *Annals of neurology*. – 2018. – T. 83. – №. 1. – C. 74-83.

77. Boyle, P.A. Attributable risk of Alzheimer's dementia attributed to age-related neuropathologies / Boyle P.A. et al. // *Annals of neurology*. – 2019. – T. 85. – №. 1. – C. 114-124.

78. Bradley, J.R. TNF-mediated inflammatory disease / Bradley J.R. // *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. – 2008. – T. 214. – №. 2. – C. 149-160.

79. Brait, V.H. Selective sphingosine 1-phosphate receptor 1 agonist is protective against ischemia/reperfusion in mice / Brait V.H. et al. // *Stroke*. – 2016. – T. 47. – №. 12. – C. 3053-3056.

80. Brenowitz, W.D. Mixed neuropathologies and estimated rates of clinical progression in a large autopsy sample / Brenowitz W.D. et al. // *Alzheimer's & Dementia*. – 2017. – T. 13. – №. 6. – C. 654-662.

81. Bridges, L.R. Blood-brain barrier dysfunction and cerebral small vessel disease (arteriolosclerosis) in brains of older people / Bridges L.R. et al. // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. – 2014. – T. 73. – №. 11. – C. 1026-1033.

82. Brown, A. Structure of the large ribosomal subunit from human mitochondria / Brown A. et al. // *Science*. – 2014. – T. 346. – №. 6210. – C. 718-722.

83. Buchhave, P. Soluble TNF receptors are associated with A β metabolism and conversion to dementia in subjects with mild cognitive impairment / Buchhave P. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2010. – T. 31. – №. 11. – C. 1877-1884.

84. Burger, D. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells / Burger D., Touyz R.M. // *Journal of the American Society of Hypertension*. – 2012. – T. 6. – №. 2. – C. 85-99.

85. Cai, Z. Cerebral small vessel disease and Alzheimer's disease / Cai Z. et al. // *Clinical interventions in aging*. – 2015. – C. 1695-1704.

86. Calafate, S. Loss of Bin1 promotes the propagation of tau pathology / Calafate S. et al. // *Cell reports*. – 2016. – T. 17. – №. 4. – C. 931-940.

87. Calsolaro, V. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions / Calsolaro V., Edison P. // *Alzheimer's & dementia*. – 2016. – T. 12. – №. 6.

– C. 719-732.

88. Candelario-Jalil, E. Neuroinflammation, stroke, blood-brain barrier dysfunction, and imaging modalities / Candelario-Jalil E., Dijkhuizen R.M., Magnus T. // *Stroke*. – 2022. – T. 53. – №. 5. – C. 1473-1486.

89. Cannistraro, R.J. CNS small vessel disease: a clinical review / Cannistraro R.J. et al. // *Neurology*. – 2019. – T. 92. – №. 24. – C. 1146-1156.

90. Cao, X. Deletion of aquaporin-4 aggravates brain pathology after blocking of the meningeal lymphatic drainage / Cao X. et al. // *Brain research bulletin*. – 2018. – T. 143. – C. 83-96.

91. Chan, G. CD33 modulates TREM2: convergence of Alzheimer loci / Chan G. et al. // *Nature neuroscience*. – 2015. – T. 18. – №. 11. – C. 1556-1558.

92. Chandra, A. Applications of amyloid, tau, and neuroinflammation PET imaging to Alzheimer's disease and mild cognitive impairment / Chandra A. et al. // *Human brain mapping*. – 2019. – T. 40. – №. 18. – C. 5424-5442.

93. Chapuis, J. Increased expression of BIN1 mediates Alzheimer genetic risk by modulating tau pathology / Chapuis J. et al. // *Molecular psychiatry*. – 2013. – T. 18. – №. 11. – C. 1225-1234.

94. Chauhan, G. Association of Alzheimer's disease GWAS loci with MRI markers of brain aging / Chauhan G. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2015. – T. 36. – №. 4. – C. 1765.e7-1765.e16.

95. Chauhan, G. Genetic and lifestyle risk factors for MRI-defined brain infarcts in a population-based setting / Chauhan G. et al. // *Neurology*. – 2019. – T. 92. – №. 5. – C. e486-e503.

96. Cheng, A.L. Susceptibility-weighted imaging is more reliable than T2*-weighted gradient-recalled echo MRI for detecting microbleeds / Cheng A.L. et al. // *Stroke*. – 2013. – T. 44. – №. 10. – C. 2782-2786.

97. Cheng, S. Minocycline reduces neuroinflammation but does not ameliorate neuron loss in a mouse model of neurodegeneration / Cheng S. et al. // *Scientific reports*. – 2015. – T. 5. – №. 1. – C. 10535.

98. Cheng, X. Differential activation of tumor necrosis factor receptors distinguishes between brains from Alzheimer's disease and non-demented patients / Cheng X. et al. // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2010. – T. 19. – №. 2. – C. 621-630.

99. Chew, G. Transcriptional networks of microglia in Alzheimer's disease and insights into pathogenesis / Chew G., Petretto E. // *Genes*. – 2019. – T. 10. – №. 10. – C. 798.
100. Chung, H. Loss-or gain-of-function mutations in ACOX1 cause axonal loss via different mechanisms / Chung H. et al. // *Neuron*. – 2020. – T. 106. – №. 4. – C. 589-606. e6.
101. Chung, J. Genome-wide association study of cerebral small vessel disease reveals established and novel loci / Chung J. et al. // *Brain*. – 2019. – T. 142. – №. 10. – C. 3176-3189.
102. Cipolla, M.J. The cerebral circulation. In: *Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function* / Cipolla M.J. // *Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function*. – 2009. – T. 1. – №. 1. – C. 1-59.
103. Ciuffetti, G. Capillary rarefaction and abnormal cardiovascular reactivity in hypertension / Ciuffetti G. et al. // *Journal of hypertension*. – 2003. – T. 21. – №. 12. – C. 2297-2303.
104. Clark, V.D. Hyperfibrinogenemia-mediated astrocyte activation / Clark V.D. et al. // *Brain research*. – 2018. – T. 1699. – C. 158-165.
105. Clausen, B.H. Fumarate decreases edema volume and improves functional outcome after experimental stroke / Clausen B.H. et al. // *Experimental neurology*. – 2017. – T. 295. – C. 144-154.
106. Cochran, J.N. The Alzheimer's disease risk factor CD2AP maintains blood–brain barrier integrity / Cochran J.N. et al. // *Human molecular genetics*. – 2015. – T. 24. – №. 23. – C. 6667-6674.
107. Cornford, E.M. Blood-brain barrier penetration of felbamate / Cornford E.M. et al. // *Epilepsia*. – 1992. – T. 33. – №. 5. – C. 944-954.
108. Cribbs, D.H. Extensive innate immune gene activation accompanies brain aging, increasing vulnerability to cognitive decline and neurodegeneration: a microarray study / Cribbs D.H. et al. // *Journal of neuroinflammation*. – 2012. – T. 9. – №. 1. – C. 1-18.
109. Cyprien, F. Increased serum C-reactive protein and corpus callosum alterations in older adults / Cyprien F. et al. // *Aging and disease*. – 2019. – T. 10. – №. 2. – C. 463.
110. Darmanis, S. A survey of human brain transcriptome diversity at the single cell level / Darmanis S. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – T. 112. – №. 23. – C. 7285-7290.
111. Davalos, D. Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease / Davalos D., Akassoglou K. // *Seminars in immunopathology*. – Springer-Verlag, 2012. – T. 34. – C. 43-

62.

112. De Laat, K.F. Cortical thickness is associated with gait disturbances in cerebral small vessel disease / de Laat K.F. et al. // *Neuroimage*. – 2012. – T. 59. – №. 2. – C. 1478-1484.

113. De Roeck, A. Deleterious ABCA7 mutations and transcript rescue mechanisms in early onset Alzheimer's disease / De Roeck A. et al. // *Acta neuropathologica*. – 2017. – T. 134. – C. 475-487.

114. De Roeck, A. The role of ABCA7 in Alzheimer's disease: evidence from genomics, transcriptomics and methylomics / De Roeck A., Van Broeckhoven C., Sleegers K. // *Acta neuropathologica*. – 2019. – T. 138. – C. 201-220.

115. De Rossi, P. Predominant expression of Alzheimer's disease-associated BIN1 in mature oligodendrocytes and localization to white matter tracts / De Rossi P. et al. // *Molecular neurodegeneration*. – 2016. – T. 11. – C. 1-21.

116. De Rossi, P. Neuronal BIN1 regulates presynaptic neurotransmitter release and memory consolidation / De Rossi P. et al. // *Cell reports*. – 2020. – T. 30. – №. 10. – C. 3520-3535. e7.

117. De Silva, T.M. Cerebral small vessel disease: targeting oxidative stress as a novel therapeutic strategy? / De Silva T.M., Miller A.A. // *Frontiers in pharmacology*. – 2016. – T. 7. – C. 61.

118. De Silva, T.M. Contributions of aging to cerebral small vessel disease / De Silva T.M., Faraci F.M. // *Annual review of physiology*. – 2020. – T. 82. – C. 275-295.

119. Debette, S. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis / Debette S., Markus H.S. // *BMJ*. – 2010. – T. 341.

120. Del Cuore, A. The role of immunosenescence in cerebral small vessel disease: a review / Del Cuore A. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – T. 23. – №. 13. – C. 7136.

121. Del Zoppo, G.J. Hyperfibrinogenemia and functional outcome from acute ischemic stroke / Del Zoppo G.J. et al. // *Stroke*. – 2009. – T. 40. – №. 5. – C. 1687-1691.

122. Detry, B. Matrix metalloproteinase-2 governs lymphatic vessel formation as an interstitial collagenase / Detry B. et al. // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2012. – T. 119. – №. 21. – C. 5048-5056.

123. Dhananjayan, S.C. WW domain binding protein-2, an E6-associated protein interacting protein, acts as a coactivator of estrogen and progesterone receptors / Dhananjayan S.C. et al. // *Molecular endocrinology*. – 2006. – T. 20. – №. 10. – C. 2343-2354.
124. Didier, N. Secretion of interleukin-1 β by astrocytes mediates endothelin-1 and tumour necrosis factor- α effects on human brain microvascular endothelial cell permeability / Didier N. et al. // *Journal of neurochemistry*. – 2003. – T. 86. – №. 1. – C. 246-254.
125. DiSabato, D.J. Neuroinflammation: the devil is in the details / DiSabato D.J., Quan N., Godbout J.P. // *Journal of neurochemistry*. – 2016. – T. 139. – C. 136-153.
126. Dobrynina, L.A. Tissue plasminogen activator and MRI signs of cerebral small vessel disease / Dobrynina L.A. et al. // *Brain Sciences*. – 2019. – T. 9. – №. 10. – C. 266.
127. Dobrynina, L.A. Microstructural predictors of cognitive impairment in cerebral small vessel disease and the conditions of their formation / Dobrynina L.A. et al. // *Diagnostics*. – 2020a. – T. 10. – №. 9. – C. 720.
128. Dobrynina, L.A. MRI types of cerebral small vessel disease and circulating markers of vascular wall damage / Dobrynina L.A. et al. // *Diagnostics*. – 2020b. – T. 10. – №. 6. – C. 354.
129. Donato, A.J. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells / Donato A.J. et al. // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2015. – T. 89. – C. 122-135.
130. Doring, A. Stimulation of monocytes, macrophages, and microglia by amphotericin B and macrophage colony-stimulating factor promotes remyelination / Doring A. et al. // *Journal of Neuroscience*. – 2015. – T. 35. – №. 3. – C. 1136-1148.
131. Dos Santos, L.R. Validating GWAS variants from microglial genes implicated in Alzheimer's disease / Dos Santos L.R. et al. // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2017. – T. 62. – C. 215-221.
132. Dri, P. TNF-induced shedding of TNF receptors in human polymorphonuclear leukocytes: role of the 55-kDa TNF receptor and involvement of a membrane-bound and non-matrix metalloproteinase / Dri P. et al. // *The Journal of Immunology*. – 2000. – T. 165. – №. 4. – C. 2165-2172.
133. Dziedzic, T. Interleukin 1 beta polymorphism (–511) and risk of stroke due to small vessel disease / Dziedzic T. et al. // *Cerebrovascular Diseases*. – 2005. – T. 20. – №. 5. – C. 299-303.
134. Dzierko, M. Delayed VEGF treatment enhances angiogenesis and recovery after

neonatal focal rodent stroke / Dzierko M. et al. // *Translational stroke research*. – 2013. – T. 4. – C. 189-200.

135. Ebrahimian, T.G. Dual effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on angiogenesis in type 1 diabetic mice / Ebrahimian T.G. et al. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2005. – T. 25. – №. 1. – C. 65-70.

136. Eikelenboom, P. Whether, when and how chronic inflammation increases the risk of developing late-onset Alzheimer's disease / Eikelenboom P. et al. // *Alzheimer's research & therapy*. – 2012. – T. 4. – C. 1-9.

137. El Assar, M. Oxidative stress and vascular inflammation in aging / El Assar M., Angulo J., Rodríguez-Mañas L. // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2013. – T. 65. – C. 380-401.

138. El Hajj, H.I. The inflammatory response in acyl-CoA oxidase 1 deficiency (pseudoneonatal adrenoleukodystrophy) / El Hajj H.I. et al. // *Endocrinology*. – 2012. – T. 153. – №. 6. – C. 2568-2575.

139. Eldahshan, W. Inflammation within the neurovascular unit: focus on microglia for stroke injury and recovery / Eldahshan W., Fagan S.C., Ergul A. // *Pharmacological research*. – 2019. – T. 147. – C. 104349.

140. El-Remessy, A.B. Peroxynitrite mediates diabetes-induced endothelial dysfunction: possible role of Rho kinase activation / El-Remessy A.B. et al. // *Journal of Diabetes Research*. – 2010. – T. 2010.

141. Esmailzadeh, S. BIN1 tumor suppressor regulates Fas/Fas ligand-mediated apoptosis through c-FLIP in cutaneous T-cell lymphoma / Esmailzadeh S. et al. // *Leukemia*. – 2015. – T. 29. – №. 6. – C. 1402-1413.

142. Estes, M.L. Alterations in immune cells and mediators in the brain: it's not always neuroinflammation! / Estes M.L., McAllister A.K. // *Brain Pathology*. – 2014. – T. 24. – №. 6. – C. 623-630.

143. Evans, L.E. Cardiovascular comorbidities, inflammation, and cerebral small vessel disease / Evans L.E. et al. // *Cardiovascular research*. – 2021. – T. 117. – №. 13. – C. 2575-2588.

144. Facemire, C.S. Vascular endothelial growth factor receptor 2 controls blood pressure by regulating nitric oxide synthase expression / Facemire C.S. et al. // *Hypertension*. – 2009. – T. 54. – №. 3. – C. 652-658.

145. Fagan, S.C. Minocycline to improve neurologic outcome in stroke (MINOS) a dose-finding study / Fagan S.C. et al. // *Stroke*. – 2010. – T. 41. – №. 10. – C. 2283-2287.
146. Falvo, J.V. TNF Pathophysiology. Molecular and Cellular Mechanisms / Falvo J.V. et al. // *Current directions in autoimmunity*. – 2010. – C. 27-60.
147. Farrall, A.J. Blood–brain barrier: ageing and microvascular disease—systematic review and meta-analysis / Farrall A.J., Wardlaw J.M. // *Neurobiology of aging*. – 2009. – T. 30. – №. 3. – C. 337-352.
148. Fazekas, F. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging / Fazekas F. et al. // *American Journal of Neuroradiology*. – 1987. – T. 8. – №. 3. – C. 421-426.
149. Feigin, V.L. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 / Feigin V.L. et al. // *The Lancet Neurology*. – 2019. – T. 18. – №. 5. – C. 459-480.
150. Ferdinandusse, S. Clinical, biochemical, and mutational spectrum of peroxisomal acyl–coenzyme A oxidase deficiency / Ferdinandusse S. et al. // *Human mutation*. – 2007. – T. 28. – №. 9. – C. 904-912.
151. Ferrara, N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis / Ferrara N. // *Mechanisms of angiogenesis*. – 2005. – C. 209-231.
152. Fischer, M.T. NADPH oxidase expression in active multiple sclerosis lesions in relation to oxidative tissue damage and mitochondrial injury / Fischer M.T. et al. // *Brain*. – 2012. – T. 135. – №. 3. – C. 886-899.
153. Fisher, C.M. Lacunar strokes and infarcts: a review / Fisher C.M. // *Neurology*. – 1982. – T. 32. – №. 8. – C. 871-871.
154. Fornage, M. Biomarkers of inflammation and MRI-defined small vessel disease of the brain: the Cardiovascular Health Study / Fornage M. et al. // *Stroke*. – 2008. – T. 39. – №. 7. – C. 1952-1959.
155. Fornage, M. Genome-wide association studies of cerebral white matter lesion burden: the CHARGE consortium / Fornage M. et al. // *Annals of neurology*. – 2011. – T. 69. – №. 6. – C. 928-939.
156. Forsberg, K.M.E. Endothelial damage, vascular bagging and remodeling of the microvascular bed in human microangiopathy with deep white matter lesions / Forsberg K.M.E. et al. // *Acta neuropathologica communications*. – 2018. – T. 6. – №. 1. – C. 1-17.

157. Fowler, J.H. Dimethyl fumarate improves white matter function following severe hypoperfusion: involvement of microglia/macrophages and inflammatory mediators / Fowler J.H. et al. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2018. – T. 38. – №. 8. – C. 1354-1370.
158. Fu, B.M. Blood-Brain Barrier (BBB) permeability and transport measurement in vitro and in vivo / Fu B.M., Zhao Z., Zhu D. // *Permeability Barrier: Methods and Protocols*. – 2021. – C. 105-122.
159. Fu, Y. Emerging role of immunity in cerebral small vessel disease / Fu Y., Yan Y. // *Frontiers in Immunology*. – 2018. – T. 9. – C. 67.
160. Gamboa, A. Contribution of endothelial nitric oxide to blood pressure in humans / Gamboa A. et al. // *Hypertension*. – 2007. – T. 49. – №. 1. – C. 170-177.
161. Gava, A.L. Overexpression of eNOS prevents the development of renovascular hypertension in mice / Gava A.L. et al. // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2008. – T. 86. – №. 7. – C. 458-464.
162. Gearing, A. J. H. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1: pathological significance / Gearing A. J. H. et al. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1992. – T. 667. – №. 1. – C. 324-331.
163. Geiss, G.K. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs / Geiss G.K. et al. // *Nature biotechnology*. – 2008. – T. 26. – №. 3. – C. 317-325.
164. Giannarelli, C. Tissue-type plasminogen activator release in healthy subjects and hypertensive patients: relationship with β -adrenergic receptors and the nitric oxide pathway / Giannarelli C. et al. // *Hypertension*. – 2008. – T. 52. – №. 2. – C. 314-321.
165. Gomez-Nicola, D. Post-mortem analysis of neuroinflammatory changes in human Alzheimer's disease / Gomez-Nicola D., Boche D. // *Alzheimer's research & therapy*. – 2015. – T. 7. – C. 1-8.
166. Gonzalez, Y. High glucose concentrations induce TNF- α production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes / Gonzalez Y. et al. // *BMC immunology*. – 2012. – T. 13. – C. 1-14.
167. Gorelick, P.B. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / Gorelick P.B. et al. // *Stroke*. – 2011. – T. 42. – №. 9. – C. 2672-2713.

168. Gough, P. Tumor necrosis factor receptors: pleiotropic signaling complexes and their differential effects / Gough P., Myles I.A. // *Frontiers in immunology*. – 2020. – T. 11. – C. 585880.
169. Gouw, A.A. Heterogeneity of small vessel disease: a systematic review of MRI and histopathology correlations / Gouw A.A. et al. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2011. – T. 82. – №. 2. – C. 126-135.
170. Graf, C. The Lawton instrumental activities of daily living scale / Graf C. // *AJN The American Journal of Nursing*. – 2008. – T. 108. – №. 4. – C. 52-62.
171. Griciuc, A. Alzheimer's disease risk gene CD33 inhibits microglial uptake of amyloid beta / Griciuc A. et al. // *Neuron*. – 2013. – T. 78. – №. 4. – C. 631-643.
172. Griciuc, A. Gene therapy for Alzheimer's disease targeting CD33 reduces amyloid beta accumulation and neuroinflammation / Griciuc A. et al. // *Human Molecular Genetics*. – 2020. – T. 29. – №. 17. – C. 2920-2935.
173. Gu, Y. Circulating inflammatory biomarkers in relation to brain structural measurements in a non-demented elderly population / Gu Y. et al. // *Brain, behavior, and immunity*. – 2017. – T. 65. – C. 150-160.
174. Gu, Y. Circulating inflammatory biomarkers are related to cerebrovascular disease in older adults / Gu Y. et al. // *Neurology-Neuroimmunology Neuroinflammation*. – 2019. – T. 6. – №. 1.
175. Guan, D. Thymoquinone protects against cerebral small vessel disease: Role of antioxidant and anti-inflammatory activities / Guan D. et al. // *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. – 2018. – T. 32. – №. 2. – C. 225-231.
176. Gulati, A. Vascular endothelium and hypovolemic shock / Gulati A. // *Current vascular pharmacology*. – 2016. – T. 14. – №. 2. – C. 187-195.
177. Gusev, A. Integrative approaches for large-scale transcriptome-wide association studies / Gusev A. et al. // *Nature genetics*. – 2016. – T. 48. – №. 3. – C. 245-252.
178. Hachinski, V. Preventing dementia by preventing stroke: the Berlin Manifesto / Hachinski V. et al. // *Alzheimer's & Dementia*. – 2019. – T. 15. – №. 7. – C. 961-984.
179. Haffner, C. Genetic factors in cerebral small vessel disease and their impact on stroke and dementia / Haffner C., Malik R., Dichgans M. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2016. – T. 36. – №. 1. – C. 158-171.
180. Hagemeyer, N. Microglia contribute to normal myelinogenesis and to

oligodendrocyte progenitor maintenance during adulthood / Hagemeyer N. et al. // *Acta neuropathologica*. – 2017. – T. 134. – C. 441-458.

181. Han, S. Protective effects of genistein in homocysteine-induced endothelial cell inflammatory injury / Han S. et al. // *Molecular and cellular biochemistry*. – 2015. – T. 403. – C. 43-49.

182. Hartz, A.M.S. Amyloid- β contributes to blood–brain barrier leakage in transgenic human amyloid precursor protein mice and in humans with cerebral amyloid angiopathy / Hartz A.M.S. et al. // *Stroke*. – 2012. – T. 43. – №. 2. – C. 514-523.

183. Hashemiaghdam, A. Microglia heterogeneity and neurodegeneration: The emerging paradigm of the role of immunity in Alzheimer's disease / Hashemiaghdam A., Mroczek M. // *Journal of neuroimmunology*. – 2020. – T. 341. – C. 577185.

184. Heidari, F. CD33 mRNA has elevated expression levels in the leukocytes of peripheral blood in patients with late-onset Alzheimer's disease / Heidari F., Ansstas G., Ajamian F. // *Gerontology*. – 2022. – T. 68. – №. 4. – C. 421-430.

185. Hemming, M.L. Amyloid β -protein is degraded by cellular angiotensin-converting enzyme (ACE) and elevated by an ACE inhibitor / Hemming M.L., Selkoe D.J. // *Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – T. 280. – №. 45. – C. 37644-37650.

186. Heneka, M.T. Neuroinflammation in Alzheimer's disease / Heneka M.T. et al. // *Lancet neurology*. – 2015. – C. 70016-5.

187. Higaki, H. The hypnotic bromovalerylurea ameliorates 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic neuron loss while suppressing expression of interferon regulatory factors by microglia / Higaki H. et al. // *Neurochemistry International*. – 2016. – T. 99. – C. 158-168.

188. Hilal, S. Prevalence, risk factors and consequences of cerebral small vessel diseases: data from three Asian countries / Hilal S. et al. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2017. – T. 88. – №. 8. – C. 669-674.

189. Hillman, E.M.C. Coupling mechanism and significance of the BOLD signal: a status report / Hillman E.M.C. // *Annual review of neuroscience*. – 2014. – T. 37. – C. 161-181.

190. Ho, Y.H. Peripheral inflammation increases seizure susceptibility via the induction of neuroinflammation and oxidative stress in the hippocampus / Ho Y.H. et al. // *Journal of biomedical science*. – 2015. – T. 22. – №. 1. – C. 1-14.

191. Hollingworth, P. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease / Hollingworth P. et al. // *Nature genetics*. – 2011. – T. 43. – №. 5. – C. 429-435.
192. Hsu, S.J. Enhanced meningeal lymphatic drainage ameliorates neuroinflammation and hepatic encephalopathy in cirrhotic rats / Hsu S.J. et al. // *Gastroenterology*. – 2021. – T. 160. – №. 4. – C. 1315-1329. e13.
193. Hu, N. Decreased expression of CD33 in peripheral mononuclear cells of Alzheimer's disease patients / Hu N. et al. // *Neuroscience letters*. – 2014. – T. 563. – C. 51-54.
194. Hu, X. Meta-analysis for genome-wide association study identifies multiple variants at the BIN1 locus associated with late-onset Alzheimer's disease / Hu X. et al. // *PloS one*. – 2011. – T. 6. – №. 2. – C. e16616.
195. Huang, C.W. Clinical significance of circulating vascular cell adhesion molecule-1 to white matter disintegrity in Alzheimer's dementia / Huang C.W. et al. // *Thrombosis and haemostasis*. – 2015. – T. 114. – №. 12. – C. 1230-1240.
196. Hultman, K. The APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ genotype potentiates vascular fibrin (ogen) deposition in amyloid-laden vessels in the brains of Alzheimer's disease patients / Hultman K., Strickland S., Norris E.H. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2013. – T. 33. – №. 8. – C. 1251.
197. Iadecola, C. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia / Iadecola C. // *Acta neuropathologica*. – 2010. – T. 120. – C. 287-296.
198. Iadecola, C. The neurovascular unit coming of age: a journey through neurovascular coupling in health and disease / Iadecola C. // *Neuron*. – 2017. – T. 96. – №. 1. – C. 17-42.
199. Iadecola, C. Vascular cognitive impairment and dementia: JACC scientific expert panel / Iadecola C. et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2019. – T. 73. – №. 25. – C. 3326-3344.
200. Ihara, M. Emerging evidence for pathogenesis of sporadic cerebral small vessel disease / Ihara M., Yamamoto Y. // *Stroke*. – 2016. – T. 47. – №. 2. – C. 554-560.
201. Iliff, J.J. Implications of the discovery of brain lymphatic pathways / Iliff J.J., Goldman S.A., Nedergaard M. // *The Lancet Neurology*. – 2015. – T. 14. – №. 10. – C. 977-979.

202. Jae, S.Y. Relation of C-reactive protein, fibrinogen, and cardiorespiratory fitness to risk of systemic hypertension in men / Jae S.Y. et al. // *The American journal of cardiology*. – 2015. – T. 115. – №. 12. – C. 1714-1719.
203. Jalal, F.Y. Myelin loss associated with neuroinflammation in hypertensive rats / Jalal F.Y. et al. // *Stroke*. – 2012. – T. 43. – №. 4. – C. 1115-1122.
204. Jalal, F.Y. Hypoxia-induced neuroinflammatory white-matter injury reduced by minocycline in SHR/SP / Jalal F.Y. et al. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2015. – T. 35. – №. 7. – C. 1145-1153.
205. Janciauskiene, S. M. A link between sICAM-1, ACE and parietal blood flow in the aging brain / Janciauskiene S. M., Erikson C., Warkentin S. // *Neurobiology of aging*. – 2009. – T. 30. – №. 9. – C. 1504-1511.
206. Jellinger, K.A. Alzheimer disease and cerebrovascular pathology: an update / Jellinger K.A. // *Journal of neural transmission*. – 2002. – T. 109. – C. 813-836.
207. Jellinger, K.A. Pathology and pathogenesis of vascular cognitive impairment—a critical update / Jellinger K.A. // *Frontiers in aging neuroscience*. – 2013. – T. 5. – C. 17.
208. Jha, M.K. Functional polarization of neuroglia: implications in neuroinflammation and neurological disorders / Jha M.K., Lee W.H., Suk K. // *Biochemical pharmacology*. – 2016. – T. 103. – C. 1-16.
209. Jian, B. Update of immunosenescence in cerebral small vessel disease / Jian B. et al. // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – T. 11. – C. 585655.
210. Jian, J. miR-1226-3p promotes eNOS expression of pulmonary arterial endothelial cells to mitigate hypertension in rats via targeting profilin-1 / Jian J. et al. // *BioMed Research International*. – 2021. – T. 2021.
211. Jian, X. Exome chip analysis identifies low-frequency and rare variants in MRPL38 for white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging / Jian X. et al. // *Stroke*. – 2018. – T. 49. – №. 8. – C. 1812-1819.
212. Jiang, Y.T. Meta-analysis of the association between CD33 and Alzheimer's disease / Jiang Y.T. et al. // *Annals of translational medicine*. – 2018. – T. 6. – №. 10.
213. Juul Rasmussen, I. Blood–brain barrier transcytosis genes, risk of dementia and stroke: a prospective cohort study of 74,754 individuals / Juul Rasmussen I. et al. // *European journal of epidemiology*. – 2019. – T. 34. – C. 579-590.
214. Kadlecova, Z. Regulation of clathrin-mediated endocytosis by hierarchical

allosteric activation of AP2 / Kadlecova Z. et al. // *Journal of Cell Biology*. – 2017. – T. 216. – №. 1. – C. 167-179.

215. Kaiser, D. Spontaneous white matter damage, cognitive decline and neuroinflammation in middle-aged hypertensive rats: an animal model of early-stage cerebral small vessel disease / Kaiser D. et al. // *Acta neuropathologica communications*. – 2014. – T. 2. – C. 1-15.

216. Kalaria, R.N. Overlap between pathology of Alzheimer disease and vascular dementia / Kalaria R.N., Ballard C. // *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. – 1999. – T. 13. – C. S115-S123.

217. Kalaria, R.N. The role of cerebral ischemia in Alzheimer's disease / Kalaria R.N. // *Neurobiology of aging*. – 2000. – T. 21. – №. 2. – C. 321-330.

218. Kamat, P.K. Hydrogen sulfide attenuates neurodegeneration and neurovascular dysfunction induced by intracerebral-administered homocysteine in mice / Kamat P.K. et al. // *Neuroscience*. – 2013. – T. 252. – C. 302-319.

219. Kamboh, M.I. Genome-wide association analysis of age-at-onset in Alzheimer's disease / Kamboh M.I. et al. // *Molecular psychiatry*. – 2012. – T. 17. – №. 12. – C. 1340-1346.

220. Kanatsu, K. Decreased CALM expression reduces A β 42 to total A β ratio through clathrin-mediated endocytosis of γ -secretase / Kanatsu K. et al. // *Nature communications*. – 2014. – T. 5. – №. 1. – C. 3386.

221. Kapasi, A. Impact of multiple pathologies on the threshold for clinically overt dementia / Kapasi A., DeCarli C., Schneider J.A. // *Acta neuropathologica*. – 2017. – T. 134. – C. 171-186.

222. Karch, C.M. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis / Karch C.M., Goate A.M. // *Biological psychiatry*. – 2015. – T. 77. – №. 1. – C. 43-51.

223. Kelleher, R.J. Evidence of endothelial dysfunction in the development of Alzheimer's disease: Is Alzheimer's a vascular disorder? / Kelleher R.J., Soiza R.L. // *American journal of cardiovascular disease*. – 2013. – T. 3. – №. 4. – C. 197.

224. Kelly, B.T. AP2 controls clathrin polymerization with a membrane-activated switch / Kelly B.T. et al. // *Science*. – 2014. – T. 345. – №. 6195. – C. 459-463.

225. Kim, B. Increased tau phosphorylation and cleavage in mouse models of type 1

and type 2 diabetes / Kim B. et al. // *Endocrinology*. – 2009. – T. 150. – №. 12. – C. 5294-5301.

226. Kim, H.W. Cerebral small vessel disease and Alzheimer's disease: a review / Kim H.W., Hong J., Jeon J.C. // *Frontiers in Neurology*. – 2020. – T. 11. – C. 927.

227. Kim, J.M. BDNF genotype potentially modifying the association between incident stroke and depression / Kim J.M. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2008. – T. 29. – №. 5. – C. 789-792.

228. Klarenbeek, P. Ambulatory blood pressure in patients with lacunar stroke: association with total MRI burden of cerebral small vessel disease / Klarenbeek P. et al. // *Stroke*. – 2013. – T. 44. – №. 11. – C. 2995-2999.

229. Knezevic, D. Molecular imaging of neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment / Knezevic D., Mizrahi R. // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2018. – T. 80. – C. 123-131.

230. Knol, M.J. Association of common genetic variants with brain microbleeds: a genome-wide association study / Knol M.J. et al. // *Neurology*. – 2020. – T. 95. – №. 24. – C. e3331-e3343.

231. Kolbert, C.P. Multi-platform analysis of microRNA expression measurements in RNA from fresh frozen and FFPE tissues / Kolbert C.P. et al. // *PloS one*. – 2013. – T. 8. – №. 1. – C. e52517.

232. Kunnas, T. Gene polymorphisms of fibronectin rs2289202 and fibrillin 2 rs331069 associate with vascular disease, the TAMRISK study / Kunnas T., Solakivi T., Nikkari S.T. // *Biomedical Reports*. – 2018. – T. 8. – №. 1. – C. 65-68.

233. Lagarde, J. In vivo PET imaging of neuroinflammation in Alzheimer's disease / Lagarde J., Sarazin M., Bottlaender M. // *Journal of Neural Transmission*. – 2018. – T. 125. – C. 847-867.

234. Lajaunias, F. Constitutive repressor activity of CD33 on human monocytes requires sialic acid recognition and phosphoinositide 3-kinase-mediated intracellular signaling / Lajaunias F., Dayer J.M., Chizzolini C. // *European journal of immunology*. – 2005. – T. 35. – №. 1. – C. 243-251.

235. Lam, B.Y.K. The global burden of cerebral small vessel disease in low-and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis / Lam B.Y.K. et al. // *International Journal of Stroke*. – 2023. – T. 18. – №. 1. – C. 15-27.

236. Lambert, J.C. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease / Lambert J.C. et al. // *Nature genetics*. – 2013. – T. 45. – №. 12. – C. 1452-1458.
237. Lambrechts, D. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death / Lambrechts D. et al. // *Nature genetics*. – 2003. – T. 34. – №. 4. – C. 383-394.
238. Lampl, Y. Minocycline treatment in acute stroke: an open-label, evaluator-blinded study / Lampl Y. et al. // *Neurology*. – 2007. – T. 69. – №. 14. – C. 1404-1410.
239. Lan, X. Modulators of microglial activation and polarization after intracerebral haemorrhage / Lan X. et al. // *Nature Reviews Neurology*. – 2017. – T. 13. – №. 7. – C. 420-433.
240. Lange, C. Vascular endothelial growth factor: a neurovascular target in neurological diseases / Lange C. et al. // *Nature Reviews Neurology*. – 2016. – T. 12. – №. 8. – C. 439-454.
241. Lee, J.H. Identification of pure subcortical vascular dementia using 11C-Pittsburgh compound B / Lee J.H. et al. // *Neurology*. – 2011. – T. 77. – №. 1. – C. 18-25.
242. Lee, J. Nanostring-based multigene assay to predict recurrence for gastric cancer patients after surgery / Lee J. et al. // *PloS one*. – 2014. – T. 9. – №. 3. – C. e90133.
243. Leo, F. Red blood cell and endothelial eNOS independently regulate circulating nitric oxide metabolites and blood pressure / Leo F. et al. // *Circulation*. – 2021. – T. 144. – №. 11. – C. 870-889.
244. Leek, J.T. Tackling the widespread and critical impact of batch effects in high-throughput data / Leek J.T. et al. // *Nature Reviews Genetics*. – 2010. – T. 11. – №. 10. – C. 733-739.
245. Lehtonen, S. CD2-associated protein is widely expressed and differentially regulated during embryonic development / Lehtonen S. et al. // *Differentiation*. – 2008. – T. 76. – №. 5. – C. 506-517.
246. Ley, K. The role of selectins in inflammation and disease / Ley K. // *Trends in molecular medicine*. – 2003. – T. 9. – №. 6. – C. 263-268.
247. Lezak, M.D. Neuropsychological assessment / Lezak M.D. et al. // – Oxford University Press, USA, 2004
248. Li, B. KDR (VEGF receptor 2) is the major mediator for the hypotensive effect

of VEGF / Li B. et al. // *Hypertension*. – 2002. – T. 39. – №. 6. – C. 1095-1100.

249. Li, C. CD2AP is expressed with nephrin in developing podocytes and is found widely in mature kidney and elsewhere / Li C. et al. // *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. – 2000. – T. 279. – №. 4. – C. F785-F792.

250. Li, H. Physical activity attenuates the associations of systemic immune-inflammation index with total and cause-specific mortality among middle-aged and older populations / Li H. et al. // *Scientific Reports*. – 2021. – T. 11. – №. 1. – C. 12532.

251. Li, H.Q. Genome-wide association study of cerebral microbleeds on MRI / Li H.Q. et al. // *Neurotoxicity Research*. – 2020. – T. 37. – C. 146-155.

252. Li, T. Age-related cerebral small vessel disease and inflammaging / Li T. et al. // *Cell Death & Disease*. – 2020. – T. 11. – №. 10. – C. 932.

253. Li, Y. Genetic variation in angiotensin converting-enzyme affects the white matter integrity and cognitive function of amnesic mild cognitive impairment patients / Li Y. et al. // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2017. – T. 380. – C. 177-181.

254. Li, Y. White Matter and Alzheimer's Disease: A Bidirectional Mendelian Randomization Study / Li Y. et al. // *Neurology and Therapy*. – 2022. – T. 11. – №. 2. – C. 881-892.

255. Lip, G.Y.H. Endothelium and fibrinolysis in hypertension: important facets of a prothrombotic state? / Lip G.Y.H., Blann A.D. // *Hypertension*. – 2008. – T. 52. – №. 2. – C. 218-219.

256. Liu, J.Y.W. Neuropathology of the blood–brain barrier and pharmaco-resistance in human epilepsy / Liu J.Y.W. et al. // *Brain*. – 2012. – T. 135. – №. 10. – C. 3115-3133.

257. Liu, X. The global burden of cerebral small vessel disease related to neurological deficit severity and clinical outcomes of acute ischemic stroke after IV rt-PA treatment / Liu X. et al. // *Neurological Sciences*. – 2019. – T. 40. – C. 1157-1166.

258. Liu, Y. Cerebral small vessel disease and the risk of Alzheimer's disease: a systematic review / Liu Y. et al. // *Ageing research reviews*. – 2018. – T. 47. – C. 41-48.

259. Löffler, T. Neuroinflammation and related neuropathologies in APPSL mice: further value of this in vivomodel of Alzheimer's disease / Löffler T. et al. // *Journal of neuroinflammation*. – 2014. – T. 11. – №. 1. – C. 1-13.

260. Lominadze, D. Mechanisms of fibrinogen-induced microvascular dysfunction during cardiovascular disease / Lominadze D. et al. // *Acta physiologica*. – 2010. – T. 198. –

№. 1. – C. 1-13.

261. Lopez, L.M. Genes from a translational analysis support a multifactorial nature of white matter hyperintensities / Lopez L.M. et al. // *Stroke*. – 2015. – T. 46. – №. 2. – C. 341-347.

262. Louveau, A. CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature / Louveau A. et al. // *Nature neuroscience*. – 2018. – T. 21. – №. 10. – C. 1380-1391.

263. Love, S. Cerebrovascular disease in ageing and Alzheimer's disease / Love S., Miners J.S. // *Acta neuropathologica*. – 2016. – T. 131. – C. 645-658.

264. Low, A. Inflammation and cerebral small vessel disease: a systematic review / Low A. et al. // *Ageing research reviews*. – 2019. – T. 53. – C. 100916.

265. Low, A. In vivo neuroinflammation and cerebral small vessel disease in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease / Low A. et al. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. – 2021. – T. 92. – №. 1. – C. 45-52.

266. Low, A. Modifiable and non-modifiable risk factors of dementia on midlife cerebral small vessel disease in cognitively healthy middle-aged adults: the PREVENT-Dementia study / Low A. et al. // *Alzheimer's research & therapy*. – 2022. – T. 14. – №. 1. – C. 154.

267. Lüscher, T. F. Endothelial control of vascular tone and growth / Lüscher T. F. // *Clinical and Experimental Hypertension. Part A: Theory and Practice*. – 1990. – T. 12. – №. 5. – C. 897-902.

268. Mahoney, F. I. Functional evaluation: the Barthel Index: a simple index of independence useful in scoring improvement in the rehabilitation of the chronically ill / Mahoney F. I., Barthel D. W. // *Maryland state medical journal*. – 1965.

269. Malik, M. CD33 Alzheimer's risk-altering polymorphism, CD33 expression, and exon 2 splicing / Malik M. et al. // *Journal of Neuroscience*. – 2013. – T. 33. – №. 33. – C. 13320-13325.

270. Malik, R. Multiancestry genome-wide association study of 520,000 subjects identifies 32 loci associated with stroke and stroke subtypes / Malik R. et al. // *Nature genetics*. – 2018. – T. 50. – №. 4. – C. 524-537.

271. Malkov, V.A. Multiplexed measurements of gene signatures in different analytes using the Nanostring nCounter™ Assay System / Malkov V.A. et al. // *BMC research notes*. –

2009. – T. 2. – №. 1. – C. 1-9.

272. Mancia, G. 2013 ESH/ESC practice guidelines for the management of arterial hypertension: ESH-ESC the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / Mancia G. et al. // *Blood pressure*. – 2014. – T. 23. – №. 1. – C. 3-16.

273. Manso, Y. Minocycline reduces microgliosis and improves subcortical white matter function in a model of cerebral vascular disease / Manso Y. et al. // *Glia*. – 2018. – T. 66. – №. 1. – C. 34-46.

274. Marini, S. 17p12 influences hematoma volume and outcome in spontaneous intracerebral hemorrhage / Marini S. et al. // *Stroke*. – 2018. – T. 49. – №. 7. – C. 1618-1625.

275. Marini, S. Genetics of cerebral small vessel disease / Marini S., Anderson C. D., Rosand J. // *Stroke*. – 2020. – T. 51. – №. 1. – C. 12-20.

276. Markus, H.S. Markers of endothelial and hemostatic activation and progression of cerebral white matter hyperintensities: longitudinal results of the Austrian Stroke Prevention Study / Markus H.S. et al. // *Stroke*. – 2005. – T. 36. – №. 7. – C. 1410-1414.

277. Marques-Coelho, D. Differential transcript usage unravels gene expression alterations in Alzheimer's disease human brains / Marques-Coelho D. et al. // *NPJ Aging and Mechanisms of Disease*. – 2021. – T. 7. – №. 1. – C. 2.

278. Martin, L. VEGF counteracts amyloid- β -induced synaptic dysfunction / Martin L. et al. // *Cell reports*. – 2021. – T. 35. – №. 6.

279. Martiskainen, H. Transcriptomics and mechanistic elucidation of Alzheimer's disease risk genes in the brain and in vitro models / Martiskainen H. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2015. – T. 36. – №. 2. – C. 1221. e15-1221. e28.

280. Mazumder, S. Liquid biopsy: miRNA as a potential biomarker in oral cancer / Mazumder S. et al. // *Cancer epidemiology*. – 2019. – T. 58. – C. 137-145.

281. McKenzie, A. T. Multiscale network modeling of oligodendrocytes reveals molecular components of myelin dysregulation in Alzheimer's disease / McKenzie A. T. et al. // *Molecular Neurodegeneration*. – 2017. – T. 12. – C. 1-20.

282. McQuade, A. Microglia in Alzheimer's disease: exploring how genetics and phenotype influence risk / McQuade A., Blurton-Jones M. // *Journal of molecular biology*. – 2019. – T. 431. – №. 9. – C. 1805-1817.

283. Merlini, M. Fibrinogen induces microglia-mediated spine elimination and

cognitive impairment in an Alzheimer's disease model / Merlini M. et al. // *Neuron*. – 2019. – T. 101. – №. 6. – C. 1099-1108. e6.

284. Messadi, E. Cardioprotective effect of VEGF and venom VEGF-like protein in acute myocardial ischemia in mice: effect on mitochondrial function / Messadi E. et al. // *Journal of cardiovascular pharmacology*. – 2014. – T. 63. – №. 3. – C. 274-281.

285. Michiels, C. Endothelial cell functions / Michiels C. // *Journal of cellular physiology*. – 2003. – T. 196. – №. 3. – C. 430-443.

286. Miller, K.L. Multimodal population brain imaging in the UK Biobank prospective epidemiological study / Miller K.L. et al. // *Nature neuroscience*. – 2016. – T. 19. – №. 11. – C. 1523-1536.

287. Miller, S.E. CALM regulates clathrin-coated vesicle size and maturation by directly sensing and driving membrane curvature / Miller S.E. et al. // *Developmental cell*. – 2015. – T. 33. – №. 2. – C. 163-175.

288. Mishra, M.K. Laquinimod reduces neuroaxonal injury through inhibiting microglial activation / Mishra M.K. et al. // *Annals of clinical and translational neurology*. – 2014. – T. 1. – №. 6. – C. 409-422.

289. Mitaki, S. C-reactive protein levels are associated with cerebral small vessel-related lesions / Mitaki S. et al. // *Acta Neurologica Scandinavica*. – 2016. – T. 133. – №. 1. – C. 68-74.

290. Mitroi, D.N. Single-nucleus transcriptome analysis reveals disease-and regeneration-associated endothelial cells in white matter vascular dementia / Mitroi D.N. et al. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2022. – T. 26. – №. 11. – C. 3183-3195.

291. Miwa, K. Relations of blood inflammatory marker levels with cerebral microbleeds / Miwa K. et al. // *Stroke*. – 2011. – T. 42. – №. 11. – C. 3202-3206.

292. Miyagawa, T. BIN1 regulates BACE1 intracellular trafficking and amyloid- β production / Miyagawa T. et al. // *Human molecular genetics*. – 2016. – T. 25. – №. 14. – C. 2948-2958.

293. Miyamoto, N. Crosstalk between cerebral endothelium and oligodendrocyte / Miyamoto N. et al. // *Cellular and molecular life sciences*. – 2014. – T. 71. – C. 1055-1066.

294. Morfoisse, F. Lymphatic and blood systems: Identical or fraternal twins? / Morfoisse F., Noel A. // *The international journal of biochemistry & cell biology*. – 2019. – T. 114. – C. 105562.

295. Mosesson, M.W. Fibrinogen and fibrin structure and functions / Mosesson M.W. // *Journal of thrombosis and haemostasis*. – 2005. – T. 3. – №. 8. – C. 1894-1904.
296. Moslehi, J.J. Cardiovascular toxic effects of targeted cancer therapies / Moslehi J.J. // *New England Journal of Medicine*. – 2016. – T. 375. – №. 15. – C. 1457-1467.
297. Muller, W.A. Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response / Muller W.A. // *Laboratory investigation*. – 2002. – T. 82. – №. 5. – C. 521-534.
298. Muradashvili, N. Fibrinogen-induced increased pial venular permeability in mice / Muradashvili N. et al. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2012. – T. 32. – №. 1. – C. 150-163.
299. Murta, V. Chronic systemic IL-1 β exacerbates central neuroinflammation independently of the blood–brain barrier integrity / Murta V. et al. // *Journal of Neuroimmunology*. – 2015. – T. 278. – C. 30-43.
300. Naj, A.C. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease / Naj A.C. et al. // *Nature genetics*. – 2011. – T. 43. – №. 5. – C. 436-441.
301. Nasreddine, Z.S. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment / Nasreddine Z.S. et al. // *Journal of the American Geriatrics Society*. – 2005. – T. 53. – №. 4. – C. 695-699.
302. Nazem, A. Rodent models of neuroinflammation for Alzheimer's disease / Nazem A. et al. // *Journal of neuroinflammation*. – 2015. – T. 12. – C. 1-15.
303. Newcombe, E.A. Inflammation: the link between comorbidities, genetics, and Alzheimer's disease / Newcombe E.A. et al. // *Journal of neuroinflammation*. – 2018. – T. 15. – №. 1. – C. 1-26.
304. Noble, J.M. Association of C-reactive protein with cognitive impairment / Noble J.M. et al. // *Archives of neurology*. – 2010. – T. 67. – №. 1. – C. 87-92.
305. Noda, H. Fingolimod phosphate promotes the neuroprotective effects of microglia / Noda H. et al. // *Journal of neuroimmunology*. – 2013. – T. 256. – №. 1-2. – C. 13-18.
306. Norden, D.M. TGF β produced by IL-10 redirected astrocytes attenuates microglial activation / Norden D.M. et al. // *Glia*. – 2014. – T. 62. – №. 6. – C. 881-895.
307. Ong, K.L. A genetic variant in the gene encoding fibrinogen beta chain predicted development of hypertension in Chinese men / Ong K.L. et al. // *Thrombosis and haemostasis*.

– 2010. – T. 103. – №. 04. – C. 728-735.

308. Pantoni, L. Pathogenesis of leukoaraiosis: a review / Pantoni L., Garcia J. H. // *Stroke*. – 1997. – T. 28. – №. 3. – C. 652-659.

309. Pantoni, L. Pathophysiology of age-related cerebral white matter changes / Pantoni L. // *Cerebrovascular diseases*. – 2002. – T. 13. – №. Suppl. 2. – C. 7-10.

310. Pantoni, L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges / Pantoni L. // *The Lancet Neurology*. – 2010. – T. 9. – №. 7. – C. 689-701.

311. Park, J.M. Genome-wide DNA methylation profiling in a rat model with vascular dementia / Park J.M. et al. // *Molecular Medicine Reports*. – 2018. – T. 18. – №. 1. – C. 123-130.

312. Parker, H.S. The practical effect of batch on genomic prediction / Parker H.S., Leek J. T. // *Statistical applications in genetics and molecular biology*. – 2012. – T. 11. – №. 3.

313. Pasi, M. White matter microstructural damage on diffusion tensor imaging in cerebral small vessel disease: clinical consequences / Pasi M. et al. // *Stroke*. – 2016. – T. 47. – №. 6. – C. 1679-1684.

314. Pasi, M. Clinical relevance of cerebral small vessel diseases / Pasi M., Cordonnier C. // *Stroke*. – 2020. – T. 51. – №. 1. – C. 47-53.

315. Patel, N.S. Alzheimer's β -amyloid peptide blocks vascular endothelial growth factor mediated signaling via direct interaction with VEGFR-2 / Patel N.S. et al. // *Journal of neurochemistry*. – 2010. – T. 112. – №. 1. – C. 66-76.

316. Paternoster, L. Genetic determinants of white matter hyperintensities on brain scans: a systematic assessment of 19 candidate gene polymorphisms in 46 studies in 19 000 subjects / Paternoster L., Chen W., Sudlow C. L. M. // *Stroke*. – 2009. – T. 40. – №. 6. – C. 2020-2026.

317. Pearson, J.D. Endothelial cell function and thrombosis / Pearson J.D. // *Best Practice & Research Clinical Haematology*. – 1999. – T. 12. – №. 3. – C. 329-341.

318. Pekny, M. Astrocytes: a central element in neurological diseases / Pekny M. et al. // *Acta neuropathologica*. – 2016. – T. 131. – C. 323-345.

319. Pepys, M.B. C-reactive protein: a critical update / Pepys M.B. et al. // *The Journal of clinical investigation*. – 2003. – T. 111. – №. 12. – C. 1805-1812.

320. Persyn, E. Genome-wide association study of MRI markers of cerebral small

vessel disease in 42,310 participants / Persyn E. et al. // *Nature communications*. – 2020. – T. 11. – №. 1. – C. 2175.

321. Pescini, F. Markers of endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in cerebral small / Pescini F., Abbate R. // *Cerebral small vessel disease*. – 2014. – T. 8. – C. 192.

322. Petersen, M.A. Fibrinogen in neurological diseases: mechanisms, imaging and therapeutics / Petersen M.A., Ryu J. K., Akassoglou K. // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2018. – T. 19. – №. 5. – C. 283-301.

323. Pimenova, A.A. Alzheimer's-associated PU. 1 expression levels regulate microglial inflammatory response / Pimenova A.A. et al. // *Neurobiology of disease*. – 2021. – T. 148. – C. 105217.

324. Poels, M.M.F. Prevalence and risk factors of cerebral microbleeds: an update of the Rotterdam scan study / Poels M.M.F. et al. // *Stroke*. – 2010. – T. 41. – №. 10_suppl_1. – C. S103-S106.

325. Poggesi, A. Circulating biologic markers of endothelial dysfunction in cerebral small vessel disease: a review / Poggesi A. et al. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2016. – T. 36. – №. 1. – C. 72-94.

326. Poudel, P. Recent advances in the treatment of Alzheimer's disease using nanoparticle-based drug delivery systems / Poudel P., Park S. // *Pharmaceutics*. – 2022. – T. 14. – №. 4. – C. 835.

327. Prodjohardjono, A. Higher level of acute serum VEGF and larger infarct volume are more frequently associated with post-stroke cognitive impairment / Prodjohardjono A. et al. // *PloS one*. – 2020. – T. 15. – №. 10. – C. e0239370.

328. Prokic, I. Amphiphysin 2 (BIN1) in physiology and diseases / Prokic I., Cowling B. S., Laporte J. // *Journal of molecular medicine*. – 2014. – T. 92. – C. 453-463.

329. Prokopec, S.D. et al. Systematic evaluation of medium-throughput mRNA abundance platforms / Prokopec S.D. et al. // *RNA*. – 2013. – T. 19. – №. 1. – C. 51-62.

330. Psaty, B.M. Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Consortium: Design of prospective meta-analyses of genome-wide association studies from 5 cohorts / Psaty B.M. et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. – 2009. – T. 2. – №. 1. – C. 73-80.

331. Quick, S. A vessel for change: endothelial dysfunction in cerebral small vessel

disease / Quick S. et al. // Trends in Neurosciences. – 2021. – T. 44. – №. 4. – C. 289-305.

332. Quintanilha, J.C.F. Plasma levels of VEGF-A and VCAM-1 as predictors of drug-induced hypertension in patients treated with VEGF pathway inhibitors / Quintanilha J.C.F. et al. // British Journal of Clinical Pharmacology. – 2022. – T. 88. – №. 9. – C. 4171-4179.

333. Raas, Q. A microglial cell model for acyl-CoA oxidase 1 deficiency / Raas Q. et al. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2019. – T. 1864. – №. 4. – C. 567-576.

334. Rannikmae, K. COL4A2 is associated with lacunar ischemic stroke and deep ICH: Meta-analyses among 21,500 cases and 40,600 controls / Rannikmae K. et al. // Neurology. – 2017. – T. 89. – №. 17. – C. 1829-1839.

335. Raz, N. Volume of white matter hyperintensities in healthy adults: contribution of age, vascular risk factors, and inflammation-related genetic variants / Raz N. et al. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. – 2012. – T. 1822. – №. 3. – C. 361-369.

336. Reis, P.P. mRNA transcript quantification in archival samples using multiplexed, color-coded probes / Reis P.P. et al. // BMC biotechnology. – 2011. – T. 11. – №. 1. – C. 1-10.

337. Rhally, A. C-reactive protein and white matter microstructural changes in COVID-19 patients with encephalopathy / Rhally A. et al. // Journal of Neural Transmission. – 2021. – T. 128. – C. 1899-1906.

338. Richard, F. Genetic susceptibility factors for Alzheimer's disease / Richard F., Amouyel P. // European journal of pharmacology. – 2001. – T. 412. – №. 1. – C. 1-12.

339. Román, G.C. Subcortical ischaemic vascular dementia / Román G.C. et al. // The Lancet Neurology. – 2002. – T. 1. – №. 7. – C. 426-436.

340. Rosenberg, G.A. Multimodal markers of inflammation in the subcortical ischemic vascular disease type of vascular cognitive impairment / Rosenberg G.A., Bjerke M., Wallin A. // Stroke. – 2014. – T. 45. – №. 5. – C. 1531-1538.

341. Rouhl, R.P.W. Vascular inflammation in cerebral small vessel disease / Rouhl R.P.W. et al. // Neurobiology of aging. – 2012. – T. 33. – №. 8. – C. 1800-1806.

342. Russo, M.V. Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury / Russo M.V., McGavern D.B. // Science. – 2016. – T. 353. – №. 6301. – C. 783-785.

343. Rutten-Jacobs, L.C.A. Genetic study of white matter integrity in UK Biobank

(N= 8448) and the overlap with stroke, depression, and dementia / Rutten-Jacobs L.C.A. et al. // *Stroke*. – 2018. – T. 49. – №. 6. – C. 1340-1347.

344. Rutten-Jacobs, L.C.A. Emerging insights from the genetics of cerebral small-vessel disease / Rutten-Jacobs L.C.A., Rost N.S. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2020. – T. 1471. – №. 1. – C. 5-17.

345. Sachdev, P. Progression of white matter hyperintensities in elderly individuals over 3 years / Sachdev P. et al. // *Neurology*. – 2007. – T. 68. – №. 3. – C. 214-222.

346. Sachdev, P. Diagnostic criteria for vascular cognitive disorders: a VASCOG statement / Sachdev P. et al. // *Alzheimer disease and associated disorders*. – 2014. – T. 28. – №. 3. – C. 206.

347. Sachdev, P.S. White matter hyperintensities are under strong genetic influence / Sachdev P.S. et al. // *Stroke*. – 2016. – T. 47. – №. 6. – C. 1422-1428.

348. Sakae, N. ABCA7 deficiency accelerates amyloid- β generation and Alzheimer's neuronal pathology / Sakae N. et al. // *Journal of Neuroscience*. – 2016. – T. 36. – №. 13. – C. 3848-3859.

349. Salai, K.H.T. Elevated Soluble TNF-Receptor 1 in the Serum of Predementia Subjects with Cerebral Small Vessel Disease / Salai K.H.T. et al. // *Biomolecules*. – 2023. – T. 13. – №. 3. – C. 525.

350. Salmina, A.B. Blood–brain barrier and neurovascular unit in vitro models for studying mitochondria-driven molecular mechanisms of neurodegeneration / Salmina A.B. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – T. 22. – №. 9. – C. 4661.

351. Sandoval, K.E. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke / Sandoval K.E., Witt K.A. // *Neurobiology of disease*. – 2008. – T. 32. – №. 2. – C. 200-219.

352. Sane, D.C. Angiogenic growth factors and hypertension / Sane D.C., Anton L., Brosnihan K.B. // *Angiogenesis*. – 2004. – T. 7. – C. 193-201.

353. Sánchez, M. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats / Sánchez M. et al. // *Journal of hypertension*. – 2006. – T. 24. – №. 1. – C. 75-84.

354. Sargurupremraj, M. Cerebral small vessel disease genomics and its implications across the lifespan / Sargurupremraj M. et al. // *Nature communications*. – 2020. – T. 11. – №. 1. – C. 6285.

355. Satizabal, C.L. Circulating IL-6 and CRP are associated with MRI findings in the elderly: the 3C-Dijon Study / Satizabal C.L. et al. // *Neurology*. – 2012. – T. 78. – №. 10. – C. 720-727.
356. Satoh, J. A comprehensive profile of ChIP-Seq-based PU. 1/Spi1 target genes in microglia / Satoh J. et al. A comprehensive // *Gene regulation and systems biology*. – 2014. – T. 8. – C. GRSB. S19711.
357. Sawant, D.A. Tumor necrosis factor- α -induced microvascular endothelial cell hyperpermeability: role of intrinsic apoptotic signaling / Sawant D.A. et al. // *Journal of physiology and biochemistry*. – 2014. – T. 70. – C. 971-980.
358. Schafer, D.P. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner / Schafer D.P. et al. // *Neuron*. – 2012. – T. 74. – №. 4. – C. 691-705.
359. Schneider, J.A. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons / Schneider J.A. et al. // *Neurology*. – 2007. – T. 69. – №. 24. – C. 2197-2204.
360. Schwabe, T. Shifting paradigms: The central role of microglia in Alzheimer's disease / Schwabe T., Srinivasan K., Rhinn H. // *Neurobiology of disease*. – 2020. – T. 143. – C. 104962.
361. Schwager, S., Inflammation and lymphatic function / Schwager S., Detmar M. // *Frontiers in immunology*. – 2019. – T. 10. – C. 308.
362. Scott, T.M. Small vessel cerebrovascular pathology identified by magnetic resonance imaging is prevalent in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a potential target for intervention / Scott T.M. et al. // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2018. – T. 65. – №. 1. – C. 293-302.
363. Sengillo, J.D. Deficiency in Mural Vascular Cells Coincides with Blood–Brain Barrier Disruption in Alzheimer's Disease / Sengillo J.D. et al. // *Brain pathology*. – 2013. – T. 23. – №. 3. – C. 303-310.
364. Serdar, M. Fingolimod protects against neonatal white matter damage and long-term cognitive deficits caused by hyperoxia / Serdar M. et al. // *Brain, behavior, and immunity*. – 2016. – T. 52. – C. 106-119.
365. Seshadri, S. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease / Seshadri S. et al. // *Jama*. – 2010. – T. 303. – №. 18. – C. 1832-1840.

366. Sethi, J.K. Metabolic messengers: tumour necrosis factor / Sethi J.K., Hotamisligil G.S. // *Nature metabolism*. – 2021. – T. 3. – №. 10. – C. 1302-1312.
367. Shabab, T. Neuroinflammation pathways: a general review / Shabab T. et al. // *International Journal of Neuroscience*. – 2017. – T. 127. – №. 7. – C. 624-633.
368. Shahbazi, M. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection / Shahbazi M. et al. // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2002. – T. 13. – №. 1. – C. 260-264.
369. Shankar, A. Positive association between plasma fibrinogen level and incident hypertension among men: population-based cohort study / Shankar A. et al. // *Hypertension*. – 2006. – T. 48. – №. 6. – C. 1043-1049.
370. Shashkova, T.I. The GWAS-MAP platform for aggregation of results of genome-wide association studies and the GWAS-MAP| homo database of 70 billion genetic associations of human traits / Shashkova T.I. et al. // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. – 2020. – T. 24. – №. 8. – C. 876.
371. Shi, Y. Cerebral blood flow in small vessel disease: a systematic review and meta-analysis / Shi Y. et al. // *Journal of cerebral blood flow & metabolism*. – 2016. – T. 36. – №. 10. – C. 1653-1667.
372. Shi, Y. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy / Shi Y. et al. // *Nature*. – 2017. – T. 549. – №. 7673. – C. 523-527.
373. Shimotake, J. Vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibition promotes cell death and limits endothelial cell proliferation in a neonatal rodent model of stroke / Shimotake J. et al. // *Stroke*. – 2010. – T. 41. – №. 2. – C. 343-349.
374. Shoamanesh, A. Cerebral microbleeds: histopathological correlation of neuroimaging / Shoamanesh A., Kwok C. S., Benavente O. // *Cerebrovascular diseases*. – 2011. – T. 32. – №. 6. – C. 528-534.
375. Shoamanesh, A. Inflammatory biomarkers, cerebral microbleeds, and small vessel disease: Framingham Heart Study / Shoamanesh A. et al. // *Neurology*. – 2015. – T. 84. – №. 8. – C. 825-832.
376. Shulman, J.M. Functional screening in *Drosophila* identifies Alzheimer's disease susceptibility genes and implicates Tau-mediated mechanisms / Shulman J.M. et al. // *Human molecular genetics*. – 2014. – T. 23. – №. 4. – C. 870-877.
377. Silbert, L.C. Risk factors associated with cortical thickness and white matter

hyperintensities in dementia free Okinawan elderly / Silbert L.C. et al. // *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2018. – T. 63. – №. 1. – C. 365-372.

378. Silverman, H.A. Brain region-specific alterations in the gene expression of cytokines, immune cell markers and cholinergic system components during peripheral endotoxin-induced inflammation / Silverman H.A. et al. // *Molecular medicine*. – 2014. – T. 20. – №. 1. – C. 601-611.

379. Simpson, J.E. White matter lesions in an unselected cohort of the elderly: astrocytic, microglial and oligodendrocyte precursor cell responses / Simpson J.E. et al. // *Neuropathology and applied neurobiology*. – 2007a. – T. 33. – №. 4. – C. 410-419.

380. Simpson, J.E. Microglial activation in white matter lesions and nonlesional white matter of ageing brains / Simpson J.E. et al. // *Neuropathology and applied neurobiology*. – 2007b. – T. 33. – №. 6. – C. 670-683.

381. Simpson, J.E. Microarray RNA expression analysis of cerebral white matter lesions reveals changes in multiple functional pathways / Simpson J.E. et al. // *Stroke*. – 2009. – T. 40. – №. 2. – C. 369-375.

382. Skrobot, O.A. The vascular impairment of cognition classification consensus study / Skrobot O.A. et al. // *Alzheimer's & Dementia*. – 2017. – T. 13. – №. 6. – C. 624-633.

383. Slegers, K. ACE gene is associated with Alzheimer's disease and atrophy of hippocampus and amygdala / Slegers K. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2005. – T. 26. – №. 8. – C. 1153-1159.

384. Smagula, S.F. White matter integrity underlying depressive symptoms in dementia caregivers / Smagula S.F. et al. // *The American Journal of Geriatric Psychiatry*. – 2020. – T. 28. – №. 5. – C. 578-582.

385. Solé-Guardia, G. Association between hypertension and neurovascular inflammation in both normal-appearing white matter and white matter hyperintensities / Solé-Guardia G. et al. // *Acta neuropathologica communications*. – 2023. – T. 11. – №. 1. – C. 2.

386. Sonnen, J.A. Ecology of the aging human brain / Sonnen J.A. et al. // *Archives of neurology*. – 2011. – T. 68. – №. 8. – C. 1049-1056.

387. Springer, T.A. Adhesion receptors of the immune system / Springer T.A. // *Nature*. – 1990. – T. 346. – №. 6283. – C. 425-434.

388. SPRINT, M. et al. Effect of intensive vs. standard blood pressure control on probable dementia: A randomized clinical trial / SPRINT M. et al. // *Jama*. – 2019. – T. 321. –

№. 6. – C. 553-561.

389. SPS3 Study Group. Blood-pressure targets in patients with recent lacunar stroke: the SPS3 randomised trial / SPS3 Study Group et al. // *The Lancet*. – 2013. – T. 382. – №. 9891. – C. 507-515.

390. Stamatovic, S.M. Junctional proteins of the blood-brain barrier: New insights into function and dysfunction / Stamatovic S.M. et al. // *Tissue barriers*. – 2016. – T. 4. – №. 1. – C. e1154641.

391. Staub, O. Regulation of stability and function of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) by ubiquitination / Staub O. et al. // *The EMBO journal*. – 1997. – T. 16. – №. 21. – C. 6325-6336.

392. Stewart, C.R. Associations between white matter hyperintensity burden, cerebral blood flow and transit time in small vessel disease: an updated meta-analysis / Stewart C.R. et al. // *Frontiers in Neurology*. – 2021. – T. 12. – C. 647848.

393. Stroop, J.R. Studies of interference in serial verbal reactions / Stroop J.R. // *Journal of experimental psychology*. – 1935. – T. 18. – №. 6. – C. 643.

394. Sudduth, T.L. Neuroinflammatory phenotype in early Alzheimer's disease / Sudduth T.L. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2013. – T. 34. – №. 4. – C. 1051-1059.

395. Sudol, M. The WW domain binds polyprolines and is involved in human diseases / Sudol M. // *Experimental & Molecular Medicine*. – 1996. – T. 28. – №. 2. – C. 65-69.

396. Sudwarts, A. BIN1 is a key regulator of proinflammatory and neurodegeneration-related activation in microglia / Sudwarts A. et al. // *Molecular Neurodegeneration*. – 2022. – T. 17. – №. 1. – C. 1-27.

397. Sulimai, N. Fibrinogen and neuroinflammation during traumatic brain injury / Sulimai N., Lominadze D. // *Molecular neurobiology*. – 2020. – T. 57. – №. 11. – C. 4692-4703.

398. Sunderland, T. Clock drawing in Alzheimer's disease: a novel measure of dementia severity / Sunderland T. et al. // *Journal of the American Geriatrics Society*. – 1989. – T. 37. – №. 8. – C. 725-729.

399. Tabara, Y. Association of C hr17q25 with cerebral white matter hyperintensities and cognitive impairment: the J-SHIP study / Tabara Y. et al. // *European Journal of Neurology*. – 2013. – T. 20. – №. 5. – C. 860-862.

400. Tai, L.M. Amyloid- β -induced occludin down-regulation and increased

permeability in human brain endothelial cells is mediated by MAPK activation / Tai L.M. et al. // *Journal of cellular and molecular medicine*. – 2010. – T. 14. – №. 5. – C. 1101-1112.

401. Tan, M.S. Bridging integrator 1 (BIN1): form, function, and Alzheimer's disease / Tan M.S., Yu J.T., Tan L. // *Trends in molecular medicine*. – 2013. – T. 19. – №. 10. – C. 594-603.

402. Tanaka, J. Favorable and unfavorable roles of microglia and macrophages in the pathologic central nervous system / Tanaka J. // *Neuroimmunol. Neuroinflamm.* – 2020. – T. 7. – C. 73-91.

403. Tao, Q.Q. Decreased gene expression of CD2AP in Chinese patients with sporadic Alzheimer's disease / Tao Q.Q. et al. // *Neurobiology of Aging*. – 2017. – T. 56. – C. 212. e5-212. e10.

404. Tao, Q.Q. The role of CD2AP in the pathogenesis of Alzheimer's disease / Tao Q.Q., Chen Y.C., Wu Z.Y. // *Aging and disease*. – 2019. – T. 10. – №. 4. – C. 901.

405. Tayler, H. Mediators of cerebral hypoperfusion and blood-brain barrier leakiness in Alzheimer's disease, vascular dementia and mixed dementia / Tayler H. et al. // *Brain Pathology*. – 2021. – T. 31. – №. 4. – C. e12935.

406. Tebar, F. Clathrin assembly lymphoid myeloid leukemia (CALM) protein: localization in endocytic-coated pits, interactions with clathrin, and the impact of overexpression on clathrin-mediated traffic / Tebar F., Bohlander S. K., Sorkin A. // *Molecular biology of the cell*. – 1999. – T. 10. – №. 8. – C. 2687-2702.

407. The Human Protein Atlas. [(accessed on 1 June 2022)]. Available online: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000073921-PICALM/tissue>

408. Tian, Y. Adaptor complex AP2/PICALM, through interaction with LC3, targets Alzheimer's APP-CTF for terminal degradation via autophagy / Tian Y. et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2013. – T. 110. – №. 42. – C. 17071-17076.

409. Tian, Y. The underlying role of the glymphatic system and meningeal lymphatic vessels in cerebral small vessel disease / Tian Y. et al. // *Biomolecules*. – 2022. – T. 12. – №. 6. – C. 748.

410. Tingley, D. Mediation: R package for causal mediation analysis / Tingley D. et al. // *Journal of Statistical Software*. – 2014.

411. Toledo, J.B. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre / Toledo J.B.

et al. // *Brain*. – 2013. – T. 136. – №. 9. – C. 2697-2706.

412. Tomimoto, H. Alterations of the blood-brain barrier and glial cells in white-matter lesions in cerebrovascular and Alzheimer's disease patients / Tomimoto H. et al. // *Stroke*. – 1996. – T. 27. – №. 11. – C. 2069-2074.

413. Torres, L. Dynamic microglial modulation of spatial learning and social behavior / Torres L. et al. // *Brain, behavior, and immunity*. – 2016. – T. 55. – C. 6-16.

414. Touyz, R.M. Reactive oxygen species in vascular biology: implications in hypertension / Touyz R.M., Schiffrin E.L. // *Histochemistry and cell biology*. – 2004. – T. 122. – C. 339-352.

415. Trask, T.M. N-terminal domains of fibrillin 1 and fibrillin 2 direct the formation of homodimers: a possible first step in microfibril assembly / Trask T.M. et al. // *Biochemical Journal*. – 1999. – T. 340. – №. 3. – C. 693-701.

416. Traylor, M. Genome-wide meta-analysis of cerebral white matter hyperintensities in patients with stroke / Traylor M. et al. // *Neurology*. – 2016. – T. 86. – №. 2. – C. 146-153.

417. Traylor, M. Genetic variation at 16q24. 2 is associated with small vessel stroke / Traylor M. et al. // *Annals of neurology*. – 2017. – T. 81. – №. 3. – C. 383-394.

418. Traylor, M. Genetic basis of lacunar stroke: a pooled analysis of individual patient data and genome-wide association studies / Traylor M. et al. // *The Lancet Neurology*. – 2021. – T. 20. – №. 5. – C. 351-361.

419. Trigo, D. Novel therapeutic strategies targeting mitochondria as a gateway in neurodegeneration / Trigo D., Vitória J. J., e Silva O. A. B. C. // *Neural Regeneration Research*. – 2023. – T. 18. – №. 5. – C. 991.

420. Tsukahara, T. The role of brain-derived neurotrophic factor in transient forebrain ischemia in the rat brain / Tsukahara T. et al. // *Neurosurgery*. – 1994. – T. 34. – №. 2. – C. 323-31; discussion 331.

421. Ubelmann, F. Bin1 and CD2AP polarise the endocytic generation of beta-amyloid / Ubelmann F. et al. // *EMBO reports*. – 2017. – T. 18. – №. 1. – C. 102-122.

422. Ülker, S. Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD (P) H oxidase activities / Ülker S., McKeown P.P., Bayraktutan U. // *Hypertension*. – 2003. – T. 41. – №. 3. – C. 534-539.

423. van der Veen, P.H. Longitudinal relationship between cerebral small-vessel disease and cerebral blood flow: the second manifestations of arterial disease-magnetic

resonance study / van der Veen P.H. et al. // *Stroke*. – 2015. – T. 46. – №. 5. – C. 1233-1238.

424. Verhaaren, B.F.J. Multiethnic genome-wide association study of cerebral white matter hyperintensities on MRI / Verhaaren B.F.J. et al. // *Circulation: Cardiovascular Genetics*. – 2015. – T. 8. – №. 2. – C. 398-409.

425. Vermeer, S.E. Prevalence and risk factors of silent brain infarcts in the population-based Rotterdam Scan Study / Vermeer S.E. et al. // *Stroke*. – 2002. – T. 33. – №. 1. – C. 21-25.

426. Vermeer, S.E. Silent brain infarcts: a systematic review / Vermeer S.E., Longstreth W.T., Koudstaal P.J. // *The Lancet Neurology*. – 2007. – T. 6. – №. 7. – C. 611-619.

427. Visscher, P.M. 10 years of GWAS discovery: biology, function, and translation / Visscher P.M. et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2017. – T. 101. – №. 1. – C. 5-22.

428. von Berg, J. Alternate approach to stroke phenotyping identifies a genetic risk locus for small vessel stroke / von Berg J. et al. // *European Journal of Human Genetics*. – 2020. – T. 28. – №. 7. – C. 963-972.

429. von Bohlen Und Halbach, O. Angiotensin IV in the central nervous system / von Bohlen Und Halbach O. // *Cell and tissue research*. – 2003. – T. 311. – C. 1-9.

430. Vyzantiadis, T. Vascular endothelial growth factor and nitric oxide serum levels in arterial hypertension / Vyzantiadis T. et al. // *Clinical and Experimental Hypertension*. – 2006. – T. 28. – №. 7. – C. 603-609.

431. Wainberg, M. Opportunities and challenges for transcriptome-wide association studies / Wainberg M. et al. // *Nat Genet*. – 2019. – T. 51. – №. 4. – C. 592-599.

432. Walker, E.J. TIMP-3 and MMP-3 contribute to delayed inflammation and hippocampal neuronal death following global ischemia / Walker E.J., Rosenberg G.A. // *Experimental neurology*. – 2009. – T. 216. – №. 1. – C. 122-131.

433. Walker, K.A. Midlife systemic inflammation, late-life white matter integrity, and cerebral small vessel disease: the atherosclerosis risk in communities study / Walker K.A. et al. // *Stroke*. – 2017. – T. 48. – №. 12. – C. 3196-3202.

434. Walker, K.A. The association of mid-to late-life systemic inflammation with white matter structure in older adults: The Atherosclerosis Risk in Communities Study / Walker K.A. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2018. – T. 68. – C. 26-33.

435. Walsh, J. Microglial activation and blood–brain barrier permeability in cerebral small vessel disease / Walsh J. et al. // *Brain*. – 2021. – T. 144. – №. 5. – C. 1361-1371.
436. Wang, P. Enriched expression of genes associated with autism spectrum disorders in human inhibitory neurons / Wang P. et al. // *Translational psychiatry*. – 2018. – T. 8. – №. 1. – C. 13.
437. Wang, R. Albumin reduces blood-brain barrier permeability but does not alter infarct size in a rat model of neonatal stroke / Wang R. et al. // *Pediatric research*. – 2007. – T. 62. – №. 3. – C. 261-266.
438. Wang, Y. The release and trans-synaptic transmission of Tau via exosomes / Wang Y. et al. // *Molecular neurodegeneration*. – 2017. – T. 12. – №. 1. – C. 1-25.
439. Wang, Z. Risk factors of cerebral small vessel disease: a systematic review and meta-analysis / Wang Z. et al. // *Medicine*. – 2021. – T. 100. – №. 51.
440. Wardlaw, J.M. Neuroimaging standards for research into small vessel disease and its contribution to ageing and neurodegeneration / Wardlaw J.M. et al. // *The Lancet Neurology*. – 2013a. – T. 12. – №. 8. – C. 822-838.
441. Wardlaw, J.M. Mechanisms of sporadic cerebral small vessel disease: insights from neuroimaging / Wardlaw J.M., Smith C., Dichgans M. // *The Lancet Neurology*. – 2013b. – T. 12. – №. 5. – C. 483-497.
442. Wardlaw, J.M. Blood-brain barrier failure as a core mechanism in cerebral small vessel disease and dementia: evidence from a cohort study / Wardlaw J.M. et al. // *Alzheimer's & Dementia*. – 2017. – T. 13. – №. 6. – C. 634-643.
443. Wardlaw, J.M. Small vessel disease: mechanisms and clinical implications / Wardlaw J.M., Smith C., Dichgans M. // *The Lancet Neurology*. – 2019. – T. 18. – №. 7. – C. 684-696.
444. Warren, H.R. Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk / Warren H.R. et al. // *Nature genetics*. – 2017. – T. 49. – №. 3. – C. 403-415.
445. Weber, R. Telmisartan on top of antihypertensive treatment does not prevent progression of cerebral white matter lesions in the prevention regimen for effectively avoiding second strokes (PROFESS) MRI substudy / Weber R. et al. // *Stroke*. – 2012. – T. 43. – №. 9. – C. 2336-2342.
446. Wechsler, D. WAIS-IV: Wechsler adult intelligence scale/ Wechsler D. et al. //

San Antonio, TX: Pearson, 2008.

447. Wersching, H. Serum C-reactive protein is linked to cerebral microstructural integrity and cognitive function / Wersching H. et al. // *Neurology*. – 2010. – T. 74. – №. 13. – C. 1022-1029.

448. Wharton, S.B. Age-Associated White Matter Lesions: The MRC Cognitive Function and Ageing Study / Wharton S.B. et al. // *Brain pathology*. – 2015. – T. 25. – №. 1. – C. 35-43.

449. Wilcock, D.M. Down syndrome individuals with Alzheimer's disease have a distinct neuroinflammatory phenotype compared to sporadic Alzheimer's disease / Wilcock D.M. et al. // *Neurobiology of aging*. – 2015. – T. 36. – №. 9. – C. 2468-2474.

450. Williams, B. ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension [published correction appears in *Eur Heart J*. 2019 Feb 1; 40 (5): 475] / Williams B. et al. // *Eur Heart J*. – 2018. – T. 39. – №. 33. – C. 3021-3104.

451. Winkler, E.A. Central nervous system pericytes in health and disease / Winkler E.A., Bell R.D., Zlokovic B.V. // *Nature neuroscience*. – 2011. – T. 14. – №. 11. – C. 1398-1405.

452. Wiseman, S. Blood markers of coagulation, fibrinolysis, endothelial dysfunction and inflammation in lacunar stroke versus non-lacunar stroke and non-stroke: systematic review and meta-analysis / Wiseman S. et al. // *Cerebrovascular diseases*. – 2014. – T. 37. – №. 1. – C. 64-75.

453. Woo, D. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies 1q22 as a susceptibility locus for intracerebral hemorrhage / Woo D. et al. // *The American Journal of Human Genetics*. – 2014. – T. 94. – №. 4. – C. 511-521.

454. Works, M.G. Soluble TNF receptor 1-secreting ex vivo-derived dendritic cells reduce injury after stroke / Works M.G., Koenig J.B., Sapolsky R.M. // *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. – 2013. – T. 33. – №. 9. – C. 1376-1385.

455. Wright, C.B. Inflammatory biomarkers of vascular risk as correlates of leukoariosis / Wright C.B. et al. // *Stroke*. – 2009. – T. 40. – №. 11. – C. 3466-3471.

456. Xu, H. Distinctive RNA expression profiles in blood associated with white matter hyperintensities in brain / Xu H. et al. // *Stroke*. – 2010. – T. 41. – №. 12. – C. 2744-2749.

457. Xu, S. Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: still

alive / Xu S., Touyz R.M. // *Canadian Journal of Cardiology*. – 2006. – T. 22. – №. 11. – C. 947-951.

458. Xue, Y. Concomitant enlargement of perivascular spaces and decrease in glymphatic transport in an animal model of cerebral small vessel disease / Xue Y. et al. // *Brain research bulletin*. – 2020. – T. 161. – C. 78-83.

459. Yang, A.C. A human brain vascular atlas reveals diverse mediators of Alzheimer's risk / Yang A.C. et al. // *Nature*. – 2022. – T. 603. – №. 7903. – C. 885-892.

460. Yang, C. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke / Yang C. et al. // *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. – 2019. – T. 316. – №. 2. – C. C135-C153.

461. Yang, Y. Multiple roles of metalloproteinases in neurological disorders / Yang Y., Hill J. W., Rosenberg G. A. // *Progress in molecular biology and translational science*. – 2011. – T. 99. – C. 241-263.

462. Yao, Y. Dimethyl fumarate and monomethyl fumarate promote post-ischemic recovery in mice / Yao Y. et al. // *Translational stroke research*. – 2016. – T. 7. – №. 6. – C. 535-547.

463. Yates, R.L. Fibrin (ogen) and neurodegeneration in the progressive multiple sclerosis cortex / Yates R.L. et al. // *Annals of Neurology*. – 2017. – T. 82. – №. 2. – C. 259-270.

464. Yazawa, H. Angiotensin-converting enzyme inhibition promotes coronary angiogenesis in the failing heart of Dahl salt-sensitive hypertensive rats / Yazawa H. et al. // *Journal of Cardiac Failure*. – 2011. – T. 17. – №. 12. – C. 1041-1050.

465. You, S. Hyperfibrinogenemia is significantly associated with an increased risk of in-hospital mortality in acute ischemic stroke patients / You S. et al. // *Current Neurovascular Research*. – 2017. – T. 14. – №. 3. – C. 242-249.

466. Young, V. G. Neuropathologic correlates of white matter hyperintensities / Young V.G., Halliday G. M., Kril J. J. // *Neurology*. – 2008. – T. 71. – №. 11. – C. 804-811.

467. Zaccai, J. Population-based neuropathological studies of dementia: design, methods and areas of investigation—a systematic review / Zaccai J., Ince P., Brayne C. // *BMC neurology*. – 2006. – T. 6. – №. 1. – C. 1-16.

468. Zhang, C.E. Blood–brain barrier leakage in relation to white matter hyperintensity volume and cognition in small vessel disease and normal aging / Zhang C.E. et

al. // *Brain imaging and behavior*. – 2019. – T. 13. – C. 389-395.

469. Zhang, J. Combination of plasma tumor necrosis factor receptors signaling proteins, beta-amyloid and apolipoprotein E for the detection of Alzheimer's disease / Zhang J. et al. // *Neuroscience Letters*. – 2013. – T. 541. – C. 99-104.

470. Zhang, J. Plasma amyloid- β oligomers and soluble tumor necrosis factor receptors as potential biomarkers of AD / Zhang J., Peng M., Jia J. // *Current Alzheimer research*. – 2014. – T. 11. – №. 4. – C. 325-331.

471. Zhang, M. Correlation of matrix metalloproteinase-2 single nucleotide polymorphisms with the risk of small vessel disease (SVD) / Zhang M. et al. // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2015. – T. 356. – №. 1-2. – C. 61-64.

472. Zhang, Z.G. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain / Zhang Z.G. et al. // *The Journal of clinical investigation*. – 2000. – T. 106. – №. 7. – C. 829-838.

473. Zhao, X. Dimethyl fumarate protects brain from damage produced by intracerebral hemorrhage by mechanism involving Nrf2 / Zhao X. et al. // *Stroke*. – 2015. – T. 46. – №. 7. – C. 1923-1928.

474. Zigmond, A.S. The hospital anxiety and depression scale / Zigmond A.S., Snaith R. P. // *Acta psychiatrica scandinavica*. – 1983. – T. 67. – №. 6. – C. 361-370

475. Zimmer, E.R. Tracking neuroinflammation in Alzheimer's disease: the role of positron emission tomography imaging / Zimmer E.R. et al. // *Journal of neuroinflammation*. – 2014. – T. 11. – №. 1. – C. 1-12.

476. Zloković, B.V. Measurement of Solute Transport Across the Blood–Brain Barrier in the Perfused Guinea Pig Brain: Method and Application to N-Methyl- α -Aminoisobutyric Acid / Zloković B.V. et al. // *Journal of neurochemistry*. – 1986. – T. 46. – №. 5. – C. 1444-1451.

477. Zlokovic, B.V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders / Zlokovic B.V. // *Neuron*. – 2008. – T. 57. – №. 2. – C. 178-201.

478. Zou, C. Potential biomarkers of Alzheimer's disease and cerebral small vessel disease / Zou C. et al. // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. – 2022. – T. 15. – C. 996107.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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).

6. Добрынина Л.А. Снижение экспрессии генов BIN1 и VEGFA при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами / Добрынина Л.А., Макарова А.Г., Шабалина А.А., Шлапакова П.С., Шамтиева К.В., Цыпуштанова М.М., Гнедовская Е.В. // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции. Поленовские чтения. – 2023. С.167.
7. Цыпуштанова М.М. Лабораторные маркеры повреждения гематоэнцефалического барьера и нейродегенерации в дифференциальной диагностике церебральной микроангиопатии и болезни Альцгеймера. / Цыпуштанова М.М., Добрынина Л.А., Шабалина А.А., Шамтиева К.В., Макарова А.Г., Забитова М.Р., Гаджиева З.Ш. // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции. Поленовские чтения. – 2023. С.190.
8. Dobrynina L. Reduced expression of BIN1 and VEGFA genes in patients with cerebral small vessel disease and cognitive impairment / L. Dobrynina, A. Makarova, A. Shabalina, P. Shlapakova, M. Tsypushtanova, K. Shamtieva, M. Zabitova, E. Gnedovskaya // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 202.
9. Shamtieva K. Comparison of signal and biophysical diffusion modeling results in cerebral small vessel disease. / K. Shamtieva, L. Dobrynina, E. Kremneva, A. Geints, V. Gepard, M. Tsypushtanova, A. Makarova, Z. Gadzhieva, A. Filatov, V. Trubitsyna, M. Krotenkova // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 268.
10. Gadzhieva Z. 5-Year survival and cognitive changes in patients with cerebral small vessel disease / Z. Gadzhieva, L. Dobrynina, E. Kremneva, K. Shamtieva, M. Tsypushtanova, A. Makarova, M. Zabitova, A. Filatov, M. Krotenkova // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 453-454.
11. Tsypushtanova M.M. Markers of damage to the blood-brain barrier and brain in cerebral small vessel disease and Alzheimer's disease / Tsypushtanova M.M., Dobrynina L.A., Shabalina A.A., Shamtieva K.V., Makarova A.G., Zabitova M.R., Gadzhieva Z.Sh., Geints A.A., Gnedovskaya E.V. // European Journal of Neurology. – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 670.
12. Tsypushtanova M.M. Circulating markers of blood-brain barrier permeability,

lymphangiogenesis and neurodegeneration in cerebral small vessel disease/ Tsypushtanova M.M., Dobrynina L.A., Shabalina A.A., Shamtieva K.V., Makarova A.G., Zabitova M.R. // European Journal of Neurology. (Abstracts of the 9 Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – 2023. – 30. – Suppl. 1 (Abstracts of the 9th Congress of the European Academy of Neurology, Budapest, 2023). – P. 671.

13. Макарова А.Г. Роль изменения экспрессии генов, ассоциированных с воспалением, при церебральной микроангиопатии с когнитивными расстройствами / А.Г. Макарова, Л.А. Добрынина, А.А. Шабалина, М.М. Цыпуштанова, А.Г. Бурмак, К.В. Шамтиева // Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2023). – 2023. С 95.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Шкала оценки нарушений ходьбы у пациентов с ЦМА [Лагода Д.Ю. и др., 2018]

Степень нарушений ходьбы		Характеристика ходьбы
0	нет нарушений	ходьба как навык и при усложненных пробах (фланговая, тандемная) не изменена
1	легкие	неустойчивость при выполнении усложненных проб (фланговая, тандемная ходьба)
2	умеренные	укорочение длины шага и замедление темпа с сохранением базы шага и ритма ходьбы
3	выраженные	нарушение базы и ритма, трудности при поворотах с сохранением ходьбы без опоры: 3а лобно-мозжечковый тип – увеличение базы, «прилипание» ног к полу при ходьбе, отсутствие изменений осанки и пропульсий;
3б		3б лобно-подкорковый тип – уменьшение базы, затруднение инициации ходьбы, изменение осанки, пропульсии
4	грубые	ходьба с одно- или двусторонней опорой
<p>Примечания: 1) степень нарушений ходьбы оценивается только при сохранной мышечной силе; 2) каждая последующая степень нарушения ходьбы включает признаки предыдущей; 3) нарушения ходьбы 3 и 4 степени, как правило, сопровождаются умеренными когнитивными расстройствами или деменцией.</p>		

Приложение 2

Аннотация генов согласно базе данных Gene Ontology

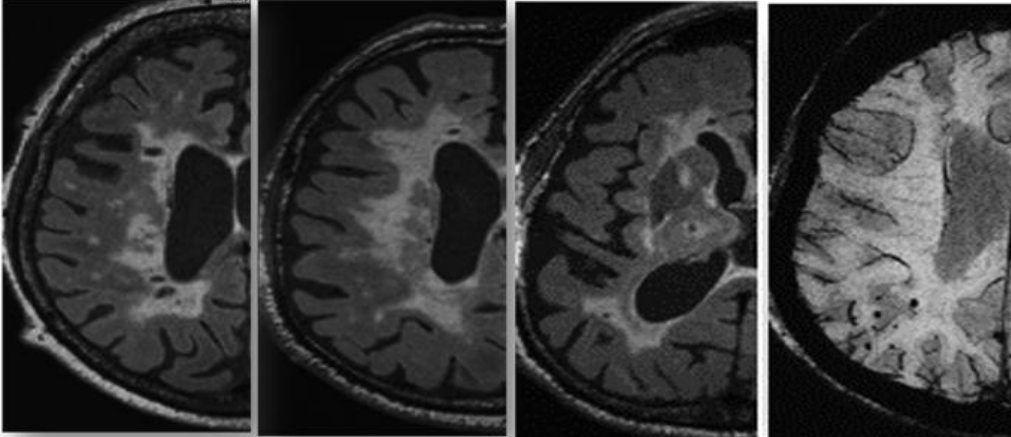
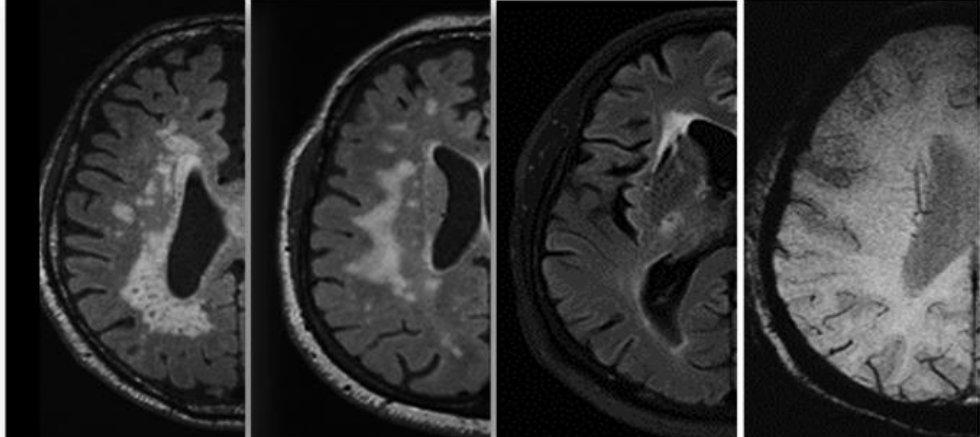
Ген	Name / Название	Молекулярная функция	Компонент клетки	Биологический процесс, в который вовлечен данный ген
<i>ACE</i>	angiotensin I converting enzyme (ангиотензин-превращающий фермент)	активирует эндопептидазную активность (GO:0004175) металлопептидазная активность (GO:0008237) пептидазная активность (GO:0008233)	базальная плазматическая мембрана (GO:0009925) межклеточное пространство (GO:0005615)	метаболизм бета-амилоида (GO:0050435) участвует в созревании ангиотензина (GO:0002003) участвует в регуляции системного артериального давления ренин-ангиотензином (GO:0003081) участвует в ремоделировании кровеносных сосудов (GO:0001974)
<i>ACOX1</i>	acyl-CoA oxidase 1 (ацил-КоА оксидаза 1)	активность ацил-КоА-оксидазы (GO:0003997) связывание жирных кислот (GO:0005504) связывание белка (GO:0005515)	мембрана (GO:0016020)	бета-окисление жирных кислот с использованием ацил-КоА-оксидазы (GO:0033540) процесс метаболизма липидов (GO:0006629)
<i>BIN1</i>	bridging integrator 1 (мостовой интегратор 1)	связывание белка (GO:0005515) связывание тау-белка (GO:0048156) связывание фосфолипидов (GO:0005543) связывание клатрина (GO:0030276)	аксон (GO:0030424) цитоплазма (GO:0005737)	эндоцитоз (GO:0006897) регуляция образования бета-амилоида (GO:1902430)
<i>CD2AP</i>	CD2 associated protein (CD2-ассоциированный белок)	связывание кадгерина (GO:0045296) связывание белка	аксон (GO:0030424) плазматическая мембрана	клеточный цикл (GO:0007049) организация актиновых филаментов

		(GO:0005515) структурная составляющая цитоскелета (GO:0005200)	(GO:0005886)	(GO:0007015)
<i>CD33</i>	CD33 molecule	связывание белка (GO:0005515) связывание углеводов (GO:0030246) связывание сиаловой кислоты (GO:0033691)	плазматическая мембрана (GO:0005886)	адгезия клеток (GO:0007155) передача сигнала, ингибирующая иммунный ответ (GO:0002765)
<i>FBN2</i>	fibrillin 2 (фибриллин 2)	структурный компонент внеклеточного матрикса (GO:0005201)	коллагенсодержащий внеклеточный матрикс (GO:0062023)	анатомическое строение морфогенез (GO:0009653)
<i>MRPL38</i>	mitochondrial ribosomal protein L38 (митохондриальный рибосомный белок L38)	связывание белка (GO:0005515)	митохондрия (GO:0005739)	митохондриальная трансляция (GO:0032543)
<i>NOS3</i>	nitric oxide synthase 3 (синтаза 3 оксида азота)	активность синтазы оксида азота (GO:0004517)	ядро (GO:0005634) плазматическая мембрана (GO:0005886)	ангиогенез (GO:0001525) ремоделирование кровеносных сосудов (GO:0001974) миграция эндотелиальных клеток (GO:0043542)
<i>PLAT</i>	plasminogen activator, tissue type (Активатор плазминогена, тканевой тип)	связывание белка (GO:0005515) активность эндопептидазы серинового типа (GO:0004252)	внеклеточная область (GO:0005576)	коагуляция крови (GO:0007596) активация плазминогена (GO:0031639)
<i>TNFR1</i>	TNF receptor superfamily member 1A (Член суперсемейства рецепторов TNF 1A)	связывание фактора некроза опухоли (GO:0043120)	мембрана (GO:0016020)	воспалительная реакция (GO:0006954)

<i>VEGFA</i>	vascular endothelial growth factor A (фактор роста эндотелия сосудов A)	<p>цитокиновая активность (GO:0005125)</p> <p>активность фактора роста (GO:0008083)</p> <p>связывание белка (GO:0005515)</p> <p>связывание рецептора 1 фактора роста эндотелия сосудов (GO:0043183)</p> <p>связывание рецептора 2 фактора роста эндотелия сосудов (GO:0043184)</p>	межклеточное пространство (GO:0005615)	<p>ангиогенез (GO:0001525)</p> <p>морфогенез артерии (GO:0048844)</p> <p>регуляция проницаемости гематоэнцефалического барьера (GO:1905604)</p> <p>развитие нервной системы (GO:0007399)</p>
<i>VEGFC</i>	vascular endothelial growth factor C (фактор роста эндотелия сосудов C)	<p>активность фактора роста (GO:0008083)</p> <p>связывание рецептора 3 фактора роста эндотелия сосудов (GO:0043185)</p>	мембрана (GO:0016020)	<p>пролиферация глиальных клеток (GO:0014009)</p> <p>позитивная регуляция ангиогенеза (GO:0045766)</p> <p>позитивная регуляция лимфангиогенеза (GO:1901492)</p>
<i>WBP2</i>	WW domain binding protein 2 (Белок 2, связывающий домен WW)	<p>связывание ДНК хроматина (GO:0031490)</p> <p>активность коактиватора транскрипции (GO:0003713)</p>	цитоплазма (GO:0005737)	<p>клеточный ответ на стимул эстрогена (GO:0071391)</p> <p>реакция на прогестерон (GO:0032570)</p>

Приложение 3

Нейровизуализационная и клиничко-лабораторная характеристика двух МРТ-типов церебральной микроангиопатии

МРТ-тип 1 F3	МРТ-тип 2 F3
Нейровизуализационная характеристика	
	
<p>ГИБВ: более выражена в перивентрикулярных и глубоких отделах полушарий большого мозга, подкорковых структурах, наружных капсулах, стволе, мозжечке</p>	<p>ГИБВ: перивентрикулярная – в задних отделах, глубокая – в лобной и теменной долях</p>
<p>Лакуны: множественные в подкорковых структурах и белом веществе</p>	<p>Лакуны: единичные в белом веществе</p>
<p>Микрокровоизлияния: юкстакортикальные во всех отделах полушарий большого мозга</p>	<p>Микрокровоизлияния: единичные юкстакортикальные в белом веществе височных и теменных долей</p>
<p>Церебральная атрофия: более выражена</p>	<p>Церебральная атрофия: менее выражена</p>
<p>Расширенные периваскулярные пространства: выражены в подкорковых структурах</p>	<p>Расширенные периваскулярные пространства: распространенные</p>
Клиническая характеристика	
<p>Когнитивные нарушения: более выраженные (УКР и деменция)</p>	<p>Когнитивные нарушения: менее выраженные (СубКР и УКР)</p>
<p>Нарушения походки: более выраженные</p>	<p>Нарушения походки: менее выраженные</p>
Лабораторная характеристика	
<p>снижение уровня VEGF-A</p>	<p>повышение TNF-α</p>