

1.2. Эпидемиология, факторы риска и биомаркеры болезни Паркинсона

Клинико-эпидемиологические аспекты паркинсонизма в Ярославле и Ярославской области по результатам многолетней работы кабинета помощи больным с экстрапирамидной патологией

Н.В. Пизова, Е.В. Курапин, М.А. Быканова

*Ярославский государственный медицинский университет;
Поликлиника Ярославской Областной клинической больницы (Ярославль)*

Паркинсонизм – это один из самых распространенных синдромов в клинической неврологии, характеризующийся высокой полиэтиологичностью. Болезнь Паркинсона (БП) является наиболее частой причиной паркинсонизма [1–3]. Распространенность паркинсонизма достигает 500 человек на 100 000 населения. По данным сплошного продленного во времени российского исследования 2004 г. распространенность БП в популяции составляет 268,3 на 100 000 населения старше 40 лет [4]. Стандартизированные оригинальные исследования последних лет показывают, что распространенность БП составляет 30,0–139,9 человек на 100 000 населения, а заболеваемость – 7,63–21,8 человек на 100 000 населения в год. Численность больных с БП в России составляет около 210 000 [2, 3, 5–9].

С целью улучшения диагностики и лечения этого социально значимого заболевания департамент здравоохранения г. Ярославля 8 августа 2007 года издал приказ № 887 об официальном открытии кабинета помощи больным паркинсонизмом. Консультативный прием организован на базе Областной поликлиники г. Ярославля с 8 августа 2007 года. Врачи поликлиник и стационаров города и области активно направляли всех пациентов с подозрением на любое экстрапирамидное расстройство в кабинет помощи для решения диагностического вопроса, подбора терапии и дальнейшего динамического наблюдения.

На базе ЯГМА регулярно проводились обучающие курсы, лекции, клинические разборы больных с паркинсонизмом в рамках первичной специализации врачей общей практики, циклов повышения квалификации неврологов, ежегодно докладывались результаты работы специализированного кабинета на областных научно-практических конференциях, печатались местные информационные газеты и анкеты с последующим распространением их в поликлиниках города и области – все это способствовало повышению качества диагностического процесса неврологов первичного звена, их заинтересованности в активном выявлении и направлении в кабинет специализированной помощи данной категории пациентов, повышению преемственности в работе неврологов разных уровней организации медицинской помощи пациентам с экстрапирамидной патологией.

Цель данного исследования: изучить клинико-эпидемиологические аспекты БП в Ярославле и Ярославской области по результатам работы специализированного кабинета экстрапирамидных расстройств.

Материалы и методы

В период с 8 августа 2007 г. по 30 июня 2017 г. в кабинете помощи больным с экстрапирамидной патологией на базах ГБУЗ ЯО «Областная клиническая больница», ГАУЗ ЯО «Клиническая больница №9», ГУЗ ЯО «Клиническая больница №8» амбулаторно обследовано 6239 пациентов. Данные на каждого больного, с учетом всех посещений вносились в электронный регистр пациентов с экстрапирамидной патологией.

Диагностика БП проводилась на основе клинико-диагностических критериев Банка Головного Мозга Общества БП Великобритании, степень тяжести БП оценивалась в соответствии со шкалой Hoehn и Yahr. Темп прогрессирования оценивался в соответствии критериями Н.В. Федоровой (1996). Диагностика болезни диффузных телец Леви проводилась в соответствии с критериями McKeith (1996), мультисистемной атрофии – в соответствии с критериями Gilman (1998), прогрессирующего надъядерного паралича – в соответствии с критериями NINDS-SPSP (Litvan, 1996). При диагностике сосудистого паркинсонизма использовались общепринятые критерии [10, 11].

Результаты и обсуждение

Всего в рамках работы консультативного кабинета в указанный период было обследовано 6239 человек, из которых 1954 (31,3%) – с паркинсонизмом, 4285 (68,7%) – с другой экстрапирамидной патологией (таблица 1). Из всех выявленных нами случаев паркинсонизма БП отмечалась у 1593 (81,5 %) пациентов, что согласуется с данными зарубежных исследований, где на долю БП приходится от 70,2 % до 41,2 % всех случаев паркинсонизма [4]. По результатам российских исследований последних 7 лет, БП вносит вклад в нозологическую структуру паркинсонизма более чем в 61,3% случаев [2, 3, 5, 8, 9].

Таблица 1. Нозологическая структура паркинсонизма в Ярославской области по данным обращаемости и активному выявлению больных паркинсонизмом (n = 1954).

Нозологическая форма	Код МКБ	Абсолютное число	Процент
Болезнь Паркинсона	G20	1593	81,5
Сосудистый паркинсонизм	G22*, I67.8	135	6,9
Болезнь диффузных телец Леви	G23.8	88	4,6
Токсический паркинсонизм	G31.2	29	1,5
Прогрессирующая надъядерная офтальмоплегия	G23.1	27	1,4
Нейролептический паркинсонизм	G21.1	21	1,1
Паркинсонизм при болезни Альцгеймера	G30.0, G30.1	20	1
Мультисистемная атрофия	G23.3	18	0,9
Паркинсонизм при нормотензивной гидроцефалии	G91.0	7	0,3
Постэнцефалитический паркинсонизм	G21.3	5	0,2
Гепатолентикулярная дегенерация	G23.8	4	0,2
Паркинсонизм вследствие опухоли головного мозга	G21.8	3	0,2
Кортикобазальная дегенерация	G23.8	2	0,1
Боковой амиотрофический склероз-паркинсонизм-деменция	G23.8	1	0,05
Болезнь Фара	G23.8	1	0,05
Всего	-	1954	100

Второе место занимал синдром сосудистого паркинсонизма (6,9 %). Значительно реже по сравнению с БП встречались другие формы паркинсонизма, в том числе нейродегенеративные заболевания из группы «паркинсонизм-плюс», такие как болезнь диффузных телец Леви, мультисистемная атрофия, прогрессирующий надъядерный паралич, кортикобазальная дегенерация (в сумме 7%). Их относительно малая доля в структуре паркинсонического синдрома закономерна, учитывая сложности прижизненной постановки диагноза. Тем не менее, болезнь диффузных телец Леви по частоте встречаемости занимала третье место в структуре паркинсонизма, что составило 4,6 %. Появление тенденции к увеличению диагностики данной патологии закономерно и связано с тем, что она имеет характерные клиническо-диагностические особенности и, как основная нозологическая форма в структуре деменции, занимает четвертое место после сосудистой деменции, составляя от 7% до 30% случаев от общего числа больных с деменцией [11]. Отмечается низкая встречаемость лекарственного (нейролептического) паркинсонизма (1,1% выявленных случаев), несколько чаще имел место вторичный токсический паркинсонизм (дегенерация нервной системы, вызванная алкоголем) – в 1,5 % случаев пациентов.

Нозологическая структура пациентов, страдающих другой экстрапирамидной патологией, представлена в таблице 2.

Таблица 2. Нозологическая структура пациентов, страдающих другой экстрапирамидной патологией (n = 4285).

Нозологическая форма	Код МКБ	Абсолютное число	Процент
Эссенциальный тремор	G 25.0	3269	76,3
Идиопатическая несемейная дистония	G 24.2 G 24.3 G 24.4 G24.5 G24.8	727	16,9
Синдром Туретта	F 95.2	92	2,1
Вторичный тремор (лекарственный, токсический, при эндокринопатиях)	G25.1 G25.2	67	1,6
Тики взрослых	F 95.8/G25.6	37	0,9
Хронические моторные тики	F 95.1	23	0,6

Хорея Гентингтона	G 10	21	0,5
Дистония-эссенциальный тремор	G24.8	20	0,5
Лекарственная дистония (нейролептический синдром)	G 24.0	7	0,2
Вторичный гемибаллизм (последствие ОНМК)	G25.8	6	0,1
Ортостатический тремор	G25.2	5	0,1
Вторичная дистония (последствие ОНМК, черепно-мозговой травмы)	G 24.8	5	0,1
Поздние дискинезии	G25.8	3	0,04
Идиопатическая семейная дистония	G24.1	1	0,02
Эссенциальная миоклония (множественная парамиоклония)	G25.3	1	0,02
Синдром Ригидного человека	G25.8	1	0,02
Всего	-	4285	100

Среди других экстрапирамидных расстройств по частоте встречаемости лидирующее место занимал эссенциальный тремор – 76,3%. Он является наиболее распространенным заболеванием экстрапирамидной системы и встречается в 2–3 раза чаще паркинсонизма [1, 2, 8]. На втором месте по частоте встречаемости были различные виды несемейных идиопатических дистоний (16,9%), среди которых преобладали блефароспазм (в 32% случаев) и цервикальная дистония (в 47% случаев). На третьем месте по частоте встречаемости находился синдром Туретта (2,1% случаев), который был представлен несколько чаще хронических моторных тиков (0,86%) и тиков (0,6%) взрослых. Значительно реже зарегистрированы хорея Гентингтона и другие виды гиперкинезов такие как, гемибаллизм и «дистония-плюс».

Из обратившихся больных БП 829 человек (52%) были из Ярославля и 764 пациента (48%) из Ярославской области. Таким образом, распространенность БП по обращаемости в городе Ярославле составила 137 человек на 100 000 населения, что соответствует высоким показателям распространенности данной нозологии, учитывая результаты других российских исследований. По Ярославской области полученные показатели распространенности несколько ниже по сравнению с городом (115 человек на 100 000 населения); тем не менее, они соответствуют среднему уровню распространенности БП в Российской Федерации [3, 12, 13, 15, 16].

Демографический состав пациентов с БП представлен в таблице 3.

Таблица 3. Демографический состав пациентов с БП (n = 1593).

	Женщины	Мужчины	Жители Ярославля	Жители области	Городские	Сельские
Количество, n	455	1138	829	764	1318	275
%	28,6	71,4	52	48	82,7	17,3

Соотношение мужчин и женщин составило 1:2,5. Полученные результаты не противоречат данным других клинико-эпидемиологических исследований паркинсонизма в России [2, 7, 12, 13] и, наиболее вероятно, обусловлены разницей показателей средней продолжительности жизни между лицами женского и мужского пола. Большая доля выявленных больных с БП среди городского населения (82,7 %) по сравнению с сельским (17,3 %), скорее всего, связана с более высокой обращаемостью данной категории пациентов и большей осведомленностью неврологов городского поликлинического звена в отношении данной нозологии.

Основным фактором, влияющим на уровень распространенности паркинсонизма, является возраст [2–4, 12, 16]. Наименьшее число больных с БП (2,3 % случаев) находилось в возрастном диапазоне до 50 лет. Во всех исследованиях показано, что до 50 лет паркинсонизм и БП встречаются редко, но с возрастом показатели распространенности и заболеваемости неуклонно растут. В возрасте старше 65 лет каждый сотый человек страдает паркинсонизмом, который является одной из основных причин инвалидизации пожилых лиц [2–7, 15, 16]. Основная доля пациентов с БП приходилась на возрастной период от 60 до 75 лет (таблица 4).

Таблица 4. Возрастная структура пациентов с БП (n = 1593).

Возраст пациентов	До 50 лет	50 – 59	60 – 69	70 – 79	Старше 80
Количество больных, n	37	247	640	567	102
%	2,3%	15,5%	40,2%	35,6%	6,4%

Данные по распределению пациентов в соответствии со шкалой Hoehn и Yahr [17] представлены в таблице 5.

Таблица 5. Распределение стадий заболевания у больных с БП (n = 1593).

Стадия БП	1	2	3	4
Количество больных БП, n (%)	609 (38,2%)	656 (41,2%)	306 (19,2%)	22 (1,4%)

Преобладание пациентов в начальных стадиях заболевания (79,4% случаев) говорит о достаточно ранней диагностике данной патологии, о высокой настороженности врачей-неврологов города Ярославля и Ярославской области в отношении данной патологии и преемственности в работе поликлинического неврологического звена и кабинета специализированной помощи данной категории больных. В тоже время незначительное преобладание пациентов с БП во второй стадии заболевания (41,2 %) по сравнению с первой (38,2%) свидетельствует о том, что врачи-неврологи испытывают сложности в диагностике данной нозологии на самом начальном ее этапе. Полученные результаты подчеркивают необходимость продолжения повторных обучающих циклов и курсов по экстрапирамидной патологии. Подобные соотношения количества больных с разными стадиями заболевания прослеживаются в российских эпидемиологических исследованиях паркинсонизма последних 7 лет [5, 12–14].

При оценке темпа прогрессирования БП у большинства пациентов (n=1088, 68,3%) выявлена умеренная скорость прогрессирования заболевания, в три раза реже (n=323, 20,3%) отмечался быстрый темп прогрессирования и для наименьшего (n=182, 11,4%) числа обследованных было характерно медленное развитие заболевания.

Среди форм БП наиболее часто встречалась смешанная или акинетико-ригидно-дрожательная форма – в 83,7% случаев (n = 1333), реже – акинетико-ригидная форма заболевания в 12,4 % (n = 198) случаев, а дрожательная форма составляла всего 3,9% (n = 62). Это соответствует данным других исследований [1, 2, 5, 12].

Из обратившихся пациентов с подтвержденным диагнозом БП 475 (29,8%) человек имели 3-ю группу инвалидности, 231 (14,5%) – 2-ю и 11 (0,7%) – 1-ю группу инвалидности. Не имели группы инвалидности 876 (55%) больных, средний возраст их составлял $64,4 \pm 5,7$ года, более трети из них (32 %) имели 2-ю и более тяжёлые стадии заболевания, а значит, были социально не защищены. У пациентов с 3-й группой инвалидности отмечались выраженные двусторонние проявления заболевания, постуральная неустойчивость, что существенно затрудняло самообслуживание и свидетельствовало о более тяжёлой степени утраты трудоспособности.

Из 328 пациентов с 3-й и 4-й стадиями заболевания 47 (14,3 %) человек не принимали леводопосодержащих препаратов, хотя средний возраст их составлял $78,2 \pm 5,8$ лет. Напротив, 57 (3,6%) больных уже на начальной стадии заболевания получали леводопу, хотя протокол ведения «требует» в таких случаях назначения препаратов с нейропротективным действием (АДАР, ингибиторы NMDA-рецепторов) [17, 18].

С учетом протокола ведения пациентов с БП и рекомендаций после консультации в специализированном кабинете характер фармакотерапии был изменен, принимая во внимание доступность льготного обеспечения по ряду групп лекарственных препаратов и материальные возможности больных БП (таблица 6).

Таблица 6. Характер фармакотерапии у пациентов с БП.

Лекарство	Леводопа + бенсеразид	Леводопа+ карбидопа	Агонист дофамина	Ингиб. NMDA	Ингиб. MAO-B	Ингиб. КОМТ	Холинолитики
До, %	7,6	8,1	22,3	2,4	0	0	7,4
После, %	38,2	18,5	87,4	43,7	16,7	9,2	0,1

К моменту обращения на консультацию 118 (7,4 %) пациентов со 2-й и 3-й стадиями БП и в возрасте старше 60 лет лечились тригексифенидом (циклодолом), несмотря на то, что, по данным литературы, холинолитики являются предпочтительными препаратами только для начальной стадии дрожательной формы заболевания у лиц в возрасте моложе 55 лет, и их нежелательно назначать пожилым пациентам из-за повышенного риска побочных явлений [17, 19, 20].

Периодическое плановое лечение вазоактивными и ноотропными препаратами, не влияющими на клинические проявления заболевания, проходили 844 (52,9 %) пациента с БП.

Успешно проведено хирургическое лечение с применением глубокой стимуляции мозга одной пациентке в 3-й стадии БП с флуктуациями симптомов и дискинезиями.

У большинства больных БП вопросы диагностики, трудоспособности и коррекции терапии удалось решить на амбулаторном приёме, без направления в неврологические стационары города и области. За период работы кабинета экстрапирамидных расстройств в стационар было направлено 23 (1,4%) пациента с выраженной декомпенсацией БП вследствие грубого нарушения схемы лечения.

Выводы:

1. В кабинете экстрапирамидных расстройств города Ярославля и Ярославской области диагноз БП среди 1954 пациентов с синдромом паркинсонизма выставлен в 81,5% случаев. Наиболее распространенным подкорковым гиперкинезом в структуре других экстрапирамидных расстройств (n=4285) был эссенциальный тремор (76,3%), что согласуется с данными других российских эпидемиологических исследований.

2. Показатели распространенности БП в городе Ярославле соответствует достаточно высокому, а по Ярославской области – среднему уровню относительно показателей распространенности данной нозологии в Российской Федерации.

3. Значительная доля пациентов с БП находилась в возрастном диапазоне от 60 до 75 лет. Среди больных преобладали женщины в среднем соотношении 1:2,5.

4. Наибольший процент составила смешанная форма заболевания (83,7%), с преобладанием среднего темпа прогрессирования (68,3 %) БП.

5. Более, чем в половине случаев БП (79,4%) на первичном приеме в кабинете экстрапирамидных расстройств диагностированы ранние стадии заболевания.

6. Преемственность в работе неврологов первичного звена и специализированного кабинета помощи больным с экстрапирамидной патологией повышает качество диагностики, а значит, своевременного выявления и адекватного лечения данной нозологии.

Полученные данные убеждают в необходимости организации специализированной помощи пациентам с экстрапирамидными расстройствами в Российской Федерации, что позволит не только изучить заболеваемость и распространенность данной патологии, но и выявить существующие проблемы и повысить точность диагностики, эффективность терапии и реабилитации больных, улучшить качество жизни.

Литература

1. Левин О.С., Докадина Л.В. Эпидемиология паркинсонизма и болезни Паркинсона. Неврологический журнал. 2005; 5: 41-49.
2. Ковальчук А.Ю., Быканова М.А., Пизова Н.В. и др. Клинико-эпидемиологические аспекты болезни Паркинсона. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2011; 12: 74-76.
3. Раздорская В.В., Воскресенская О.Н., Юдина Г.К. Болезнь Паркинсона в России: распространенность и заболеваемость. Неврология. 2016; 3: 379-384.
4. Докадина Л.В. Паркинсонизм: Клинико-эпидемиологические аспекты и состояние амбулаторной помощи на региональном уровне. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2004.
5. Раздорская В.В., Воскресенская О.Н., Юдина Г.К. Заболеваемость болезнью Паркинсона в Саратове. В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей по материалам III Национального конгресса (под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина). М.: Соверо пресс, 2014: 342.
6. Антонен Е.Г. Структура паркинсонизма в Республике Карелия. В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей по материалам I Национального конгресса (под ред. С.Н. Иллариошкина, Н.Н. Яхно). М.: Диалог, 2008: 260.
7. Маркин С.П., Маркина В.А., Чуприна С.Е. Эпидемиологические исследования распространенности паркинсонизма в Воронежском регионе. В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей по материалам I Национального конгресса (под ред. С.Н. Иллариошкина, Н.Н. Яхно). М.: Диалог, 2008: 276.
8. Похабов Д.В., Абрамов В.Г., Нестерова Ю.В. и др. Эпидемиология экстрапирамидных расстройств в Красноярском крае. В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений: Руководство для врачей по материалам II Национального конгресса (под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина). М., 2011: 10-13.
9. Раздорская В. В., Воскресенская О.Н., Юдина Г.К. Диагностическая надежность амбулаторного звена неврологической помощи пациентам с болезнью Паркинсона. Саратовский научно-медицинский журнал. 2012; 2: 513-517.
10. Жученко Т.Д., Вейн А.М., Голубев В.Л. и др. Сосудистый паркинсонизм. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 1998; 4: 62-65.
11. Левин О.С. Клинико-нейропсихологические и нейровизуализационные аспекты дифференциальной диагностики паркинсонизма. Дисс. ... докт. мед. наук. М. 2003.
12. Раздорская В. В., Юдина Г. К., Воскресенская О.Н. Статистика амбулаторных случаев болезни Паркинсона. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2012; 9: 72-76.
13. Пизова Н.В., Быканова М.А., Курапин Е.В., Ковальчук А.Ю. Паркинсонизм в Ярославской области: клинико-эпидемиологические аспекты и опыт работы специализированного кабинета. Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2011; 2: 18-23.
14. Росинская А.В. Эпидемиология экстрапирамидных заболеваний в Приморском крае. В кн.: Клинические трудности в диагностике и лечении расстройств движений: Тихоокеанская научно-практическая конференция с международным участием (Владивосток, 11-13 сентября 2015 г.). Владивосток, 2015: 13-16.
15. Сапронова М.Р, Шнайдер Н.А. Эпидемиологическая и клинико-генетическая характеристика болезни Паркинсона (на примере Железногорска). Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2014; 4: 59-64.
16. Залялова З.А., Калашникова О.С., Абдулгалимова Д.М. Паркинсонизм в Республике Татарстан по данным работы республиканского клинико-диагностического центра экстрапирамидной патологии и ботулинотерапии. Неврологический вестник. 2011; 2: 92-96.
17. Левин О.С. Как лечили болезнь Паркинсона в 2013 году. Современная терапия в психиатрии и неврологии. 2013; 3: 5-15.
18. Левин О.С., Федорова Н.В. Болезнь Паркинсона. М.: МЕДпресс-информ, 2014.
19. Обухова А.В. Современная терапия болезни Паркинсона. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2014; 3: 80-84.
20. Блохина И.А., Саютина С.Б. Проблемы диагностики и лечения болезни Паркинсона в сельской местности. В кн.: Мат. X Всероссийского съезда неврологов с международным участием (под ред. Е.И. Гусева). Н. Новгород, 2012: 3248.

Шоколад, кофе и курение: от эпидемиологии к практике

А.А. Тимофеева

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург)

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с преимущественным поражением дофаминергических нейронов подкорковых структур, проявляющееся комплексом моторных нарушений – гипокинезией в сочетании с мышечной ригидностью, тремором покоя и постуральной неустойчивостью, а также широким спектром немоторных нарушений. Высокая медицинская и социальная значимость заболевания определяется его распространенностью и неизбежностью инвалидизации пациентов. В настоящее время в мире около 10 миллионов человек страдает БП [1], после 60 лет данное заболевание встречается у каждого сотого [2], при этом из года в год наблюдается тенденция к снижению возраста пациентов с дебютом БП. Будучи вторым по распространенности нейродегенеративным заболеванием и уступая первое место в этом печальном рейтинговом списке только болезни Альцгеймера, БП занимает 14-е место среди причин смертности [1]. По данным ряда эпидемиологических исследований количество пациентов с БП в России, с учетом показателей распространенности и заболеваемости, составляет около 210 тысяч человек, $\frac{1}{4}$ из которых по результатам медико-социальной экспертизы имеют ту или иную степень инвалидизации [3].

БП в настоящее время признается мультифакториальным заболеванием, этиология которого окончательно не выяснена. Представление о том, что в большинстве случаев нейродегенеративный процесс развивается в результате совместного действия нескольких внешних факторов, которое проявляется на фоне наследственной предрасположенности организма и старения nigrostriарной системы, с большой вероятностью соответствует истинному положению дел, однако мало помогает в понимании конкретных причин развития болезни и поиске новых средств для ее лечения. В этом отношении могут быть полезны результаты эпидемиологических исследований, высвечивающих роль факторов, снижающих риск развития БП. Подтверждение существования факторов «антириска» и изучение механизма их действия может стать одним из шагов на пути создания фармакологических агентов с симптоматическим противопаркинсоническим и даже нейропротективным действием.

Потребление шоколада, представляющего собой комбинацию продуктов переработки какао с добавлением сахара или без него, связано с ощущением удовольствия, стимулирующим, антидепрессивным и одновременно релаксирующим эффектами. Данный феномен, вероятно, объясняется возможностью взаимодействия ингредиентов какао с нейротрансмиттерными системами, функционирующими с участием серотонина, дофамина, гистамина, опиоидов и β -фенилэтиламина [4, 5]. Это, а также наличие в составе какао кофеина и его производных, может являться причиной высокого потребления шоколада пациентами с БП, которое имеет место в действительности, по мнению ряда специалистов в области двигательных расстройств. Для уточнения этого факта было проведено исследование с использованием опросников самооценки, которые заполнялись пациентами с БП и проживающими с ними родственниками [5]. Анализ заполненных опросников (274 пациентов и 234 родственника) продемонстрировал достоверную разницу в потреблении шоколада: пациенты с БП потребляли шоколада в течение недели почти в два раза больше, чем их домочадцы ($100,3 \pm 105,3$ г и $57,3 \pm 78,1$ г, соответственно, $p < 0,0001$). 33,9% пациентов отмечали увеличение потребления шоколада по сравнению с периодом до болезни. При этом количество потребляемых сладостей без содержания шоколада было примерно одинаково в обеих наблюдаемых группах. Корреляционные взаимосвязи съедаемого шоколада с возрастом пациентов, выраженностью и частотой депрессии, коморбидной патологией, противопаркинсонической и сопутствующей терапией выявлены не были [5]. Полученные результаты позволили предполагать, что входящие в состав шоколада вещества – биогенные амины и производные кофеина – могут обладать противопаркинсоническим эффектом. Однако большинство биогенных аминов, за исключением β -фенилэтиламина, через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) не проникают, а концентрация их в шоколаде слишком мала для симптоматического противопаркинсонического действия. При этом результаты ряда исследований подтвердили наличие антиоксидантной и нейропротективной активности полифенолов какао [6, 7], а также снижение риска развития БП при 20–22-летнем наблюдении почти 130 тысяч человек в группе с достоверно более высоким потреблением флавоноидов растительного происхождения [8]. Таким образом, накопилось достаточное количество косвенных доводов наличия потенциальных противопаркинсонических свойств шоколада, что послужило основанием для проведения сравнительного исследования влияния темного (80% содержание какао) и белого (без содержания какао) шоколада на моторные функции пациентов с БП [9].

Было проведено плацебо-контролируемое, слепое исследование одной дозы темного шоколада с перекрестным дизайном, с использованием в качестве плацебо белого шоколада. Моторные функции оценивались по III части шкалы UPDRS через 1 и 3 часа после потребления 200 г шоколада в течение 15 мин. Пациенты имели БП – стадии II–III по шкале Хен и Яра, без моторных флуктуаций, не принимали ингибиторы MAO и КОМТ, а последний прием противопаркинсонических препаратов допускался не позднее 18 часов предыдущего дня. Через один час после «нагрузки» шоколадом наблюдалось небольшое уменьшение показателей моторной шкалы в обеих группах, которое было достоверным только в группе с потреблением темного шоколада. Однако перекрестный анализ не подтвердил наличие достоверных различий в моторном статусе между двумя группами пациентов. Аналогичные результаты были получены при обследовании через 3 часа после потребления шоколада. Таким образом, на данный момент можно утверждать, что шоколад не обладает симптоматическим противопаркинсоническим эффектом и не влияет на моторные функции при БП [9]. Однако проведенные исследования оставляют открытым вопрос о возможности существования нейропротективных свойств шоколада и оставляют поле для дальнейших

исследований, которые, возможно, помогут понять, является ли факт повышенного потребления шоколада следствием его нейропротективного действия или же тех органолептических свойств, которые необходимы таким пациентам, как пациенты с БП, с учетом имеющихся у них апатии, ангедонии и депрессии.

Не менее интригующей и актуальной является проблема взаимосвязи потребления кофеина и риска развития БП. Многочисленные эпидемиологические исследования подтверждают тот факт, что потребление кофеина ассоциировано с более низким риском развития БП [10–14]. Есть данные о пятикратном снижении риска БП при потреблении 4 и более чашек кофе в день. Причем, несмотря на имеющееся мнение о том, что данный эффект значимо более выражен у мужчин [10], в настоящее время получены новые данные, подтверждающие наличие весомой обратной корреляционной связи между потреблением кофеина и риском БП и у женщин [13]. Курение значимо не влияет на эту корреляцию у женщин, а вот заместительная гормональная терапия в постменопаузальном периоде оказывает существенное влияние на данную взаимосвязь [13]. По данным одних исследователей, потребление кофеина значимо влияет на риск развития БП только у женщин, не получающих гормональную терапию, а у получающих ее может, наоборот, повысить риск развития болезни [15]. Однако по данным другого исследования [13], высокое потребление кофеина снижает риск развития БП только в группе пациенток, находящихся на заместительной эстрогенной терапии. Причина противоречивости данных может быть связана с различиями длительности, возраста начала и состава гормонального курса. В любом случае, не вызывает сомнений сам факт наличия взаимосвязи потребления кофеина и риска БП у женщин.

Причины очевидной взаимосвязи между кофеином и риском БП не вполне ясны. Наиболее «желанной» для медицинского сообщества и пациентов причиной, объясняющей этот факт, было бы нейропротективное действие кофеина, которое было доказано в ряде экспериментальных работ на животных с токсической моделью паркинсонизма [16, 17] и связано с блокадой A2a аденозиновых рецепторов. Однако в настоящее время мы не располагаем достоверными данными, подтверждающими нейропротективное действие кофеина у человека. Данное направление требует дальнейшего изучения как в лабораторных условиях, так и с использованием клинических исследований со специальным дизайном с отложенным началом, поскольку надежда на нейропротективный эффект блокаторов A2a аденозиновых рецепторов при БП по-прежнему существует.

Обсуждая корреляции между потреблением кофеина и риском БП, необходимо помнить о возможности обратной причинно-следственной связи. Пациенты могут снизить потребление кофе за несколько лет до начала симптомов заболевания на фоне многолетнего постепенного развития нейродегенеративного процесса, сопровождающегося появлением преморбидных черт личности, характерных для БП – они могут проявляться в том числе и снижением или отсутствием желания потребления кофе [12]. Кроме того, люди склонны к снижению потребления кофе или отказу от него из-за ряда нежелательных симптомов (тревоги, беспокойства, дискинезии желудочно-кишечного тракта), которые, являясь немоторными симптомами БП, могут развиваться на самых ранних или премоторных стадиях болезни и не быть напрямую связаны с приемом кофеина.

Активно обсуждается вопрос о сочетанном воздействии потребления кофеина и курения. Дело в том, что потребление кофеина имеет сильную корреляционную связь с курением [10, 18]. Среди лиц, потребляющих много кофе, курильщиков значимо больше, чем в группах с меньшим потреблением кофеина, и если они курят, то курят больше. Но оказалось, что статистическая поправка на курение существенно не влияет на показатели корреляции потребления кофеина и риска БП [13]. Тем не менее, взаимосвязь потребления кофеина и риска БП наиболее сильна у некурящих, а на риск развития БП у длительно курящих пациентов мало влияет потребление кофеина, поскольку обратная корреляционная связь с длительностью курения является наиболее сильной. В группах с различным потреблением кофеина наименьший риск БП имеют курящие пациенты [13]. Стоит отметить, что курение ускоряет метаболизм и выведение кофеина, и уровень его у курящих в 2–3 раза ниже, чем у некурящих при одинаковом потреблении кофе [19]. В одном из исследований было показано достоверное значимое снижение риска БП в группе курильщиков с высоким потреблением кофе только по сравнению с теми, кто никогда не курил и потреблял мало кофе [18]. Таким образом, кофеин является независимым фактором развития БП, но уступает курению по силе влияния на риск развития БП.

Вероятно, роль кофеина в качестве фактора, снижающего риск развития БП, может отличаться в группах пациентов с разными подтипами БП. Например, сильные корреляционные связи выявлены у пациентов с БП, являющихся носителями мутации гена *LRRK2* [20]. Кроме того, если БП развивается у тех, кто потребляет много кофе, то чаще заболевание характеризуется более поздним началом и тяжелым течением. Возможно, роль кофеина более значима в предотвращении БП с ранним началом, или же, наоборот, позднее развитие и более тяжелое течение БП связано с длительным воздействием защитных факторов и субклиническим течением болезни с последующей ее декомпенсацией на более выраженной стадии нейродегенеративного процесса.

До недавнего времени открытым оставался вопрос о возможном симптоматическом противопаркинсоническом эффекте кофеина. Положительное разрешение данного вопроса могло бы стать одним из объяснений взаимосвязи кофеина и БП, а также добавило бы еще один препарат в арсенал средств для лечения БП, который, несмотря на увеличивающееся количество противопаркинсонических лекарств, по-прежнему не является совершенным. Проведенное в 2012 году рандомизированное плацебоконтролируемое исследование [21] 61 пациента с БП, получавших 200 мг кофеина в день или плацебо в течение 3 недель и 400 мг кофеина или плацебо еще в течение последующих трех недель, продемонстрировало достоверное улучшение моторного статуса пациентов по данным шкалы UPDRS, получавших кофеин, к концу 3-й и 6-й недель. Достоверной ($p < 0,05$ по сравнению с группой плацебо) была динамика баллов III части шкалы UPDRS: –2,96 балла к концу 3-й недели и –3,15 баллов к концу 6-й недели, а также снижение общего балла шкалы на 4,69 к концу 6-й недели. При этом уменьшение дневной сонливости было выявлено только по данным опросника общего клинического впечатления и не под-

тверждалось результатами шкалы сонливости Эпворта. Также отсутствовала динамика других немоторных расстройств. Однако короткий период наблюдения заставил исследователей продолжить изучение этого вопроса.

В 2016 году завершилось 6-месячное исследование пациентов с близким дизайном, результаты которого были доложены в октябре 2016 года на 11-м Международном конгрессе по немоторным симптомам БП. К концу 6-го месяца не были обнаружены какие-либо достоверные различия динамики моторных функций между группами, получавшими кофеин и плацебо. Таким образом, на сегодняшний день следует считать, что достоверные данные об эффективности кофеина в отношении моторных симптомов БП отсутствуют.

Если роль кофеина как фактора, снижающего риск развития БП, подтверждена многочисленными серьезными эпидемиологическими исследованиями, то причины, лежащие в основе этого феномена, требуют дальнейшего изучения. В большей мере это касается возможного нейропротективного эффекта кофеина и его аналогов, который пока столь же привлекателен в лечении пациентов с БП, сколь и недостижим.

Более пятидесяти эпидемиологических исследований подтверждают тот факт, что курение снижает риск развития БП [14]. Хорошо известно, что самый низкий риск развития БП имеют курящие лица, самый высокий – те, кто никогда не курил, промежуточные позиции занимают лица, бросившие курить. Однако, современные данные свидетельствуют о том, что очень высокий риск заболеть БП имеется у тех, кто бросил курить с легкостью [22, 23], конкурируя с риском развития болезни у никогда ранее не куривших. Длительность курения имеет большее значение в снижении риска заболевания, чем его интенсивность (количество выкуриваемых сигарет в день) [24]. Факт наличия сильной обратной корреляционной связи между курением и риском развития БП можно считать неоспоримым, однако полемика по поводу направленности причинно-следственной связи в отношении данного факта продолжается до сих пор: курение ли приводит к снижению риска заболеть БП или премоторная стадия нейродегенеративного процесса сопровождается снижением потребности в курении? Этот вопрос является важным не только с теоретической, но и с практической точки зрения. Если курение является фактором «антириска» БП, то изучение воздействия никотина на нервную систему является одной из ступеней на пути поиска новых противопаркинсонических препаратов, в том числе и с нейропротективными свойствами.

В 1986 году появились результаты двух эпидемиологических исследований с диаметрально противоположными результатами: согласно одному из них, курение является фактором, достоверно снижающим риск развития БП [25], согласно другому [26] – доказательства этого факта отсутствовали. Причем результаты первого исследования уже тогда подкреплялись данными о наличии дофаминергического воздействия никотина на головной мозг, полученными на токсических моделях паркинсонизма у животных. Недавно появились данные о том, что среди бросивших курить самый низкий риск заболеть БП имеется у тех, кто смог отказаться от курения с большим трудом и использовал с этой целью никотиновый пластырь, и наоборот – самый высокий риск заболевания был у тех, кто с легкостью отказался от этой привычки. Авторы рассматривают данный факт как доказательство того, что способность легко отказаться от курения, особенно без использования никотинового пластыря, является ранней немоторной чертой БП наряду с нарушением обоняния, запорами и расстройствами сна в фазе с быстрыми движениями глаз [22, 23]. По мнению других авторов, снижение риска БП на фоне курения опосредовано динамикой психических функций и особенностей человека: повышенная нервозность увеличивает риск заболеть БП, а уменьшение нервозности вследствие курения может снизить и риск развития данной болезни. Аналогичные результаты получены и в отношении интраверсных черт личности, которые также имеют корреляционную связь с БП, хотя и более слабую, и также ассоциированы с курением.

Несмотря на продолжающиеся исследования взаимосвязей курения и риска БП, известные на сегодняшний день молекулярные механизмы воздействия никотина на нейроны являются очень весомым доказательством того, что курение – отправной пункт в причинно-следственных взаимосвязях привычки к табакокурению и риска развития БП. Никотин взаимодействует с определенными подтипами н-холинорецепторов, облегчая высвобождение дофамина. Нейропротективный эффект никотина, вероятно, осуществляется через стимуляцию никотиновых ацетилхолиновых рецепторов и непосредственно через влияние на опосредованные белками процессы в дофаминергических нейронах с задействованием механизмов «Outside-in» и «Inside-out», причем последний с большой вероятностью является более весомым [27].

Описанные выше данные являются результатами экспериментальных исследований и требуют проведения клинических испытаний. В организм человека никотин может вводиться с использованием пластыря, жевательных резинок, ингаляций, электронных сигарет с никотином (все это делается для устранения вредного действия самого курения). В настоящее время идет испытание модифицирующего воздействия на БП трансдермального никотинового пластыря путем проведения рандомизированного двойного слепого плацебоконтролируемого мультицентрового исследования (США, Германия) [28]. Постепенная титрация препарата в течение 16 недель до максимального хорошо переносимого уровня, но не превышающего 28 мг в сутки, сменяется 36-недельным периодом лечения и 8-недельным отмывочным периодом, на протяжении исследования будет происходить оценка состояния симптомов паркинсонизма, и прежде всего моторных симптомов. Результаты этого исследования, с нетерпением ожидаемые неврологами и пациентами, возможно, помогут в поиске новых путей лечения пациентов с БП и позволят более определенно ответить на вопрос о роли никотина в развитии БП.

Исследования эпидемиологических аспектов БП, отдельные фрагменты которых часто попадают в общедоступную прессу преждевременно, должны сопровождаться разъяснительной работой среди населения, пациентов и их родственников для правильного понимания места и значимости того или иного фактора риска БП. Позитивная роль курения и потребления кофе в отношении риска развития БП не является основанием для руководства к действию и обременению человека вредными привычками. Она может стать отправным пунктом в поиске новых направлений лечения БП, в том числе связанных с нейропротективным, модифицирующим течение болезни действием.

Литература

1. National Parkinson Foundation. <http://www.parkinson.org/>
2. <https://www.michaeljfox.org/>
3. Тимофеева А.А., Белозерцева И.И. Вопросы медико-социальной экспертизы при болезни Паркинсона. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2016; 9: 93-97.
4. Ashihara H., Sano H., Crozier A. Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*. 2008; 69: 841–885.
5. Wolz M., Kaminsky A., Löhle M. et al. Chocolate consumption is increased in Parkinson's disease. Results from a self-questionnaire study. *J. Neurol.* 2009; 256: 488–492.
6. Brickman A.M., Khan U.A., Provenzano F.A. et al. Enhancing dentate gyrus function with dietary flavanols improves cognition in older adults. *Nat. Neurosci.* 2014; 17: 1798–1803.
7. Sandoval-Acuna C., Ferreira J., Speisky H. Polyphenols and mitochondria: an update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014; 559: 75-90.
8. Gao X., Cassidy A., Schwarzschild M.A. et al. Habitual intake of dietary flavonoids and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2012; 78: 1138-1145.
9. Wolz M., Schleiffer C., Klingelho L. et al. Comparison of chocolate to cacao-free white chocolate in Parkinson's disease: a single-dose, investigator-blinded, placebo-controlled, crossover trial. *J. Neurol.* 2012; 259: 2447–2451.
10. Ascherio A., Zhang SM, Hernan MA et al. Prospective study of caffeine consumption and risk of Parkinson's disease in men and women. *Ann. Neurol.* 2001; 50: 56–63.
11. Hu G., Bidel S., Jousilahti P. et al. Coffee and tea consumption and the risk of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2007; 22: 2242–2248.
12. Ross G.W., Abbott R.D., Petrovitch H. et al. Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. *JAMA* 2000; 283: 2674–2679.
13. Liu R., Guo X., Park Y. et al. Caffeine Intake, smoking and risk of Parkinson Disease in men and women. *Am. J. Epidemiol.* 2012; 175: 1200–1207.
14. Hernan M.A., Takkouche B., Caamano-Isorna F. et al. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2002; 52: 276–284.
15. Ascherio A., Chen H., Schwarzschild M.A. et al. Caffeine, postmenopausal estrogen, and risk of Parkinson's disease. *Neurology*. 2003; 60: 790–795.
16. Schwarzschild M.A., Chen J.-F., Ascherio A. Caffeinated clues and the promise of adenosine A2A antagonists in PD. *Neurology*. 2002; 58: 1154-1160.
17. Chen J.-F., Xu K., Petzer J.P. et al. Neuroprotection by caffeine and A 2A adenosine receptor inactivation in a model of Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 2001; 21: 1-6.
18. Powers K.M., Kay D.M., Factor S.A. et al. Combined effects of smoking, coffee, and NSAIDs on Parkinson's disease risk. *Mov. Disord.* 2008; 23: 88–95.
19. de Leon J., Diaz F.J., Rogers T. et al. A pilot study of plasma caffeine concentrations in a US sample of smoker and nonsmoker volunteers. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2003; 27: 165–171.
20. Sokol L., Young M.J., Espay A.J., Postuma R.B. Cautionary optimism: caffeine and Parkinson's disease risk. *J. Clin. Mov. Disord.* 2016; 3: 7.
21. Postuma R.B., Lang A.E., Munhoz R.P. et al. Caffeine for treatment of Parkinson disease: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2012; 79: 651-658.
22. Moccia M., Erro R., Picillo M. et al. Quitting smoking: An early non-motor feature of Parkinson's disease? *Parkinsonism Relat. Disord.* 2015; 21: 216-220.
23. Ritz B., Lee P.-C., Lassen C.F. et al. Parkinson disease and smoking revisited: Ease of quitting is an early sign of disease. *Neurology*. 2014; 83: 1396-1402.
24. Chen H., Huang X., Guo X. et al. Smoking duration, intensity, and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2010; 74: 878-884.
25. Baron J.A. Cigarette smoking and Parkinson's disease. *Neurology*. 1986; 36: 141-149.
26. Golbe L.I., Cody R.A., Duvoisin R.C. Smoking and Parkinson's disease: search for a dose-response relationship. *Arch. Neurol.* 1986; 43: 774-778.
27. Srinivasan R., Henley B.M., Henderson B.J. et al. Smoking-relevant nicotine concentration attenuates the unfolded protein response in dopaminergic neurons. *J. Neurosci.* 2016; 36: 65–79.
28. Oertel W., Schulz J.B. Current and experimental treatments of Parkinson disease: a guide for neuroscientists. *J. Neurochem.* 2016. 10.1111/jnc.13750.

Продромальная стадия болезни Паркинсона: критерии MDS в российском исследовании ПАРКИНЛАР

Е.Ю. Федотова¹, А.О. Четкин¹, Н.Ю. Абрамычева¹, Л.А. Чигалейчик¹,
П.А. Федин¹, Н.В. Польшкина¹, М.А. Кравченко¹, М.Р. Нодель², С.Н. Иллариошкин¹

¹Научный центр неврологии;

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Москва)

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание с длительной латентной стадией. Считается, что нейродегенеративный процесс при БП затрагивает различные структуры головного мозга и вовлекает периферическую нервную систему, обуславливая тем самым развитие характерных моторных и немоторных проявлений. При этом ряд немоторных проявлений заболевания может определяться за 10–20 лет до начала классических моторных симптомов. С учетом такой длительной латентной стадии представляется, что потенциальные нейропротективные (нозомодифицирующие) вмешательства, направленные на предотвращение или замедление развития БП, будут наиболее эффективны на самых ранних стадиях нейродегенеративного процесса, в идеале – до проявления каких-либо клинических симптомов.

В последние годы большое внимание уделяется изучению стадийности заболевания. В различных работах намечается тенденция к унификации терминологии при описании стадийности БП: так, из множества названий – «дофизиологическая», «преклиническая», «премоторная», «латентная», «продромальная», «додиагностическая» стадия, которые акцентируют внимание на разных аспектах БП, предпочтение отдается двум терминам – «преклиническая» и «продромальная» [14, 22]. *Прекиническая* стадия БП характеризуется асимптомным носительством генетических/нейровизуализационных маркеров заболевания, без каких-либо клинических проявлений. На *продромальной* стадии могут присутствовать различные симптомы, в том числе немоторные и отдельные незначительные моторные, которые, однако, недостаточны для постановки диагноза БП.

Концепция «продромальной стадии» получила свое оформление в 2015 году в виде «исследовательских критериев продромальной стадии БП», официально принятых MDS (International Parkinson and Movement Disorder Society – Международное общество по болезни Паркинсона и расстройствам движения) [5]. Последние были опубликованы параллельно новым «клиническим диагностическим критериям БП», которые несколько отличаются от повсеместно используемых критериев «Parkinson's Disease Society Brain Bank» [18].

Продромальная стадия БП, согласно данным критериям, может быть поставлена по интегральному наличию или отсутствию факторов риска и продромальных маркеров у обследуемого пациента. В предложенной модели к факторам риска/протективным факторам относятся, например, пол, воздействие пестицидов/растворителей, употребление кофеина, курение, отягощенный семейный анамнез, носительство мутации, гиперэхогенность черной субстанции, – то есть те факторы, которые влияют на предрасположенность к БП, но не отражают, как считается, самого процесса развития нейродегенеративной патологии. К продромальным же маркерам могут быть отнесены нарушения поведения в REM-фазу сна, дофаминовый дефицит по ПЭТ/ОФЭКТ, двигательные признаки паркинсонизма, гипосмия, констипация, дневная сонливость, симптоматическая гипотензия, эректильная дисфункция, депрессия, тревога, – то есть те, которые появляются по мере развития нейродегенеративного процесса.

Расчет вероятности продромальной стадии для конкретного индивида проводится по вероятностному классификатору, основанному на применении теоремы Байеса. В расчетах за основу берется распространенность БП по возрастам (предтестовая вероятность), на которую накладывается произведение отношений правдоподобия (LR, *likelihood ratio*) положительных/отрицательных результатов для каждого фактора риска и продромального маркера. В результате расчета получается определенный процент вероятности продромальной стадии – развития заболевания в ближайшие 10 лет (пост-тестовая вероятность).

Предложенный подход к диагностике продромальной стадии был валидизирован в нескольких исследованиях. В первом из них, в выборке из 488 человек при 5-летнем наблюдении заболели БП 11 наблюдавшихся [13]. В этом исследовании ретроспективно оценивалось 7 факторов риска и 9 продромальных маркеров. Оказалось, что чувствительность метода определения продромальной стадии составила 55% и специфичность 99%, что говорит о перспективности данного метода для будущих клинических исследований по превентивным подходам. В двух других исследованиях метод также показал высокую специфичность и небольшую чувствительность [16]. В исследовании PIRPS приняли участие 715 обследуемых, и за 5-летний период наблюдения было зарегистрировано 7 заболевших БП, при этом исследовались 4 фактора риска и 4 продромальных маркера. В исследовании TREND из 650 заболело 10 пациентов за 6-летний период, исследовались 4 фактора риска и 8 продромальных маркеров. Важно отметить, что у заболевших пациентов индивидуальный процент вероятности продромальной стадии БП был обратно пропорционален времени до конверсии в моторную стадию заболевания, что говорит о постепенном увеличении вероятности по мере приближения классических двигательных проявлений заболевания.

В России также была начата работа по диагностике лиц на продромальной стадии БП. Предварительные результаты данного проспективного исследования были опубликованы в 2015 году [1]. В отличие от приведенных исследований, оценка факторов риска и поиск продромальных маркеров проводятся нами в «обогащенной» выборке (группе риска), в которую входят носители мутаций «паркинсонических» генов и носители гиперэхогенности черной субстанции. Для этого

на первом этапе работы проводится популяционный скрининг на носительство гиперэхогенности черной субстанции и ДНК-диагностика среди асимптомных родственников пациентов с БП. На втором этапе в «обогащенной» выборке проводится оценка факторов риска и продромальных маркеров. После обобщения первых результатов список факторов риска и продромальных маркеров был скорректирован. На настоящий момент у каждого обследуемого оцениваются 7 факторов риска: пол, воздействие пестицидов/растворителей, курение, употребление кофе, гиперэхогенность черной субстанции по транскраниальной сонографии, отягощенность семейного анамнеза/носительство мутации в генах *GBA*, *LRRK2*, *PARK2* [2]. На втором этапе оцениваются 5 продромальных маркеров: гипосмия с помощью Sniffin' Sticks теста, нарушения поведения в REM-фазу сна по опросникам RBDSQ/RBD1Q и при необходимости – по полисомнографии, депрессия по шкале Бека, констипация в рамках опросника немоторных нарушений БП, моторные проявления по UPDRS. Кроме того, оцениваются диагностические возможности трех методов исследования, которые хорошо зарекомендовали себя в выявлении характерных для БП биомаркеров на моторной стадии заболевания, но пока не включены в расчет вероятности продромальной стадии: саккадометрия, цветовые зрительные вызванные потенциалы и оптическая когерентная томография.

Пре-тестовая вероятность и отношения правдоподобия для факторов риска/продромальных маркеров, используемые в работе, оцениваются так же, как рекомендовано в исследовательских критериях продромальной стадии БП (табл. 1 и 2, соответственно). Расчет пост-тестовой вероятности проводится с помощью онлайн-калькуляторов (например, <http://www.sample-size.net/post-probability-calculator-test-new/>). Продромальная стадия считается «вероятной» при превышении 80%, и «возможной» – при значении >50%. Учитывая невысокую чувствительность метода, в валидизированных исследованиях предпочтение отдавалось 50%-ному разграничительному уровню.

Таблица 1. Пре-тестовая вероятность продромальной стадии БП в разных возрастных группах.
Возраст Пре-тестовая вероятность (%)

Возраст	Пре-тестовая вероятность (%)
<50	0,25
50–54	0,4
55–59	0,75
60–64	1,25
65–69	2,0
70–74	2,5
75–79	3,5
≥80	4,0

Адаптировано из Berg et al., 2015 [5].

Таблица 2. Отношения правдоподобия для факторов риска и продромальных маркеров.

Факторы риска:	LR+	LR–
Гиперэхогенность черной субстанции	4,7	0,45
Носительство мутации:		
- мутация G2019S в гене <i>LRRK2</i>	25	–
- мутация N370S в гене <i>GBA</i>	2	–
- мутация L444P в гене <i>GBA</i>	10	
Отягощенный семейный анамнез:		
- сибс с началом БП до 50 лет	7,5	–
- родственник первой степени родства с БП	2,5	
Пол	1,2 (м)	0,8 (ж)
Воздействие пестицидов/растворителей	1,5	–
Не-употребление кофе	1,35	0,88
Курение:		
- в настоящее время	–	0,45
- никогда ранее	1,25	–
- в прошлом	–	0,8
Продромальные маркеры:	LR+	LR-
Нарушения поведения в REM-фазу сна:		
- по полисомнографии	130	0,62
- по опроснику	2,3	0,76
Гипосмия	4,0	0,43

Депрессия	1,8	0,85
Констипация	2,2	0,8
Минимальные моторные нарушения	10	0,7

Примечания: LR+ означает отношение правдоподобия положительного результата, LR- означает отношение правдоподобия отрицательного результата; цветом выделены факторы риска, взятые за основу для формирования группы риска в исследовании ПАРКИНЛАР. *Адаптировано из Berg et al., 2015 [5].*

В рамках исследования ПАРКИНЛАР по новым критериям MDS был обследован 21 пациент из числа группы риска, для каждого была подсчитана вероятность продромальной стадии БП. Из них 11 были обследованы повторно, после более чем 5-летнего промежутка от первого обследования. В группу вошли 5 пациентов из числа асимптомных родственников больных с БП и с носительством мутации и 16 пациентов с гиперэхогенностью черной субстанции, в качестве первичного фактора риска. Средний возраст составил 52 ± 13 лет, мужчин/женщин – 13/8 (62%/38%). Воздействие пестицидов/растворителей отмечали 3 пациента (14%), редкое употребление кофе – 8 (38%), не курили – 12 (57%). Отягощенный семейный анамнез по БП был у 7 (33%), носительство мутаций, ассоциированных с БП – у 5 (24%), гиперэхогенность черной субстанции – у 18 (86%). Нарушения поведения в REM-фазу сна выявлены у 6 (29%) пациентов по опроснику и у одного подтверждены при полисомнографии, гипосмия выявлена у 6 (29%), депрессия – у 9 (42%), констипация – у 2 (10%), незначительные моторные проявления в виде асимметричной гипокинезии, легкого и непостоянного одностороннего тремора в одной руке – у 8 (38%).

Распределение значений вероятности продромальной стадии БП представлено на рисунке. Возможная продромальная стадия определена у троих обследованных (14%), вероятная – у одного (5%).

Пациент с вероятной продромальной стадией БП, 63 лет, впервые был обследован в 56 лет (7 лет назад), и был включен в группу риска ПАРКИНЛАР по наличию гиперэхогенности черной субстанции. Из факторов риска и продромальных маркеров: легкая депрессия, нарушения поведения в REM-фазу сна (подтвержденные полисомнографией), незначительный и непостоянный тремор покоя в правой руке при повторном обследовании, который при первом осмотре не выявлялся. По саккадометрии у данного больного выявлены увеличение латентного периода саккад с двух сторон и мультисаккадность. По цветовым зрительным вызванным потенциалам – увеличение латентности пиков P100 практически на все виды цветовых паттернов, особенно на сине-черный и сине-желтый, которые были менее выражены при первом осмотре. По оптической когерентной томографии – без особенностей. Расчет вероятности продромальной стадии у данного пациента:

- Пре-тестовая вероятность = 1,25.
- $LR = 4,7$ (гиперэхогенность черной субстанции) * 1,2 (пол) * 0,88 (кофе) * 0,45 (курение) * 130 (нарушения поведения в REM-фазе сна по полисомнографии) * 0,43 (гипосмия) * 1,8 (депрессия) * 0,8 (констипация) * 10 (моторные нарушения) = 1798.
- Пост-тестовая вероятность = 96%.

Стоит отметить, что из 11 пациентов, обследованных повторно и оцененных по критериям MDS, только у данного пациента с высокой вероятностью продромальной стадии было отмечено появление умеренной паркинсонической симптоматики (*mild parkinsonian signs*), которой не было на первом осмотре. Без учета моторных проявлений вероятность продромальной стадии у этого пациента также остается высокой – 70%. Таким образом, появление моторных симптомов соотносится с высокой вероятностью продромальной стадии, выявленной по критериям MDS, что говорит о хороших прогностических возможностях данного подхода.

В этом году появились также работы, исследующие группы риска («обогащенные» выборки). В исследовании пациентов с нарушениями поведения в REM-фазу сна у 74% отмечалась вероятная продромальная стадия БП, тогда как в контрольной группе только у 0,3% [4]. В другом исследовании при 4-летнем наблюдении пациентов с REM-нарушениями и 40%-ной конверсией в БП чувствительность и специфичность критериев MDS составила 81% и 68%, соответственно [9]. Еще в одной группе риска – среди лиц, прошедших колоноскопию – вероятная продромальная стадия БП встречалась в 5%, возможная – в 3% [21].

Одним из ключевых факторов успешности критериев, предложенных MDS, является обоснованный выбор продромальных маркеров. Из них гипосмия, нарушения поведения в REM-фазу сна, констипация, депрессия, минимальные моторные проявления являются наиболее изученными и патофизиологически обоснованными, именно они были выбраны для исследования ПАРКИНЛАР.

Известно, что гипосмия отмечается у более 80% пациентов с БП, до диагноза – примерно в трети случаев [7]. Данный продромальный маркер определяется за 5–10 лет до развития моторных проявлений (по некоторым данным несколько меньше – за 4 года) [14, 20]. Несмотря на хорошую прогностическую значимость маркера, специфичность гипосмии невысока, так как она может предшествовать не только БП и деменции с тельцами Леви, но и болезни Альцгеймера. В нашей выборке группы риска гипосмия встречалась в 29% случаев.

Несколькими исследованиями было показано, что до 80% пациентов с нарушениями поведения в REM-фазу сна, подтвержденными полисомнографией, заболевают различными вариантами синуклеинопатий: БП, деменцией с тельцами Леви, мульти-системной атрофией. В среднем период от начала нарушений поведения в REM-фазу до БП составляет около 13 лет (в некоторых случаях более 20–25 лет). В общей популяции встречаемость REM-нарушений мала и составляет 1–1,5%. При очень высокой специфичности данного маркера чувствительность его для диагностики продромальной стадии БП не столь высока, так как только у трети/половины больных с ранней стадией БП выявляются REM-нарушения [17]. В выборке российского исследования встречаемость данного маркера составила 29%. Подтверждением значимости REM-нарушений для диагностики продромальной стадии БП явился приведенный случай с появлением легких двигательных нарушений через 7 лет от начала наблюдения.

Констипация отмечается у 28–61% пациентов с диагнозом БП, а до диагноза – у 20%. В среднем от начала данных вегетативных нарушений до развития моторных проявлений БП проходит около 12 лет, а по некоторым данным более 20 лет [3, 7]. Однако специфичность данного маркера не столь высока, что объясняется множеством других причин развития констипации с возрастом [14]. В группе риска ПАРКИНЛАР отмечена невысокая частота встречаемости констипации – 10%; возможно, процент занижен по причине того, что сведения по этому маркеру собирались не отдельным вопросом, а в рамках опросника немоторных симптомов БП (NMSQ). С учетом полученных результатов дизайн российского исследования будет дополнен.

Депрессия среди пациентов с БП отмечается как до, так и после диагноза БП примерно у четверти больных. Период от признаков депрессии до диагноза БП различается в нескольких исследованиях: от 3 лет до 15–25 лет. Депрессии часто сопутствует тревога, которая тоже может быть использована в качестве продромального маркера [8]. В нашем исследовании депрессия в группе риска встречалась в достаточно большом проценте случаев – 42%.

Моторные проявления БП также начинаются исподволь. За несколько лет до диагноза у больных могут отмечаться легкий ахейрокинез, изменения походки, скованность, тремор, гипокинезия [12]. Однако в целом умеренная паркинсоническая симптоматика (*mild parkinsonian signs*) встречается в возрастной популяции достаточно часто – у 40% пожилых лиц [11]. При этом показано, что данная симптоматика ассоциирована с риском развития БП. Так в исследовании лиц с нарушением поведения в REM-фазу сна паркинсоническая симптоматика предшествовала диагнозу БП за 6–9 лет [19], паркинсонические знаки также встречались у асимптомных носителей мутаций LRRK2 [15]. До настоящего времени не установлены наиболее оптимальные методы оценки, а также границы между нормой и значимыми минимальными паркинсоническими симптомами. В исследованной выборке ПАРКИНЛАР частота умеренной паркинсонической симптоматики составила 38% – возможно, данный процент завышен и следует поднять разграничительный балл по UPDRS до более строгих 3 или 6 баллов.

Постепенное появление перечисленных продромальных маркеров укладывается в гипотезу Н. Braak, по которой нейродегенеративный процесс постепенно и закономерно проходит 6 стадий [6]. На первой стадии патологический процесс затрагивает дорсальное двигательное ядро IX/X нервов и обонятельные луковицы, что объясняет констипацию и гипосмию. На второй стадии поражение голубоватого пятна, ядра шва и ретикулярного гигантоклеточного ядра объясняет депрессию и нарушения REM-фазы сна. На третьей стадии при вовлечении в нейродегенеративный процесс нейронов черной субстанции появляются моторные симптомы. На четвертой стадии присоединяется темпоральный мезокортекс и аллокортекс, на пятой и шестой – затрагиваются сенсорные области и префронтальные и премоторные отделы неокортекса, что может в конечном итоге приводить к когнитивному снижению и деменции.

В последние годы наблюдается значительный прогресс в понимании БП. Иницирован ряд больших исследований для подробного изучения продромальной стадии заболевания. Несмотря на это, остается открытым множество вопросов: временные характеристики появления и прогрессирования продромальных маркеров; их взаимоотношения; проблема экстраполяции эффектов продромальных маркеров на общую популяцию; соотношение гетерогенности БП с маркерами и т.д. [10]. В 2015 году был сделан большой шаг вперед к индивидуальной количественной оценке вероятности продромальной стадии в виде опубликованных исследовательских критериев диагностики продромальной стадии БП, разработанных под эгидой MDS. В рамках российского исследования ПАРКИНЛАР представленными результатами подтверждена диагностическая значимость критериев, которая требует дальнейшего уточнения в проспективных исследованиях.

Литература

1. Федотова Е.Ю., Четчин А.О., Абрамычева Н.Ю. и др. Идентификация лиц латентной стадии болезни Паркинсона (исследование ПАРКИНЛАР): первые результаты, оптимизация алгоритма. Журнал неврологии и психиатрии им. И.М. Корсакова. 2015; 115: 4-11.
2. Шадрин М.И., Иллариошкин С.Н., Багыева Г.Х. и др. PARK8-форма болезни Паркинсона: мутационный анализ гена LRRK2 в российской популяции. Журн. неврол. и психиатрии им. С.С.Корсакова 2007; 3: 46–50.
3. Abbott R.D., Petrovitch H., White L.R. et al. Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease. *Neurology*. 2001; 57: 456–462.
4. Barber T.R., Lawton M., Rolinski M. et al. Prodromal parkinsonism and neurodegenerative risk stratification in REM sleep behavior disorder. *Sleep*. 2017; doi: 10.1093/sleep/zsx071.
5. Berg D., Postuma R.B., Adler C.H. et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2015; 30: 1600-1609.
6. Braak H., Del Tredici K., Rueb U. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003; 24: 197-211.
7. Chen H., Zhao E.J., Zhang W. et al. Meta-analyses on prevalence of selected Parkinson's non-motor symptoms before and after diagnosis. *Transl. Neurodegen.* 2015; 4: 1–8.
8. Elbaz A. Prodromal symptoms of Parkinson's disease: Implications for epidemiological studies of disease etiology. *Rev. Neurol. (Paris)*. 2016; 172: 503-511.
9. Fereshtehnejad S.-M., Montplaisir J.Y., Pelletier A. et al. Validation of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease: Longitudinal assessment in a REM sleep behavior disorder (RBD) cohort. *Mov. Disord.* 2017; 32: 865-873.
10. Heinzel S., Roeben B., Ben-Shlomo Y. et al. Prodromal markers in Parkinson's disease: Limitations in longitudinal studies and lessons learned. *Front. Aging Neurosci.* 2016; 8: 147.
11. Louis E.D., Bennett D.A. Mild Parkinsonian signs: An overview of an emerging concept. *Mov. Disord.* 2007; 22: 1681-1688.
12. Maetzler W., Hausdorff J.M. Motor signs in the prodromal phase of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2012; 27: 627-633.
13. Mahlknecht P., Gasperi A., Willeit P. et al. Prodromal Parkinson's disease as defined per MDS research criteria in the general elderly community. *Mov. Disord.* 2016; 31: 1405-1408.
14. Mahlknecht P., Seppi K., Poewe W. The concept of prodromal Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis.* 2015; 5: 681-697.
15. Mirelman A., Gurevich T., Giladi N. et al. Gait alterations in healthy carriers of the LRRK2 G2019S mutation. *Ann. Neurol.* 2011; 69: 193–197.
16. Pilotto A., Heinzel S., Suenkel U. et al. Application of the Movement Disorder Society prodromal Parkinson's disease research criteria in 2 independent prospective cohorts. *Mov. Disord.* 2017; DOI: 10.1002/mds.27035.
17. Postuma R.B., Berg D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2016; 12: 622-634.
18. Postuma R.B., Berg D., Stern M. et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2015; 30: 1591-1601.
19. Postuma R.B., Lang A.E., Gagnon J.F. et al. How does parkinsonism start? Prodromal parkinsonism motor changes in idiopathic REM sleep behaviour disorder. *Brain*. 2012; 135: 1860-1870.
20. Ross G.W., Petrovitch H., Abbott R.D. et al. Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2008; 63: 167–173.
21. Skorvanek M., Ladomirjakova Z., Han V. et al. Prevalence of prodromal Parkinson's disease as defined by MDS research criteria among elderly patients undergoing colonoscopy. *J. Parkinsons Dis.* 2017; doi: 10.3233/JPD-161036
22. Stern M.B., Lang A., Poewe W. Toward a redefinition of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2012; 27: 54-60.

Нейрофизиологические маркеры риска первичного паркинсонизма в ранней и латентной стадии нейродегенеративного процесса

Л.А. Чигалейчик, Е.Л. Тесленко, Е.В. Дамьянович, А.В. Карабанов, В.В. Полещук, Е.Ю. Федотова

Научный центр неврологии (Москва)

В последние десятилетия наблюдается рост числа пациентов с болезнью Паркинсона (БП) – второго по распространенности нейродегенеративному заболеванию в мире. При БП клинические признаки проявляются значительно позже начала развития органических изменений головного мозга: считается, что для манифестации симптоматики необходима гибель определенного пула (60–70%) дофаминсинтезирующих нейронов черной субстанции [1]. До этого критического момента существует длительная латентная стадия заболевания, которая может проявляться совокупностью премоторных симптомов: сенсорных (снижение обоняния, нарушение цветового зрения, болевой синдром), вегетативных (констипация, эректильная дисфункция, симпатическая денервация миокарда и др.), нервно-психических (нарушение поведения в фазе быстрого сна, депрессия) [2].

Большинство этих немоторных проявлений БП развивается за 6–8 лет до начала двигательных клинических проявлений заболевания. В этот период существует важное «терапевтическое окно» для применения патогенетической нейропротекторной терапии, позволяющей стабилизировать или отсрочить развитие патологических процессов при БП. Для решения задачи максимально ранней диагностики БП (оптимально – в доклинической фазе заболевания) предлагается применять различные биомаркеры – молекулярно-генетические, биохимические, нейровизуализационные, а также нейрофизиологические. Интерес к нейрофизиологическим биомаркерам объясняется как их высокой информативностью, так и безопасностью, неинвазивностью методов для пациентов, экономической целесообразностью и возможностью применения в амбулаторных условиях. В последнее десятилетие опубликованы работы по исследованию вариабельности сердечного ритма при БП, мониторингу артериального давления (определение «скрытых» эпизодов ортостатической гипотензии), треморографии, мультифокальной электроретинографии, нарушению цветового зрения: снижению дискриминации цвета и контрастной чувствительности. Для ранней и премоторной диагностики БП предложены различные методы исследования вызванных потенциалов, в том числе на цветной шахматный паттерн, стабилметрия, исследования нарушений сна, саккадометрия и мониторинг зрительно-моторной координации в группах риска по БП и др. Наиболее убедительным нейрофизиологическим маркером БП считают полисомнографическое исследование расстройства поведения в REM-фазе сна, которое может на десятилетие предшествовать манифестации двигательной фазы болезни (Iranzo et al., 2005, 2006 и другие авторы). Нарушения REM-фазы сна при БП связывают с преимущественным с поражением ядер ретикулярной формации ствола головного мозга. Эти данные подкрепляются работами по изучению снижения пресинаптического оборота стриарного транспортера дофамина по данным ОФЭКТ, полученными у пациентов с изолированными патологическими движениями в REM-фазе сна. Но полисомнография – достаточно длительная по времени методика, в то время как перед исследователями стоит задача поиска информативного предиктора, позволяющего проводить экспресс-скрининг в больших группах людей с генетическим или возрастным риском БП. Для этих целей может быть предложена *саккадометрия*.

Первое электроокулографическое исследование при БП состоялось в 1972 году, когда Corin и соавторы выявили нарушение глазодвигательных функций у 75% пациентов. В дальнейшем были описаны дефицит движений глаз при БП (преимущественно в горизонтальном направлении), нарушение инициации саккад (быстрых, скачкообразных движений глаз, которые служат фиксации зрительного объекта на фовеа), увеличение их латентных периодов (ЛП) и длительностей, достижение зрительной цели несколькими саккадами вместо одной (мультисаккадность), замедление скоростей и т.д. В результате анализа полученных данных стало ясно, что помимо характерной триады двигательных расстройств – тремора, ригидности, акинезии – при БП происходят изменения саккадических движений глаз (СДГ), причем на самых ранних стадиях заболевания [5–7]. Объяснение нарушений саккад на ранних стадиях БП следующее: уровень возбуждения глазодвигательных центров, расположенных в парамедианной ретикулярной формации моста, регулируется, помимо кортикальных структур мозга, ретикулярной частью черной субстанции в базальных ганглиях и верхними бугорками четверохолмия. При дебюте БП происходит истощение дофамина в хвостатом ядре, возникающем из-за поражения компактной части черной субстанции, что приводит через ряд цепей обратной связи к нарушению тормозных связей ретикулярной части черной субстанции с верхними бугорками четверохолмия [5]. Другими словами, развившиеся к моменту клинического дебюта БП нейродегенеративные изменения существенным образом влияют на функциональные возможности мозга. Эти сдвиги проявляются в изменении не только параметров СДГ, но и координированных движений глаз, головы и руки. Так первые результаты 2-этапного исследования ПАРКИНЛАР (ПАРКИНсонизм, ЛАтентная стадия, Россия), направленного на идентификацию пациентов с латентной стадией БП в российской популяции, показали, что наибольшие изменения в группе риска, которую формировали из числа родственников больных с наличием мутаций в генах паркинсонизма и гиперэкзогенностью черной субстанции, были выявлены в отношении саккад [2]. Увеличение ЛП, длительности саккад или появление мультисаккадности в группе риска наблюдалось в 43% случаев, тогда как в контрольной – почти в 2 раза меньше (19%). Для зрительных вызванных потенциалов на цветной паттерн эти показатели составили 39% и 27%, соответственно. Таким образом саккадометрия была признана перспективным методом для выявления латентной стадии БП.

Поскольку до сегодняшнего дня процесс изменения саккад на латентной (доклинической) стадии БП практически не изучен, а работ по изучению изменений саккад на ранней клинической стадии заболевания (стадии гемипаркинсонизма) недостаточно, было решено тщательно изучить этот вопрос.

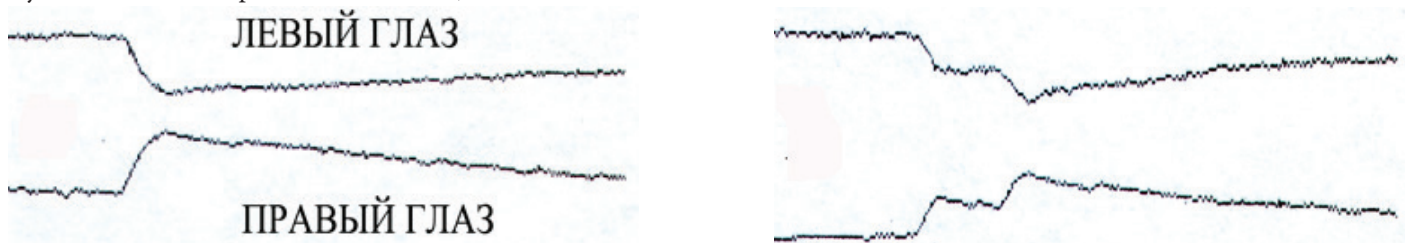
Целью исследования явилось сравнительное изучение амплитудно-временных параметров горизонтальных саккад в группе нелеченых пациентов с правосторонним гемипаркинсонизмом (стадия I по Хен-Яру), имевших диагностически значимые сонографические изменения – гиперэхогенность черной субстанции [8], а также в группе родственников пациентов с БП – лиц с гиперэхогенностью черной субстанции или носителей мутаций в генах паркинсонизма [2].

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 20 нелеченых пациентов с БП, имевших правосторонний дебют смешанной формы БП (средний возраст $47 \pm 5,2$ лет, стадия I по Хен-Яру) и 38 испытуемых из группы «первичного риска» БП, наблюдаемых в динамике в исследовании ПАРКИНЛАР (16 человек с гиперэхогенностью черной субстанции и 7 – с выявленными мутациями в генах *LRRK2*, *GBA* и др. [2]). В качестве группы контроля (20 человек) были выбраны здоровые испытуемые соответствующего возраста и пола. Наличие гиперэхогенности черной субстанции констатировалось, если площадь гиперэхогенного сигнала превышала пороговую 20 мм^2 хотя бы с одной из сторон [8]. Все три группы проходили офтальмологический осмотр на предмет отсутствия глазной патологии.

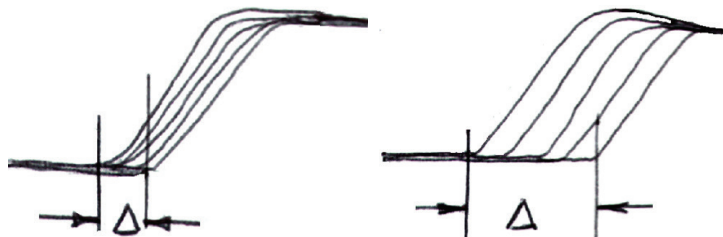
Регистрация полученных данных проводилась с помощью специально спроектированного аппаратно-программного комплекса для исследования двигательной активности человека по методике [3]. Анализировали ЛП саккад, долю мультисаккад и длительность одиночных саккад. ЛП саккады определяли как временной интервал между включением периферического стимула и началом саккады, длительность – как период времени между началом саккады и ее завершением, мультисаккадность – как явление, при котором зрительная цель достигается не одной, а несколькими саккадами меньшей амплитуды (рис. 1). Применялся координированный тест, в котором необходимо было совершить координированное движение глаз, головы и руки – перевод курсора от центральной мишени к периферической на 40 градусов, по 20 – 25 движений в каждую сторону.

Рисунок 1. Пример нормального саккадического движения правого и левого глаза и мультисаккадного перевода взора (2 мультисаккады совершает каждый глаз).



ЛП считался патологическим при значении, превышающем 207 мс, длительность – при превышении величины 110 мс. Мультисаккадность считалась патологической при превышении 4% [3]. Наличие хотя бы одной патологической характеристики из трех расценивалось как биомаркер БП по данным координированного теста.

Рисунок 2. Превышение пороговых величин при саккадометрии у пациента с БП (справа) по сравнению с контролем (слева).



Применяли тесты: 1) быстрый перевод взора, головы и руки (с переводом курсора) от центральной мишени к периферической с участием глаз, головы и руки – «координационный тест»; 2) «автосаккады» – испытуемому предлагалось самостоятельно переводить взор как можно быстрее от одной мишени к другой, при этом мишени не переключались (саккады на 30 град. влево и вправо от центра).

В норме перевод взора осуществлялся при естественном участии головы и глаз. Глаза начинали движение одновременно, саккады совершались совместно обоими глазами, синхронно. Параметры саккад составляли: ЛП – $180,6 \pm 3,2$ мс, длительность – $87,2 \pm 5,7$ мс. Для фиксации зрительной мишени здоровым испытуемым, как правило, требовалось одно саккадическое движение. Количество мультисаккад было не более 3. Автосаккады отличались синхронностью движений глаз, отсутствием мультисаккад, частота автосаккад составляла в среднем 2 полных цикла (перевода глаз слева направо и вновь налево) в секунду, промежуток времени между саккадами влево и вправо составил 2 Гц. При исследовании саккад у больных с I стадией БП отмечали увеличение ЛП, длительностей и мультисаккадных движений, нарушение синхронности движений глаз. В координационном тесте различия возрастали. Параметры ЛП и длительности саккад пациентов с БП в 1 и 2 тестах представлены в таблице.

Таблица. Параметры саккад в тестах 1 и 2 в группах здоровых испытуемых и больных с БП (I стадия по Хен-Яру) до и после лечения.

	Здоровые испытуемые	Пациенты с БП до лечения	Пациенты с БП после начала лечения
ЛП 1	170,5 ± 8,4	188,5 ± 5,4	190,1 ± 5,6
Длительность 1	90,5 ± 3,2	105,4 ± 12,1	96,1 ± 6,4
ЛП 2	180,6 ± 3,2	215,4 ± 13,6*	198,1 ± 9,2
Длительность 2	87,2 ± 5,7	115,2 ± 3,0*	101,2 ± 4,2

Примечание: ЛП 1, ЛП 2 — латентные периоды саккад в тестах 1 и 2, то же самое касается длительности саккад. *($p < 0,05$).

В координационном тесте было выявлено увеличение количества мультисаккад у пациентов с дебютом БП – на 10% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При выполнении координационного теста у всех пациентов с I стадией БП отмечалось увеличение временных параметров движений головы и глаз, а также замедление их скоростей, нарушение траекторий движений головы и глаз. Движения рук замедлялись в 1,5–2 раза, при этом больше страдали движения руки на стороне клинического дебюта заболевания, т.е. правой руки. У всех пациентов были выявлены процессы нарушения фиксации и удержания взора, что проявлялось рассогласованием движений глаз и головы, уменьшением амплитуды движения головы, замедлением движений глаз, больше правого. Цикл движений головы составил в среднем 1,5 с. Автосаккады не менялись по форме, но замедлялись по сравнению с нормой в 1,5–2 раза.

В группе лиц «высокого риска» по БП у 10 пациентов были получены изменения в виде асимметрии параметров саккад, увеличения ЛП и длительности саккад в координационном тесте, увеличения доли мультисаккад до 19% (в норме не более 3%), тогда как у лиц контрольной группы такие изменения были выявлены всего в 4 случаях (различия достоверны, $p < 0,05$).

Нарушения цветовосприятия у больных с БП подтверждено многими работами на протяжении последних 30 лет. Отчасти нарушение цветовосприятия связывают с патологией сетчатки, где дофамин является нейротрансмиттером амакриновых клеток сетчатки и участвует в организации рецептивных полей ганглиозных и биполярных клеток. Нами для оценки этой функции была выбрана объективная нейфизиологическая характеристика – латенция пика P100 на зелено-черный контраст по данным цветовых вызванных потенциалов, увеличение которой при БП впервые было выявлено Barbato с соавторами. В нашем исследовании встречаемость патологических отклонений по цветовым вызванным потенциалам в группе риска была в 1,5 раза выше по сравнению с контрольной группой, поэтому метод потенциально может быть полезен в диагностике латентной стадии БП.

Литература

- Иллариошкин С.Н., Власенко А.Г., Федотова Е.Ю. Современные возможности идентификации латентной стадии нейродегенеративного процесса. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2013; 2: 39-50.
- Федотова Е.Ю., Четчин А.О., Абрамычева Н.Ю. и др. Идентификация лиц в латентной стадии болезни Паркинсона (исследование ПАРКИН-ЛАР): первые результаты и оптимизация алгоритма. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2015; 6: 4-11.
- Базиян Б.Х. Способ диагностики двигательных функций человека и устройство для его реализации. Патент РФ №2146494 от 20.03.2000.
- Базиян Б.Х., Дмитриев И.Э. Программно-аппаратурный комплекс для изучения координации движений глаз, головы и руки человека. *Журнал высшей нервной деятельности*. 1996; 2: 396-399.
- Базиян Б.Х., Чигалейчик Л.А., Дмитриев И.Э. Возможные механизмы нарушений саккадических движений глаз у пациентов с болезнью Паркинсона. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1998; 4: 254-259.
- Базиян Б.Х., Чигалейчик Л.А., Тесленко Е.Л. и др. Расстройства произвольных зрительно-моторных движений пациентов с ранними стадиями болезни Паркинсона. *Неврология и нейрохирургия в Беларуси*. 2011; 2: 65-81.
- Базиян Б.Х. Возможные нейрофизиологические маркеры раннего нейродегенеративного процесса (на примере болезни Паркинсона). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 8: 147-150.
- Иллариошкин С.Н., Четчин А.О., Федотова Е.Ю. Транскраниальная сонография при экстрапирамидных заболеваниях. М.: Атмосфера, 2014.

Экспрессионное профилирование периферической крови при болезни Паркинсона: поиск РНК-маркеров заболевания

М.И. Шадрина¹, А.Х. Алиева¹, А.В. Росинская³, С.Н. Иллариошкин², П.А. Сломинский¹

¹Институт молекулярной генетики РАН;

²Научный центр неврологии (Москва); Приморская краевая больница №1 (Владивосток)

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов среднего мозга [1]. Основными клиническими проявлениями данного заболевания являются тремор покоя, брадикинезия, ригидность и постуральная неустойчивость. Одной из особенностей БП является то, что основные клинические признаки заболевания появляются на поздних стадиях развития дегенеративных процессов в компактной части черной субстанции головного мозга, когда уже гибнет около 60% дофаминергических нейронов черной субстанции и уровень дофамина в стриатуме снижается на 80% [2, 3].

С генетической точки зрения БП является гетерогенной патологией. В большинстве случаев БП является спорадическим заболеванием. Доля моногенных случаев в разных популяциях варьирует от 10 до 15% [4]. Интенсивные исследования за последние 15 лет позволили выявить большое число различных локусов и генов, вовлеченных в развитие БП [5]. Но, несмотря на эти успехи, молекулярно-генетические механизмы, запускающие развитие заболевания, остаются неизвестными и в целом картина этиопатогенеза БП остается не до конца выясненной. Важное значение в патогенезе БП имеют мутации и однонуклеотидные полиморфизмы в ряде генов, однако, помимо нарушений в структуре ДНК, существенную роль в патогенезе БП также могут играть изменения, происходящие на других клеточных уровнях, в том числе и на уровне транскриптома.

На настоящий момент проведено большое количество работ по исследованию изменений транскриптома в постмортальном материале мозга пациентов с БП. Анализируемые в таких работах больные находились на последних и самых тяжелых стадиях заболевания и прошли активное медикаментозное лечение [6–9], а выявляемые различия могут быть связаны с проводимой терапией и наличием сопутствующих заболеваний у пациентов. Полученные в этих работах данные об изменении экспрессии генов не могут полностью отражать процессы, связанные с патогенезом БП. Таким образом, необходимо проводить исследования у пациентов с БП, находящихся на самых ранних стадиях заболевания, что может позволить лучше понять процессы, вовлеченные в развитие данного заболевания.

Ввиду невозможности изучения эндогенных процессов, происходящих в мозге пациентов с БП на ранних симптоматических стадиях, одним из основных подходов является исследование изменения экспрессии генов во фракции лимфоцитов периферической крови. Эти клетки имеют ряд особенностей, характерных для дофаминергических нейронов (например, ферменты синтеза и рецепторы к дофамину) и могут рассматриваться в качестве модели данного типа нейронов [10–12]. На данный момент проведено несколько работ по изучению изменения экспрессии генов в периферической крови пациентов с БП [13–15], а также проведено два полнотранскриптомных анализа периферической крови пациентов с БП. Так, было выявлено 9 генов (*VDR*, *HIP2*, *CLTB*, *FPRL2*, *CA12*, *CEACAM4*, *ACRV1*, *UTX* и *SRRM2*), изменивших свою экспрессию в крови пациентов с БП [16, 17]. Результаты данных исследований представляют большой интерес, однако анализируемые в этих работах пациенты находились на развернутых стадиях БП (2–4 по шкале Хен–Яра) и в большинстве случаев подвергались терапии. Для того чтобы избежать ошибок в интерпретации результатов анализа полученных экспрессионных профилей необходимо сравнивать данные в группах как леченых, так и нелеченых пациентов, находящихся на самых ранних стадиях БП (1–2 стадии по шкале Хен–Яра).

В связи с этим, для того чтобы лучше понять механизмы, лежащие в основе патогенеза БП, мы провели полнотранскриптомный анализ периферической крови пациентов, находящихся на 1-й стадии БП и еще не получавших лечение, а также анализ экспрессии десяти генов в периферической крови двух групп пациентов с БП, находящихся на 1–2 стадиях заболевания – получающих и не получающих противопаркинсоническую терапию. Гены, выбранные нами для исследования, были отобраны исходя из данных биоинформатического анализа и литературных данных. В этот список вошли и гены, вовлеченные в развитие моногенных форм БП (*ATP13A2*, *PARK2*, *PARK7*, *PINK1*, *LRRK2* и *SNCA*) и гены, изменение экспрессии которых может быть связано с патогенезом БП (*ALDH1A1*, *PDHB*, *PPARGC1A* и *ZNF746*).

Материалы и методы

В настоящей работе было проанализировано 47 пациентов с недавно поставленным диагнозом БП (1–2 стадии по функциональной шкале Хен–Яра), получавших и не получавших противопаркинсоническую терапию.

Все больные являлись русскими по происхождению. Для постановки диагноза БП пациенты были исследованы по международной унифицированной оценочной шкале БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS) [18] и шкале Хен–Яра (Hoehn and Yahr scores) [19] в Научном центре неврологии (Москва).

В качестве групп сравнения в настоящей работе исследовались следующие выборки:

- 23 пациента с различными нейродегенеративными заболеваниями (боковой амиотрофический склероз, болезнь Мари–Шарко, болезнь Вильсона–Коновалова, спиноцеребеллярная атаксия и др.);
- 44 неврологически здоровых добровольца.

В группы больных с различными неврологическими патологиями и группу контроля отбирались лица русского происхож-

дения обоих полов в возрасте от 30 до 70 лет. Все образцы крови были взяты с информированного согласия исследуемых лиц.

Для выделения тотальной РНК из цельной крови человека кровь забирали в 8 ч утра натощак, затем хранили перед выделением нуклеиновых кислот не больше 2 ч при +4°C. Выделение тотальной РНК из цельной крови человека и периферической крови мышей проводили с использованием набора ZR Whole-Blood Total RNA Kit™ (“Zymo Research Corp”, США) согласно рекомендациям производителя. Полнотранскриптомный анализ проводился как в отдельных парах (пациент с БП – здоровый контроль такого же пола и возраста), так и в пулах РНК (пул РНК пациентов и пул РНК здорового контроля). Всего было исследовано пять пар «пациент с БП – здоровый контроль». Анализ проводился с использованием микрочипов HT-12-V4 Expression BeadChip (“Illumina”, США). Анализ экспрессии отдельных генов проводили с использованием реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan зондов.

Статистический анализ данных полнотранскриптомного исследования проводили с использованием пакета программ “Genome Studio” (“Illumina”, США). Во внимание принимались значения с разницей экспрессии по сравнению с контролем более чем в 1,5 раза и $p < 0,01$. Анализ функциональной кластеризации отобранных генов проводили с использованием биоинформатического ресурса DAVID 6,7. Расчет относительных уровней экспрессии проводился с использованием метода сравнения пороговых уровней амплификации $\Delta\Delta Ct$ [20]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов программ “Statistica for Windows 8.0” (StatSoft, Inc. (2007), STATISTICA (data analysis software system, version 8.0. www.statsoft.com) и программного обеспечения MS Excel 2010 (Microsoft). Для оценки относительных уровней экспрессии генов применяли непараметрический U-тест Манна–Уитни.

Результаты

Полнотранскриптомный анализ

В ходе проведения полнотранскриптомного анализа периферической крови пациентов с БП проведена оценка относительного уровня 47 000 транскриптов. В целом, в результате проведенного анализа с использованием программы “Genome Studio” было отобрано 1429 дифференциально представленных транскриптов (ДПТ) ($N\text{-fold} \geq 1,5$ и $p < 0,01$). Для данных ДПТ был проведен кластерный анализ с помощью базы данных DAVID. Из общего массива данных в ходе кластерного анализа отбирались процессы, для которых наблюдалась статистическая значимость; они оценивались по показателям «Enrichment score > 1,0», «pVal < 0,01» и «FDR < 0,05». В таблице 1 приведены основные результаты функциональной кластеризации дифференциально экспрессирующихся генов.

Таблица 1. Результаты кластерного анализа 1429 транскриптов с использованием DAVID.

Кластер	Gene Ontology	Кол-во	Enrichment Score	pVal	FDR
Процессы, связанные с функционированием иммунной системы					
Общие процессы иммунной системы	GO:0002376	100	6.21	1.8E-7	5.4E-4
Защитный ответ	GO:0006952	68	3.72	8.0E-7	6.2E-4
Ответ на цитокиновую стимуляцию	GO:0034097	17	2.92	1.2E-5	5.5E-3
Процессы, связанные с клеточным транспортом					
Эндосомы	GO:0005768	41	4.12	2.8E-6	3.6E-4
Везикулярный транспорт	GO:0016192	63	3.52	3.1E-6	2.0E-3
Протеинкиназный каскад (внутриклеточная сигнальная трансдукция)	GO:0035556	48	3.04	5.6E-7	8.8E-4
Мембранный люмен	GO:0031974	141	2.3	6.4E-4	2.0E-2
Внутриклеточный транспорт	GO:004690	66	1.55	2.9E-5	8.1E-3
Люмен эндоплазматического ретикулула	GO:0005788	14	1.50	6.7E-4	1.9E-2
Другие процессы					
Альтернативный сплайсинг	GO:0008380	514	9.31	1.9E-10	5.0E-8

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в результате биоинформатического анализа ДПТ выявляются два кластера метаболических процессов, связанных с функционированием иммунной системы, процессами клеточного транспорта, а также кластер генов, активно подвергающихся альтернативному сплайсингу. Высокая статистическая значимость выявляемых кластеров позволяет предполагать, что биологические процессы, вошедшие в них, могут играть важную роль в формировании патологического процесса на ранних стадиях БП.

В настоящее время известно, что хроническое воспаление является характерным признаком многих нейродегенеративных заболеваний [21], в том числе БП. Так, было показано, что активация микроглии в среднем мозге положительно коррелирует с проявлением двигательных симптомов БП [22, 23]. В экспериментах *in vitro* было показано, что аномально конформированный синуклеин активирует микроглию, что приводит к секреции цитокинов, таких как TNF- α [24] и IL-1 β [25], а также к продукции свободных радикалов, что, в свою очередь, ведет к повреждению дофаминергических нейронов [26]. В результате нескольких исследований GWAS, а также мета-анализа данных, полученных в результате этих исследований, была показана ассоциация БП с локусами, расположенными в кластерах генов гистосовместимости *HLA-DRA* и *HLA-*

DRB [27, 28]. В нашей работе были выявлены процессы, относящихся к иммунной системе (см таблицу 1). Кроме того, на связь с иммунной системой указывают обнаруженные нами изменения экспрессии генов, относящихся к кластерам генов гистосовместимости, таких как *HLA-A*, *HLA-C*, *HLA-DRB4*, *HLA-DRB1*, *HLA-DRB6*, *HLA-DQA1* и *HLA-DQB1*. При этом гены *HLA-DRB4*, *HLA-DRB1* и *HLA-DRB6* входят в локус, для которого обнаружена ассоциация с БП при GWAS [27, 28].

Еще одним блоком процессов, обладающих высокой степенью значимости, являются процессы, относящиеся к транспорту (табл. 1). Накопленные в многочисленных исследованиях данные позволяют предполагать, что нарушения, связанные с функционированием везикулярного транспорта, могут играть важную роль в нейродегенерации. Так, нарушение везикулярного транспорта и, соответственно, синаптической передачи является общим признаком таких заболеваний, как БП, болезнь Альцгеймера и ряда других, при этом нарушения в синапсах либо предшествуют, либо сопутствуют проявлениям симптомов заболеваний [29–33].

Третьим кластером, который обращает на себя внимание, является кластер альтернативного сплайсинга, обладающего самой высокой статистической значимостью ($pVal = 1.9E-10$, $FDR=5.0E-8$). В этот кластер в основном вошли гены, активно подвергающиеся альтернативному сплайсингу. На настоящий момент известно, что альтернативный сплайсинг может влиять на процессы, непосредственно связанные с функционированием нервной системы, такие как формирование синапса [34] и миграция нервных клеток [35]. В исследованиях, проведенных на мозге человека и шимпанзе, было показано, что интенсивность альтернативного сплайсинга изменяется с возрастом [36]. Кроме того, была продемонстрирована связь изменений интенсивности альтернативного сплайсинга с такими нейродегенеративными заболеваниями, как болезнь Альцгеймера [37] и боковой амиотрофический склероз [38]. В связи с этим мы решили более детально изучить гены, входящие в кластер альтернативного сплайсинга, и для него была проведена их повторная кластеризация с использованием базы данных DAVID, результаты которой приведены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты повторной функциональной кластеризации транскриптов, вошедших в кластер сплайсинга, с использованием DAVID.

Кластеры	Пути	Enrichment Score	Кол-во	pVal	Benjamini
Органеллы, связанные с мембранами	GO:0043227	4.08	260	1.8E-3	5.0E-3
Эндосомы	GO:0005768	2.28	20	1.8E-3	4.7E-2
Микротрубочки цитоскелета	GO:0044422	2.27	31	5.3E-4	2.4E-2

Из таблицы 2 видно, что альтернативному сплайсингу в основном подвергаются гены, так или иначе вовлеченные в функционирование клеточного транспорта. Необходимо отметить, что для большинства генов наблюдается снижение представленности их мРНК по сравнению с контролем. При этом использование чипа позволяет проанализировать для большей части генов уровень только основных транскриптов. Таким образом, наблюдаемое нами снижение уровней мРНК может быть связано с усилением альтернативного сплайсинга у больных в периферической крови, что приводит к снижению уровня основного транскрипта. Это косвенно может указывать на повышение уровней альтернативных транскриптов и, как следствие, на накопление белковых продуктов этих генов с измененной функцией. Так, например, в нашем исследовании было показано снижение уровня основного транскрипта гена *SNCA* в полтора раза по сравнению с контролем. Эти данные могут говорить об усилении альтернативного сплайсинга *SNCA*, что может приводить к накоплению альтернативных транскриптов и увеличению синтеза белка с измененной структурой. Известно, что увеличение доли альтернативных транскриптов, лишенных 4-го или 6-го экзона, либо их обоих сразу, способствует образованию нестабильных гетеротетрамеров, которые легче диссоциируют, что приводит к накоплению токсичных олигомеров [39].

Анализ изменения экспрессии отдельных генов

Был проведен анализ изменения уровней мРНК генов *ALDH1A1*, *ATP13A2*, *LRRK2*, *PARK2*, *PARK7*, *PINK1*, *PDHB*, *PPARGC1A*, *SNCA* и *ZNF746* у пациентов с БП, находящихся на ранних стадиях БП (1–2 по шкале Хен–Яра), получавших и не получавших лечение. Кроме того, для оценки специфичности наблюдаемых изменений уровней транскриптов для патогенеза БП был проведен анализ исследуемых генов в группе неврологического контроля, куда вошли пациенты с различными нейродегенеративными заболеваниями (см. выше). В ходе работы было показано, что представленность транскриптов *PARK2* и *PPARGC1A* в лимфоцитах человека ниже уровня детекции используемого в данной работе метода. Для остальных генов результаты экспрессионного анализа приведены в таблице 3. Как видно из таблицы, было выявлено статистически значимое повышение экспрессии генов *ATP13A2*, *PARK7* и *ZNF746* более чем в 1,5 раза у пациентов с БП. Эти изменения являются специфическими для БП, так как в группе неврологического контроля уровни экспрессии данных генов не отличаются от уровней экспрессии в здоровом контроле.

Таблица 3. Экспрессионный анализ генов-кандидатов в периферической крови пациентов с БП.

Ген	БП, нелеченные пациенты	БП, пациенты на лечении	Неврологический контроль
<i>ALDH1A1</i>	1,081 (0,71–1,53)25	1,60 (0,94–2,08)	0,95 (0,33–1,64)
<i>ATP13A2</i>	1,94 (1,43–3,03)3	2,14 (1,29–4,86)	0,86 (0,46–1,62)
<i>LRRK2</i>	0.44 (0.31–1.26)	0.56 (0.41–1.42)	0.83 (0.37–1.35)

<i>PARK7</i>	1.68 (0.96–2.51)	1.60 (1.32–2.20)	1.00 (0.64–1.50)
<i>PINK1</i>	0.75 (0.25–1.40)	1.29 (0.28–3.37)	0.26 (0.12–0.56)
<i>PDHB</i>	1.46 (0.65–2.16)	2.10 (0.58–2.36)	1.32 (1.01–1.55)
<i>SNCA</i>	0.24 (0.06–1.16)	0.16 (0.04–0.24)	0.14 (0.02–0.99)
<i>ZNF746</i>	2.33 (0.96–4.60)	2.46 (0.66–5.01)	1.07 (0.33–1.64)

¹Ме, медиана, ²25%–75%, 25–75 процентиля, ³Данные, выделенные жирным, являются статистически значимыми ($p < 0,05$). Уровень экспрессии в контроле принят за единицу.

Изменения уровней транскриптов наблюдались как в группе пациентов с БП, не получавших лечение, так и в группе леченых пациентов. Необходимо отметить, что для гена *ZNF746* у пациентов, получавших лечение, изменения уровней транскриптов не являются статистически значимыми, однако динамика изменений сходна с теми, что наблюдаются в группе пациентов с БП, получающих противопаркинсоническую терапию.

Кроме того, в результате анализа было выявлено статистически значимое снижение экспрессии гена *SNCA* в группах пациентов с БП более чем в 4 раза, однако, эти результаты не являются специфичными для данного заболевания, так как было также обнаружено достоверное снижение экспрессии данного гена в группе неврологического контроля. Интересными также представляются результаты по гену *PINK1*. Для этого гена не было выявлено достоверных изменений в группах пациентов с БП, но в то же время наблюдалось резкое снижение уровня экспрессии гена *PINK1* более чем в 4 раза в группе неврологического контроля.

В результате анализа для двух генов было выявлено неспецифическое изменение их уровней транскриптов. Так, было обнаружено существенное снижение уровня основного транскрипта *SNCA*, как в группах пациентов с БП, так и в неврологическом контроле. Известно, что *SNCA* является пресинаптическим белком и активно участвует в функционировании различных типов нейронов [40]. Таким образом, наблюдаемое изменение уровня транскрипта гена *SNCA*, возможно, связано с общими закономерностями развития патогенетических процессов при различных нейродегенеративных заболеваниях. Кроме того, для *PINK1* было показано существенное статистически значимое снижение уровня транскрипта в группе неврологического контроля. *PINK1* является одним из ключевых регуляторов митохондриального биогенеза [41]. Так, например, при моделировании БАС путем введения мутантного гена *hSOD1* мышам было показано, что происходит серьезное нарушение функционирования митохондрий, что может приводить к развитию нейродегенеративных процессов [42]. Возможно, наблюдаемое в нашей работе изменение уровня мРНК *PINK1* связано либо с изменением функционирования митохондрий, либо приводит к его нарушению, что в свою очередь может вызывать развитие нейродегенерации.

Наиболее интересными являются данные, полученные в результате анализа изменения транскриптов генов *ATP13A2*, *PARK7* и *ZNF746*. Было показано статистически значимое повышение уровней их мРНК в группах пациентов, не подвергавшихся лечению, но не в неврологическом контроле. Данные изменения являются специфическими, а гены могут играть важную роль в патогенезе БП, в том числе на ранних стадиях БП. Повышение уровней транскриптов этих трех генов не связано с проводимой терапией, поскольку наблюдаемые изменения у пациентов, подвергавшихся лечению, сходны с изменениями у пациентов, не получавших лечение.

Гены *PARK7* и *ATP13A2* являются генами моногенных форм БП и связаны с развитием семейных форм БП, однако нет литературных данных об изменении их экспрессии у пациентов с БП. Повышение экспрессии *PARK7* может указывать на компенсаторные явления, развивающиеся в ответ на окислительный стресс в клетках, так как показано, что продукт данного гена DJ-1 способен защищать клетку путем самоокисления [43]. Ген *ATP13A2* кодирует лизосомальную АТФазу, и изменение его экспрессии может свидетельствовать о нарушениях в процессах, связанных с удалением вредных компонентов из клетки [44].

Однако наибольшие изменения наблюдались для гена *ZNF746* в группе пациентов, не получавших лечение. Роль этого гена в патогенезе БП не ясна, при этом есть данные о высоком уровне экспрессии его белка PARIS в стриатуме и черной субстанции [45]. Белок PARIS подвергается убиквитинированию паркином, а также является транскрипционным репрессором PGC-1 α , транскрипционного коактиватора пероксисомального рецептора, вовлеченного в активацию митохондриального биогенеза. Дегградация PARIS через паркин инициирует экспрессию PGC-1 α и последующий митохондриальный биогенез [46]. Таким образом, повышенный уровень экспрессии гена *ZNF746* может влиять на подавление митохондриального биогенеза посредством ингибирования PGC1-а, приводя к развитию нейродегенеративного процесса.

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что повышение уровней транскриптов генов *ATP13A2*, *PARK7* и *ZNF746*, выявленное на самых ранних клинических стадиях у пациентов без лечения, может также наблюдаться и на досимптоматических стадиях БП, а эти гены могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров доклинических стадий БП. Однако для проверки данной гипотезы необходимы дальнейшие исследования и, в первую очередь, на больных, находящихся на доклинической стадии БП.

Литература

1. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2008; 79: 368-376.
2. Bernheimer H., Birkmayer W., Hornykiewicz O. et al. Brain dopamine and the syndromes of Parkinson and Huntington. Clinical, orphological and neurochemical correlations. *J. Neurol. Sci.* 1973; 20: 415-455.
3. Cookson M.R., Hardy J., Lewis P.A. Genetic Neuropathology of Parkinson's Disease. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2008; 1: 217-231.
4. Saiki, S., Sato S., Hattori N. Molecular pathogenesis of Parkinson's disease: update. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2012; 83: 430-436.
5. Trinh J., Farrer M. Advances in the genetics of Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2013; 9: 445-454.
6. Simunovic F, Yi M., Wang Y. et al. Gene expression profiling of substantia nigra dopamine neurons: further insights into Parkinson's disease pathology. *Brain*. 2009; 132 (Pt 7): 1795-1809.
7. Grünblatt E., Mandel S., Jacob-Hirsch J. et al. Gene expression profiling of parkinsonian substantia nigra pars compacta; alterations in ubiquitin-proteasome, heat shock protein, iron and oxidative stress regulated proteins, cell adhesion/cellular matrix and vesicle trafficking genes. *J. Neural Transm.* 2004; 111: 1543-1573.
8. Bossers K., Meerhoff G., Balesar R. et al. Analysis of gene expression in Parkinson's disease: possible involvement of neurotrophic support and axon guidance in dopaminergic cell death. *Brain Pathol.* 2009; 19: 91-107.
9. Hauser M.A., Li Y.J., Xu H. et al. Expression profiling of substantia nigra in Parkinson disease, progressive supranuclear palsy, and frontotemporal dementia with parkinsonism. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 917-921.
10. Barbanti P., Fabbrini G., Ricci A. et al. Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 1999; 14: 764-771.
11. Buttarelli F.R., Capriotti G., Pellicano C. et al. Central and peripheral dopamine transporter reduction in Parkinson's disease. *Neurol Res.* 2009; 31: 687-691.
12. Nagai Y., Ueno S., Saeki Y. et al. Decrease of the D3 dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes from patients with Parkinson's disease. *Neurology*. 1996; 46: 791-795.
13. Mutez E., Larvor L., Lepretre F. et al. Transcriptional profile of Parkinson blood mononuclear cells with LRRK2 mutation. *Neurobiol. Aging*. 2011; 32: 1839-1848.
14. Scherzer C.R., Eklund A.C., Morse L.J. et al. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104: 955-960.
15. Soreq L., Israel Z., Bergman H., Soreq H. Advanced microarray analysis highlights modified neuro-immune signaling in nucleated blood cells from Parkinson's disease patients. *J. Neuroimmunol.* 2008; 201-202: 227-236.
16. Scherzer C.R., Eklund A.C., Morse L.J. et al. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007; 104: 955-960.
17. Shehadeh L.A., Yu K., Wang L. et al. SRRM2, a potential blood biomarker revealing high alternative splicing in Parkinson's disease. *PLoS One*. 2010; 5(2): e9104.
18. Fahn B.S., Elton R., and M.o.t.U.D. Committee, Unified Parkinson's Disease rating scale, in *Recent developments in Parkinson's disease*. NY, Macmillan Health Care Information, 1987: 153-164.
19. Goetz C.G., Poewe W., Rascol O. et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations. *Mov. Disord.* 2004; 19: 1020-1028.
20. Applied Biosystems, User Bulletin No 2: ABI Prism 7700 Sequence Detection System. 2001.
21. Glass C.K., Saijo K., Winner B. et al. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*. 2010; 140: 918-934.
22. McGeer P.L., Itagaki S., Boyes B.E., McGeer E.G. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*. 1988; 38: 1285-1291.
23. Ouchi Y., Yoshikawa E., Sekine Y. et al. Microglial activation and dopamine terminal loss in early Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 2005; 57: 168-175.
24. Su X., Maguire-Zeiss K.A., Giuliano R. et al. Synuclein activates microglia in a model of Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging*. 2008; 29: 1690-1701.
25. Klegeris A., Pelech S., Giasson B.I. et al. Alpha-synuclein activates stress signaling protein kinases in THP-1 cells and microglia. *Neurobiol. Aging*. 2008; 29: 739-752.
26. Zhang W., Wang T., Pei Z. et al. Aggregated alpha-synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease. *FASEB J.* 2005; 19: 533-542.
27. Ahmed I., Tamouza R., Delord M. et al. Association between Parkinson's disease and the HLA-DRB1 locus. *Mov. Disord.* 2012; 27: 1104-1110.
28. Hamza T.H., Zabetian C.P., Tenesa A. et al. Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 2010; 42: 781-785.
29. Auffret A., Mariani J., Rovira C. Age-related progressive synaptic dysfunction: the critical role of presenilin 1. *Rev. Neurosci.* 2010; 21: 239-250.
30. Milnerwood A.J., Raymond L.A. Early synaptic pathophysiology in neurodegeneration: insights from Huntington's disease. *Trends Neurosci.* 2010; 33: 513-523.
31. Palop J.J., Mucke L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks. *Nat. Neurosci.* 2010; 13: 812-818.
32. Plowey E.D., Chu C.T. Synaptic dysfunction in genetic models of Parkinson's disease: a role for autophagy? *Neurobiol. Dis.* 2011; 43: 60-67.
33. Scott D.A., Tabarean I., Tang Y. et al. A pathologic cascade leading to synaptic dysfunction in alpha-synuclein-induced neurodegeneration. *J. Neurosci.* 2010; 30: 8083-8095.
34. Ule J., Ule A., Spencer J. et al. Nova regulates brain-specific splicing to shape the synapse. *Nat. Genet.* 2005; 37: 844-852.
35. Blencowe B.J. Alternative splicing: new insights from global analyses. *Cell*. 2006; 126: 37-47.
36. Mazin P., Xiong J., Liu X. et al. Widespread splicing changes in human brain development and aging. *Mol. Syst. Biol.* 2013; 9: 633.
37. Buee L., Bussièrè T., Buée-Scherrer V. et al. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Rev.* 2000; 33: 95-130.
38. Dredge B.K., Polydorides A.D., Darnell R.B. The splice of life: alternative splicing and neurological disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2001; 2: 43-50.
39. Beyer K., Ariza A. Alpha-synuclein posttranslational modification and alternative splicing as a trigger for neurodegeneration. *Mol. Neurobiol.* 2013; 47: 509-524.
40. Burre J., Sharma M., Tsetsenis T. et al. Alpha-synuclein promotes SNARE-complex assembly in vivo and in vitro. *Science*. 2010; 329: 1663-1667.
41. Cherra S.J., Chu C.T. Autophagy in neuroprotection and neurodegeneration: A question of balance. *Future Neurol.* 2008; 3: 309-323.
42. Mattiazzi M., D'Aurelio M., Gadjewski C.D. et al. Mutated human SOD1 causes dysfunction of oxidative phosphorylation in mitochondria of transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 29626-29633.
43. Clements C.M., McNally R.S., Conti B.J. et al. DJ-1, a cancer- and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant transcriptional master regulator Nrf2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 15091-15096.
44. Dehay B., Martinez-Vicente M., Caldwell G.A. et al. Lysosomal impairment in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2013; 28: 725-732.
45. Shin J.H., Ko H.S., Kang H. et al. PARIS (ZNF746) repression of PGC-1alpha contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease. *Cell*. 2011; 144: 689-702.
46. Castillo-Quan J.I. Parkin' control: regulation of PGC-1alpha through PARIS in Parkinson's disease. *Dis. Model Mech.* 2011; 4: 427-429.