

Получена: 12 июня 2021 / Принята: 05 октября 2021 / Опубликовано online: 31 октября 2021

DOI 10.34689/SH.2021.23.5.020

УДК 575.1+616.8

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ СЕМЕЙНЫХ ФОРМ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

Акбота М. Айткулова^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0001-5016-0932>

Гульмира Н. Кулмамбетова¹, <https://orcid.org/0000-0001-8723-3752>

Ботагоз Д. Джамантаева²,

Елена В. Жолдыбаева¹, <https://orcid.org/0000-0002-9677-008X>

¹ Республиканское государственное предприятие «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Нур-Султан, Республика Казахстан;

² АО «Национальный центр нейрохирургии», г. Нур-Султан, Республика Казахстан

³ Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный университет имени Аль-Фараби», г. Алматы, Республика Казахстан

Резюме

Введение. Субарахноидальные кровоизлияния (САК) - это особый вид острого нарушения мозгового кровообращения, возникающее вследствие разрыва интракраниальных аневризм, различают спорадические и семейные формы. Главной проблемой субарахноидальных кровоизлияний является сложность ранней диагностики, ввиду бессимптомного течения заболевания с внезапным проявлением. Несвоевременное лечение приводит к тяжелым последствиям, таким как инвалидизация и летальный исход. Этим обусловлена большая медицинская и социальная значимость данной проблемы. С развитием подходов превентивной и персонализированной медицины, стало возможным проводить раннюю диагностику по генетическим маркерам, обуславливающим этиологию заболеваний.

Цель. Провести обзор литературных данных об исследовании генов-кандидатов и клинически значимых полиморфизмов, обуславливающих риск образования интракраниальных аневризм, их разрывов и соответственно САК в семейных формах.

Стратегия поиска. Для оценки значимости и актуальности проблемы данного заболевания на территории Республики Казахстан были изучены локальные статьи, сборники, содержащие статистические данные по заболеваемости, которые были представлены на русском языке.

В процессе поиска основной литературы использована следующая поисковая система: Pubmed, по ключевым словам: интракраниальные аневризмы и генетика. Временной период был обозначен 2011-2021 годами. По данной теме выявлено 114 публикаций. В исследование были включены только полнотекстовые публикации на английском языке, которые посвящены вышеописанному вопросу, исключены публикации на других языках (103 публикации). **Критерием включения** в обзор являлись статьи, в исследовании которых были включены семейные случаи и использовались молекулярно-генетические методы исследования. При применении данных критериев список публикаций сократился до 31, анализ которых представлен в данном литературном обзоре.

Результаты и выводы. Основываясь на результатах обзора литературы, многочисленные публикации показывают, что на сегодняшний день до сих пор неизвестно точное количество генов, участвующих в патофизиологии САК. Однако несколько генов уже рекомендованы для использования при скрининге и идентификации групп риска.

Ключевые слова: интракраниальные аневризмы, семейные формы, субарахноидальное кровоизлияние, гены, SNP, мутации.

Abstract

GENETIC RISK FACTORS FOR FAMILIAL INTRACRANIAL ANEURYSMS. LITERATURE REVIEW.

Akbota M. Aitkulova^{1,3}, <https://orcid.org/0000-0001-5016-0932>

Gulmira N. Kulmambetova¹, <https://orcid.org/0000-0001-8723-3752>

Botagoz D. Jamantayeva²,

Elena V. Zholdybayeva¹, <https://orcid.org/0000-0002-9677-008X>

¹ Republican State Enterprise "National Center for Biotechnology" under the Science Committee of Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan;

² JSC "National Center for Neurosurgery, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan.

³ Non-profit joint-stock company "Al-Farabi Kazakh National University" Almaty, Republic of Kazakhstan

Introduction. Subarachnoid hemorrhage (SAH) is a special type of acute cerebrovascular accident resulting from rupture of intracranial aneurysms. Sporadic and familial forms of SAH are distinguished. The main problem of subarachnoid hemorrhage is the difficulty of early diagnosis, due to the asymptomatic course of the disease with sudden manifestation. Untimely treatment leads to serious consequences such as disability and death. For this reason, this issue possesses the great medical and social significance. With the development of preventive and personalized medicine approaches, it became possible to conduct the early diagnosis by genetic markers which determine the etiology of diseases.

Purpose. To review the literature data on the study of candidate genes and clinically significant polymorphisms that determine the risk of intracranial aneurysm formation, their rupture and, accordingly, SAH in familial forms.

Search strategy. The local articles, collections containing statistical data on morbidity, were studied for assess the significance and relevance of the problem of this disease on the territory of the Republic of Kazakhstan which were presented in Russian.

In the process of searching the main literature, the following search engine was used: Pubmed, for the keywords: intracranial aneurysms and genetics. The period between years 2011-2021 was selected. A total of 114 publications were identified on this topic. The study included only full-text publications in English, which are devoted to the above issue, excluded publications in other languages (103 publications). The criteria for inclusion in the review were articles in the study of which family cases were included and molecular genetic research methods were used. When applying these criteria, the list of publications was reduced to 31, the analysis of which is presented in this literature review.

Results and conclusions. Based on the results of the literature review, numerous publications demonstrated that, to date, exact number of genes involved in the pathophysiology of SAH is unknown. However, there are several genes that are already recommended for use in screening and identification of risk groups.

Key words: intracranial aneurysms, familial forms, subarachnoid hemorrhage, genes, SNPs, mutations.

Түйіндеме

МИДЫҢ ИНТРАКРАНИАЛДЫ АНЕВРИЗМАЛАРЫНЫҢ ОТБАСЫЛЫҚ ФОРМАЛАРЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ҚАУІП ФАКТОРЛАРЫ. ӘДЕБИ ШОЛУ.

Акбота М. Айткулова^{1,3} <https://orcid.org/0000-0001-5016-0932>

Гүлмира Н. Құлмамбетова¹, <https://orcid.org/0000-0001-8723-3752>

Ботагөз Д. Джамантаева²,

Елена В. Жолдыбаева¹, <https://orcid.org/0000-0002-9677-008X>

¹Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің "Ұлттық биотехнология орталығы" республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Нұр-сұлтан қ., Қазақстан Республикасы

² «Ұлттық нейрохирургия орталығы» АҚ Нұр-сұлтан қ., Қазақстан Республикасы

³ «Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті» коммерциялық емес акционерлік қоғамы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы

Кіріспе. Субарахноидты қан кетулер (САҚ) - интракраниалды аневризмалардың бұзылуынан пайда болатын жедел ми қан айналымының бұзылуының ерекше түрі, спорадикалық және отбасылық формаларды ажыратады.

Іздеу стратегиясы. Субарахноидты қан кетулердің негізгі мәселесі - аурудың көнеттен пайда болуымен асимптоматикалық ағымына байланысты ерте диагноздың күрделілігі. Уақтылы емделмеу мүгедектік пен өлім сияқты ауыр зардаптарға әкеледі. Бұл осы мәселенің медициналық және әлеуметтік маңыздылығына байланысты. Превентивті және дербестендірілген медицина тәсілдерінің дамуымен аурулардың этиологиясын анықтайтын генетикалық маркерлер бойынша ерте диагностика жүргізуге мүмкіндік туды.

Мақсаты. Қазақстан Республикасының аумағында аталған ауру мәселесінің маңыздылығы мен өзектілігін бағалау үшін орыс тілінде ұсынылған статистикалық деректері бар жергілікті мақалалар, жинақтар зерттелді.

Негізгі әдебиеттерді іздеу барысында келесі іздеу жүйесі қолданылды: Pubmed, кілт сөздер бойынша: интракраниалды аневризмалар және генетика. Уақыт кезеңі 2011-2021 жылдармен белгіленді. Осы тақырып бойынша 114 жарияланым анықталды. Зерттеуде жоғарыда аталған сұраққа арналған ағылшын тіліндегі толық мәтінді басылымдар ғана енгізілді, басқа тілдердегі жарияланымдар енгізілмеді (103 жарияланым). Шолуға қосу критерийі отбасылық жағдайларды қамтитын және молекулалық-генетикалық зерттеу әдістерін қолданатын мақалалар болды. Осы критерийлерді қолдану кезінде жарияланымдар тізімі 31-ге дейін қысқарды, олардың талдауы осы әдеби шолуда ұсынылған.

Нәтижелері мен қорытындылары. Әдебиеттерді шолу нәтижелеріне сүйене отырып, көптеген жарияланымдар субарахноидальды қан кету патофизиологиясына қатысатын гендердің нақты саны әлі белгісіз екенін көрсетеді. Алайда, бірнеше гендер скрининг және қауіп топтарын анықтау үшін пайдалануға ұсынылды.

Түйінді сөздер: интракраниалды аневризмалар, отбасылық формалар, субарахноидты қан кету, гендер, SNP, мутация.

Библиографическая ссылка:

Айтқұлова А.М., Кулмамбетова Г.Н., Джамантаева Б.Д., Жолдыбаева Е.В. Генетические факторы риска развития семейных форм интракраниальных аневризм головного мозга. Обзор литературы // Наука и Здравоохранение. 2021. 5(Т.23). С. 185-193. doi 10.34689/SH.2021.23.5.020

Aitkulova A.M., Kulmambetova G.N., Jamantayeva B.D., Zhodybayeva E.V. Genetic risk factors for familial intracranial aneurysms. Literature review // Nauka i Zdravookhranenie [Science & Healthcare]. 2021, (Vol.23) 5, pp. 185-193. doi 10.34689/SH.2021.23.5.020

Айтқұлова А.М., Кулмамбетова Г.Н., Джамантаева Б.Д., Жолдыбаева Е.В. Мидың интракраниалды аневризмаларының отбасылық формаларының генетикалық қауіп факторлары. Әдеби шолу // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2021. 5 (Т.23). Б. 185-193. doi 10.34689/SH.2021.23.5.020

Актуальность

Инсульт является второй по значимости причиной смертности и основной причиной инвалидизации среди трудоспособного населения во всем мире [4]. Субарахноидальное кровоизлияние (САК) вследствие разрыва внутричерепных аневризм является одним из трех основных подтипов инсульта [22]. Несмотря на успехи в диагностике и лечении, заболеваемость САК, а также показатели смертности остаются стабильными в течение более трех десятилетий [3,35]. Согласно данным Всемирной организации по инсульту (WSO) 51% всех случаев смертей от инсульта вызван геморрагическим инсультом (<https://www.world-stroke.org/>) [5]. К сожалению, Казахстан не является исключением по данным показателям. Согласно официальной статистике Министерства Здравоохранения Республики Казахстан ежегодно в нашей стране регистрируется более 40 тысяч случаев инсульта, из которых только 5 тысяч погибает в первые 10 дней и еще 5 тысяч в течение 1-го месяца после выписки на дому. В Казахстане в 2018 году согласно показателям смертности населения по основным классам причин смерти на 100 000 человек населения приходится 61 человек от инсульта [1,2]. Большая часть летальных исходов после разрыва внутричерепных аневризм обусловлена быстрым и массивным повреждением участков головного мозга при первоначальном кровоизлиянии, которое невозможно исправить с помощью медикаментозного и хирургического вмешательства [35]. При отсутствии своевременного оперативного лечения, выжившие после первого кровоизлияния пациенты, имеют угрозу развития повторных внутричерепных кровоизлияний, которые в большинстве случаев приводят к гибели больных [35]. Основной проблемой является бессимптомное течение процесса образования и роста аневризм. Бессимптомными носителями внутричерепных аневризм является 3-5% населения [29]. Следовательно, наиболее эффективными способами снижения заболеваемости и смертности,

связанными с САК являются превентивные меры по снижению риска образования и разрыва внутричерепных аневризм, а также своевременное выявление бессимптомных неразрывавшихся аневризм у пациентов групп риска.

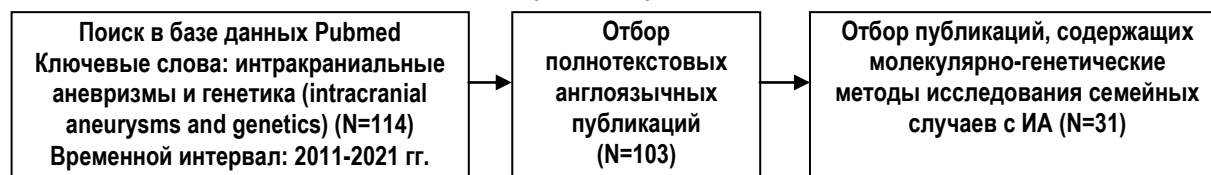
Помимо образа жизни и медицинских факторов риска (курение, артериальная гипертензия и др.), исследования также продемонстрировали важную роль генетической компоненты при риске субарахноидальных кровоизлияний [12,22,35]. Однако вклад молекулярно-генетических механизмов в патогенез образования интракраниальных аневризм и субарахноидальных кровоизлияний до сих пор плохо изучен.

Целью данной работы являлось проведение обзора литературных данных об исследовании генов-кандидатов и клинически значимых полиморфизмов, обуславливающих риск образования интракраниальных аневризм, их разрывов и соответственно САК в семейных формах.

Стратегия поиска: Для оценки значимости и актуальности проблемы данного заболевания на территории Республики Казахстан были изучены локальные статьи, сборники, содержащие статистические данные по заболеваемости, которые были представлены на русском языке.

В процессе поиска основной литературы использована следующая поисковая система: Pubmed, по ключевым словам: интракраниальные аневризмы и генетика. Временной период был обозначен 2011-2021 годами. По данной теме выявлено 114 публикаций. В исследование были включены только полнотекстовые публикации на английском языке, которые посвящены вышеописанному вопросу, исключены публикации на других языках (103 публикации). Критерием включения в обзор являлись статьи, в исследовании которых были включены семейные случаи и использовались молекулярно-генетические методы исследования. При применении данных критериев список публикаций сократился до 31, анализ которых представлен в данном литературном обзоре.

Алгоритм отбора статей



Результаты и их обсуждение

Масштабный международный проект по исследованию генетики семейных форм аневризмы головного мозга Familial Intracranial Aneurysm Study (FIA) выявил, что 10% пациентов с САК имеют положительный семейный анамнез. Данное исследование FIA включало 26 клинических центров, которые имели большой опыт клинического ведения и визуализации интракраниальных аневризм (ИА). В исследование было включено 475 семей, у которых кроме пробандов болели сестры или братья, также другие родственники. Все исследуемые были включены в ретроспективный и проспективный скрининг потенциальных субъектов с ИА. Члены семьи из группы высокого риска без ранее диагностированного ИА проходили магнитно-резонансную ангиографию (МРА) для выявления бессимптомных неразрывавшихся аневризм. Данное исследование включало долгосрочную цель по изучению семейной внутричерепной аневризмы - выявить гены, лежащие в основе развития и разрывов внутричерепных аневризм [13].

Willem Van Hoo со своими коллегами провели систематический поиск литературы с помощью PubMed и Google Scholar. Учитывались только оригинальные исследования и обзорные статьи, были исключены генетические заболевания (например, синдром Марфана), связанные с ИА, и исследования с неясными данными по пациентам и их членам семьи. В обзор вошло 37 статей. Результаты системного анализа показали, что лица, имеющие в семейном анамнезе двух родственников первой степени родства с диагнозом ИА, имели большую распространенность ИА (в среднем 13,1% против 3% основного населения). Точно так же наблюдалась большая распространенность ИА у людей, имеющих в семейном анамнезе хотя бы одного больного родственника из первой степени родства (в среднем 4,8%, до 19% у лиц с дополнительными факторами риска) [14].

Несмотря на имеющиеся многочисленные исследования, в настоящее время до сих пор неизвестно, сколько генов вовлечены в патофизиологию САК. В отличие от моногенных заболеваний, в проявлении САК идентификация вовлеченных генов гораздо сложнее. Действительно, восприимчивость аллеля может увеличить вероятность того, что носительство приведет к развитию заболевания, однако присутствие этого аллеля недостаточно, чтобы объяснить в одиночку возникновение болезни вследствие чего результаты исследований генетических факторов риска возникновения САК имеют сильные различия. Очевидно, что значение данных экзоного секвенирования сильно зависит от тщательной

клинической и фенотипической характеристики, потому что, в дополнение к наследственным факторам, САК также ассоциируется с приобретенными факторами риска. К тому же, предыдущие популяционные исследования показали этническую специфичность генетических маркеров заболеваний [30,34].

Идентификация генов на основе секвенирования нового поколения

Достижения в области секвенирования нового поколения (NGS) позволили снизить стоимость расшифровки нуклеотидной последовательности полного генома и полного экзона. Это расширило возможности изучения сразу большого количества генетических маркеров заболеваний на больших выборках пациентов, в том числе у членов их семей. Экзомное секвенирование является наиболее эффективным рациональным подходом к определению редких генетических вариантов и выявления генетической основы заболеваний посредством исследования семейных форм. Нужно отметить, что исследование новых семейных случаев с САК способствуют выявлению новых ассоциативных полиморфизмов, либо подтверждению ранее описанных в различных когортах.

В рамках данного исследования было отобрано 7 семей, члены которых имели ИА по аутосомно-доминантному, либо саутосомно-рецессивным типом наследования. Таким образом, было проведено полноэкзомное секвенирование для 50 человек и анализ данных позволил выявить 96 генов-кандидатов, влияющих на патогенез интракраниальных аневризм. Часть выявленных генов участвовали в сосудистом процессе системы кровообращения, развитии сосудистой сети, васкулогенезе, базальной мембране. В последующем предполагалось провести ДНК-секвенирование 96 генов-генов дополнительно у 400 индивидуумов, имеющих в семейном анамнезе ИА [13].

Так, в 2015 году *Janice L. Farlow* и другие с помощью полноэкзомного секвенирования исследовали 45 семей, члены которых имели подтвержденный диагноз ИА. Авторам удалось идентифицировать 68 редких генетических вариантов в 68 генах. Кроме того было обнаружено, что 51 ген, экспрессируется в тканях с ИА, при этом у гена *TMEM132B* наблюдалась дифференциальная экспрессия в ткани с ИА по сравнению с контрольной сосудистой тканью. Ген *TMEM132B* кодирует трансмембранный белок 132В, который является относительно не охарактеризованным белком неизвестной функции [11].

Oswaldo Lorenzo-Betancor совместно с коллегами выполнили полное секвенирование экзонов у 13 человек из 3 семей с аутосомно-доминантным типом

наследования ИА/САК с целью выявить гены-кандидаты для данного заболевания. Авторы делают заключение, что *PCNT* - вероятный ген-кандидат при цереброваскулярных заболеваниях. Кроме того, было проведено ДНК-секвенирование экзона гена *PCNT* у 161 пациента с идиопатическим ИА/САК, чтобы найти дополнительных носителей потенциально патогенных вариантов. Перичентрин (Кендрин) представляет собой белок, который у человека кодируется *PCNT* геном на 21 хромосоме. Этот белок локализуется в центросоме и влияет на правильное формирование центросомы и митотического веретена и, таким образом, непрерывное развитие клеточного цикла [20].

Thomas Sauvigny и др. провели полноэкзомное секвенирование 38 пациентов, из них 35 пациентов были неродственными между собой, но каждый из них имел в анамнезе родственников первой или второй линии родства с диагнозом ИА/САК. Также было проведено полноэкзомное секвенирование у трех членов одной семьи с диагнозом ИА/САК. На основании проведенного биоинформатического анализа данных авторы подтвердили роль генетических вариантов в генах *PCNT*, *RNF213* и *THSD1* как факторов восприимчивости к цереброваскулярным заболеваниям. При этом ген *EDIL3* может являться новым геном-кандидатом развития данного заболевания при семейных формах. Белок, кодируемый геном *EDIL3*, является лигандом интегрина. Он играет важную роль в ангиогенезе, в ремоделировании и развитии сосудистой стенки [25].

Santiago-Sim T. совместно с коллегами было проведено полноэкзомное секвенирование у большой семьи (21 человек). Была идентифицирована мутация в гене *THSD1*, которая сегрегировалась с 9 пораженными членами семьи (трое страдали субарахноидальным кровоизлиянием и 6 членов семьи имели неразрвавшееся ИА), также данная мутация отсутствовала у 13 здоровых членов семьи. Функциональную значимость исследователи изучали на модели зебрафиш (*Danio rerio*), потеря функции *Thsd1* вызывала церебральное кровоотечение у рыбок. Механически потеря *THSD1* нарушает фокальную адгезию эндотелиальных клеток к базальной мембране [24].

Японский ученый *Junxia Yan* совместно с коллегами провели полноэкзомное секвенирование в 12 семьях, в которых было представлено количество случаев ИА на семью ≥ 3 . В общей сложности в исследование было включено всего 42 случая. В последующем в биоинформатическом анализе использовали для выявления вариантов-кандидатов различные стратегии фильтрации геномных данных. Результаты показали, что только генетический вариант (p.E133Q) в гене *ADAMTS15* ассоциирован в семейных случаях с ИА [31].

Китайские коллеги на основании результатов высокопроизводительного секвенирования геномов и экзотов 19 пациентов из Китая с семейной формой ИА и одного пациента со спорадическим ИА анализировали одонуклеотидные варианты (SNV) в генах *ADAMTS* с риском развития ИА. Гены *ADAMTS*, кодируют ферменты *ADAMTS* (А-дезинтегрин и

металлопротеиназа с тромбоспондиновыми мотивами), которые представляют собой секретируемые мультидоменные матрикс-ассоциированные металло-эндопептидазы цинка, играющие разнообразную роль в морфогенезе тканей и патофизиологическом ремоделировании, воспалении и биологии сосудов. Частоты аллельных вариантов генов у исследованных пациентов сравнивали с контролями, найденными в общедоступных международных геномных базах. Данные секвенирования транскриптомов и метилирования были получены из базы данных Gene Expression Omnibus (GEO) для идентификации дифференциально экспрессируемых генов *ADAMTS* и их сайтов метилирования. Далее авторы построили сеть возможных взаимодействий между белками, кодируемыми перекрывающимся набором генов *ADAMTS*. Таким образом, в общей сложности было выявлено 16 вредных генетических вариантов в 13 генах *ADAMTS* связанных с риском развития ИА. Авторы делают заключение, что ИА связан с генетическими вариантами, дифференциальной экспрессией и аномальным метилированием в генах *ADAMTS*, в частности *ADAMTSL1* [9].

Ya Qiu Wu другие изучали семью, в которой пять членов имели диагноз ИА. Для трех членов семьи с диагнозом ИА и одного члена семьи (условно-здорового) было проведено полноэкзомное секвенирование. Биоинформатический анализ данных, применяя принципы фильтрации и аннотации позволил выявить 15 возможных полиморфных вариантов, ассоциированных с риском развития ИА. Выбранные генетические варианты находились в экзонной области, варианты «stoploss/stopgain», что приводит к потере или добавлению стоп-кодона, соответственно; инсерции и делеции в рамке считывания; не синонимичные варианты; и, наконец, варианты в сайте сплайсинга. При этом частота минорных аллелей (MAF) была менее 1% в базах данных «1000 геномов» (<http://www.1000genomes.org/data>) и dbSNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). С учетом известных генов или ассоциации онтологий с сердечно-сосудистым морфогенезом отобрали 5 кандидатных генетических вариантов в генах: *DHRS3*, *OR2G3*, *LOXL2*, *FGL1* и *KLC3*. Результаты валидации на основе ДНК-секвенирования по Сэнгеру показали, что только с.C133T/ (p.H45Y) во втором экзоне гена *LOXL2* ассоциирован с определенными фенотипами ИА в семье. Ген *LOXL2* кодирует белок из семейства лизилоксидаз. Белок играет важную роль в биогенезе соединительной ткани, кодируя внеклеточную медьзависимую аминоксидазу, которая катализирует первую стадию образования поперечных связей в коллагене и эластине [30].

Yang X совместно с коллегами провели секвенирование экзотов в группе из 20 китайских пациентов с ИА (семейные случаи). Биоинформатические фильтры использовались для поиска возможных вредных вариантов с редкой и низкой частотой аллелей. Таким образом, была выявлена ассоциация низкочастотного варианта с.4394C> A (p.Ala1465Asp) (rs2298808) гена *ARHGEF17* с ИА. Впоследствии вышеописанный вариант был

воспроизведен на когорте японских пациентов с ИА (семейные формы). Дополнительно коллектив авторов исследовали варианты-кандидаты в мультиэтнической коллекции (японцы, китайцы, европейцы, канадцы) образцов из 86 семейных случаев ИА, данные по секвенированию были взяты из опубликованных публикаций. Авторы заявляют, что в своей работе представили убедительные доказательства того, что *ARHGEF17* является генетическим фактором риска ИА. [32].

В многоцентровом исследовании большой китайской семьи, 7 членов которой диагностированы с ИА, методом экзомного секвенирования выявлены 14 генетических вариантов (*EFHD1*, *FND1*, *IFNA2*, *NFX1*, *MYOCD*, *RHO*, *PLK3*, *LENG8*, *SERAC1*, *HYDIN*, *KIAA1524*, *ESYT3*, *TIGD7*, *HEATR4*, *NOTCH3*), отобранных в качестве генов-кандидатов для дальнейшего анализа. Варианты-кандидаты были валидированы секвенированием по Сэнгеру на всех 7 случаях с аневризмами с дополнительным включением в анализ 8 условно-здоровых членов семьи. Последующий сегрегационный анализ выявил новую ранее не описанную в открытых базах данных патогенную мутацию с.2519T>C (p.Leu840Pro) в гене *NFX1*, вероятно вносящую вклад в патогенез семейных форм ИА. Ген *NFX1* кодирует белок, связывающий нуклеиновую кислоту, взаимодействующую с консервативным цис-элементом X1-бокса. Исследования гомологов белка *NFX1* демонстрируют его важность для нормального роста, функционирования и поддержания гомеостаза клеток у разных видов. Кроме того, авторами выявлен патогенный миссенс-вариант с.1760G>A (p.Arg587His) гена *NOTCH3*, который ранее уже был ассоциирован с риском развития ИА [10].

В работе *Powel и др.* было выполнено секвенирование экзотов для когорты из 12 лиц от двух семей, в анамнезе которых были диагностированы интракраниальные аневризмы. Исследуемые семьи проживали в Ньюфаундленде. Биоинформатический анализ данных, этапы фильтрации и валидация полиморфизмов с помощью метода Сенгера показали, что однонуклеотидные замены в длинной межгенной не кодирующей белок области *C4orf6* с.А1G (p.M1V) и в гене *SPDY4* с.С103T (p.P35S), который входит в семейство участвующий в регуляции клеточного цикла являются кандидатами риска развития заболевания. В контрольной выборке данных полиморфизмов не было обнаружено [23].

Идентификация генов на основе полногеномного поиска ассоциаций

Полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) заключается в идентификации генетических факторов риска, которые в свою очередь позволяют сделать прогноз о предрасположенности к заболеванию, а также в выявлении биологических основ восприимчивости к болезни для разработки новых стратегий профилактики и лечения. Суть данного метода заключается в генотипировании однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) на основе чипов высокой плотности, то есть одновременно в одном образце может

быть проанализировано от нескольких десятков тысяч до нескольких миллионов SNP.

Sirui Zhou и другие на основе полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) выявили новые кандидатные локусы с риском развития семейных форм ИА во франко-канадской популяции. В этом исследовании генотипировали когорту из 257 человек с семейной формой ИА по 621,983 SNP, и соответственно, 1992 контролей (условно-здоровые). Таким образом, была обнаружена новая ассоциированная область 3p14.2, которая охватывает ген *FHIT*, с ИА у франко-канадцев. Кроме того, были обнаружены доказательства того, что экзонные варианты в локусе *CCDC80* 3q13.2 также связаны с ИА у франко-канадцев. В совокупности SNP генов *FHIT* и *CCDC80* могут объяснить примерно 3% наследуемости ИА у франко-канадцев. Ген *FHIT* кодирует хрупкий белок гистидина триады (FHIT). Точная молекулярная функция FHIT все еще частично неясна, этот ген работает как супрессор опухолей, который регулирует репликацию ДНК и сигнализирует о стрессовых ответах. [26]. Отдельно проведено исследование по шести франко-канадским семьям с заболеванием ИА. На основании анализа данных после полноэкзомного секвенирования неблагоприятные варианты в гене *RNF213* могут быть факторами риска развития ИА. Ген *RNF213* кодирует белок цитозольную убиквитин-лигазу E3 (кольцевой фингер-белок 213). Хотя функция белка *RNF213* неизвестна, исследования показывают, что он играет роль в правильном развитии кровеносных сосудов [33]. Как упоминалось выше, для определения локусов сложных признаков широко используется метод полногеномного анализа ассоциаций.

В работе *Caranci F и др.* показано, что полногеномные исследования сцепления в семьях и парах сибсов с внутричерепными аневризмами идентифицировали несколько локусов на хромосомах, 1p34.3-p36.13, 7q11, 19q13.3 и Xp22. Для локусов 1p34.3-p36.13 и 7q11 продемонстрирована ассоциация с позиционными генами-кандидатами (ген перлекана, ген эластина, ген A2 коллагена 1 типа). Более того, было обнаружено, что три из проанализированных полиморфизмов в генах (эндотелиальная синтаза оксида азота T786C, интерлейкин-6 G572C и интерлейкин-6 G174C) в значительной степени связаны с разорвавшимися /неразорвавшимися аневризмами: однонуклеотидные полиморфизмы гена синтазы оксида азота эндотелия повышали риск, в то время как полиморфизм *IL-6* G174C являлся протективным [8].

Корейские ученые после сбора семейных данных на основе модели, в которой были задействованы семьи из географически ограниченной области, унаследовавшие ИА как аутосомно-доминантный признак, в последующем провели анализ сцепления по всему геному. (GWAS). Значительные доказательства сцепления с ИА в семьях были обнаружены на хромосоме 8p22.2 [17].

При многих GWAS исследованиях большую роль играет популяционная специфичность. Например, в работе *Kurki M.I. и других*, GWAS проводили в финской популяции (в семьях с анамнезом ИА) Ориентируясь на популяционные и низкочастотные варианты (частота аллеля <0,05), выявили локусы 2q23.3, 5q31.3, 6q24.2, и 2q33.1 ассоциированные с высоким риском развития ИА [19].

Выявление генов на основе таргетного секвенирования (метод Сэнгера)

С развитием геномных технологий, в частности секвенирования нового поколения становится рутинной процедурой таргетное секвенирование генов. Таргетное секвенирование представляет собой секвенирование панели генов, включая интроны и экзоны, от 10 и более генов одновременно в одном образце. Также исследователи активно используют ДНК-секвенирование по Сэнгеру – золотой стандарт.

В январе 2018 года опубликованы результаты проекта ICAN (<https://doi.org/10.1093/neuros/nyw135>) - французской исследовательской программы, направленной на лучшее понимание патофизиологии внутричерепной аневризмы. Основной целью данного проекта было разработать инструменты диагностики и прогнозирования риска образования и разрыва ИА на основе генетического компонента. Данный проект ICAN был зарегистрирован в базе клинических исследований ClinicalTrials.gov в январе 2013 года. В настоящее время проект имеет статус завершённого, дата окончания - январь 2017 года. (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02848495>). Исследователи предлагали идентифицировать варианты, вызывающие ИА, путем секвенирования всего экзона в семейных формах заболевания [6]. По результатам данного проекта, редкие генетические варианты в гене *ANGPTL6* являются основой причиной семейных внутричерепных аневризм [7].

В другом исследовании 259 пациентов с семейной формой ИА и 1800 контролей, у всех исследуемых было проведено ДНК секвенирование по Сэнгеру 2-6 экзонов гена *ANGPTL6*. Таким образом, было обнаружено шесть редких генетических вариантов в гене *ANGPTL6* в группе пациентов и данные варианты отсутствовали в контрольной группе, при этом четыре из них ранее не описывались. Ген *ANGPTL6*, кодирует белок, принадлежащий к семейству *ANGPTL* (ангиопозтинподобный белок), который связан с регуляторными способностями ангиогенеза. Авторы статьи *Isabel C. Hostettler et al.* предлагают генетические варианты гена *ANGPTL6* включить в скрининг семейных случаев ИА [15].

Функциональная геномика. Изучение экспрессии генов.

Одной из важной областей молекулярной биологии является функциональная геномика и направлена на установление связи между фенотипом и генотипом на уровне генома и включает такие процессы, как транскрипция, трансляция, межбелковое взаимодействие и эпигенетическая регуляция. Функциональная геномика фокусируется в большей степени на экспрессии генных продуктов в определенном контексте, например, на определенной стадии развития или во время болезни.

Li M. совместно с коллегами первоначально провели секвенирование нового поколения девятнадцати китайских пациентов с семейной формой ИА и одного пациента со спорадическим ИА. Далее были получены профили экспрессии мРНК 129 образцов из Gene Expression Omnibus (GEO) и проведены последующие статистические вычисления для обнаружения дифференциально экспрессируемых генов (DEG). Ассоциация была обнаружена между ИА и SNP гена *NOTCH3* (rs779314594,

rs200504060 и rs2285981). Уровни *NOTCH3* мРНК были ниже в ткани ИА, чем в контрольной ткани, но выше в нейтрофилах периферической крови пациентов с ИА, чем в нейтрофилах из контроля. Уровни белка *NOTCH3* были ниже в ткани ИА, чем в ткани артерии головного мозга. *NOTCH3* также снижает экспрессию факторов ангиогенеза в эндотелиальных клетках пупочной вены человека. Вариации в гене *NOTCH3* и изменение его экспрессии могут вносить вклад в развитие ИА [21].

В работе *Rachel Kleinloog* определяли уровни экспрессии с помощью секвенирования РНК. Было обнаружено 229 дифференциально экспрессируемых генов в аневризмах по сравнению с контрольной группой. В последующем, используя критерии, было отобрано 8 генов, валидация которых была подтверждена цифровой полимеразной цепной реакцией. Результаты исследований указывают на роль иммуноглобулинов в патогенез аневризм [16].

Необходимо еще раз отметить, что значительные результаты в области патогенеза заболеваний достигаются при мультицентровых исследованиях, позволяющие собрать репрезентативные выборки в больших количествах. Результаты одного из таких масштабных исследований патогенетических основ ИА/САК, в который были вовлечены более 8 международных проектов (HUNT, ICAN, GOSH, FIA Study, CADISP, ISGC, China Kadoorie Biobank Collaborative Group и BioBank Japan Project Consortium) представлены в работе Mark K. Bakker и его коллег. В исследование были включены выборки пациентов со спорадической и семейными формами ИА/САК (10754 случая и 306882 контролей) европейского и восточноазиатского происхождения. Коллективом авторов были выявлены 17 локусов, из которых 11 были новыми. Остальные 6 локусов, включавших 11 генов: *SLC22A5* / *SLC22A4* / *P4HA2* (хромосома 5), *NT5C2* / *MARCKSL1P1* (хромосома 10), *FGD6* / *NR2C1* (хромосома 12), *PSMA4* (хромосома 15), *BCAR1* / *RP11-252K23.2* (хромосома 16) и ген *SOX17* (хромосома 8) были ранее идентифицированы как локусы ассоциированными с риском развития ИА и САК. Более того, была доказана полигенность заболевания, а также роль курения и артериальной гипертензии как основных риск факторов. Результаты данного исследования представляют собой значительный прогресс в понимании патогенеза внутричерепных аневризм и объясняя наследственную природу внутричерепных аневризм и САК [3].

Заключение

Генетические маркеры являются важным диагностическим инструментом для досимптоматической диагностики, позволяющие выявлять пациентов, входящих в группу риска, также устанавливать генетические профили больных и проводить индивидуальное лечение, специфически компенсируя функцию, затронутую генетическим дефектом. Используя знания о взаимодействии аллельных вариантов со средовыми факторами, можно разрабатывать индивидуальные рекомендации по изменению стиля жизни, что позволит минимизировать риск заболевания.

Благодаря развитию геномных технологий результаты вышеописанных работ представляют собой значительный прогресс в понимании патогенеза внутричерепных

аневризм, и это является важным шагом к разработке эффективного прогнозирования генетических рисков и профилактики развития внутричерепной аневризмы в будущем.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке грантового финансирования по научным и научно-техническим проектам на 2020-2021 годы. Финансирование предоставлено Комитетом науки Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках гранта ИРН AP08955996 «Изучение генов-кандидатов, вовлеченных в развитие субарахноидального кровоизлияния (семейные формы) на основе полногеномного секвенирования».

Конфликт интересов

Все авторы ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Авторы заявляют, что данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях.

Литература:

1. Акшулаков С.К. и др. Организация и состояние инсультной службы Республики Казахстан по итогам 2016 года // Нейрохирургия и неврология Казахстана. - 2018. №1 (50). С. 31-36.
2. Статистический сборник "Здоровье населения Республики Казахстан и деятельность организаций здравоохранения в 2018 г. ТОО «Мединформ», 2019, 324 с. <http://www.rcrz.kz/index.php/ru/statistika-zdravookhraneniya-2> (accessed: 22.06.2021).
3. Bakker M.K., van der Spek R.A.A., van Rheenen W., Morel S., Bourcier R., Hostettler I.C., Alg V.S. et al. Genome-wide association study of intracranial aneurysms identifies 17 risk loci and genetic overlap with clinical risk factors // *Nature Genetics*. 2020. Vol. 52. P. 1303–1313.
4. Global Health Estimates 2016: Death by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organisation: 2018 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>. (accessed: 22.06.2021).
5. Global Stroke Fact Sheet. World Stroke Organization <https://www.world-stroke.org/>. (дата обращения 22.06.2021).
6. Bourcier Romain, Chatel Stéphanie, Bourcereau Emmanuelle, Jouan Solène, Le Marec Hervé, Daumas-Duport Benjamin, et al. ICAN Investigators Understanding the Pathophysiology of Intracranial Aneurysm: The ICAN Project // *Neurosurgery*. 2017. Vol. 80. P. 621-626. doi:10.1093/neuros/nyw135.
7. Bourcier R., Le Scouarnec S., Bonnaud S., Karakachoff M., Bourcereau E., Heurtebise-Chrétién S., Menguy C., Dina C., Simonet F., Moles A., Lenoble C., Lindenbaum P., Chatel S., Isidor B., Génin E., Deleuze J.F., Schott J.J., Le Marec H. ICAN Study Group, Loirand G., Desal H., Redon R. Rare Coding Variants in ANGPTL6 Are Associated with Familial Forms of Intracranial Aneurysm // *Am J Hum Genet*. 2018. Vol. 102. P.133-141. doi:10.1016/j.ajhg.2017.12.006.
8. Caranci F., Briganti F., Cirillo L., Leonardi M., Muto M. Epidemiology and genetics of intracranial aneurysms // *Eur J Radiol*. 2013. Vol. 82. №10. P. 1598-605. doi:10.1016/j.ejrad.2012.12.026. Epub 2013 Feb 8.
9. Chen Shi, Li Mengqi, Xin Wenqiang, Liu Shengze, Zheng Linfei, Li Yan, Mengyao Li Mengyao, Zhan Mengxiong, Yang Xinyu Intracranial aneurysm's association with genetic variants, transcription abnormality, and methylation changes in ADAMTS genes // *PeerJ*. 2020. №8. P. e8596. doi: 10.7717/peerj.8596.
10. Ding X., Zhao S., Zhang Q., Yan Z., Wang Y., Wu Y., Li X. et al. Exome Sequencing Reveals a Novel Variant in NF1 Causing Intracranial Aneurysm in a Chinese Family // *J Neurointerv Surg*. 2020. Vol. 12. P. 221–226.
11. Farlow Janice L., Lin Hai, Sauerbeck Laura, Lai Dongbing, Koller Daniel L., Pugh Elizabeth, Hetrick Kurt, et al., FIA Study Investigators. Lessons Learned from Whole Exome Sequencing in Multiplex Families Affected by a Complex Genetic Disorder, Intracranial Aneurysm. Multicenter Study // *PLoS One*. 2015. №10. P.e0121104. doi: 10.1371/journal.pone.0121104.
12. Foroud T., Koller D.L., Lai D., Sauerbeck L., Anderson C., Ko N., et al. Genome-wide association study of intracranial aneurysms confirms role of ANRIL and SOX17 in disease risk // *Stroke*. 2012. Vol. 43. P. 2846–2852.
13. Foroud Tatiana FIA Study Investigators // Whole exome sequencing of intracranial aneurysm. *Stroke*. 2013. Vol.44. №6. Suppl 1. – S.26-8. doi:10.1161/STROKEAHA.113.001174.
14. Hoe Willem, Loon Johannes, Demeestere Jelle, Lemmens Robin, Peluso Jo, Vleeschouwe Steven De Screening for Intracranial Aneurysms in Individuals with a Positive First-Degree Family History: A Systematic Review. // *World Neurosurgery*. 2021. Vol.151. P.235-248.e5. doi.org/10.1016/j.wneu.2021.02.112
15. Hostettler I.C., O'Callaghan B., Bugiardi E., O'Connor E., Vandrovcova J., Davagnanam I., Alg V., Bonner S., Walsh D., Bulters D., Kitchen N., Brown M.M., Grieve J., Werring D.J., Houlden H. Genetics and Observational Subarachnoid Haemorrhage (GOSH) study investigators. ANGPTL6 Genetic Variants Are an Underlying Cause of Familial Intracranial Aneurysms // *Neurology*. 2021. Vol. 96. P. e947-e955. doi: 10.1212/WNL.0000000000001125.
16. Kleinloog Rachel, Verweij Bon H., Van der Vlies Pieter, Deelen Patrick, Swertz Morris A., Muynck Louis de, et al. RNA Sequencing Analysis of Intracranial Aneurysm Walls Reveals Involvement of Lysosomes and Immunoglobulins in Rupture // *Stroke*. 2016. Vol 47. №5. P1286-93/ doi:10.1161/STROKEAHA.116.012541.
17. Kim C.J., Park S.S., Lee H.S., Chung H.J., Choi W., Chung J.H., et al. Identification of an autosomal dominant locus for intracranial aneurysm through a model-based family collection in a geographically limited area // *Journal of Human Genetics*. 2011. Vol.56. №6.-P.464–466. <https://doi.org/10.1038/jhg.2011.27>.
18. Korja Miikka, Kivisaari Riku, Rezai Jahrom Behnami, Lehto Hann, Natural History of Ruptured but Untreated Intracranial Aneurysms // *Stroke*. 2017. Vol. 48.- №4. P.1081-1084. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.015933.
19. Kurki M.I., Gaál E.I., Kettunen J., Lappalainen T., Menelaou A., Anttila V., et al. High risk population isolate reveals low frequency variants predisposing to intracranial aneurysms // *PLoS Genetics*. 2014. Vol. 10, №1.e1004134.
20. Lorenzo-Betancor O., Blackburn P.R., Edwards E., Vázquez-do-Campo R., Klee E.W., Labbé C., Hodges K.,

Glover P., Sigafos A.N., Soto A.I., Walton R.L., Duxsey S., Bober M.B., Jennings S., Clark K.J., Asmann Y., Miller D., Freeman W.D., Meschia J., Ross O.A. PCNT point mutations and familial intracranial aneurysms // *Neurology*. 2018. №91. P.e2170-e2181. doi:10.1212/WNL.0000000000006614.

21. Li M., Dong X., Chen S., Wang W., Yang C., Li B., Liang D., Yang W., Liu X., Yang X. Genetic polymorphisms and transcription profiles associated with intracranial aneurysm: a key role for NOTCH3 // *Aging (Albany NY)*. 2019. Vol.11. P. 5173-5191. doi:10.18632/aging.102111.PMID: 31339861

22. Macdonald R.L., Schweizer T.A. Spontaneous Subarachnoid Haemorrhage // *Lancet*. 2017. Vol.11. №389. P. 655-666.

23. Powell Amy E., Fernandez Bridget A., Maroun Falah, Barbara Noble, Michael O Woods. Familial Intracranial Aneurysm in Newfoundland: Clinical and Genetic Analysis // *Can J Neurol Sci*. 2019. Vol.46. №5. P.518-526. doi: 10.1017/cjn.2019.230.

24. Santiago-Sim T., Fang X., Hennessy M.L., Nalbach S.V., DePalma S.R., Lee M.S., Greenway S.C., McDonough B., Hergenroeder G.W., Patek K.J., Colosimo S.M., Qualmann K.J., Hagan J.P., Milewicz D.M., MacRae C.A., Dymekski S.M., Seidman C.E., Seidman J.G., Kim D.H. THSD1 (Thrombospondin Type 1 Domain Containing Protein 1) Mutation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage // *Stroke*. 2016. Vol.47, №.12. P.3005-3013. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.014161.

25. Sauvigny Thomas, Alawi Malik, Krause Linda, Renner Sina, Spohn Michael, Busch Alice, Kolbe Verena, et al. Exome sequencing in 38 patients with intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage // *Journal of Neurology*. 2020. Vol.267. P. 2533-2545.

26. Sirui Zhou, Ziv Gan-Or, Amirthagowri Ambalavanan, Dongbing Lai, Pingxing Xie, Cynthia V. Bourassa, Stephanie Strong, Jay P. Ross, Alexandre Dionne-Laporte, Dan Spiegelman, Nicolas Dupré, Tatiana M Foroud, Lan Xiong, Patrick A. Dion & Guy A. Rouleau. Genome-wide association analysis identifies new candidate risk loci for familial intracranial aneurysm in the French-Canadian population // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8. Article number: 4356. doi:10.1038/s41598-018-21603-7.

27. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Ana Monteagudo Intracranial Hemorrhage // *Am J Obstet Gynecol*. 2020. Vol.223. №6. B34-B37. doi:10.1016/j.ajog.2020.08.183.

28. Thrift Amanda G., Thayabaranathan Tharshanah, Howard George, Howard Virginia J., Rothwell Peter M., Feigin Valery L., Norrving Bo., Donnan Geoffrey A., Dominique A. Cadilhac Global stroke statistics // *Int J Stroke*. 2017. Vol.12. №1. P.13-32. doi: 10.1177/1747493016676285.

29. Vlak M.H., Algra A., Brandenburg R., et al. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and meta-analysis // *Lancet Neurol*. 2011. №10. P. 626-636.

30. Wu Y., Li Z., Shi Y., Chen L., Tan H., Wang Z., Yin C., Liu L., Hu J. Exome sequencing identifies LOXL2 mutation as a cause of familial intracranial aneurysm // *World Neurosurg*. 2018. №109. P. e812- e818.

31. Yan Junxia, Hitomi Toshiaki, Takenaka Katsunobu, Kato Masayasu, Hatasu Kobayashi Hatasu, Okuda Hiroko, Kouji H Harada, Akio Koizumi Genetic study of intracranial aneurysms // *Stroke*. 2015. №46. P.620-6. doi:10.1161/STROKEAHA.114.007286.

32. Yang X., Li J., Fang Y., Zhang Z., Jin D., Chen X., Zhao Y., Li M., Huan L., Kent T.A., Dong J.F., Jiang R., Yang S., Jin L., Zhang J., Zhong T.P., Yu F. Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor ARHGEF17 Is a Risk Gene for Intracranial Aneurysms // *Circ Genom Precis Med*. 2018. №11. P. e002099. doi: 10.1161/CIRCGEN.117.002099.

33. Zhou S., Ambalavanan A., Rochefort D., Xie P., Bourassa C.V., Hince P., Dionne-Laporte A., Spiegelman D., Gan-Or Z., Mirarchi C., Zaharieva V., Dupré N., Kobayashi H., Hitomi T., Harada K., Koizumi A., Xiong L., Dion P.A., Rouleau G.A. RNF213 Is Associated with Intracranial Aneurysms in the French-Canadian Population // *Am J Hum Genet*. 2016. Vol. 99. P.1072-1085. doi:10.1016/j.ajhg.2016.09.001.

34. Zhou S., Ziv Gan-Or et al. Genome-wide association analysis identifies new candidate risk loci for familial intracranial aneurysm in the French-Canadian population // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8. P 4356.

35. Xu Zhen, Rui Yan-Ning, Hagan John P., Kim Dong H. Intracranial Aneurysms: Pathology, Genetics, and Molecular Mechanisms // *Neuromolecular Med*. 2019. Vol.21. №4. P.325-343. doi: 10.1007/s12017-019-08537-7.

References [1-2]:

1. Akshulakov C.K. i dr. Organizatsiya i sostoyanie insul'tnoi sluzhby Respubliki Kazakhstan po itogam 2016 goda [Organization and state of the stroke service of the Republic of Kazakhstan at the end of 2016]. *Neirokhirurgiya i nevrologiya Kazakhstana* [Neurosurgery and neurology of Kazakhstan]. 2018. №1 (50). pp. 31-36. [in Russian]

2. *Statisticheskii sbornik "Zdorov'e naseleniya Respubliki Kazakhstan i deyatelnost' organizatsii zdavookhraneniya v 2018 g.* [Statistical collection "Health of the population of the Republic of Kazakhstan and the activities of healthcare organizations in 2018], LLC «Medinform», 2019, 324 p. <http://www.rcrz.kz/index.php/ru/statistika-zdavookhraneniya-2> (accessed: 22.06.2021) [in Russian]

Контактная информация:

Айткулова Акбота Маратовна - Республиканское государственное предприятие «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Нур-Султан, Республика Казахстан.

Почтовый индекс: Республика Казахстан, 010000, г. Нур-Султан, ул.Кургальжинское шоссе, 13/5.

e-mail: akbotamaratovna3@gmail.com

Телефон: +7 775 514 23 23