

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
По специальности «6D060700-Биология»
Айткуловой Акботы Маратовны
на тему: «Молекулярно-генетические предикторы внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний в этнической группе казахов»

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена изучению ассоциативных связей аллельных полиморфизмов генов с риском внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний.

Актуальность темы исследования.

Инсульт занимает второе место в списке причин смертности во всем мире. Субарахноидальное кровоизлияние (САК) является одним из трех подтипов инсульта. Основная причина САК заключается в патологических изменениях стенки сосудов головного мозга с последующим образованием внутричерепных аневризм (ВА), разрыв которых приводит к кровоизлиянию в субарахноидальное пространство мозга. По данным исследований, носителями ВА являются 2-5 % населения земного шара. Около 30 % больных с разрывами аневризм погибает в острый период кровоизлияния, 50% погибает в течение первого месяца. При отсутствии своевременного оперативного лечения, выжившие после первого кровоизлияния пациенты, имеют угрозу развития повторных внутричерепных кровоизлияний и высокий риск летального исхода. Поскольку процесс образования аневризм протекает бессимптомно, большой медицинской проблемой является своевременная диагностика ВА. Зачастую аневризмы выявляются случайно в ходе скрининга либо уже непосредственно при разрыве и возникновении САК. На сегодняшний день диагностика ВА проводится только инструментальными методами, в том числе магнитно-резонансной ангиографией (МРА), компьютерной томографией (КТА) и селективной церебральной ангиографией (СЦА). Однако, несмотря на эффективность, методы являются инвазивными и несут ряд ограничений.

За последние годы достигнуты значительные успехи хирургического лечения внутричерепных аневризм. Своевременное выявление ВА, хирургическое вмешательство и интенсивная терапия помогают снизить риск САК до 50 %. Интересным фактом остается то, что не все аневризмы подвержены разрыву в течение жизни. Таким образом, перед нейрохирургами встает важный вопрос не только своевременного выявления аневризмы, подверженной риску разрыва, но и вопрос действительной необходимости экстренного хирургического вмешательства. Следовательно, важным является необходимость знания механизмов образования, и факторов, обуславливающих разрыв внутричерепных аневризм, которые по сей день изучены не до конца. Масштабные исследования по изучению патофизиологии разорвавшихся ВА, приводящих к САК показали, что

разрыву предшествовали множество сложных процессов, приводящих к изменению непосредственно структуры стенки сосудов головного мозга. Эти процессы представляли собой нарушение функций эндотелиальных клеток сосудов, воспалительные и провоспалительные реакции, воздействие гемодинамического давления на сосуды и ряд других эндогенных и экзогенных факторов. Немаловажную роль при риске возникновения САК играли размер и локализация ВА. Известно, что наиболее часто образование и разрыв аневризм происходит в области бифуркации (разветвления) сосудов, поскольку эти участки наиболее сильно подвержены воздействию гемодинамического давления. Исследования, проведенные в различных популяциях, показали, что у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) риск разрыва аневризм и САК выше, чем у пациентов без АГ. При этом АГ являлся независимым фактором САК. Ряд исследований по изучению влияния других факторов показали, что курение, употребление алкоголя, гендерная принадлежность и возраст также являются факторами, обуславливающими риск образования ВА, но не проясняют механизмы, приводящие к разрыву ВА и возникновению САК.

Важная роль наследственности при риске САК доказана в исследованиях семейных форм САК. Наличие у первостепенных родственников внутричерепных кровоизлияний в анамнезе увеличивало риск возникновения САК у пациентов в 7-10 раз. К тому же пациенты подверженные риску разрыва внутричерепных аневризм и САК имели более молодой возраст в семейных формах по сравнению со спорадическими случаями САК. В связи с этим, проводится изучение генетических факторов, регулирующих процессы, обуславливающие риск разрыва аневризм и САК. Методами полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) и анализа экзомных последовательностей выявлено более 200 значимых полиморфных локусов, потенциально участвующих в молекулярных механизмах развития заболевания. Однако, не все полиморфные локусы подтверждают ассоциацию с САК при репликативных исследованиях ввиду генетических различий среди этнических групп. Следовательно, необходимо проведение репликативного исследования ассоциации генетических вариантов с риском САК в казахской этнической группе.

Объектом исследования являются образцы ДНК, выделенные из венозной крови 319 пациентов с аневризмами сосудов головного мозга и 377 условно здоровых людей - контрольной группы.

Предметом исследования являются генетические маркеры, обуславливающие предрасположенность к развитию внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний.

Цели и задачи исследования

Цель исследования изучение ассоциаций полиморфных генетических вариантов с риском внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний в этнической группе казахов.

Для достижения цели, поставлены следующие задачи:

1. Выявить генетическое сходство или различие казахской этнической группы от мировых популяций по значимым полиморфизмам генов ассоциированных с риском САК.

2. Выявить ассоциацию исследуемых полиморфных генетических маркеров с риском спорадических форм внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний в этнической группе казахов.

3. Выявить гены-кандидаты обуславливающие риск развития наследственных форм САК в этнической группе казахов.

4. Выявить ассоциацию клинических показателей и основных генетических маркеров риска САК в этнической группе казахов.

Методы исследования

Исследование генетических вариантов осуществлено молекулярно-биологическими и статистическими методами.

Научная новизна исследования

Впервые были выявлены:

- молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные со спорадическими и наследственными формами спонтанных субарахноидальных кровоизлияний в этнической группе казахов.

- ассоциации генетических вариантов с.202-4463 С>Т (rs175646) гена *JDP2* и с.2092 G>A (rs1800255) гена *COL3A1* с риском развития спорадических форм САК в этнической группе казахов.

- гены-кандидаты, обуславливающие развитие наследственной формы САК в этнической группе казахов.

- разработана таргетная панель молекулярно-генетических маркеров для ранней диагностики САК методами экзомного секвенирования и Open Array генотипирования.

- установлены ассоциации генетических и клинических факторов. Выявлено, что артериальная гипертензия и возраст, являются независимыми факторами риска спорадических форм САК в этнической группе казахов.

Теоретическая значимость

Полученные в ходе исследований результаты, помогут расширить знания о молекулярных основах патофизиологии спорадических и наследственных форм САК и могут быть использованы в персонализированной медицине для развития терапевтических подходов при диагностике и лечении ВА, учитывая немаловажный фактор как этническая принадлежность.

Также, полученные результаты, имеют междисциплинарный характер и представляют ценную информацию для специалистов смежных наук, находя широкое применение в учебном процессе студентов биологических и медицинских специальностей. В рамках диссертационной работы разработана методическая рекомендация для студентов специальностей общая медицина и медицинская генетика, научных сотрудников и врачей, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Казахстан (№31/17.10.2017, ISBN 978-601-305-248-9).

Практическая значимость исследования

На основании результатов диссертационной работы получен патент на изобретение Республики Казахстан №33654/29.05.2019 «Способ диагностики риска развития интракраниальных аневризм в казахской популяции». Идентифицированные в ходе исследования молекулярно-генетические маркеры позволили создать таргетную диагностическую панель, определяющую потенциальный риск внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний с учетом этнической специфичности. Использование генетического тестирования в практической медицине позволит определять пациентов с высоким риском субарахноидальных кровоизлияний и проводить своевременную профилактику и лечение заболевания.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Казахская этническая группа имеет различия в частотах встречаемости аллельных вариантов генов, ассоциированных с риском САК и занимает промежуточное положение между латиноамериканскими, европейскими и азиатскими популяциями по кластерному анализу генетических расстояний.

2. Полиморфные варианты с.202-4463 C>T (rs175646) гена *JDP2* и с.2092 G>A (rs1800255) гена *COL3A1* являются потенциальными генетическими маркерами, обуславливающими риск спорадических форм САК в казахской этнической группе.

3. Генетический вариант с.1382 G>A гена *ALCAM* является потенциальным геном-кандидатом, обуславливающими риск наследственных форм внутричерепных субарахноидальных кровоизлияний в этнической группе казахов.

4. Артериальная гипертензия и возраст, в совокупности с генетическими маркерами обуславливают риск разрыва ВА у пациентов со спорадическими формами САК в этнической группе казахов.

Связь темы диссертации с планами научных работ Диссертационная работа выполнена в рамках проектов грантового финансирования №4751/ГФ4 «Исследование генетических маркеров для оценки прогноза заболевания при аневризмах сосудов головного мозга в казахской популяции» (ГР 0115РК00539, 2015-2017 гг.), ГФ4 «Изучение генов-кандидатов, вовлеченных в развитие субарахноидального кровоизлияния (семейные формы) на основе полноэкзомного секвенирования» (ИРН АР08955996, 2020-2021).

Апробация работы Основные результаты исследований представлены на международных и республиканских конференциях:

- III Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», посв. 115-летию со дня рождения академика А.Р. Жебрака (Минск, Республика Беларусь, 2016);

- IX Всероссийская научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика 2017» (Москва, Российская Федерация, 2017);

- XVI World Congress of Neurosurgery, WFNS 2017 (Istanbul, Turkey, 2017);

- Международная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (Алматы, Казахстан, 2018);

- XXV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, Российская Федерация, 2018);

-Международный симпозиум «Астана Биотех 2018» (Астана, Казахстан, 2018);

- International Symposium of Human Phenomics (Shanghai, China, 2018).

Публикации по теме исследования

По материалам исследования опубликовано 16 работ, из них 2 статьи в журналах дальнего зарубежья, индексируемых информационными ресурсами Web of Knowledge (ThomsonReuters, США) и Scopus (Elsevier, Нидерланды); 5 статьи в журналах Республики Казахстан, входящих в список рекомендованных ККСОН МОН РК; 2 тезиса в материалах конференций дальнего зарубежья; 3 тезиса в материалах конференций ближнего зарубежья; 2 тезиса в материалах международных конференций Республики Казахстан; 1 патент на изобретение Республики Казахстан; 1 методическая рекомендация, рекомендованная МЗ РК.

Структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 122 страницах. Работа состоит из введения, обзора научной литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждений, заключения, списка использованных источников, включающих 262 источника и 13 приложений. Диссертационная работа иллюстрирована 19 рисунками и 22 таблицами.