

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

На правах рукописи

ФЕДОТОВА ЕКАТЕРИНА ЮРЬЕВНА

**ПЕРВИЧНЫЙ ПАРКИНСОНИЗМ:
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, БИОМАРКЕРЫ,
ПРОДРОМАЛЬНАЯ СТАДИЯ**

14.01.11 – Нервные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук,

профессор

С.Н. Иллариошкин

Москва – 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
ГЛАВА 2. ДИЗАЙН, ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	46
2.1. Общий дизайн работы	46
2.2. Генетика паркинсонизма: характеристика обследованных и молекулярно- генетические методы	47
2.3. Биомаркеры паркинсонизма: характеристика обследованных, нейрофизиологические и нейровизуализационные методы	68
2.4. Исследование группы риска болезни Паркинсона	80
2.5. Статистическая обработка данных	86
ГЛАВА 3. ГЕНЕТИКА ПАРКИНСОНИЗМА	87
3.1. Генетическая структура болезни Паркинсона в российской популяции... ..	87
3.2. Анализ генетических ассоциаций при болезни Паркинсона	100
3.3. Генетика атипичного паркинсонизма	110
3.4. Секвенирование нового поколения в диагностике генетических форм паркинсонизма	119
3.5. Генетика паркинсонизма. Обсуждение результатов	134
ГЛАВА 4. БИОМАРКЕРЫ ПАРКИНСОНИЗМА	168
4.1. Цветовые зрительные вызванные потенциалы при болезни Паркинсона	168
4.2. Оптическая когерентная томография при болезни Паркинсона	181
4.3. Транскраниальная сонография при болезни Паркинсона: проспективное исследование	186
4.4. Биомаркеры паркинсонизма. Обсуждение результатов	188
ГЛАВА 5. ГРУППА РИСКА БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА	197
5.1. Продромальные биомаркеры в группе риска и в контрольной группе... ..	197
5.2. Расчет вероятности продромальной стадии с учетом факторов риска	203
5.3. Динамическое наблюдение за группой риска и контрольной группой ...	206
5.4. Встречаемость патологических маркеров, выявляемых с помощью цветовых зрительных вызванных потенциалов, оптической когерентной томографии и саккадометрии, в группе риска	209
5.5. Группа риска болезни Паркинсона. Обсуждение результатов	211

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	222
ВЫВОДЫ.....	228
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	230
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	231
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	233
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ	272
ПРИЛОЖЕНИЯ	286
БЛАГОДАРНОСТЬ.....	317

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Паркинсонизм относится к числу наиболее значимых проблем клинической неврологии – как в силу высокой распространенности в популяциях мира, так и вследствие значительной инвалидизации пациентов. В соответствии с существующей классификацией, в структуре паркинсонических синдромов принято выделять: 1) первичный паркинсонизм; 2) атипичный паркинсонизм; 3) вторичный паркинсонизм; 4) паркинсонизм при наследственных заболеваниях ЦНС [Левин О.С., Федорова Н.В., 2014].

Первичный паркинсонизм включает в себя болезнь Паркинсона (БП) – второе по частоте нейродегенеративное заболевание, представляющее значимую медицинскую и социально-экономическую проблему, а также ювенильный паркинсонизм. В настоящее время диагноз БП ставится на основании разработанных клинических критериев [Postuma R.V. et al., 2015], правильное применение которых во многом определяется квалификацией врача, в связи с чем в ранней стадии заболевания ее дифференцирование с другими формами патологии может вызывать серьезные затруднения. Наиболее сложна дифференциальная диагностика БП с *атипичным паркинсонизмом* – особой группой нейродегенеративных заболеваний, к которой относятся деменция с тельцами Леви (ДТЛ), мультисистемная атрофия (МСА), прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП) и кортикобазальная дегенерация (КБД). Атипичный паркинсонизм, несмотря на сходство с БП, имеет более неблагоприятный прогноз с быстрым развитием симптоматики и низкой эффективностью проводимого лечения [Stamelou M., Bhatia K.P., 2015]. Более того, до сих пор остаются спорными нозологические границы между определенными фенотипическими вариантами первичного и атипичного паркинсонизма (например, между БП и ДТЛ), что определяет необходимость более широкого внедрения в данную область неврологии новейших объективных лабораторно-инструментальных методов

исследования – генетических, нейровизуализационных и др. [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2015; Литвиненко И.В. с соавт., 2011].

В последние годы значительно расширился список генов, ассоциированных с развитием первичного паркинсонизма. На сегодня известно уже 22 локуса и 17 каузальных генов, причем показана выраженная вариабельность фенотипических проявлений заболевания при одном и том же генотипе даже среди родственников в одной семье [Corti O. et al., 2011; Deng H. et al., 2018]. Все более сложными и технологичными становятся методы ДНК-скрининга, направленные на установление «конечного» молекулярно-генетического диагноза. С появлением нового инструмента ДНК-диагностики – *секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS)* – стало возможным исследовать одномоментно сотни и тысячи генов [Farwell K.D. et al., 2015], однако диагностический потенциал этого вида ДНК-тестирования при БП и других формах паркинсонизма требует дальнейшего изучения.

Весьма актуальной задачей признается идентификация маркеров патологического процесса при БП, характера его течения и прогноза, а также риска развития заболевания. Из всех нейровизуализационных методов только ультразвуковое исследование – транскраниальная сонография – является доступным и общепризнанным в диагностике паркинсонизма [Berardelli A. et al., 2013]. Выявляемый при БП феномен гиперэхогенности черной субстанции, связанный с избыточным депонированием железа, имеет большое практическое значение и, по некоторым данным, может служить маркером заболевания еще до развития клинической симптоматики [Berg D. et al., 2012]. В то же время динамика этого показателя с годами, по мере течения нейродегенеративного процесса, нуждается в уточнении. К числу маркеров БП также относят гипосмию, определяемую специальными количественными методами [Жукова И.А. с соавт., 2015]. Перспективными также являются объективные оценки цветовосприятия, толщины сетчатки, глазодвигательных параметров [Armstrong R.A., 2015]. Практически все биомаркеры БП рассматриваются на предмет их использования в диагностике ранних и премоторных стадий заболеваний.

Считается, что нейродегенеративный процесс при БП начинается за несколько лет и даже десятилетий до начала моторных проявлений, лежащих в основе постановки диагноза. В связи с этим значительный интерес в последние годы вызывает разработка подходов к ранней диагностике «скрытой» (продромальной) фазы заболевания, которая является наиболее перспективной с точки зрения возможностей реализации нейропротективных стратегий и превентивной терапии у пациентов с БП [Lang A.E., 2011]. В 2015 году Международным обществом двигательных расстройств были впервые предложены критерии постановки диагноза БП в продромальной стадии для их применения в исследовательских целях [Berg D. et al., 2015]. Диагноз продромальной стадии БП основывается на наличии/отсутствии факторов риска и продромальных маркеров заболевания. К известным факторам риска относят, например, пол (риск БП выше у мужчин), курение и употребление кофе (снижают риск заболевания), наличиеотягощенного семейного заболевания, носительство мутаций и гиперэхогенность черной субстанции, а к продромальным маркерам – гипосмию, нарушение поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз, депрессию и ряд вегетативных нарушений [Berg D. et al., 2015]. Изучение продромальных маркеров позволяет также исследовать патогенез заболевания, его стадийность и механизмы нейропластичности на ранних этапах развивающейся патологии. В мире инициировано несколько исследований по поиску оптимальной комбинации биомаркеров продромальной стадии – как на выборках общей популяции (они требуют большого количества обследуемых и длительного периода наблюдения), так и на «обогащенных» выборках, состоящих из лиц с уже выявленным фактором риска/продромальным маркером заболевания [Noyse A.J. et al., 2012]. Создание и совершенствование алгоритмов диагностики БП (как и других нейродегенеративных заболеваний) на продромальной стадии признается сегодня одним из наиболее актуальных вызовов, стоящих перед неврологией.

Цель исследования: клинико-генетический анализ первичного и атипичного паркинсонизма с применением наиболее современных технологий ДНК-скрининга,

разработка инструментальных биомаркеров первичного паркинсонизма и создание на этой основе алгоритма популяционного скрининга и последующего наблюдения за лицами с высоким риском развития заболевания.

Задачи исследования

- 1) Исследовать репрезентативную выборку пациентов с БП на носительство мутаций моногенных форм паркинсонизма (гены *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*) и наличие ассоциаций с полиморфизмами в генах предрасположенности (*SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1*, *LINGO1*, *LINGO2*), определив молекулярно-генетические основы развития БП в российской популяции.
- 2) Исследовать выборку пациентов с атипичным паркинсонизмом (ДТЛ, МСА, ПНП и КБД) на носительство мутаций/полиморфизмов в наиболее значимых генах, ассоциированных с данными заболеваниями (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*, *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*, *NPC1*), с оценкой генетической структуры этих заболеваний в сопоставлении с первичным паркинсонизмом.
- 3) Оценить возможности разработанной оригинальной NGS-панели нейродегенеративных заболеваний в молекулярной диагностике первичного паркинсонизма, исследовав серию случаев с неуточненной генетической формой заболевания.
- 4) Провести клинико-генетические сопоставления в случаях паркинсонизма с выявленным носительством мутаций и значимых полиморфизмов.
- 5) Изучить нарушение цветовосприятия при БП с помощью цветовых зрительных вызванных потенциалов и выделить основные диагностические биомаркеры БП, связанные с данным методом исследования.
- 6) Определить изменения сетчатки при БП с помощью оптической когерентной томографии и выделить основные параметры, значимые для диагностики заболевания.

- 7) Оценить долговременную динамику ультразвуковых биомаркеров и, в первую очередь, гиперэхогенности черной субстанции, у пациентов с БП спустя 5-летний интервал времени.
- 8) Оптимизировать критерии диагностики продромальной стадии БП в отобранной группе риска данного заболевания, оценить встречаемость и динамику продромальных биомаркеров БП при ≥ 5 -летнем периоде наблюдения, а также уточнить возможности популяционного скрининга лиц, имеющих предрасположенность к развитию БП.

Научная новизна

В работе впервые в российской популяции на сплошной невыборочной серии пациентов с первичным паркинсонизмом оценен спектр мутаций в большом числе генов моногенных форм БП, при этом установлено, что общая частота генетических случаев заболевания составляет до 19,4%. Впервые для изученной популяции представлены клинические описания случаев носительства мутаций в генах *SNCA* и *PINK1*, детально исследованы фенотипические особенности носительства трех мажорных мутаций в гене *GBA*.

Впервые в российской популяции определены ассоциативные связи БП с микросателлитными повторами в генах *SNCA*, *ATXN2*, *FMR1*, для некоторых из ассоциированных полиморфизмов выделены характерные клинические паттерны. Проведено репликативное исследование генетических связей БП с эссенциальным тремором (патогенетически и фенотипически близким с БП заболеванием), которое не подтвердило ассоциации с полиморфизмами генов *LINGO1* и *LINGO2*.

Изучен широкий спектр генов при синдромах атипичного паркинсонизма, при этом подтверждена высокая частота встречаемости гаплотипа H1 гена *MAPT* в случаях ПНП и КБД. Приведено первое в российской популяции описание носительства мутаций *SNCA* при фенотипе МСА и случай носительства мутации *MAPT* с клиническими проявлениями в виде первичной прогрессирующей апраксии речи.

Впервые подробно исследован характер нарушения цветовосприятия при БП с помощью цветовых зрительных вызванных потенциалов при различных контрастных паттернах. Изучена связь нарушения цветовосприятия с рядом клинических характеристик. Уточнены структурные изменения сетчатки при БП и их диагностическая значимость при данном заболевании. Подтверждена стабильность площади гиперэхогенности черной субстанции на этапе моторных нарушений БП.

Подробно изучены встречаемость и взаимосвязь продромальных маркеров (выявляемых при исследовании цветовых вызванных потенциалов, оптической когерентной томографии, саккадометрии, ольфактометрии) у здоровых лиц в отобранной группе с факторами риска БП – гиперэхогенностью черной субстанции и/или паркинсоническими мутациями. В группе риска у лиц с предположительно продромальной стадией БП установлена большая частота встречаемости гипосмии, выявлена связь депрессии с легкой паркинсонической симптоматикой и с расстройством поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз, показана связь патологического истончения сетчатки с удлинённой латентностью Р100 на зелено-черный цветовой паттерн. Показано накопление продромальных маркеров с возрастом, в том числе при динамическом наблюдении группы риска.

Теоретическая и практическая значимость

Установлены наиболее часто встречающиеся мутации при БП в российской популяции, первоочередное исследование которых должно служить основой для проведения ДНК-диагностики. Определены фенотипические особенности, характерные для носительства исследованных мутаций/полиморфизмов, что также помогает в выборе последовательности процедур ДНК-анализа. Показано, что некоторые фенотипы атипичного паркинсонизма (ДТЛ, МСА) могут иметь общую генетическую природу со случаями первичного паркинсонизма.

Разработанная диагностическая панель для секвенирования нового поколения, включающая 300 генов, может использоваться для определения молекулярного

диагноза наиболее сложных случаев паркинсонизма, особенно ранних и семейных форм, а также при комплексных и «смежных» фенотипах заболевания. Показано, что для первичного паркинсонизма важно рассмотрение не только патогенных вариантов, но и вариантов с неопределенной значимостью при поиске каузальных мутаций.

Обоснована возможность использования цветовых зрительных вызванных потенциалов с целью диагностики зрительной дисфункции при БП, особенно до лечения противопаркинсоническими препаратами. Приведены и рассчитаны разграничительные значения для используемых методов биомаркерной диагностики БП: транскраниальной сонографии, ольфактометрии, цветовых зрительных потенциалов, оптической когерентной томографии, саккадометрии. При ранжировании методов высокая диагностическая информативности подтверждена для транскраниальной сонографии и ольфактометрии.

Показана принципиальная возможность выявления лиц с высоким риском БП, имеющих большее количество продромальных маркеров, среди клинически здоровых индивидуумов с гиперэхогенностью черной субстанции и носительством паркинсонических мутаций. Накопление продромальных патологических маркеров во времени подчеркивает важность динамического наблюдения за отобранной группой риска и является основой для диагностики продромальной стадии БП.

Методология и методы исследования

Объектом исследования явились пациенты с экстрапирамидной патологией, в первую очередь, с первичным паркинсонизмом, а также клинически здоровые лица контрольной группы.

Обследование испытуемых включало неврологический осмотр, тестирование по ряду шкал. Из лабораторно-инструментальных методов были использованы в работе: молекулярно-генетическое тестирование, транскраниальная сонография, ольфактометрия, цветовые зрительные вызванные потенциалы, оптическая когерентная томография, полисомнография, саккадометрия.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Для российской популяции наиболее значимыми в молекулярно-генетической структуре первичного паркинсонизма являются гены *GBA*, *LRRK2* и *PARK2*, а общая доля моногенных форм БП среди всех случаев первичного паркинсонизма достигает 19,4%.

2. Предрасполагающую роль в формировании генетического риска развития БП в российской популяции играют микросателлитные полиморфизмы в генах *SNCA*, *ATXN2*, *FMR1*.

3. Секвенирование нового поколения с использованием разработанной нами NGS-панели, включающей 300 генов нейродегенеративных заболеваний, позволяет определять молекулярно-генетический диагноз наиболее сложных случаев паркинсонизма, особенно ранних и семейных форм, а также при комплексных и «смежных» фенотипах заболевания.

4. Для БП характерны функциональные и структурные изменения в зрительной системе, в том числе на ранней стадии нейродегенеративного процесса. Они могут быть объективизированы с помощью зрительных вызванных потенциалов и оптической когерентной томографии, что позволяет использовать данные исследовательские технологии в качестве биомаркеров БП.

5. Гиперэхогенность черной субстанции, выявляемая у пациентов с БП, ввиду ее стабильности на протяжении длительного (≥ 5 лет) временного интервала может быть использована для формирования группы риска по данному заболеванию.

6. У клинически здоровых лиц с гиперэхогенностью черной субстанции и у носителей мутаций в генах паркинсонизма статистически значимо чаще, чем в общей популяции, выявляются взаимосвязанные продромальные маркеры БП, которые накапливаются с течением времени и с возрастом.

7. В работе предложена стратегия популяционного скрининга лиц, предрасположенных к развитию БП, включая выделение групп риска, идентификацию продромальной стадии, определение разграничительных значений для ряда методов биомаркерной диагностики (транскраниальной сонографии, ольфактометрии, цветовых зрительных потенциалов, оптической когерентной томографии, саккадометрии), а также рекомендации по динамическому наблюдению для своевременной диагностики моторной стадии заболевания и максимально раннего назначения симптоматической и, в будущем, патогенетической терапии.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в разработке и выполнении протокола исследования, постановке цели и задач исследования, обосновании выводов и практических рекомендаций. Самостоятельно были проведены полный клинический осмотр каждого участника исследования, координация и организация исследования, сбор результатов. Самостоятельно проведены последующая обработка и анализ полученных данных. Аналитическая и статистическая обработка, обобщение полученных данных выполнены непосредственно автором. Подготовлены статьи с последующей публикацией в научных журналах.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Достоверность полученных данных определяется достаточным количеством наблюдений, четкой постановкой цели и задач, использованием в работе современных молекулярно-генетических, нейрофизиологических, нейровизуализационных и клинических методов исследования, применением адекватных, в соответствии с поставленными задачами, методов статистического анализа.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 77 научных работ, в том числе 1 монография, 1 методическое руководство, 47 статей в журналах и сборниках, включая 5 статей в международных зарубежных журналах и 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для размещения научных публикаций; получено 3 патента.

Апробация результатов исследования

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании сотрудников первого, второго, третьего, пятого, шестого неврологических отделений, отделения нейрореабилитации и физиотерапии, научно-консультативного отделения с лабораторией нейроурологии и уродинамики, отделения лучевой диагностики, лаборатории клинической нейрофизиологии ФГБНУ НЦН 04 июня 2018 г.

Материалы диссертации представлены и обсуждены на следующих конференциях: Конгресс по болезни Паркинсона и расстройствам движений (Москва, 2011), International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Торонто, 2011), Всероссийский съезд неврологов с международным участием (Нижний Новгород, 2012), Расстройства движения в молодом возрасте (Москва, 2012), Дегенеративные и сосудистые заболевания нервной системы (Санкт-Петербург, 2013), Функциональная диагностика (Москва, 2013), Конгресс по болезни Паркинсона и расстройствам движений (Москва, 2014), Функциональная асимметрия, нейропластичность, нейродегенерация (Москва, 2014), Съезд ВОГиС (Ростов-на-Дону, 2014), International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Стокгольм, 2014), International Conference on Frontotemporal Dementias (Ванкувер, 2014), Съезд российского общества медицинских генетиков (Санкт-

Петербург, 2015), Актуальные проблемы современной неврологии и психиатрии (Санкт-Петербург, 2015), EFNS Congress (Берлин, 2015), International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Сан-Диего, 2015), NGS в медицинской генетике (Суздаль, 2016), International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Берлин, 2016), EAN (Копенгаген, 2016), Биомедицина-2016 (Новосибирск, 2016), Конгресс по болезни Паркинсона и расстройствам движений (Москва, 2017).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 317 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, глав, отражающих результаты собственных исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы (26 отечественных и 366 зарубежных источников), приложений. Работа содержит 37 таблиц и 62 рисунка. Приведен список собственных работ автора, подготовленных по теме диссертации.

ГЛАВА 1.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Болезнь Паркинсона (БП) является вторым по частоте нейродегенеративным заболеванием человека. Распространенность БП по разным данным составляет 100–250 случаев на 100 000 населения, или 2–4% среди лиц старше 65 лет. Согласно данным ВОЗ, общее число больных БП в мире составляет около 3,7 млн., а ежегодно регистрируется свыше 300 тыс. новых случаев болезни. Предполагается, что в ближайшие годы в связи со «старением населения» число людей с БП значительно увеличится, что приведет к увеличению экономических затрат национальных систем здравоохранения и семей пациентов. Таким образом, БП входит в разряд не только медицинских, но и значимых социально-экономических проблем [Левин О.С., Федорова Н.В., 2006; Литвиненко И.В., 2010; Шток В.Н. с соавт., 2002; Jankovic J., Tolosa E., 2007].

Наиболее характерным и ярким проявлением БП являются двигательные нарушения. К ним относятся гипокинезия, мышечная ригидность, тремор покоя и постуральная неустойчивость. Из них облигатным клиническим признаком является гипокинезия, которая может сочетаться с любым из перечисленных нарушений [Федорова Н.В., 2016]. Существуют ряд разработанных критериев для постановки диагноза «БП», наибольшее распространение получили критерии «Parkinson's Disease Society Brain Bank», в основу которых заложены, главным образом, двигательные проявления заболевания (представленные в приложении 1). БП не ограничивается только двигательными нарушениями, в ее клинический спектр входит и вполне определенный комплекс немоторных проявлений, которые стали тщательно изучаться только в последнее десятилетие [Chaudhuri K.R. Nealy D.G. et al., 2006; Chaudhuri K.R., Naidu Y., 2008]. Они представлены сенсорными, диссомническими, когнитивными, эмоционально-аффективными, поведенческими, психотическими, вегетативно-висцеральными расстройствами.

Причиной моторных нарушений признана постепенная дегенерация нейронов черной субстанции. Считается, что манифестация моторных нарушений БП знаменует собой гибель более 70% нигральных нейронов и снижение уровня дофамина в стриатуме более чем на 80%.

Генетика паркинсонизма

БП является мультифакторным заболеванием, в этиологию которого вносят вклад несколько составляющих, среди них выделяют генетическую предрасположенность, факторы окружающей среды и возрастные изменения в головном мозге и в других системах организма [Le W. et al., 2009; Sulzer D., 2007].

На сегодняшний день идентифицировано 22 генетических локуса, ассоциированных с развитием так называемых моногенных форм паркинсонизма и обозначаемых акронимом PARK [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2007; Klein C. et al., 2009; Lesage S., Brice A., 2009]. Кроме моногенных форм, также идентифицированы гены, предрасполагающие к развитию БП (подробнее в приложении 2). Для некоторых генов определены их белковые продукты, а для некоторых белков – установлены их функции.

Первым открытым локусом, ассоциированным с БП, стал локус, содержащий ген α -синуклеина (*SNCA*, локус PARK1). Белок синуклеин является ключевым в патогенезе БП: именно с патологической агрегацией α -синуклеина связывают образование патогномичных телец Леви в дофамин-продуцирующих нигральных нейронах [Mosharov E.V. et al., 2009]. Известно, что α -синуклеин участвует везикулярном транспорте в нигростриарных пресинаптических окончаниях, хранении и компартментализации дофамина. Этот небольшой, состоящий из 140 аминокислот, растворимый белок, имеющий склонность к α -спиральной укладке, при определенных обстоятельствах может агрегировать, создавая сначала β -складчатую структуру, затем димеры, олигомеры, фибриллы и агрегаты [Stefanis L., 2012]. При этом считается, что нейротоксичностью обладают олигомерные формы α -синуклеина. Есть указания на прионные свойства данного белка [Desplats P. et al., 2009; Olanow C.W., Prusiner S.B. et al., 2009].

Кроме α -синуклеина в тельцах Леви обнаруживают белки, задействованные в убиквитин-протеасомной системе, а также сам убиквитин. Функция убиквитин-протеасомной системы состоит в селективном протеолизе («санация» клетки), поэтому нарушение ее функционирования влечет за собой недостаточную деградацию аномальных белков и их накопление [Tai H.-C., Schuman E.M. 2008]. При БП недостаточность убиквитин-протеасомной системы подтверждается обнаружением мутаций в генах *PRKN* или *PARK2* (белок паркин,) и *UCH-L1* (локус *PARK5*). Первый белок – паркин – обладает E3-лигазной активностью и задействован в полиубиквитинировании; второй является убиквитин-C-концевой гидролазой [Cook C., Petrucelli L., 2009]. Кроме нарушений в убиквитин-протеасомной системе при БП показаны нарушения в лизосомальном пути деградации белков, т.е. в процессах аутофагии и митофагии. В частности, лизосомальная недостаточность при БП подтверждается значимостью мутаций в гене *GBA*, кодирующем лизосомальный фермент глюкоцереброзидазу, и в гене *ATP13A2* (локус *PARK9*), кодирующем лизосомальную АТФазу [Levy O.A. et al., 2009]. Перечисленные нарушения в убиквитин-протеасомной системе, процессах аутофагии и лизосомальном пути деградации, а также накопление α -синуклеина отражают основной механизм молекулярного патогенеза БП – протеолитический стресс и нарушение процессинга нейрональных белков.

Широко обсуждается роль в патогенезе БП митохондриальной дисфункции и ассоциированных с ней мутаций в генах *PINK1* (локус *PARK6*), *DJ1* (*PARK7*), *LRRK2* (*PARK8*), *PARK2*, *HTRA2* (*PARK13*). Общеизвестно, что митохондриальная дисфункция ведет к недостаточной продукции АТФ, окислительному стрессу, запуску проапоптотических механизмов [Malkus K.A. et al., 2009]. Также с возрастом имеется тенденция к накоплению мутаций митохондриальной ДНК. Кроме перечисленных универсальных патологических механизмов для БП показана специфическая недостаточность I комплекса дыхательной цепи митохондрий. Иггирование дыхательной цепи такими экзотоксинами, как, например, МРТР и ротенон, воспроизводит все признаки БП, будь то клинические, патофизиологические, нейрохимические или патоморфологические [Schipira

А.Н.В., 2008]. Интересно, что агрегированный α -синуклеин также может препятствовать нормальному функционированию митохондриального комплекса I [Levy O.A. et al., 2009]. Все перечисленные факты подчеркивают особое место митохондрий в патогенезе БП.

Окислительный стресс играет одну из центральных ролей в картине БП и может рассматриваться двояко: как в качестве следствия-«эффектора», так и в качестве причины-«триггера». Так, например, непосредственным триггером являются мутации в гене *DJ1*, которые приводят к нарушению протективного ответа на окислительный стресс. В то же время при любом из вышеперечисленных патогенетических механизмов окислительный стресс является эффектом. При любом варианте патогенеза БП наблюдаются маркеры окислительного повреждения: повышенный уровень перекисного окисления липидов, повреждение ДНК, окисление белков, снижение содержания глутатиона, повышенная концентрация железа [Malkus K.A. et al., 2009; Olivares D. et al., 2009].

Таким образом, комплексный патологический процесс, начавшийся с одного события, может каскадом индуцировать другие реакции и приводить, в конечном итоге, к сравнительно единообразной картине нейродегенерации, тем самым значительно осложняя выявление закономерностей и причинно-следственных связей в патогенезе БП.

Как уже было описано выше, БП является генетически чрезвычайно гетерогенным заболеванием. Наследуемые формы могут, по некоторым оценкам, составлять до 20% всех случаев БП [Klein C. et al., 2007; Singleton A.B. et al., 2013]. Мутации в тех или иных генах чаще обнаруживаются при раннем развитии заболевания и в семейных случаях [Corti O. et al., 2011]. Среди выявленных генов особого внимания заслуживают мутации в генах *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *LRRK2* и *GBA* в силу их большей значимости в структуре случаев БП [Bras J.M., Singleton A., 2009; Lesage S., Brice A., 2009; Sidransky E. et al., 2009].

Многочисленные исследования – начиная от выявления ответственного за развитие заболевания локуса *PARK1* в итальянской семье с аутосомно-доминантной формой паркинсонизма [Polymeropoulos M.H. et al., 1996] до

современных полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) – убедительно показали, что ген α -синуклеина (*SNCA*), локализованный на хромосоме 4q21.3-q22, играет большую роль в развитии БП и других нейродегенеративных синуклеинопатий. Миссенс-мутации в гене *SNCA* [Polymeropoulos M.H. et al., 1997; Fredenburg R.A. et al., 2007], а также изменение дозы гена (дупликация и трипликация) ассоциированы с аутосомно-доминантным паттерном наследования БП [Miller D.W. et al., 2004]. Клинически случаи носительства мутаций в гене *SNCA* могут быть представлены как классическим фенотипом БП с поздним началом, так и не вполне типичными случаями с выраженными когнитивными нарушениями, зрительными галлюцинациями, ранним началом, тяжелой вегетативной недостаточностью [Deng H. et al., 2018].

Кроме мутаций в самом гене, важную роль играет полиморфный регион Rep1, локализованный в промоторной области гена *SNCA*. Показано, что данный регион ассоциирован со спорадическими формами БП [Maraganore D.M. et al., 2006]. Полиморфизм *SNCA*-Rep1 состоит из микросателлитных повторов (TC)(TT)(TC)(TA)(CA), при этом число динуклеотидных повторов TC, TA и CA может варьировать; наиболее частые последовательности (TC)¹⁰(TT)¹(TC)¹⁰(TA)⁸(CA)¹⁰ и (TC)¹⁰(TT)¹(TC)¹⁰(TA)⁸(CA)¹¹ были обозначены как аллели 0 (259) и 1 (261) [Chiba-Falek O. et al., 2001]. Частота встречаемости аллелей полиморфизма *SNCA*-Rep1 в различных популяциях существенно различается: в азиатских популяциях соотношение аллелей 259, 261 и 263 составляет, соответственно, 40%, 33% и 25% [Mizuta I. et al., 2002], тогда как в европейских популяциях – 22–32%, 58–72% и 3–9% [Farrer M. et al., 2001]. По результатам мета-анализа исследований европейских популяций, носительство аллеля Rep1-263 связано с увеличением риска развития паркинсонизма [Maraganore D.M. et al., 2006]. В ряде исследований была выявлена связь между носительством аллеля 263 и уменьшением возраста начала заболевания, а также тенденцией к развитию депрессии и увеличению тяжести заболевания [Hadjigeorgiou G.M. et al., 2006; Pankratz N. et al., 2009]. В модельных экспериментах установлена ассоциация полиморфных вариантов *SNCA*-Rep1 с различиями в регуляции транскрипции

SNCA; при этом показано что уровень *SNCA*-mRNA и белка α -синуклеина в клетках мозга достоверно повышается для аллелей 261 и 263 по сравнению с Rep-259 [Cronin K.D. et al., 2009; Linnertz C. et al., 2009].

В настоящее время принято считать, что мутации в гене *PARK2* (белок паркин) являются самой частой причиной развития БП. Было показано, что мутации в гене *PARK2* встречаются при аутосомно-рецессивном паркинсонизме у 20–50% пациентов, при спорадических случаях с ранним началом заболевания – у 2–18%, а при спорадических случаях с поздним началом – до 11%. [Dawson T.M., Dawson V.L., 2010; Illarioshkin S.N. et al., 2003]. Ген *PARK2* располагается в локусе 6q25.2-q27 и состоит из 12 экзонов, разделенных протяженными интронами. На сегодняшний день описано около 120 различных мутаций в гене *PARK2*, среди них основную часть составляют миссенс-мутации и мутации с изменением копийности экзонов (делеции, дупликации и трипликации). Предполагают, что причиной изменения копийности экзонов является неравновесный кроссинговер по *Alu*-повторам, расположенным в интронах гена. В различных популяциях мира частота экзонных делеций и дупликаций составляет от 33% до 67% от всех мутаций гена *PARK2* [Shadrina M.I. et al., 2007]. Ген *PARK2* кодирует белок паркин, который состоит из 465 аминокислотных остатков. Паркин является E3-убиквитин-лигазой. Кроме того, он способен препятствовать проапоптотическому каскаду посредством репрессии транскрипции белка p53, участвует в функционировании митохондрий, стимулируя репаративные процессы в митохондриальной ДНК и защищая митохондриальный геном от окислительного стресса, то есть паркин выступает в качестве комплексного нейропротекторного белка [Rothfuss O. et al., 2009].

Среди важных клинических и морфологических особенностей паркинопатий следует отметить раннее начало, сравнительно медленное прогрессирование, частое развитие пирамидного синдрома и статокINETического тремора рук, дневные флюктуации выраженности симптомов, высокую чувствительность к леводопе и быстрое появление дискинезий даже на небольших дозах препарата, редкое развитие вегетативных и когнитивных нарушений, отсутствие на секции телец Леви в дегенерирующих нейронах [Иллариошкин С.Н., 2006; Яхно Н.Н. с

соавт., 1998]. Считается, что гетерозиготное носительство мутаций в *PARK2* также может приводить к развитию заболевания в среднем и пожилом возрасте по механизму гаплонедостаточности (пенетрантность может составлять до 25%) [Klein C. et al., 2007].

Локус *PARK6* (ген *PINK1*) был идентифицирован на хромосоме 1p35-p36 при исследовании большой сицилийской семьи с аутосомно-рецессивным типом наследования паркинсонизма [Valente E.M. et al., 2001]. На сегодняшний день описано более 100 мутаций в гене *PINK1*. Клиническая картина *PINK1*-ассоциированного паркинсонизма охарактеризована как леводопа-чувствительный паркинсонизм с ранним началом, медленным прогрессированием и леводопа-индуцированными дискинезиями [Deng H. et al., 2018]

Еще одной распространенной формой первичного паркинсонизма является аутосомно-доминантный *PARK8*-паркинсонизм, обусловленный мутациями в гене *LRRK2*. Ген *LRRK2* (Leucine-rich repeat kinase 2) картирован в области 12q12 и состоит из 51 экзона [Santpere G., Ferrer I., 2009]. В настоящее время в нем выявлено более 50 различных мутаций, среди которых основную часть составляют миссенс-мутации. Самой часто встречающейся мутацией является нуклеотидная замена 6055G>A в 41-м экзоне (аминокислотная замена G2019S); так, в европейской популяции мутация G2019S встречается с частотой 0,4–10% в зависимости от наличия или отсутствия семейного анамнеза [Berg D., Schweitzer K.J. et al., 2005]. Ген *LRRK2* кодирует белок дардарин. Данный белок, содержащий 2527 аминокислотных остатков, является высоко консервативной цитоплазматической ГТФ-зависимой киназой. Имеются данные о том, что дардарин может взаимодействовать с паркином, принимать участие в процессинге белков, контроле везикулярного транспорта, росте и ветвлении аксонов и функционировании аппарата Гольджи, лизосом и митохондрий [Santpere G., Ferrer I., 2009]. Доказано, что патогенетический механизм развития БП при мутациях в *LRRK2* реализуется через патологическое усиление киназной активности дардарина. В большинстве случаев по фенотипическим проявлениям *PARK8*-паркинсонизм близок к обычной клинической картине БП с поздним началом заболевания и с тельцами Леви на

секции [Khan N.L. et al., 2005]. Пенетрантность мутаций *LRRK2* является возраст-зависимой и составляет до 30% на пятом десятилетии жизни, около 50% на шестом и 75% на седьмом. При этом описаны единичные случаи асимптомного гомозиготного носительства G2019S у лиц старше 70 лет [Klein C. et al., 2007; Lesage S., Brice A., 2009].

Рядом исследований была показана связь БП с мутациями в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*) – известного лизосомального фермента [Mata I.F. et al., 2008; Neumann J. et al., 2009; Nichols W.C. et al., 2009; Sato C. et al., 2005; Sidransky E., Lopez G., 2012; Swan M., Saunders-Pullman R., 2013]. Данный ген больше известен по аутосомно-рецессивной болезни Гоше, вызываемой мутациями обоих аллелей *GBA*. Изучение ассоциации БП с болезнью Гоше началось с клинических наблюдений: были отмечены случаи коморбидности и частая встречаемость БП в семьях, отягощенных болезнью Гоше [Gan-Or Z. et al., 2008; Goker-Alpan O. et al., 2008]. Ген *GBA* расположен в хромосомной области 1q21 и включает в себя 11 экзонов. Рядом с геном идентифицирован псевдоген (*GBAP*), который на 96% гомологичен гену *GBA*, что значительно затрудняет детекцию мутаций. На сегодня идентифицировано почти 300 мутаций гена *GBA*, включая миссенс, нонсенс-мутации, вставки, делеции, многие из которых приводят к потере активности фермента. Большинство мутаций находится в области 8–11 экзонов, и только половина из них генетически значима для случаев болезни Гоше [Hruska K.S., 2008]. При проведении многоцентрового исследования частота встречаемости мутаций *GBA* при БП составила 7%, тогда как в общей популяции она составляет около 1%, то есть мутации в гене *GBA* были признаны значимым фактором риска развития БП. Также были идентифицированы наиболее частые мутации – N370S и L444P [Sidransky E. et al., 2009; Liu J., Zhang H.-X., 2013; Winder-Rhodes S.E. et al., 2013]. Наиболее часто среди всех этнических групп встречаются миссенс-мутации: N370S («мягкая» мутация, которая приводит к незначительному уменьшению β-глюкоцереброзидазной активности) и L444P («тяжелая» мутация, в разы увеличивающая риск развития БП). Клинически *GBA*-ассоциированный паркинсонизм согласно ряду исследований характеризуется более ранним началом, когнитивными

нарушениями, психотическими эпизодами, гипосмией и хорошим ответом на леводопу, хотя другие работы это не подтверждают [Sidransky E., Lopez G., 2012]. Патогенез при GBA-паркинсонизме связывают с недостаточностью глюкоцереброзидазы, которая обеспечивает разрушение глюкозилцерамидов внутри лизосом, что также нарушает дегредацию альфа-синуклеина, приводя к его внутриклеточному накоплению [Sidransky E., Lopez G., 2012].

Как уже было сказано, моногенные формы паркинсонизма объясняют только часть случаев БП. В патогенезе других случаев вероятно играет роль полигенное влияние. Гены, предрасполагающие к развитию БП, находят среди генов других нейродегенеративных заболеваний, в клинической картине которых часто могут присутствовать явления паркинсонизма.

Известно, что спиноцеребеллярная атаксия 2 (СЦА2) типа может проявляться признаками паркинсонизма. К данному заболеванию приводит экспансия тринуклеотидных повторов гена *ATXN2*, располагающегося на хромосоме 12q24.1 и состоящего из 30 экзонов. Первый экзон содержит полиглутаминовый тракт (CAG/CAA; полиQ), подверженный динамическим мутациям [Imbert G. et al., 1996]. В норме число tandemных копий CAG-повторов варьирует от 14 до 28. «Полная» экспансия тринуклеотидных повторов (число CAG-копий больше 34) приводит к развитию прогрессирующей аутосомно-доминантной СЦА2 [Geschwind D.H. et al., 1997]. «Промежуточный» интервал 28–33 повтора представляет собой «серую зону», которая, увеличивает риск развития целого ряда нейродегенеративных заболеваний: кроме БП, это еще боковой амиотрофический склероз (БАС), ПНП, МСА, КБД [Furtado S. et al., 2004; Infante J. et al., 2004; Nanetti L. et al., 2009; Lattante S. et al., 2014; Wang M.D. et al., 2014; Wang L. et al., 2015].

Ген *ATXN2* кодирует белок атаксин-2 и экспрессируется в спинном и головном мозге, сердце, печени, скелетной мускулатуре, поджелудочной железе и плаценте. Известно участие гена *ATXN2* и его продукта, атаксина-2, в процессах клеточного деления, формирования актиновых филаментов, апоптоза, клеточного сигналинга. Все описанные функции осуществляются путем контроля транскрипции мРНК в

ядрах клеток; таким образом, именно нарушение процессов транскрипции и трансляции является одним из ведущих звеньев патогенеза нейродегенеративных нарушений, вызванных экспансией полиQ [Lastres-Becker I. et al., 2008].

Подобно гену *ATXN2*, вызывающему при полной экспансии СЦА2, а при промежуточной – предрасполагающему к другим нейродегенеративным заболеваниям, плейотропностью обладает и ген *C9orf72*. Экспансия GGGGCC-повторов в гене *C9orf72* является причиной развития известных моногенных форм БАС и лобно-височной деменции [Dejesus-Hernandez M. et al., 2011]. В то же время обсуждается, что промежуточная экспансия *C9orf72* ассоциирована с повышенным риском развития БП [Cooper-Knock J., 2013]. Основной мутацией в гене *C9ORF72* является экспансия гексануклеотидных повторов GGGGCC, которая располагается в первом интроне. Экспансия считается патологической при числе копий гексануклеотидных повторов выше 30. Данная мутация распространена в европейской популяции, с наибольшей частотой встречаемости в Финляндии, при этом она достаточно редко встречается в азиатских популяциях [Cooper-Knock J. et al., 2014]. Частота встречаемости экспансии *C9ORF72* среди семейных случаев ЛВД составляет 3–48%, среди семейных случаев БАС – 3–46% [Liu Y. et al., 2014; Wollacott I.O.C., Mead S., 2014].

Наиболее часто в общей популяции встречаются 2, 5 и 8 копий гексануклеотидных повторов в гене *C9ORF72*. Верхняя граница нормального количества повторов до настоящего времени пока точно не установлена, так же как и границы промежуточного количества повторов («серой зоны»). По некоторым данным, в качестве промежуточных могут рассматриваться аллели от 20 до 30 гексануклеотидных повторов, по другим данным – свыше 8, а патологическими – свыше 30. Бесспорно патологической считается экспансия от 400 до > 4400 гексануклеотидных повторов [Wollacott I.O.C., Mead S., 2014].

Обсуждаются три возможных взаимодополняющих молекулярных механизма, через которые реализуется патологическое действие экспансии в гене *C9ORF72*: 1) гаплонедостаточность; 2) образование РНК-фокусов с секвестрацией РНК-связывающих белков; 3) RAN-зависимая трансляция области экспансии,

приводящая к образованию белков, состоящих из повторов [Almeida S. et al., 2013; Ling S.C. et al., 2013; Yokoyama J.S. et al., 2014].

Кроме БАС и лобно-височной деменции описаны случаи встречаемости патологической экспансии при других заболеваниях, таких как болезнь Альцгеймера, оливопонтocerebellарная дегенерация, кортикобазальный синдром и фенокопии болезни Гентингтона [Liu Y. et al., 2014; Yokoyama J.S. et al., 2014; Cooper-Knock J. et al., 2014]. Дискутабельна значимость «промежуточного» аллеля в развитии предрасположенности к БП: ряд работ подтверждает такую ассоциацию [Cannas A. et al., 2015; Jiao B. et al., 2013; Nuytemans K. et al., 2013], другие же ее не находят [Xi Z. et al., 2012; Nuytemans K. et al., 2014].

Еще одним геном с микросателлитными повторами и плейотропным действием является *FMRI*. Экспансия тринуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой, промоторной области гена *FMRI* (локус Xq27.3) приводит к различным клиническим нарушениям, в том числе к развитию паркинсонизма и предрасположенности к БП. Существует четыре основных состояния данного хромосомного участка, характеризующиеся различным количеством CGG копий. 1) Нормальные аллели содержат меньше 30 повторов. 2) Полная мутация – более 200 CGG-повторов, приводит к появлению синдрома ломкой X-хромосомы (FXS), характеризующегося в первую очередь проявлением умственной отсталости в детском возрасте. 3) При премутации – от 55 до 200 CGG-повторов – развивается синдром атаксии/тремора, ассоциированного с ломкой X-хромосомой (FXTAS). Его основными клиническими особенностями являются мозжечковая атаксия, интенционный тремор, полиневропатия и паркинсонизм. 4) Промежуточное состояние («серая зона» экспансии), от 39 до 55 CGG-повторов, считается нестабильным и ассоциируется с риском развития паркинсонизма [Monaghan K.G. et al., 2013, Loesch D.Z. et al., 2013].

Так же как и для гена *C9orf72*, предполагается несколько механизмов, через которые реализуется патологическое действие экспансии *FMRI*: 1) RAN-трансляция с синтезом укороченного белка, содержащего полиглициновый тракт; 2) секвестрация белков экспансией в мРНК; 3) запуск механизмов ответа на

повреждение ДНК (DNA damage response, DDR) в результате измененной транскрипции с образованием R-петли [Hagerman R.J., Hagerman P., 2016]. Для премутации и промежуточной зоны с повышением количества повторов линейно увеличивается уровень метилирования экспансии и уровень мРНК [Pretto D.I. et al., 2014]. В экспансии могут обнаруживаться AGG-вставки, с которыми она становится более стабильной при передаче из поколения в поколение; в случае вставок структура экспансии обычно выглядит следующим образом: (CGG)₉AGG(CGG)₉AGG(CGG)_n [Nolin S.L. et al., 2015; Yrigollen C.M. et al., 2011; Yrigollen C.M. et al., 2012].

Многочисленными работами в различных популяциях была показана ассоциативная связь между промежуточной экспансией и БП. Так, например, в иранской популяции встречаемость «серой зоны» среди пациентов с БП составила 7,14% vs 1,57% в контрольной группе [Entezari A. et al., 2016]. В китайской популяции – 3,1% vs 0,3%, при этом среди женщин процент встречаемости был значительно выше – 6,8% [Zhang X. et al., 2012]. В исследовании, проведенном в Австралии, у мужчин, страдающих БП, – 4,8% vs 1,5% в контрольной группе [Loesch D.Z. et al., 2013]. В исследовании, проведенном в США, у женщин, страдающих БП, – 11% vs 4,4% в контрольной группе [Hall D.A. et al., 2011]. Также показано, что премутация и «серая зона» могут клинически проявляться не только БП, но и атипичным паркинсонизмом, деменцией с мнестическими нарушениями, атипичным эссенциальным тремором [Debrey S.M. et al., 2016; Paucar M. et al., 2016].

Эссенциальный тремор (ЭТ) является клинически и патогенетически близким к БП заболеванием. В ряде работ показаны повышенный риск развития БП у пациентов с ЭТ, повышенная частота сочетания ЭТ и БП в семьях, наличие отложений α-синуклеина в стволе головного мозга в части случаев ЭТ, а также нередко встречающийся по данным нейровизуализационных исследований дофаминергический дефицит на «продвинутых» стадиях ЭТ [Benito-Leon J., 2014].

В исследованиях ассоциаций наибольшее количество данных было получено по влиянию вариантов гена *LINGO1* на риск ЭТ и БП. Белок, кодируемый *LINGO1*,

экспрессируется только в ЦНС и является ко-рецептором рецептора Nogo-66 (NgR1). Активация комплекса NgR1/p75/LINGO1 приводит к ингибированию дифференцировки олигодендроцитов, а также процессов миелинизации и регенерации аксонов. Кроме того, гиперэкспрессия *LINGO1* ингибирует путь передачи сигнала от рецептора эпидермального ростового фактора (EGFR), что приводит к подавлению пролиферации, миграции и выживаемости нейрональных стволовых клеток. Таким образом, *LINGO1* является негативным регулятором нейрональной выживаемости и может участвовать в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Так, было показано, что экспрессия *LINGO1* повышена в нейронах черной субстанции у пациентов с БП и на моделях БП у животных [Inoue H., et al., 2007]. В свою очередь, ингибирование *LINGO1* на модели БП у мышей повышает выживаемость дофаминергических нейронов и снижает выраженность двигательных нарушений [Inoue H., et al., 2007].

Семейство LINGO включает 4 гена: *LINGO1–LINGO4*. Исключительно в клетках нервной ткани экспрессируются только *LINGO1* и *LINGO2*. Ген *LINGO2* является паралогом *LINGO1* и охарактеризован существенно хуже. Учитывая высокую степень гомологии белковых продуктов этих двух генов (61%), оба гена – *LINGO1* и *LINGO2* – могут рассматриваться как кандидатные гены для ЭТ и БП.

В действительности, полученные в последние годы научные данные свидетельствуют об ассоциации гена *LINGO1* (leucine-rich repeat and Ig domain containing 1 gene) и его паралога *LINGO2* с повышенным риском БП и ЭТ [Vilarino-Guell C., Ross O.A. et al., 2010, Vilarino-Guell C., Wider C. et al., 2010, Wu Y-W., Prakash K.M. et al, 2011, Wu Y-W., Rong T.Y. et al, 2011, Deng H. et al., 2012]. Аналогичных исследований ассоциации *LINGO1/LINGO2* на российской популяции больных с ЭТ и БП до сих пор не проводилось.

Таким образом, изучение генетики БП позволило выделить определенные клинические особенности носительства тех или иных мутаций. Однако только по клинической картине практически невозможно предположить конкретную молекулярно-генетическую форму заболевания. В связи с этим при медико-генетическом консультировании рекомендуется исследовать сразу несколько

кандидатных генов, иногда суживая их спектр в зависимости от клинической картины и частоты встречаемости определенных мутаций в изучаемой популяции. Информация о выявленной генетической причине БП дает возможность говорить о прогностических аспектах самого заболевания у конкретного пациента, например, о вероятности развития когнитивных и психотических нарушений, риске осложнений леводопа-терапии, скорости прогрессирования заболевания. Кроме этого, такая информация важна для медико-генетического консультирования в семьях пациентов с целью вторичного выявления лиц, предрасположенных к развитию БП.

В последние годы ситуация с молекулярным анализом сложных групп заболеваний, к которым относится БП, драматически изменилась в связи с появлением новейших высокопроизводительных молекулярно-генетических технологий и, в первую очередь – секвенирования нового поколения, или Next Generation Sequencing (NGS), который относят к методам массового параллельного секвенирования (MPS). NGS позволяет за один рабочий цикл генерировать миллиарды нуклеотидных последовательностей, что обеспечивает параллельный анализ сотен выбранных генов или даже тотальное секвенирование всего генома [Metzker M.L., 2010; Erdmann J., 2011; Pareek C.S. et al., 2011]. Благодаря использованию метода NGS к списку имеющихся генов паркинсонизма были добавлены еще несколько, например, *RAB39B*, *DNAJC6*, *VPS35*.

Известны три основных стратегии применения технологии NGS на практике: полногеномное секвенирование, полноэкзомное секвенирование и панельное секвенирование [Warman Chardon J. et al. 2015]. Из них панельное секвенирование представляет больший интерес для клинической практики, так как позволяет проводить целевое исследование генома в пределах интересующих локусов, ассоциированных с определенными фенотипами. Панели для NGS-анализа могут включать от 15–20 до нескольких сотен генов. Как было показано, применение панельного секвенирования при скрининге диагностически неясных случаев может выявлять мутации в различных генах более чем в 25–30% случаев [Farwell K.D. et al., 2015]. Из существенных ограничений метода стоит отметить сложности с

диагностикой экспансий нуклеотидных повторов и с диагностикой крупных делеций/дупликаций (CNV, copy number variations).

Сложной проблемой NGS остается интерпретации большого числа генетических вариантов (полиморфизмов, мутаций). Для решения этой задачи применяют множество взаимодополняющих подходов – специальные биоинформатические фильтры, программы для оценки патогенности нуклеотидных замен, компьютерные базы данных для мутаций (полиморфизмов) и референсных геномов, оценку сегрегации в семье, функциональный анализ и т.д. [Хуе Y. et al., 2015]. Существенным шагом на пути практического применения NGS стала публикации отечественных рекомендаций по интерпретации данных [Рыжкова О.П. с соавт., 2017] – адаптированного варианта аналогичного руководства ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) [Richards S. et al., 2015].

Учитывая определенные сложности интерпретации результатов, на настоящий момент наиболее оправдано клиническое применение панельного таргетного секвенирования, благодаря которому стало возможным определение подробной молекулярно-генетической структуры заболеваний и выявление новых генотипических соответствий.

Именно фенотипический полиморфизм генов паркинсонизма диктует необходимость более широкого исследования ассоциированных генов. Так, например, мутации в генах паркинсонизма *PARK2* и *ATP13A2* могут проявляться дистонией, в гене *FBXO7* – признаками спастической параплегии, а в генах *GBA*, *LRRK2* – когнитивным снижением вплоть до деменции [Geiger J.T. et al., 2016; Kalia L.V. et al., 2015; Hernandez D.G. et al., 2016].

В мире на сегодняшний день опубликовано небольшое количество исследований по применению данного подхода в диагностике нейродегенеративной патологии, единичны примеры использования панельного секвенирования у пациентов с БП [Pihlstrom L. et al., 2014]. Однако и их результаты показывают значительную эффективность применяемого метода и перспективность его широкого клинического применения в дальнейшем.

О генетических основах сходных с БП нейродегенеративных заболеваний, проявляющихся паркинсонизмом – синдромов атипичного паркинсонизма – на сегодняшний день известно крайне мало. К атипичному паркинсонизму относят: ДТЛ, МСА, ПНП и КБД. Данные синдромы характеризуются быстрым развитием симптоматики с неудовлетворительным переходящим ответом на леводопаминотерапию, более серьезным прогнозом заболевания и меньшей продолжительностью жизни и дополнительными «атипичными» знаками на развернутых стадиях [Голубев В.Л., 2015].

ДТЛ является вторым по распространенности заболеванием среди нейродегенеративных деменций. По некоторым данным частота ее встречаемости может составлять около 20% [Scholz S., Bras J., 2015]. ДТЛ входит в спектр нейродегенеративной патологии, гранича одной стороны с БП и являясь синуклеинопатией, а с другой стороны – с болезнью Альцгеймера с амилоидными бляшками в большинстве аутопсийных случаев. Клинически ДТЛ проявляется синдромом паркинсонизма, когнитивными нарушениями, зрительными галлюцинациями и флюктуациями уровня внимания (диагностические критерии представлены в приложении 0). В нескольких исследованиях были описаны семейные случаи ДТЛ, связанные с мутациями в гене синуклеина *SNCA* [Fuchs J. et al., 2007], однако, описанные случаи единичны. Более значимым геном для ДТЛ является *GBA*, который, как было показано, ассоциирован с риском развития БП с деменцией [Nalls M.A. et al., 2013]. Также определенная роль отводится *e4*-аллелю гена *ApoE*, который, помимо его каузальной роли при болезни Альцгеймера, увеличивает и риск ДТЛ [Nalls M.A. et al., 2014]. В большом мультицентровом GWAS-исследовании подтверждены ассоциации ДТЛ с рядом полиморфизмов генов *ApoE*, *SNCA*, *GBA* [Guerreiro R. et al., 2018]. Также были описаны единичные семьи с клинической картиной ДТЛ и мутациями в генах *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* – основными генами для болезни Альцгеймера [Vergouw L.J.M. et al., 2017; Ishikawa S. et al., 2005]. Появились работы, указывающие на связь ДТЛ с гаплотипом H1G гена *MAPT*, основного гена таупатий [Labbe C. et al., 2016]. При этом гены *C9orf72*,

LRRK2 с ДТЛ ассоциированы не были [Heckman M.G. et al., 2016; Kun-Rodrigues C. et al., 2017].

МСА является достаточно редким нейродегенеративным заболеванием, в клинической картине которого превалируют явления вегетативной недостаточности в сочетании с паркинсонизмом и/или мозжечковой симптоматикой (диагностические критерии представлены в приложении 4). Патоморфологически заболевание, так же как и БП, относится к синуклеинопатиям, белок при этом откладывается в виде включений в олигодендроцитах [Jellinger K.A., 2017]. Последними исследованиями была показана прионоподобная природа заболевания [Prusiner S.B. et al., 2015]. Наиболее активно сейчас исследуется ген *COQ2*, ответственный за синтез коэнзима Q10: ассоциация данного гена с МСА мозжечкового типа была выявлена в японской популяции и пока не подтверждена в других популяциях [Sun Z. et al., 2016; Ronchi D. et al., 2016]. МСА паркинсонического типа закономерно исследуется на наличие мутаций в гене синуклеина *SNCA*. Описаны семьи с мутациями в *SNCA*, в которых клиническая и патоморфологическая картина близка к МСА [Fuch J. et al., 2007; Federoff M., 2015]. GWAS-исследование показало значимые для МСА полиморфизмы в генах *MAPT*, *FBXO47*, *ELOVL7*, *EDN1*, но не в генах *SNCA* или *COQ2* [Sailer A. et al., 2016]. Значимость определенных подгаплотипов *MAPT* показана для МСА мозжечкового типа [Labbe C. et al., 2016]. В одной из последних работ была показана встречаемость вариантов гена *GBA* в 23,5% случаев МСА, подтвержденных на аутопсии [Sklerov M. et al., 2017]. Значимость генов *ApoE*, *LRRK2* и *C9orf72* для МСА окончательно не определена [Jellinger K.A., Wenning G.K., 2016]

ПНП представляет собой таупатию, характеризующуюся постуральной неустойчивостью, паркинсонизмом и параличом вертикального взора с поздним началом и быстрым прогрессированием заболевания (клинические критерии представлены в приложении 5) [Hoeglenger G.U., et al. 2017; Respondek G. et al., 2017]. Основным геном таупатий является *MAPT*, кодирующий белок тау. Описаны несколько семей с аутосомно-доминантным наследованием ПНП с мутациями в

гене *MAPT* [Scholz S.W., Bras J., 2015]. Мутации в *MAPT* преимущественно расположены в 10 экзоне или рядом с ним, и именно его включение при сплайсинге дает 4R формы тау-белка, тем самым нарушая баланс 4R/3R форм белка [Im S.Y. et al., 2015]. Сильная ассоциативная связь, подтвержденная многочисленными исследованиями, установлена между ПНП и гаплотипом Н1 гена *MAPT* [Pittman A.M. et al., 2004; Zhang C.-C. et al., 2017]. Данный гаплотип распространен в общей популяции и встречается с частотой 78%, однако среди пациентов с ПНП данный процент существенно выше и составляет 95%. Показано, что Н1 гаплотип способствует транскрипции 10 экзона и также сдвигает баланс форм тау-белка в сторону 4R [Caffrey T.M., Wade-Martins R., 2007]. В большом GWAS-исследовании подтверждена ассоциация ПНП с *MAPT*, а также и с другими вариантами в генах *STX6*, *EIF2AK3*, *MOBP* [Hoeglinger G.U. et al., 2011]. Обсуждается роль вариантов в гене *LRRK2*, однако на настоящий момент считается, данный ген не вносит существенный вклад в случаи ПНП [Sanchez-Contreras M. et al. 2017]. Также неоднозначны результаты по генам лобно-височной деменции – *GRN*, *C9orf72* [Kim H.-J. et al., 2010; Ogaki K. et al. 2012; Schottlaender L.V. et al., 2015; Wilke C. et al., 2016]. Клиническая картина ПНП за счет развивающегося офтальмопареза может быть сходной с болезнью Ниманна-Пика типа С, в связи с чем в литературе есть единичные работы, исследующие связь ПНП с геном *NPC1* [Zech M. et al., 2013; Godeiro-Junior C. et al., 2006].

КБД – одна из форм таупатий с фокальной, асимметричной атрофией коры, стриатума, ствола мозга. КБД является патоморфологическим диагнозом, тогда как кортико-базальный синдром – диагноз клинический, проявляющийся различной комбинацией подкорково-корковых нарушений (приложение б), например, асимметричного паркинсонизма, дистонии, апраксии, миоклонуса, при этом патоморфологической основой может быть болезнь Альцгеймера, ПНП, ДТЛ, лобно-височная дегенерация, болезнь Крейтцфельдта-Якоба [Ali F., Josephs K.A., 2017]. В связи высокой гетерогенностью заболевания изучение генетических аспектов крайне затруднительно, однако, многими работами была показана значимость мутаций и гаплотипа Н1 гена *MAPT* для развития КБД [Fogel V.L. et al.,

2014]. GWAS-исследованиями выявлены и другие ассоциированные с КБД гены – *MOBP*, *CXCR4*, *EGFR*, *GLDC* [Kouri N. et al. 2015; Yokoyama J.S. et al., 2017]. Широко обсуждается значимость мутаций в генах *GRN* и *C9orf72*, ассоциированных с патогенетически близкой лобно-височной дегенерацией [Lindquist S.G., 2013; Coppola C. et al., 2012; Anor C.J. et al., 2015].

Биомаркеры паркинсонизма

Сложность дифференциальной диагностики БП, а также необходимость диагностики доклинических стадий требуют поиска новых, информативных диагностических технологий [Катунина Е.А. с соавт., 2010]. Из инструментальных методов обследования большое внимание уделяется различным вариантам нейровизуализации: позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), различным режимам МРТ и транскраниальной сонографии. Информативными методами исследования при БП считаются ПЭТ и ОФЭКТ, позволяющие с помощью радиолигандов оценить состояние синаптической передачи в нигростриарных проекциях. Было показано, что данные ПЭТ/ОФЭКТ могут использоваться в мониторинге прогрессирования заболевания и оценке эффективности нейропротективной терапии, выявлять дофаминергический дефицит в группе риска развития БП. ПЭТ/ОФЭКТ могут применяться в дифференциальной диагностике БП, атипичных синдромов паркинсонизма и ЭТ [Литвиненко И.В. с соавт., 2011; Pavese N., Brooks D.J., 2009].

Среди методов нейровизуализации большое внимание уделяется ультразвуковому исследованию структур головного мозга – транскраниальной сонографии (ТКС). В 1995 году Georg Becker с соавторами опубликовали первое описание применения ТКС у пациентов с БП [Becker G. et al., 1995]. В работе был выявлен характерный для БП феномен – гиперэхогенность черной субстанции (ГЧС). Причины ГЧС пока неизвестны. Считается, что ГЧС отражает повышенное содержание железа, это подтверждается экспериментальными работами на животных, посмертными исследованиями у человека, а также данными

специальных режимов МРТ, способных к детекции железа [Behnke et al., 2003; Berg et al., 2002; Berg, 2007; Stankiewicz et al., 2007]. В последующие 20 лет большое количество работ было посвящено изучению феномена ГЧС при БП различными исследовательскими группами. Значимость ТКС подтвердилась во многих популяциях [Go et al., 2012; Huang et al., 2007; Kim J.Y. et al., 2007; Kolevski et al., 2007; Okawa et al., 2007; Ressler et al., 2007]. Показана высокая воспроизводимость получаемых ультразвуковых данных [van de Loo et al., 2010; Schweitzer et al., 2006]. Результаты работ по применению ТКС неоднократно обобщались в обзорах и рекомендациях [Becker, Berg, 2001; Berg et al., 2008; Berg, 2011; Vlaar et al., 2009; Walter U, Behnke S. et al., 2007]. В 2013 году в международных рекомендациях методу ТКС был присвоен уровень А в дифференциальной диагностики БП с атипичным и вторичным паркинсонизмом, в ранней диагностике БП и в определении лиц с риском развития БП [Berardelli et al., 2013].

Многочисленными независимыми исследованиями, в том числе с дизайном слепых исследований [Prestel et al., 2006], показано, что ГЧС выявляется в более чем в 90% случаев БП, тогда как в группе контроля гиперэхогенность наблюдается достаточно редко (около 10%). Цифра встречаемости ГЧС среди больных может варьировать от 68% до 99% в зависимости, например, от популяции, оборудования и принятого разграничительного значения по площади ГЧС. При обобщении результатов ТКС у 1534 больных БП в среднем частота встречаемости ГЧС составила 87%, тогда как среди лиц контрольной группы при обобщении данных 2463 обследованных – только 12% (от 0% до 20%) [Vlaar et al., 2009].

Отсутствие очевидной взаимосвязи между ГЧС и клиническим прогрессированием было доказано в двух проспективных исследованиях, в которых период между двумя последовательными ТКС исследованиями составил до 8 лет и более [Berg D., Merz V. et al., 2005; Behnke et al., 2013]. ГЧС не коррелирует с тяжестью состояния по шкалам Hoehn–Yahr или UPDRS [Berg D., Siefker C. et al., 2001; Kajimoto et al., 2009; Kim J.Y. et al., 2007; Mehnert et al., 2010; Okawa et al., 2007; Schweitzer et al., 2006], хотя есть несколько работ, определяющих зависимость ГЧС от тяжести состояния при БП [Kolevski et al., 2007; Tsai et al.,

2007; Weise et al. 2009]. В исследованиях с радиолигандами показано, что площадь ГЧС не коррелирует количественно ни с данными ПЭТ [Behnke et al., 2009], ни с данными ОФЭКТ [Doerr et al., 2008; Spiegel et al., 2006; Lobsien et al., 2012], ни со сцинтиграфией сердца [Kajimoto et al., 2009; Behnke et al., 2013]. Можно предположить, что ГЧС является маркером самого заболевания БП, но не маркером его прогрессирования, который мог бы быть использован для оценки степени нейродегенерации. Это предположение нуждается в подтверждении и более детальной оценке.

Из других биомаркеров БП исследуется прогностический потенциал обонятельной дисфункции, которая наблюдается у 70–90% пациентов с диагностированной БП. Обонятельный дефицит задолго предшествует развитию БП и может использоваться как маркер премоторных стадий [Postuma R.V. et al., 2011]. По некоторым данным среди лиц с обонятельной дисфункцией у 10–13% в последующем может развиваться БП. Наиболее часто в качестве количественной оценки используются тест Пенсильванского университета и более распространенный в Европе Sniffin'-Sticks тест. Большинство исследователей сходятся во мнении, что наиболее диагностически важным для БП является подтест идентификации запахов [Жукова И.А. с соавт., 2015; Boesveldt S. et al., 2008; Bohnen N.I. et al., 2010; Haehner A. et al., 2007; Kawase Y. et al., 2010; Ponsen M.M. et al., 2009].

Регистрирующиеся с помощью полисомнографии эпизоды расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (РПБДГ) также могут служить маркером БП [Нодель М.Р. с соавт., 2015; Амосова Н.А. с соавт., 2016]. Нарушения поведения в REM-сне являются вариантом парасомний и характеризуются активным двигательным вовлечением спящего в сюжет сна и отсутствием атонии в REM-фазу. РПБДГ наблюдается у 18–47% больных с БП. Показано, что РПБДГ может предвещать развитие различных синуклеинопатий, в частности БП, ДТЛ, МСА. Так у пациентов с идиопатическим РПБДГ риск развития синуклеинопатии составляет 33% в течение 5 лет, 76% в течение 10 лет и 91% в течение 14 лет [Iranzo A., Fernández-Arcos A., et al., 2014]. Диагностика РПБДГ основывается на

специализированных опросниках (RBDSQ и RBD1Q) и на проведении полисомнографии [Ляшенко Е.А с соавт., 2014; Voeve B.F. et al., 2007].

Зрительная дисфункция при БП – известное явление, подтвержденное многими работами на протяжении последних 40 лет. При БП нечеткость зрения, уменьшение контрастной чувствительности, ослабление цветового восприятия связывают с уменьшением уровня дофамина в различных отделах зрительной системы, в том числе в амакриновых клетках сетчатки, участвующих в организации рецептивных полей. Патоморфологические исследования показывают сниженный уровень дофамина в сетчатке при БП [Nguyen-Legros J., 1988; Harnois C., Di Paolo T., 1990]. Показано, что дофамин – антагонист мелатонина и нейромедиатор циркадианного ритма сетчатки – способствует переключению на цветовое зрение, необходимое в дневное время. Отсюда при ретинальной недостаточности дофамина и дисбалансе нейромедиаторных систем возникает затруднение ориентации в сумерках, резко снижается адаптация глаз к темноте и свету, ухудшается цветовая чувствительность. Кроме того, обсуждается, что данные зрительные нарушения участвуют в развитии галлюциноза при БП [Lee J.- Y., Kim J.M. et al., 2014].

В большом количестве работ для доказательства изменения цветовосприятия при БП использует тест Фарнsworth–Мюнзеля (Farnsworth-Munsell) со 100 оттенками, которые необходимо расположить с плавными переходами от одного цвета к другому. Показано, что изменения отмечаются уже на самых ранних стадиях заболевания [Buettner T. et al, 1995], однако в других работах это ставится под сомнение [Vesela O. et al., 2001]. Нарушения цветовосприятия по этому тесту коррелируют с тяжестью заболевания [Mueller T. et al. 1997], выполнением двигательных тестов [Mueller T. et al., 1999], аксиальными проявлениями БП [Oh Y.-S. et al., 2011; Bohnen N.I. et al., 2017]. Считается, что они ухудшаются с течением заболевания и с возрастом, коррелируют с тяжестью по UPDRS [Diederich N.J. et al., 2002]. При этом выполнение теста не коррелирует с содержанием дофамина в стриатуме по ОФЭКТ [Mueller T., 1998]. Показано, что на фоне приема леводопы значительно уменьшается количество ошибок в тесте Фарнsworth–

Мюнзеля [Buettner T. et al., 1994], в отличие от приема амантадина [Buettner T. et al., 1995]. Несмотря на широкое распространение данного теста в оценке цветовых нарушений БП, необходимо помнить, что на выполнение данного теста существенно влияют когнитивные нарушения, сопровождающие БП [Bertrand J.-A. et al., 2012].

Объективными нейрофизиологическими методами исследования зрительной дисфункции при БП являются электроретинография и зрительные вызванные потенциалы. Первое упоминание об изменении зрительных вызванных потенциалов – удлинении латенции P100 – у пациентов с БП было опубликовано в 1978 г. [Bodis-Wollner I., Yahr M.D., 1978]. Показано, что не только корковые, но и ретинальные ответы при электроретинографии при БП изменены уже на ранних стадиях заболевания [Nightingale S. et al., 1986; Calzetti S. et al., 1990]. На развернутых стадиях БП увеличенная латентность P100 может служить предиктором зрительных галлюцинаций [Matsui H. et al., 2005]. Цветовые зрительные вызванные потенциалы (ЦЗВП) у пациентов с БП были исследованы с контрастом красного, зеленого и синего цвета в сочетании с черным, при этом получены значительные изменения латенций P100 в периоде «выключения» по сравнению с периодом «включения» [Barbato L. et al., 1994].

В течение почти полутора десятилетий доминировало представление об нарушении восприятия прежде всего синего цвета при БП [Haug V.A. et al., 1995], что подразумевало вовлечение кониоклеточного пути (сине-желтый контраст) по данным электроретинографии [Sartucci F. et al., 2003] и по данным вызванных потенциалов [Sartucci F., Porciatti V., 2006]. Однако последующими работами данная точка зрения была поставлена под сомнение, и изменения в кониоклеточном пути стали связывать прежде всего с возрастными изменениями. Была показана большая вовлеченность парвоклеточного (красно-зеленый контраст), а также магноклеточного пути (черно-белый контраст, ахроматическое восприятие) [Silva M.F. et al., 2005]. Косвенное подтверждение важности парвоклеточного пути при БП пришло из работы по реабилитации пациентов, в которой было показано, что

световые триггеры именно зеленого цвета способны улучшать ходьбу и уменьшать застывания [Bryant M. et al., 2010]. Этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Кроме функциональных изменений в зрительной системе, выявляемых с помощью вызванных потенциалов, при БП отмечаются структурные изменения в сетчатке, выявляемые оптической когерентной томографией (ОКТ) [Литвиненко И.В. с соавт., 2016]. ОКТ позволяет прижизненно оценивать различные структуры и слои сетчатки, выявлять морфологические изменения. У пациентов с БП многими работами отмечается истончение слоя нервных волокон сетчатки (СНВС, *retinal nerve fiber layer, RNFL*), который состоит из аксонов ганглиозных клеток, собирающихся вместе в зрительный нерв [Doustar J. et al., 2017]. При БП исследования показывают прогрессирующее истончение СНВС вокруг диска зрительного нерва в височных отделах [Satue M. et al., 2017]. Височный квадрант содержит в себе волокна преимущественно от желтого пятна и, следовательно, от находящихся здесь колбочек, обеспечивающих в том числе и цветовосприятие, что согласуется с нейрофизиологическими исследованиями БП о заинтересованности парвоклеточного пути [La Morgia C. et al. 2017]. Кроме того, височный квадрант из всех других наиболее поражен при митохондриальных невропатиях зрительного нерва, что сближает патогенетически БП с митохондриальной дисфункцией [La Morgia C. et al., 2013]. Проведенный мета-анализ 13 исследований подтвердил уменьшение средней толщины СНВС при БП, выявил истончение преимущественно в области нижнего квадранта, в меньшей степени височного и верхнего, и еще в меньшей степени назального [Yu J.-g. et al., 2014]. Истончение перипапиллярного СНВС связывают с тяжестью БП и длительностью заболевания [Jimenez V. et al., 2014; Garcia-Martin E. et al., 2014], оно более выражено в контралатеральной сетчатке по отношению к паркинсонической симптоматике [La Morgia C. et al., 2012] и является более значительным при акинетико-ригидной форме заболевания [Rohani M. et al., 2013]. Однако ряд исследований существенных изменений при БП в толщине СНВС не обнаруживают [Archibald N.K. et al., 2011; Cubo E. et al., 2014; Mailankody P. et al., 2015; Nowacka B. et al., 2015].

Кроме СНВС при БП наблюдается уменьшение толщины слоя ганглиозных клеток в области желтого пятна [Polo V. et al., 2016], уменьшение общего объема и общей толщины сетчатки [Lee J.- Y., Ahn J. et al., 2014; Miri S. et al., 2016], изменения в геометрии центральной ямки [Spund B. et al., 2013; Slotnick S. et al., 2015]. С усовершенствованием разрешающей способности оборудования и разработкой новых протоколов обследования стало возможным автоматическая сегментация на различные слои в области макулы и фовеа [Schneider M. et al., 2014]. Так, например, было показано, что для БП характерно истончение слоя фоторецепторов в области желтого пятна [Roth N.M. et al., 2014]. Истончение СНВС в области желтого пятна также может служить маркером зрительных галлюцинаций при БП [Lee J.- Y., Kim J.M. et al., 2014].

Показано, что при БП альфа-синуклеина откладывается во внутренних слоях сетчатки [Bodis-Wollner I. et al., 2014]. Также в сетчатке выявлен специфичный маркер заболевания – синуклеин, фосфорилированный по 129 аминокислоте [Beach T.G. et al., 2014]. Описаны также изменения в сетчатке у пациентов с деменцией с тельцами Леви, которые свидетельствуют о специфической ретинопатии при синуклеинопатиях [Devos D. et al., 2005].

Кроме БП широко исследуются возможности ОКТ при другом нейродегенеративном заболевании – болезни Альцгеймера, при котором также отмечается истончения СНВС [Kirbas S. et al., 2013].

В последние годы возобновился интерес к анализу глазодвигательных нарушений при БП, изучаются различные параметры рефлекторных и произвольных саккад, плавных следящих движений глаз. Считается, что при БП нарушается тоническое ингибирование верхних бугорков четверохолмия ретикулярной частью черной субстанции, а также изменяются корковые влияния на глазодвигательную систему ствола, опосредуемые базальными ганглиями [Pinkhardt E.H. et al., 2011; Yerram S. et al., 2013]. Патологические изменения при БП проявляются увеличением латентных периодов саккад, их гипометрией, повышенным количеством ошибок при совершении саккад, особенно в усложненных условиях [Muilwijk D. et al., 2013; Blekher T. et al., 2009].

Перечисленные инструментальные биомаркеры потенциально могут быть использованы для диагностики премоторных стадий заболевания.

Продромальная стадия болезни Паркинсона

БП как и другие нейродегенеративные заболевания характеризуется существованием длительной, многолетней латентной стадии, на протяжении которой нарастающая гибель нейронов не сопровождается появлением отчетливой двигательной симптоматики [Иллариошкин С.Н., 2013; Gaig C., Tolosa E., 2009; Lang A.E., 2011].

Согласно современным представлениям, α -синуклеиновые агрегаты и тельца/невриты Леви на наиболее раннем этапе БП появляются отнюдь не в дофамин-продуцирующих нейронах черной субстанции, а в обонятельных луковицах, нейронах дорсального ядра блуждающего нерва, ядрах шва и ретикулярной формации. Лишь позднее патологический процесс распространяется на средний мозг и, далее, на базальные отделы переднего мозга, мезокортекс и кору больших полушарий [Braak H. et al., 2003]. Более того, в латентном периоде БП отчетливые нейродегенеративные изменения «паркинсонического» характера выявляются в периферических вегетативных нейронах – клетках мейсснера и ауэрбахова сплетений, дистальных симпатических терминалях, нейронах надпочечников, слюнных желез, кожи. Таким образом, БП представляет собой системную синуклеинопатию, которая на протяжении длительного времени может проявляться совокупностью премоторных симптомов [Chaudhuri K.R., Naidu Y., 2008; Sartucci F, Porciatti V., 2006]: сенсорных (снижение обоняния, нарушение цветового зрения, болевой синдром и др.), вегетативных (констипация, эректильная дисфункция, симпатическая денервация миокарда и др.), нервно-психических (РПБДГ, депрессия и др.).

Перечисленные проявления могут иметь место задолго до постановки диагноза БП, в некоторых случаях за 15–25 лет. В то же время, конверсия премоторной стадии в моторную (двигательную) знаменует собой гибель более 70% нигральных нейронов, что означает уже существование весьма серьезной

патологии [Lang A.E., 2011; Stephenson R. et al., 2009]. Поэтому возможности нейропротекции должны быть максимальны именно в латентной стадии БП, а идентификация лиц с высоким риском манифестации БП становится весьма актуальной проблемой. По существу, речь идет о существовании на этапе «предболезни» достаточно длительного (несколько десятилетий) терапевтического окна, и для его эффективного использования требуется разработка и валидация надежных прижизненных биомаркеров БП – нейровизуализационных, нейрофизиологических, молекулярно-патохимических.

Стратегия популяционного скрининга лиц с высоким риском развития БП в настоящее время базируется на применении премоторных продромальных биомаркеров [Postuma R. B., Aarsland D. et al., 2012; Siderowf A. et al., 2012]. Поиск премоторных биомаркеров активно ведется в ряду различных шкал и инструментальных методов, которые уже зарекомендовали себя в идентификации немоторных симптомов у пациентов с клинически диагностированной БП [Bodis-Wollner I., 2013; Chaudhuri K.R. et al., 2007; Herting B. et al., 2008; Izawa M.O. et al., 2012; Lang A.E., 2011; Postuma R.B., Lang A.E. et al., 2012]. Появились работы, связанные с оценкой динамики этих нарушений по мере прогрессирования БП, а также с применением комбинации нескольких биомаркеров для увеличения их диагностической точности при дифференцировании БП со сходными нейродегенеративными заболеваниями [Berg D. et al., 2010; Iranzo A. et al., 2010; Izawa M.O. et al., 2012; Shin H.Y. et al., 2013]. Однако потенциал этих биомаркеров в диагностике продромальной стадии БП пока не изучен.

К важнейшим доказанным биомаркерам высокого риска развития БП относят феномен ГЧС, выявляемой с помощью ТКС. Считается, что феномен ГЧС определяется уже в латентной стадии заболевания и не меняется при прогрессировании симптоматики, оставаясь стабильным показателем нигрального «неблагополучия» [Behnke S. et al., 2010; Berg D. et al., 2008; Walter U., Behnke S et al., 2007]. Еще одним очевидным биомаркером и самостоятельным фактором риска БП является генетика – носительство мутаций в генах паркинсонизма (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1*, *LRRK2*, *GBA* и др.) и отягощенный семейный анамнез по

паркинсонизму [Anheim M. et al., 2012; Klein C. et al., 2007; Maetzler W., Hausdorf J.M., 2012].

Вероятность развития БП также связана с демографическими характеристиками, образом жизни, условиями среды обитания, сопутствующей патологией. Так, например, на модификацию степени риска БП в неблагоприятную или благоприятную сторону могут влиять контакт с пестицидами и гербицидами, проживание в сельской местности, повторные черепно-мозговые травмы в анамнезе, курение, употребление кофе, прием нестероидных противовоспалительных средств, наличие артериальной гипертензии, высокий уровень мочевой кислоты и т.д. [Noyse A.J. et al., 2012]. Однако информативность этих характеристик в качестве биомаркеров риска для скринингового отбора лиц с продромальной стадией БП требует уточнения.

Появились публикации о скрининговых программах, реализуемых в нескольких странах и направленных на выявление лиц с высоким риском развития БП (с разным дизайном исследований и с разным набором тестируемых биомаркеров). Представлены предварительные результаты по ряду из них (PRIPS, PARS, ASAP, TREND, HAAS, PMPP), но полученные результаты нуждаются в дальнейшем подтверждении, в первую очередь, временем [Berg D. et al., 2013; Berg D. et al., 2012; Gaig G., Tolosa E., 2009; Lang A.E., 2011]. Пока нет точного ответа на вопрос, какие из биомаркеров наиболее информативны и применимы для широкого популяционного скрининга.

Большое внимание уделяется сегодня унификации терминологии стадийности заболевания. Так из множества названий – «дофизиологическая», «преклиническая», «премоторная», «латентная», «продромальная», «додиагностическая», которые в свою очередь акцентируют разные аспекты БП, предпочтение отдается двум терминам – «преклиническая» и «продромальная» [Mahlknecht P. et al., 2015]. Преклиническая стадия БП характеризуется асимптомным носительством генетических / нейровизуализационных маркеров заболевания, без клинических проявлений БП. На продромальной стадии могут присутствовать различные симптомы, в том числе немоторные и некоторые

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) [Berg D. et al., 2015]. Последние были опубликованы параллельно новым «клиническим диагностическим критериям БП», которые несколько отличаются от повсеместно используемых критериев «Parkinson's Disease Society Brain Bank» и пока активно критикуемы [Postuma R.V. et al., 2015; Boeve V.F. et al., 2016].

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 РПБДГ, дофаминовый дефицит по ПЭТ/ОФЭКТ, минимальные двигательные признаки паркинсонизма, гипосмия, констипация, дневная сонливость, симптоматическая гипотензия, эректильная дисфункция, депрессия, тревога, то есть те, которые появляются по мере развития нейродегенеративного процесса.

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 [Mahlknecht P. et al., 2016]. 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 терапевтическим подходам. В двух других исследованиях метод также показал высокую специфичность и небольшую чувствительность [Pilotto A. et al., 2017]. В исследовании PRIPS 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 БП 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 процента вероятности по мере приближения классических двигательных проявлений заболевания.

В 2017 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% [Barber T.R. et al., 2017]. 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 [Fereshtehnejad S.-M. et al., 2017]. Еще в одной группе риска – среди лиц, прошедших колоноскопию (констипация является продромальным маркером), – вероятная продромальная стадия БП встречалась в 5%, возможная – в 3% [Skorvanek M. et al., 2017].

Таким образом, 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 обобщения эффектов продромальных маркеров применительно к общей популяции; соотнесение гетерогенности БП с разнообразными маркерами и т.д. [Heinzel S. et al., 2016]. В последние годы сделан огромный шаг вперед, к индивидуальной количественной оценке вероятности продромальной стадии в виде опубликованных

исследовательских критериев диагностики продромальной стадии БП, разработанных под эгидой MDS, однако диагностическая значимость критериев требует дальнейшего уточнения.

ГЛАВА 2.

ДИЗАЙН, ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общий дизайн работы

Данное исследование первичного паркинсонизма состояло из трех блоков, посвященных различным аспектам заболевания.

В первом блоке рассмотрены возможности современной молекулярной генетики в определении генетической структуры первичного паркинсонизма, проведен анализ генетических ассоциаций, исследована выборка атипичного паркинсонизма в сопоставлении с результатами изучения генетики первичного паркинсонизма и оценены возможности секвенирования нового поколения при нейродегенеративных формах паркинсонизма.

Во втором блоке представлены результаты работы по поиску информативных биомаркеров БП.

Третьим, обобщающим блоком проведены исследования по клинико-инструментальному поиску лиц на продромальной стадии БП, применяя найденные биомаркеры и общепризнанные факторы риска в популяционном скрининге.

В работу вошла невыборочная серия случаев паркинсонизма нейродегенеративной природы, которые проходили амбулаторное и стационарное обследование и лечение в ФГБНУ НЦН в период с 2009 по 2018 годы. В общей сложности в работе были обследованы 822 пациента с различными формами экстрапирамидных заболеваний, в первую очередь, с первичным паркинсонизмом. В состав контрольных групп вошли суммарно 788 клинически здоровых добровольцев, в том числе 250 обследуемых для формирования группы риска, из которых 58 прошли все обследования на предмет продромальной стадии БП.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол № 7-8/16 от 13.07.2016 г).

Работа проводилась при участии и поддержке коллег из ФГБНУ НЦН и сотрудников других учреждений, которым выражаю слова благодарности и признательности (стр. 317).

2.2. Генетика паркинсонизма: характеристика обследованных и молекулярно-генетические методы

Суммарно в исследование по генетике паркинсонизма вошли 539 пациентов, страдающих БП. Диагноз ставился на основании критериев «UK Parkinson's Disease Society Brain Bank» (приложение 1). В группу атипичного паркинсонизма вошли суммарно 76 пациентов. Диагностические критерии ДТЛ, МСА, ПНП, КБС представлены в соответствующих приложениях 3, 4, 5, 6. В качестве групп сравнения обследованы 460 клинически здоровых лиц без неврологических заболеваний и 105 пациентов с эссенциальным тремором. Подробнее группы рассмотрены ниже. Все пациенты наблюдались в ФГБНУ «Научный центр неврологии». Образцы крови были взяты с информированного согласия исследуемых лиц.

В работе проводился мутационный скрининг генов следующих генов при БП: *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*. Анализ ассоциаций при БП включал гены *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1*, *LINGO1*, *LINGO2*. Группа атипичного паркинсонизма была обследована на носительство мутаций/полиморфизмов в генах *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*, *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*, *NPC1*. С помощью секвенирования нового поколения на выборке больных с паркинсонизмом оценена встречаемость мутаций в 300 генах нейродегенеративной патологии.

В работе использовались следующие молекулярно-генетические методы: ДНК-экстракция, прямое секвенирование ДНК по Сэнгенру, метод мультиплексной пробо-зависимой лигазной реакции с амплификацией (MLPA), фрагментный анализ, полимеразная цепная реакция (ПЦР) с праймерами,

специфичными к повторам (РП-ПЦР), ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), стандартный анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) и секвенирование нового поколения – NGS.

Молекулярно-генетическая часть работы выполнялась на базе ДНК-лаборатории 5 неврологического отделения ФГБНУ НЦН и на базе Центра коллективного пользования «Биотехнология» (Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, г. Москва).

Характеристика обследованных больных

Исследование основных генов паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJI, LRRK2, ATP13A2) при БП. В работу вошли 306 больных БП (161 женщина, 145 мужчин). Средний возраст пациентов составил $56,4 \pm 11,9$ лет, возраст начала заболевания – $49,5 \pm 12,3$ лет. В группу вошли 114 пациентов (37,3%) с ранним началом БП (дебют симптомов до 45 лет) и 107 пациентов (35,0%) с отягощенным семейным анамнезом (именно у этих категорий больных вероятность выявления мутаций максимальна). Всем пациентам был проведен поиск мутаций в перечисленных генах методом МЛРА.

Исследование мутаций в гене GBA при БП. Исследовано 424 образца ДНК пациентов, страдающих спорадической и семейной формами БП (мужчин – 196, женщин – 228) в возрасте $57,5 \pm 11,5$ лет. Группа контроля состояла из 397 образцов ДНК здоровых людей, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой. Для 192 образцов ДНК пациентов с БП и 197 контрольных образцов был проведен мутационный скрининг всех 11 экзонов GBA гена с помощью прямого секвенирования по Сэнгену. Остальные 232 образца ДНК пациентов с БП и 200 контрольных прогенотипированы по двум мажорным мутациям в GBA гене – N370S и L444P с помощью ПЦР-РВ и стандартного анализа ПДРФ, соответственно. Наличие всех идентифицированных мутаций подтверждалось методом прямого секвенирования по Сэнгеру.

Исследование ассоциации динуклеотидных повторов гена SNCA с БП. В работе были обследованы 460 пациентов, страдающих БП (212 мужчин и 248 женщин; средний возраст $55,1 \pm 13,5$ лет). Группа контроля, сопоставимая по полу

и возрасту, состояла из 460 здоровых лиц. Генотипирование динуклеотидных повторов проводили методом фрагментного анализа на капиллярном генетическом анализаторе.

Исследование ассоциации тринуклеотидных повторов гена ATXN2 с БП. В работе было исследовано 445 образцов ДНК пациентов, страдающих БП (254 мужчин и 191 женщина; средний возраст $56,6 \pm 22,4$ лет). Сопоставимая группа контроля состояла из 353 образцов ДНК здоровых людей. Микросателлитное генотипирование CAG-повторов ATXN2 проводили методом фрагментного анализа. При выявлении повышенного числа тринуклеотидных повторов для определения точного количества повторов и наличия вставок проводили секвенирование данного участка.

Исследование ассоциации гексануклеотидных повторов гена C9orf72 с БП. Экспансия в гене C9ORF72 исследована у 175 пациентов с БП (96 женщин, 79 мужчин, средний возраст $57,1 \pm 11,3$ лет). Контрольная группа (n=223) была сопоставима по полу и возрасту. Генотипирование GGGGCC-повторов C9orf72 проводили методом фрагментного анализа, в том числе с использованием праймеров, специфичных к повторам.

Исследование ассоциации тринуклеотидных повторов гена FMR1 с БП. Обследовано 67 пациентов со спорадическими случаями БП (43 мужчин и 14 женщин, средний возраст $59,2 \pm 10,3$), контрольная группа составила 95 неврологически здоровых лиц. Генотипирование CGG-повторов гена FMR1 проводили методом фрагментного анализа на капиллярном генетическом анализаторе.

Исследование ассоциаций полиморфизмов в генах LINGO1, LINGO2 с БП и ЭТ. В исследование было включено 3 группы пациентов: 91 пациент с БП, 105 пациентов с ЭТ и группа контроля, включавшая 191 человек без двигательных расстройств, сопоставимая по полу и возрасту с группами БП и ЭТ. С помощью метода мультиплексной ПЦР с последующим плавлением продуктов реакции в режиме «реального времени» анализировались 6 полиморфизмов некодирующей области генов LINGO1 (rs9652490 и rs11856808) и LINGO2 (rs1412229, rs10968280,

rs10812774 и rs7033345). Мутационный скрининг кодирующих областей генов *LINGO1* и *LINGO2* проводился методом прямого секвенирования в двух подгруппах больных: 39 пациентов с БП и 56 пациентов с ЭТ.

Исследование мутаций в гене GBA и в основных генах паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2, ATP13A2) при ДТЛ и МСА. В работе были обследованы 13 пациентов с ДТЛ (5 женщин и 8 мужчин), средний возраст в группе составил $68,3 \pm 7,2$ лет, длительность заболевания – $4,9 \pm 3,2$ лет. Все случаи клинически представлены поздним началом симптомов. У четверых отмечался акинетико-ригидный синдром, у остальных клинической картине сопутствовал дрожательный гиперкинез. В одном случае наблюдался отягощенный семейный анамнез по БП. В работе также были исследованы 28 пациентов с МСА паркинсонического типа (19 женщин, 9 мужчин), средний возраст составил $57,5 \pm 8,6$ лет с возрастом начала заболевания в $54,1 \pm 10,5$ лет и длительностью $3,2 \pm 2,6$ лет. В группу вошли 3 случая с ранним началом (в 34, 39 и 45 лет), 1 семейный случай с дрожанием рук у матери. Всем больным проведен поиск мутаций с помощью метода MLPA и секвенирование всех экзонов гена *GBA*.

Исследование мутаций в генах MAPT, GRN, C9orf72 и гаплотипов гена MAPT при ПНП и КБС. В работе были обследованы 20 пациентов с диагнозом ПНП (12 женщин и 8 мужчин), средний возраст составил $60,2 \pm 6,2$ лет, длительность заболевания – $4,0 \pm 2,4$. В группу вошел один случай с ранним началом в 45 лет и один семейный случай с БП у двоюродных брата и сестры. В исследование вошли 15 пациентов с диагнозом КБС (10 женщин, 5 мужчин), средний возраст на момент осмотра составил $60,9 \pm 9,8$ лет, длительность заболевания – $2,6 \pm 2,9$ лет. В группу вошли 2 случая с ранним началом и 1 семейный случай с дрожанием рук у отца. Всем пациентам с ПНП и КБС было проведено секвенирование кодирующей области (всех экзонов) генов *MAPT*, *GRN*, а также определено количество повторов в гене *C9orf72* с помощью фрагментного анализа. Для установления гаплотипа проводили скрининг по 13 сцепленным полиморфизмам, находящимся в интронных областях: в области интрона 4а (rs17651549, rs62063790, rs62063791, rs1529534, rs17572893, rs62063793, rs17572893); интрона 6 (rs10445337, rs79447161,

rs17651754); интрона 9 (rs1052553, rs17652121) и интрона 13 (rs9468), методом секвенирования соответствующих 4 областей гена *MAPT*.

Исследование мутаций в основных генах паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2, ATR13A2) при КБС. Всем пациентам с КБС проведено генетическое исследование методом MLPA.

Исследование мутаций в гене NPC1 при ПНП. Из группы ПНП у 5 пациентов (4 мужчин, 1 женщина, средний возраст на момент обследования в подгруппе составил 61,0 год, от 52 лет до 69 лет) проведено секвенирование кодирующей области (25 экзонов) гена *NPC1* по Сэнгеру.

Исследование 300 генов нейродегенеративной патологии при паркинсонизме. С помощью разработанной с нашим участием таргетной панели (мультигенной панели), основанной на секвенировании нового поколения, обследованы 26 пациентов с паркинсонизмом: 19 больных с разными формами первичного паркинсонизма (11 мужчин, 8 женщин; средний возраст начала – 37,6 лет, от 11 лет до 61 года; в том числе 9 семейных случаев), 1 пациентка с ПНП с возрастом начала 62 года, 2 пациентки с КБС (возраст начала 60 лет и 69 лет), 1 пациент с МСА (возраст начала 55 лет), 1 пациент с паркинсонизмом в рамках лобно-височной деменции (возраст начала 65 лет, с отягощенным семейным анамнезом по БП у матери) и 2 больных с синдромом комплексом паркинсонизм-дистония (пациент с началом заболевания в 22 года и пациентка с началом заболевания в 18 лет, оба без отягощенного семейного анамнеза).

Молекулярно-генетические методы исследования

ДНК-экстракция. Образцы геномной ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью набора для выделения Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega USA).

Прямое секвенирование ДНК по Сэнгеру. Молекулярно-генетический анализ кодирующих областей проводился для генов *GBA*, *ATXN2*, *LINGO1*, *LINGO2*, *MAPT*, *GRN*, *NPC1*. Анализ состоял из амплификации методом ПЦР протяженных

фрагментов ДНК, включающих соответствующий экзон с прилегающей интронной областью (не менее 100 пар нуклеотидов с каждого конца); ферментативной очистки ПЦР-продуктов и последующего секвенирования наработанных ампликонов. Праймеры, фланкирующие интересующие области, выбирали с помощью компьютерной программы «Primer3» и проверили в программе «Primer-BLAST». В случаях близкой расположенности экзонов друг к другу праймеры подбирались на два или три экзона вместе, а для более точного сиквенса выбирались дополнительные, внутренние праймеры. Дизайн праймеров для гена *GVA* представлены в приложении 7, для генов *LINGO1* и *LINGO2* – в приложении 8, *MAPT* – приложение 9, *GRN* – приложение 10, *NPC1* - приложение 11.

Аmplification фрагментов ДНК, содержащих исследуемые участки, для последующего анализа проводили в 20 мкл реакционной среды, содержащей: 50мМ KCl, 50мМ Трис-HCl (pH 8.8), 2.5мМ MgCl₂, 250мкМ dNTP, 1ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующей активностью фермента антителами («Синтол», Москва), по 0.5 мкМ прямого и обратного праймера (в отдельных случаях для увеличения выхода продукта амплификации в реакционную среду добавляли 2% формамида и 10% глицерола) ПЦР проводили на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems), по подобранному отдельно для каждой реакции температурно-временному протоколу.

Полученный ПЦР-продукт для удаления из реакционной смеси оставшихся свободных праймеров и нуклеотидов (dNTPs) подвергали ферментативной очистке в 5 мкл реакционной смеси, содержащей: 2,5 мкл образца, 0.5 ед. креветочной щелочной фосфатазы (SAP, Promega) и 5 ед. экзонуклеазы 1 (exoI, Fermentas); при температуре 37^oC – 30 мин с последующей инактивацией ферментов при 37^oC – 15 мин.

Очищенные ампликоны подвергали сиквенсовой реакции с соответствующего анализируемому фрагменту праймера, прямого или обратного, с использованием реагентов коммерческого набора BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems»), на программируемом термоциклере «Veriti»

(Applied Biosystems) по протоколу реакции: начальная денатурация при 96°C – 1 мин и далее 25 циклов с температурно-временным режимом: 96°C – 10 с; 50°C – 5 с; 60°C – 4 мин. Полученный секвенсовый продукт чистили методом переосаждения в изопропиловом спирте и далее денатурировали в Hi-Di формамиде. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили на капиллярном генетическом анализаторе ABI Prism 3130 («Applied Biosystems») с помощью программного обеспечения Data Collection Software версии v3.0, Sequencing Analysis Software версии v5.2 и SeqScape Software версии v2.5. Результаты секвенирования сопоставляли с соответствующими референсными нуклеотидными последовательностями NCBI.

Метод мультиплексной пробо-зависимой лигазной реакции с амплификацией (MLPA). В работе использовался набор SALSA MLPA P051-C2 (MRC-Holland, Нидерланды), в который входят реактивы для выявления следующих мутаций в генах:

- ген *SNCA*: мутация A30P, делеции/дупликации экзонов 2–7;
- ген *PARK2*: делеции/дупликации экзонов 1–12;
- ген *PINK1*: делеции/дупликации экзонов 1–8;
- ген *PARK7*: делеции/дупликации экзонов 1, 3, 5, 7;
- ген *LRRK2*: мутация G2019S;
- ген *ATP13A2*: делеции/дупликации экзонов 2 и 9.

Молекулярно-генетический протокол MLPA состоял из следующих шагов: 1) ДНК-денатурация образцов геномной ДНК; 2) гибридизация специфических олигонуклеотидных зондов с образцами ДНК, при этом каждый зонд для каждой исследуемой области (экзон) состоит из двух частей, каждая из которых специфически гибридизуется с соседними ДНК-мишенями; 3) лигирование (сшивание) каждой пары соседних гибридизированных проб в единую молекулу; 4) ПЦР-амплификация полученных лигазных проб согласно рекомендациям разработчика. Анализ наработанных ампликонов нуклеотидных последовательностей проводили на капиллярном генетическом анализаторе ABI

Prism 3130 («Applied Biosystems») с использованием размерного стандарта Liz 600 (Life Technologies, США) с помощью программного обеспечения GeneMapper v.4.0 (Applied Biosystems) и Coffalyser.Net (MRC-Holland).

В каждом случае оценка числа копий продуктов реакции проводилась по стандартным коэффициентам нормализации: 1) норма – 0,85–1,15 (рис. 1); 2) гетерозиготная дупликация – 1,35–1,55; 3) гомозиготная дупликация – 1,70–2,20; 4) гетерозиготная делеция – 0,35–0,65; 5) гомозиготная делеция – 0.

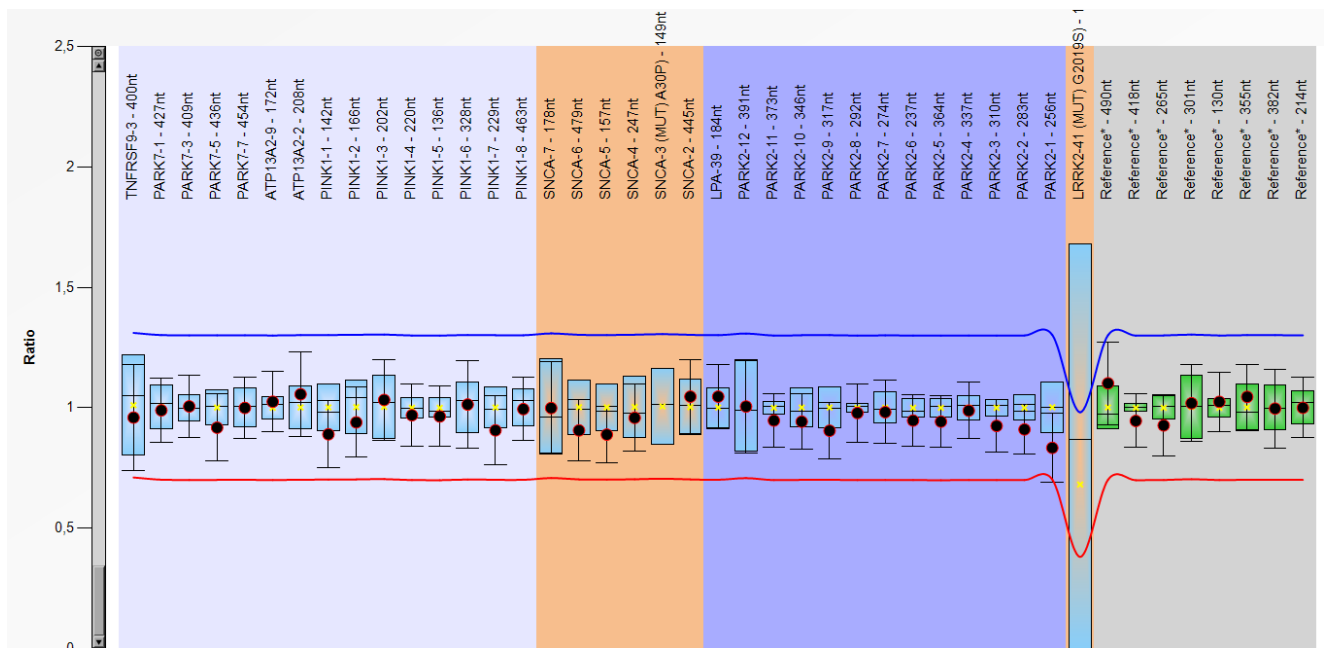


Рис. 1. Результаты MLPA у пациента без исследуемых мутаций.

Фрагментный анализ. Генотипирование микросателлитных повторов генов *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1* проводился методом фрагментного анализа на капиллярном генетическом анализаторе.

Амплификацию фрагментов ДНК, содержащих тандемные повторы, для последующего анализа проводили в 10 мкл реакционной среды, содержащей: 50 mM KCl, 50 mM Трис-НСl (рН 8.8), 2.5 mM MgCl₂, 250 мкМ dNTP, 0.5 ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующей активностью фермента антителами («Синтол», Москва), по 0.5 пкмоль каждого праймера прямого и обратного, один из которых метился флуоресцентной меткой (Fam). В случае GC-богатых матриц (гены *C9orf72* и *FMR1*) в реакционную среду вносили дополнительно 1М бетаина, 100 мкМ 7-

deaza-GTP, 5% DMSO. ПЦР проводили на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems), по подобранному отдельно для каждой реакции температурно-временному протоколу.

Полученные ампликоны разводили в 10 раз и аликвоту (0.5мкл) денатурировали в Hi-Di формамиде. Анализ проводился на капиллярном генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems/НІТАСНІ), используя размерный стандарт Liz 500, с помощью программного обеспечения Data Collection software версии v3.0. Полученные результаты обрабатывались при помощи программного обеспечения GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems). Примеры результатов фрагментного анализа представлено на рисунке 2 и 3.

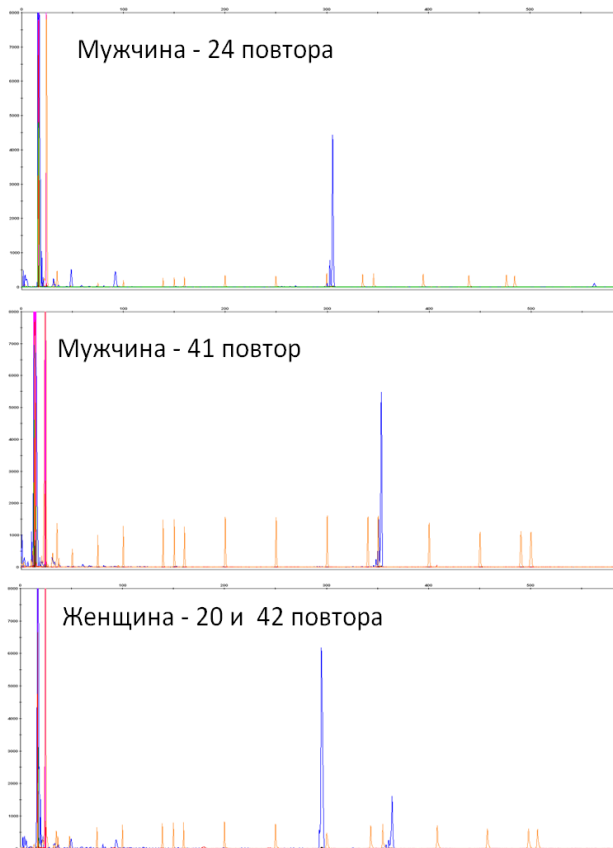


Рис. 2. Результаты автоматизированного гель-электрофоретического разделения с лазер-индуцируемой детекцией флуоресцентно-меченых продуктов амплификации: а – электрофореграмма продукта амплификации ДНК-образца мужчины, содержащего 24 CGG-повторов гена *FMR1* на X-хромосоме; б – электрофореграмма продукта амплификации ДНК-образца мужчины, содержащего 41 CGG-повтор; в – электрофореграмма продукта амплификации ДНК-образца женщины, содержащего 20 CGG-повторов в одном аллеле и 42 – во втором аллеле.

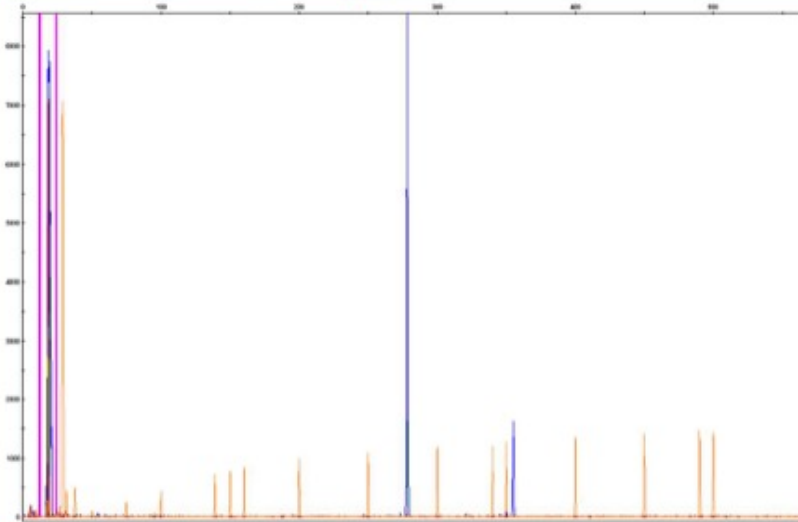


Рис. 3. Результаты автоматизированного гель-электрофоретического разделения с лазер-индуцируемой детекцией флуоресцентно-меченых продуктов амплификации (синие пики – продукты амплификации, оранжевые пики – размерный стандарт 500 LIZ): электрофореграмма продукта амплификации ДНК-образца, содержащего в одном аллеле – 5 GGGGCC-повторов и 20 – во втором аллеле.

Подобранные праймеры для исследования микросателлитных повторов 4 генов представлены в таблице 1.

При выявлении повышенного числа тринуклеотидных повторов в гене *ATXN2* проводили повторную амплификацию со следующими праймерами: прямой – 5'-CCCTCACCATGTCGCTGAAGC-3' и обратный – 5'-CGACGCTAGAAGGCCGCTG-3'; после разделения в агарозном геле вырезали ампликон большей длины и после очистки секвенировали для определения точного количества повторов и наличия вставок.

Табл. 1.

Праймеры для фрагментного анализа повторов в генах *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMRI*.

Ген	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
<i>SNCA</i>	(Fam) CCTGGCATATTTGATTGCAA	GACTGGCCCAAGATTAACCA
<i>ATXN2</i>	(Fam)CCCTCACCATGTCGCTGAAGC	CGACGCTAGAAGGCCGCTG
<i>C9orf72</i>	(Fam)AACAAGGAGGGAAACAACCGC	AAATGCGTCGAGCTCTGAGGAG
<i>FMRI</i>	Fam-AAGTACCTTGTAGAAAGCGCCA	CGCTCAGCTCCGTTTCGG

Полимеразная цепная реакция с использованием праймеров, специфичных к повторам. Для случаев, идентифицированных как гомозиготные по фрагментному анализу гена *C9orf72*, применили метод ПЦР с использованием праймера, специфичного к повторам (ПП-PCR, “Repeat-primed” PCR), чтобы исключить наличие второго аллеля, несущего экспансию GGGGCC-повторов. Принцип метода представлен на рисунке 4.

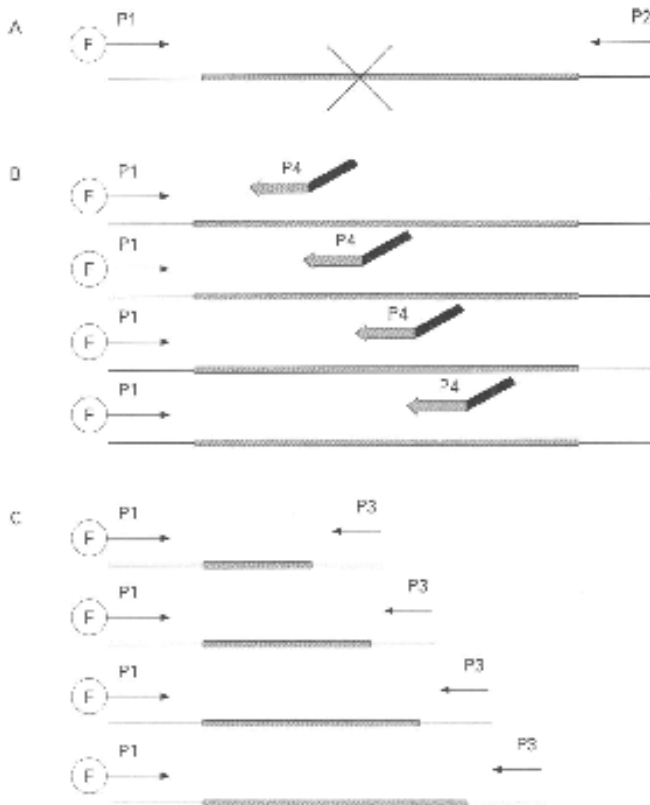


Рис. 4. Схема синтеза ампликонов с помощью праймеров, специфичных к повторам. А – схема используемая для первого этапа фрагментного анализа *C9orf72*. В – расположение праймеров, специфичных к повторам. С – результат синтеза – ампликоны различной длины [Warner J.P. et al., 1996].

Для уточняющего анализа были подобраны следующие праймеры: 1) прямой праймер: 5'-(Fam)-AACAAGGAGGGAAACAACCGC-3'; 2) обратный праймер: 5'-CAGGAAACAGСТАТGACCACG-3' и 3) дополнительный праймер, специфичный к области GGGGCC-повторов: 5'-CAGGAAACAGСТАТGACCACGCCCCGGCCCCGGCCCCGG-3'; также был отработан протокол проведения амплификации. Нарботанный продукт

анализировали методом фрагментного анализа на капиллярном генетическом анализаторе, как описанно выше. Пример результатов представлен на рисунке 5.



Рис. 5. Электрофореграмма продукта амплификации ДНК-образца, содержащего в одном аллеле 5 повторов и 19 – во втором гена *C9orf72*.

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Методом ПЦР-РВ проводили мутационный скрининг на наличие мажорной мутации N370S в гене *GBA*. Для детекции аллельных вариантов анализируемой однонуклеотидной замены были выбраны праймеры, фланкирующие область однонуклеотидной замены, с помощью компьютерных программ Primer3 и Primer-BLAST и два аллель-специфичных TaqMan зонда с различными флуоресцентными метками (ROX и Cy5), позволяющими надежно различать гомо- и гетерозиготы при амплификации. Прямой праймер: 5'- GCSTTTGTCTCTTTGCSTTTGTC-3'. Обратный праймер: 5'- GGTTCAGGGCAAGGTT-3'. Зонды: дикий: 5'- (ROX) TACCСТАGAAССТCСТGTACC(BHQ2)-3' и мутантный: 5'- (Cy5) TACCСТАGAGCСТCСТGTAC(BHQ2)-3' Амплификацию проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 50 мМ KCl, 15мМ Трис-НСl (рН 8.8), 0.5% глицерола, 0.1% Tween 20, 2.5 мМ MgCl₂, 250 мкМ dNTP, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол»), по 10 пкмоль каждого праймера и по 5 пкмоль каждого зонда, по следующему протоколу реакции: начальная денатурация при 95⁰С – 120 с и далее 40 циклов с температурно-временным режимом: плавление при 95⁰С – 15 с, отжиг и синтез при

60°C – 40 с., на анализаторе нуклеиновых кислот «АНК-32» («Синтол», Москва). Результаты визуализировались на анализаторе нуклеиновых кислот «АНК-32» («Синтол», Москва), пример представлен на рисунке 6.

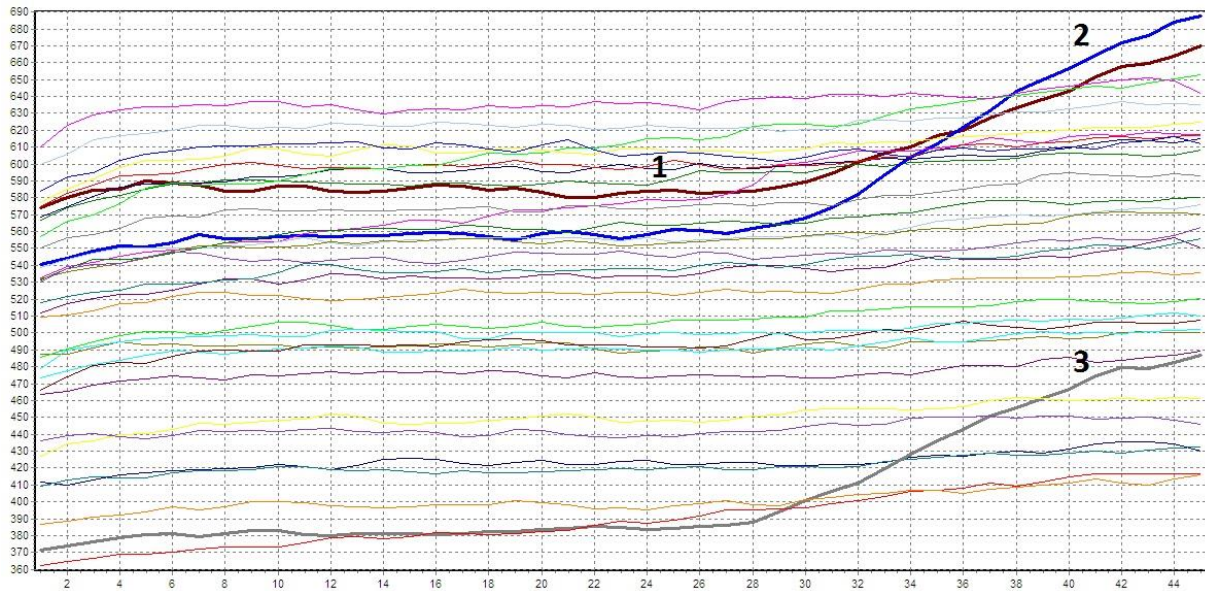


Рис. 6. Анализ мажорной точковой мутации N370S в гене *GBA* с помощью ПЦР-РВ.

Канал Су5: пик 1 – положительный контроль; пики 2, 3 – положительные образцы.

Анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Метод сайт-специфичного рестрикционного анализа использовался при исследовании мажорной мутации L444P в гене *GBA*, так как область данной однонуклеотидной замены имеет очень высокую гомологию (95%) с такой же областью псевдогена (*GBAP*) и нет возможности выбрать специфичные праймеры и аллель-специфичные зонды для проведения данного анализа методом ПЦР-РВ, который, безусловно, является более быстрым, экономичным и специфичным по сравнению с ПДРФ.

Амплификацию участков генов, содержащих искомые мутации, проводили в 20 мкл реакционной среды содержащей 10–20 нг геномной ДНК, 1xПЦР буфер (“Promega”), 2,5 mM MgCl₂, по 0,25 мкМ каждого дезоксинуклеотидтрифосфата, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы (“Promega”), по 0,5 мкМ каждого праймеров (прямого 5’-

TCATTGTAGACATCACCAAGG- 3' и обратного 5'-
GTTTAGCACGACCACAACAGC-3').

Исследование проводили на программируемом термоциклере «Veriti» (Applied Biosystems), при температуре отжига праймеров 60°. Для анализа амплификата использовалась сайт-специфичная эндонуклеаза MspI («Ферментас», Литва). Фрагмент, ожидаемый в отсутствие мутации, состоял из 551 пар оснований; фрагменты в случае наличия мутации – 495 и 56 пар оснований (рис. 7). Продукты рестрикции анализировались электрофоретически в 3% агарозном геле после окрашивания бромистым этидием с последующей визуализацией в ультрафиолете, размеры фрагментов оценивали путем сравнения их со стандартным маркерным лэддером.

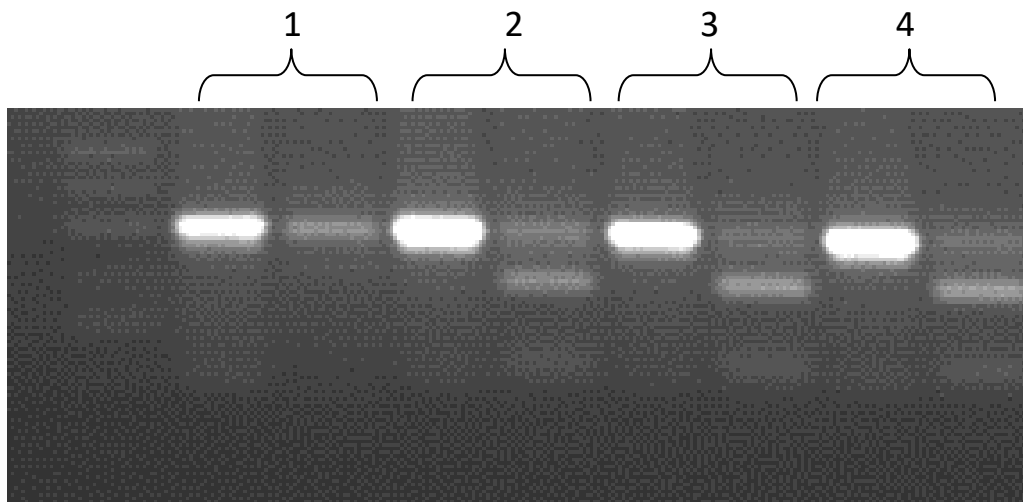


Рис. 7. Электрофореграмма результатов рестрикционного анализа мутации L444P в гене *GBA*. В каждом из четырех случаев первая дорожка – продукт амплификации, вторая – рестрикции. В случае 1 мутации нет (один фрагмент длиной в 551 п.н.), в случаях 2, 3, 4 выявлены мутации (появление дополнительных фрагментов рестрикции длиной в 495 и 56 п.н).

Мультиплексная ПЦР с последующим плавлением продуктов реакции в режиме «реального времени». Метод использовали для выявления генетического полиморфизма в 6 значимых полиморфных точках некодирующей области генов *LINGO1* (rs9652490 и rs11856808) и *LINGO2* (rs1412229, rs10968280, rs10812774 и rs7033345) в мультиплексном формате.

Аmplификацию участков генов, содержащих анализируемые полиморфизмы, проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 50 mM KCl, 15mM Трис-HCl (pH 8.8), 0.5% глицерола, 0.1% Tween 20, 2.5 mM MgCl₂, 250 мкМ dNTP, 1ед. Taq ДНК-полимеразы с вытесняющей активностью, что позволяло избежать разрушения специфических олигонуклеотидных зондов, и специально подобранных 6 пар праймеров, фланкирующих каждый из полиморфизмов и 6 флуоресцентно-меченных зондов, меченных различными флуоресцентными метками (приложение 12). При этом концентрации праймеров подбирались так, чтобы происходило ассиметричное накопление одной из цепей ДНК (комплементарной детектирующим флуоресцентно-меченым зондам). Реакцию осуществляли на анализаторе нуклеиновых кислот «АНК-32» («Синтол», Москва) по следующему протоколу реакции: начальная денатурация при 92^oC – 120 с и далее 40 циклов с температурно-временным режимом: плавление при 95^oC – 15 с, отжиг и синтез при 63^oC – 40 с., затем осуществляли плавление продуктов полимеразной цепной реакции с олигонуклеотидными флуоресцентно-мечеными зондами в температурном диапазоне от 20 до 95^oC с шагом 0,5^oC и временем задержки на каждом шаге в 1 секунду, при этом на каждом шаге проводили измерение флуоресцентного сигнала по каналам детекции всех меток FAM, R6G, ROX, Cy5 для построения кривых плавления продуктов и идентификации олигонуклеотидных полиморфизмов, основанной на изменении температуры плавления продукта ПЦР в зависимости от того, какой аллельный вариант полиморфизма присутствует в образце ДНК (рис. 8).

Секвенирование нового поколения. Поиск мутаций с помощью таргетной панели на основе секвенирования нового поколения проводился у 26 пациентов с паркинсонизмом в 300 генах, ассоциированных с нейродегенеративной патологией. Полный список генов приведен в приложении 13. Таргетная панель на основе NGS генов является собственной разработкой ФГБНУ ИЦН (2014–2016 гг.), выполненной с нашим участием, и включает гены следующих нейродегенеративных заболеваний: атаксии – 135 генов; спастические параличи

– 44 гена; деменции – 23 гена; лейкодистрофии и лейкоэнцефалопатии – 22 гена; первичный паркинсонизм – 21 ген; боковой амиотрофический склероз – 20 генов; первичные дистонии – 16 генов; нейродегенерации с накоплением железа в мозге – 6 генов; первичная хоррея – 5 генов; эссенциальный тремор – 4 гена; болезнь Фара – 3 гена; гепатолентикулярная дегенерация – 1 ген.

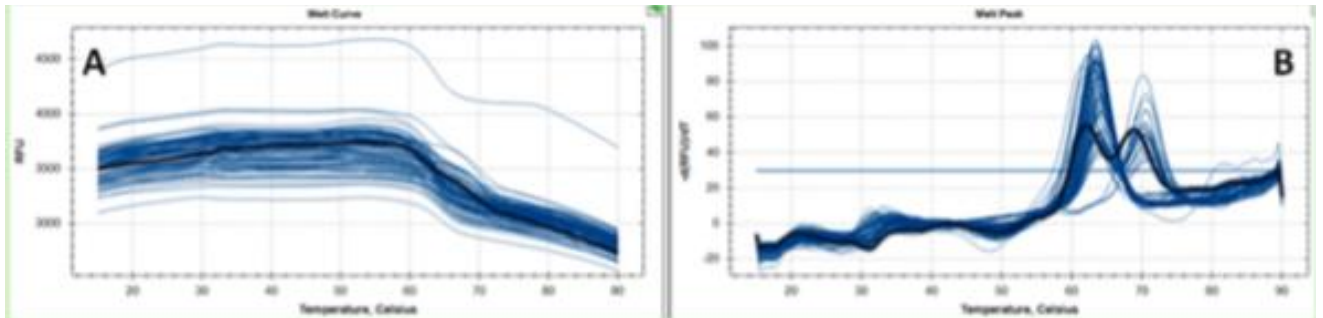


Рис. 8. Пример анализа кривых плавления для полиморфизма rs9652490 гена *LINGO1* (канал FAM).

На фигуре А показаны кривые плавления (по вертикальной оси – интенсивность флуоресценции, по горизонтальной оси температура), на фигуре Б – дифференциальный анализ кривых плавления (по вертикальной оси – производная кривой интенсивности флуоресценции, по горизонтальной оси температура).

Технология NGS включает в себя три этапа: 1) подготовка мультиплексных библиотек фрагментированной геномной ДНК (схематически представлена на рисунке 9); 2) определение последовательности фрагментов ДНК (собственно NGS); 3) биоинформатический анализ полученных данных. Подготовка библиотек и проведение NGS осуществлялось на базе ЦКП «Биотехнология».

1) Подготовка библиотек в свою очередь включала следующие этапы:

- фрагментация геномной ДНК (нанесение случайных двуцепочечных разрывов ДНК с получением фрагментов 180–220 п.н.) – методом ультразвукового воздействия с использованием системы фрагментации ДНК Covaris (FoCuSED-UL);

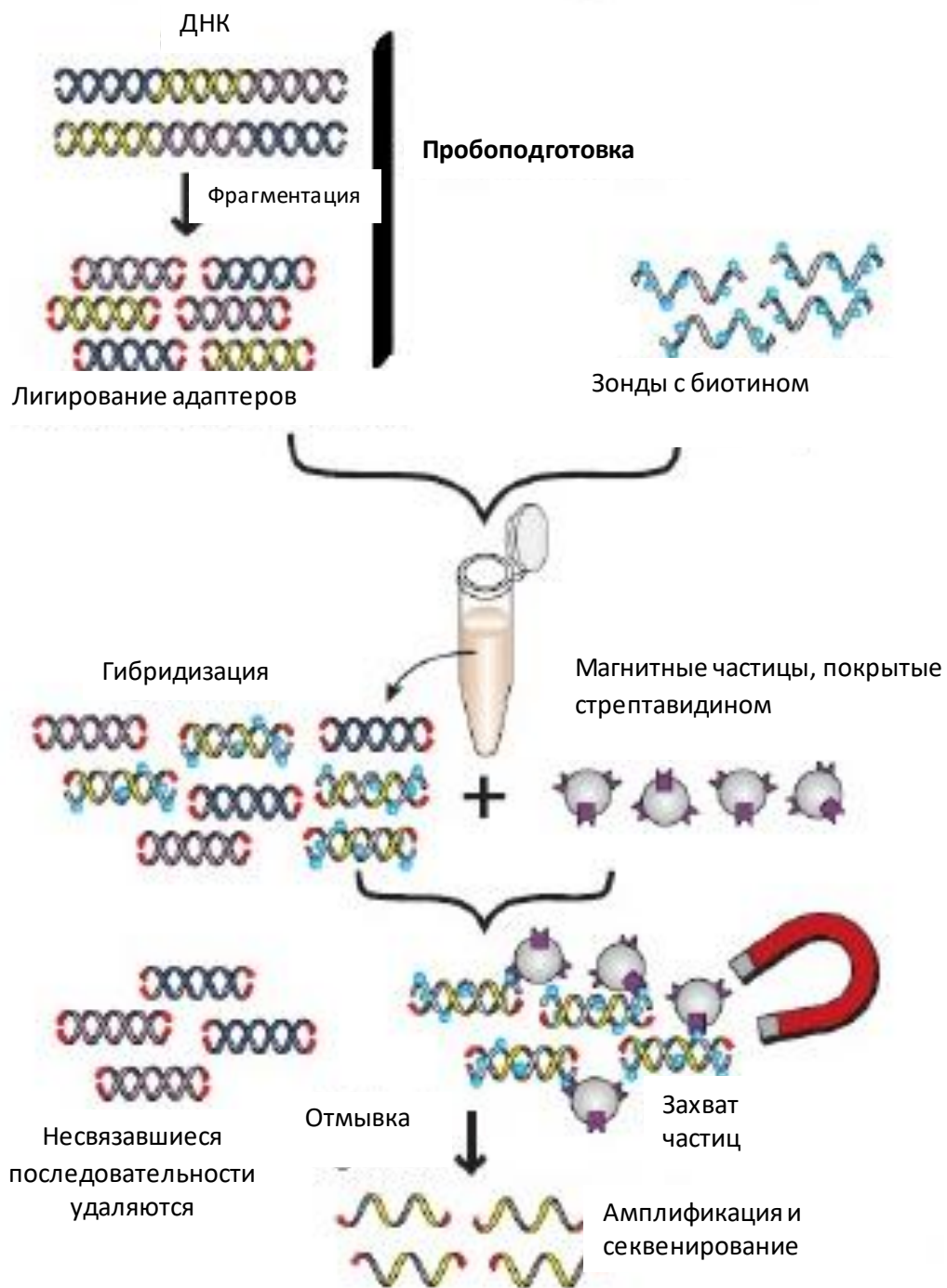


Рис. 9. Схема подготовки библиотеки для NGS.

- лигирование (присоединение) универсальных адаптеров (синтетических олигонуклеотидов с известной последовательностью, для дальнейшей гибридизации библиотек ДНК на проточной ячейке секвенатора MiSeq, Illumina) и индексов (синтетические олигнуклеотиды с известной последовательностью, для

дифференцировки образцов, анализируемых в одном запуске) по концам фрагментов – SeqCap Adapter Kit, Roche, Швейцария;

- обогащение библиотеки фрагментов геномной ДНК за счет гибридизации с биотинилированными зондами набора панели 300 генов;
- амплификация обогащенных библиотек на анализаторе нуклеиновых кислот «АНК-32» («Синтол», Москва) по следующему протоколу реакции: начальная денатурация при 98⁰С – 45 с и далее 14 циклов с температурно-временным режимом: плавление при 98⁰С – 15 с, отжиг при 60⁰С – 30 с и элонгация при 72⁰С – 30 с; заключительная элонгация при 72⁰С – 60 с.

2) Определение последовательности фрагментов ДНК проводилось на секвенаторе MiSeq, Illumina с помощью программного обеспечения BaseSpace. Принцип секвенирования на платформе MiSeq представлен на рисунке 10. Результатом секвенирования являлся файл с расширением .fastq, который в дальнейшем анализировался биоинформатическими методами.

3) Обработка полученных данные по каждому образцу в формате fastq происходило в несколько этапов. Сначала последовательности адаптеров и нуклеотидов с низким качеством и N-нуклеотиды удалялись из полученных прочтений с помощью программы Trimmomatic. Для картирования последовательностей («выравнивания ридов») на геном (hg38) использовалась программа Bowtie2, в результате чего получили данные в формате .bam. С помощью программы GATK осуществлялся поиск вариантов, в результате которого данные переводились в формат с расширением .vcf. И заключительной обработкой результатов было аннотация вариантов с помощью онлайн ресурса wANNOVAR с получением данных в формате .csv.

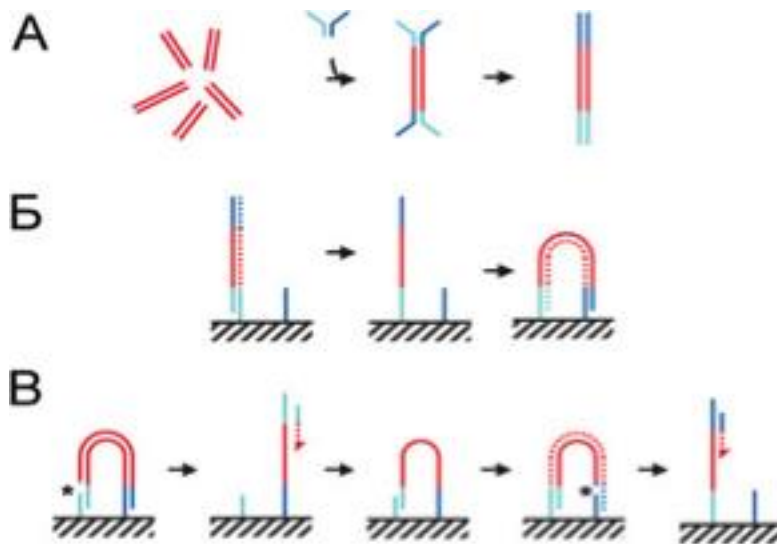


Рис. 10. Метод мостиковой ПЦР (принцип секвенирования на платформе MiSeq)

Из аннотированных вариантов нуклеотидных последовательностей выбирались только несинонимичные варианты (nonsynonymous SNV) или варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания (frameshift deletion, frameshift insertion), или варианты, приводящие к преждевременной терминации (stopgain). Также выставлялся фильтр по частоте минорного аллеля (minor allele frequency, MAF) по базе данных «1000 геномов» (1000G_all), рассматривались варианты только с MAF < 5%. Все отфильтрованные варианты были просмотрены на предмет соответствия фенотипу. После чего каждый выбранный вариант подробно рассматривался и интерпретировался согласно «Руководству по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)» от 2017 года [Рыжкова О.П. и др., 2017].

В работе использовались следующие базы данных:

- ExAC – популяционная база данных (<http://exac.broadinstitute.org/>)
- dbSNP – база данных коротких генетических вариантов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)

- 1000 Genome project – популяционная база данных (<http://browser.1000genomes.org>)
- Pubmed – база данных медицинских и биологических публикаций (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)
- OMIM – базы данных по нозологиям (<http://www.omim.org>)
- ClinVar – база данных о клинической значимости и фенотипической взаимосвязи (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)
- LOVD – база данных по нозологиям (<http://www.lovd.nl>)
- Ensemble – геномный браузер (<http://www.ensembl.org/index.html>)
- UCSC – геномный браузер (<https://genome.ucsc.edu>)
- GTEx – база данных ткане-специфичной экспрессии генов (<https://www.gtexportal.org/home/>)
- UniProt – база данных по аннотации белковых последовательностей (<http://www.uniprot.org>)

Кроме того, использовались следующие программы предсказания патогенности вариантов нуклеотидной последовательности *in silico*:

- SIFT – эволюционная консервативность (<http://sift-dna.org>), где D – deleterious ($\text{sift} \leq 0.05$) и T – tolerated ($\text{sift} > 0.05$);
- PolyPhen2 hdiv – структура/функция белка и эволюционная консервативность (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2>), где D – probably damaging (≥ 0.957), P – possibly damaging ($0.453 \leq \text{pp2_hdiv} \leq 0.956$) и B – benign ($\text{pp2_hdiv} \leq 0.452$);
- Mutation Taster – структура/функция белка и эволюционная консервативность (<http://www.mutationtaster.org>), где A – disease_causing_automatic; D – disease_causing; N – polymorphism и P – polymorphism_automatic;
- Gerp++ – нуклеотидная консервативность (<http://mendel.stanford.edu/sidowlab/downloads/gerp/>), вариант считается патогенным при оценке > 2 ;

- CADD – обобщение различных методов (<http://cadd.gs.washington.edu>), вариант считается патогенным при оценке >20 ;
- SNPs&Go – структура/функция белка (<http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go>);
- Human Splicing Finder – изменения в сайтах сплайсинга, основанное на положение варианта (<http://www.umd.be/HSF/>).

Каждый выбранный вариант после рассмотрения по перечисленным базам данных и программам предсказания патологенности относился к патогенным или доброкачественным критериям (список критериев приведен в приложении 14). Затем на основании комбинации критериев вариант классифицировался по правилам Руководства как: 1) патогенный вариант, 2) вероятно патогенный, 3) вариант неопределенного значения, 4) вероятно доброкачественный вариант и 5) доброкачественный вариант. Правила комбинации критериев приведены в приложении 15.

Варианты, классифицированные как патогенные, вероятно патогенные варианты и варианты неопределенного значения подтверждались методом стандартного сэнгеровского секвенирования для дальнейшего вынесения в заключение.

2.3. Биомаркеры паркинсонизма: характеристика обследованных, нейрофизиологические и нейровизуализационные методы

Цветовые зрительные вызванные потенциалы

До проведения цветowych зрительных вызванных потенциалов каждый обследуемый прошел предварительный осмотр окулиста для исключения значимой офтальмологической патологии (глаукома, возрастная дегенерация сетчатки и др.), способной исказить получаемые результаты ЦЗВП. С помощью ЦЗВП были исследованы группа БП, поделенная на подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия лечения противопаркинсоническими препаратами, и группа контроля.

В группу БП вошли 46 пациентов, соотношение мужчин и женщин – 21/25, средний возраст составил $54,3 \pm 7,0$ лет. Диагноз БП ставился согласно критериям «Parkinson's Disease Society Brain Bank». Возраст начала заболевания – $50,5 \pm 7,9$ лет, длительность – $4,1 \pm 4,1$ года, отягощенный семейный анамнез по БП наблюдался в 26,1% (12/46), акинетико-ригидная форма – у 23,9% (11/46, у остальных больных была смешанная форма заболевания), тяжесть заболевания по шкале Хен-Яр – $2,0 \pm 0,8$ стадия.

В подгруппу «БП без лечения» вошёл 21 пациент, соотношение мужчин и женщин – 13/8, средний возраст в подгруппе составил $54,2 \pm 6,7$. Возраст начала – $52,9 \pm 6,7$ лет, длительность заболевания – $1,8 \pm 1,4$ лет, отягощенный семейный анамнез по БП наблюдался в 33,3% (7/21), акинетико-ригидная форма заболевания – у 23,8% (5/21, у остальных была смешанная форма), тяжесть заболевания по шкале Хен-Яр – $1,4 \pm 0,6$ стадия.

В подгруппу «БП с лечением» вошли 25 пациентов, соотношение мужчин и женщин – 8/17, средний возраст в подгруппе – $54,4 \pm 7,6$. Возраст начала – $48,2 \pm 8,4$ лет, длительность БП – $6,3 \pm 4,7$ лет, отягощенный семейный анамнез по БП – у 20% пациентов (5/25), акинетико-ригидная форма заболевания – у 24,0% (6/25, у остальных - смешанная), тяжесть заболевания по шкале Хен-Яр - $2,5 \pm 0,6$ стадия. Как минимум за 12 часов до исследования пациент не получал

противопаркинсонические препараты во избежание искажения получаемых результатов (данные препараты могут модулировать цветовосприятие). В подгруппе «с лечением» леводопа-терапия проводилась у 14 пациентов (56%), средняя суточная доза леводопы составила $466,7 \pm 305,8$ мг. Проводился также расчет суточной дозировки противопаркинсонических препаратов по их эквивалентным дозам (приложение 16) [Tomlinson C.L. et al., 2010], средняя суточная потребность в подгруппе «с лечением» составила $655,4 \pm 386,4$ единиц.

Группу сравнения составили сопоставимые по возрасту и полу 58 обследованных, 21 мужчина и 37 женщин, средний возраст – $53,1 \pm 8,3$ лет.

Кроме основной и контрольной группой с помощью ЦЗВП были обследованы лица из группы риска БП – 32 пациента, 20 мужчин и 12 женщин, средний возраст – $49,1 \pm 12,0$ лет.

Методика ЦЗВП проводилась на приборе НейроМВП («Нейрософт», Иваново). Расстояние от головы пациента до монитора составляло 1,5 м. Угол между взором пациента и центром экрана монитора был не более 5–10 градусов. Исследование проводилось в затемненном помещении.

Электроды размещались согласно системе «10–20»: активные электроды – в проекции затылочной коры O1 и O2, референсный электрод – Fz, заземляющий электрод – Cz. Место установки электрода предварительно обрабатывалось абразивной пастой, затем с помощью адгезивной пасты электрод фиксировался на заданную область.

ЦЗВП исследовались на реверсивный паттерн: 1) контраст черных и белых клеток, 2) черных и красных, 3) черных и зеленых, 4) черных и синих, 5) зеленых и красных, 6) синих и желтых клеток (рис. 11. Размер ячейки паттерна составил 50 минут, частота стимуляции – 1 Гц. Сначала стимуляция проводилась левого глаза, затем правого (при билатеральной регистрации). Для подтверждения стабильности ответа проводилось усреднение от 60 до 100 вызванных ответов. Эпоха анализа составила 500 мс, чувствительность 5–10 μ В. Для каждого контрастного паттерна анализировалась амплитуда (N75-P100) и латентность пика P100.

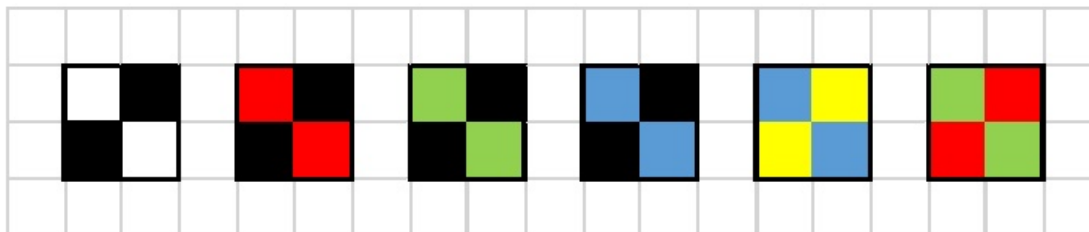


Рис. 11. Реверсивные цветовые паттерны, использованные при исследовании ЦЗВП.

Оптическая когерентная томография

В исследование вошли 24 пациента, страдающих БП. Диагноз ставился согласно критериям «Parkinson's Disease Society Brain Bank». В расчетах учитывалось 45 томограмм глаз (а не 48), у троих больных оценивался только один глаз по причине неудовлетворительного качества полученных томограмм другого глаза. Средний возраст на момент обследования в группе БП составил $56,9 \pm 9,9$ лет. Соотношение мужчин и женщин 14/10. Средняя длительность заболевания – $6,6 \pm 5,9$ лет. Тяжесть заболевания по шкале Хен-Яр – $2,2 \pm 1,0$ стадия. Каждый обследуемый прошел предварительный осмотр окулиста для исключения значимой офтальмологической патологии (глаукома, возрастная дегенерация сетчатки и др.), способной исказить получаемые результаты.

Контрольную группу составили 20 обследованных (у каждого обследованного учитывались обе томограммы: и OD, и OS). Группа была сопоставима по возрасту и полу с группой БП. Средний возраст в контрольной группе составил $50,4 \pm 12,2$ лет ($p > 0,05$). Соотношение мужчин и женщин – 8/12.

Кроме основной и контрольной группой с помощью ОКТ были обследованы лица из группы риска БП – 20 пациентов, 14 мужчин и 6 женщин, средний возраст – $51,9 \pm 12,2$ лет.

Оптическая когерентная томография проводилась на аппарате SOCT Copernicus HR (ОСТОРPOL Technology) с использованием протокола для оценки

слоя нервных волокон сетчатки (CHBC, RNFL) в перипапиллярной области. Диаметр кольца, равноудаленного от диска зрительного нерва, составил 2,4 мм, ширина кольца – 0,4 мм. Толщина CHBC оценивалась в мкм в четырех квадрантах: височном, верхнем, назальном и нижнем (temporal – superior – nasal – inferior - TSNI), а также в 10 секторах: темпоральном, среднем и назальном секторах верхнего квадранта, верхнем и нижнем секторах назального квадранта, назальном, среднем и темпоральном секторах нижнего квадранта, нижнем и верхнем секторах височного квадранта. У каждого обследуемого исследовались оба глаза с реконструкцией глазного дна, построением карты толщины CHBC, расчетом параметров диска зрительного нерва, построением графика толщины CHBC вокруг диска с наложением на нормальные значения, расчетом общей средней толщины CHBC, а также толщины CHBC для каждого квадранта и сектора. Пример томограммы представлен на рисунке 12.

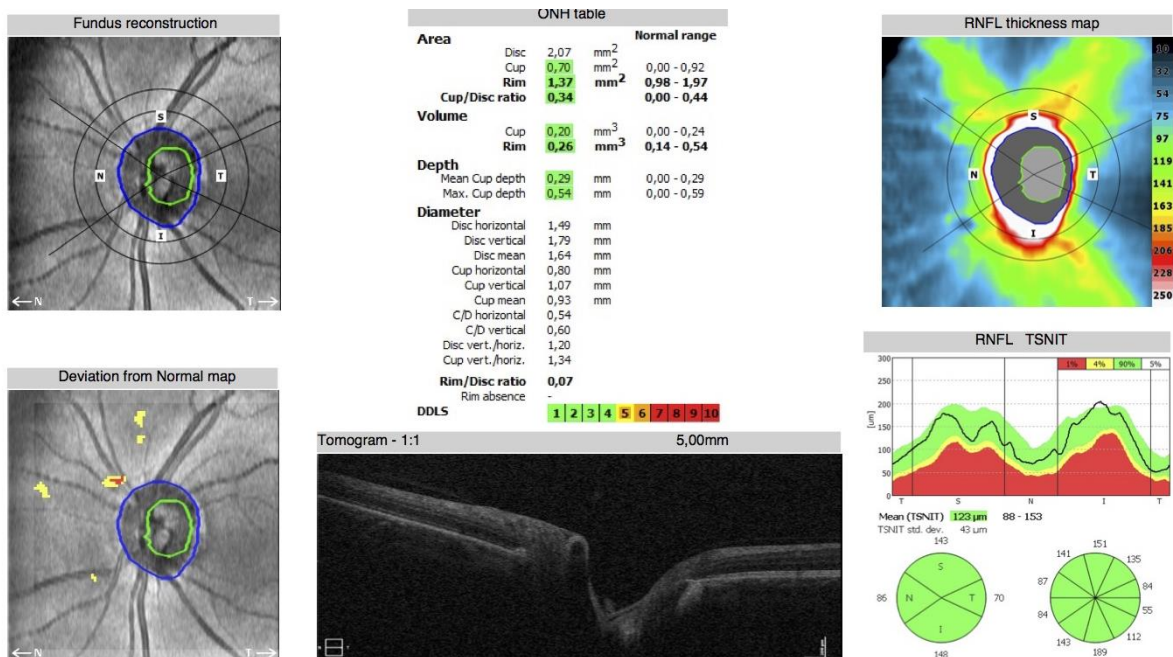


Рис. 12. Пример томограммы, полученной с помощью ОКТ. Графическое представление толщины CHBC каждого квадранта и сектора располагается внизу справа.

Транскраниальная сонография

В исследование стабильности УЗ-биомаркера – гиперэхогенности черной субстанции – вошли 32 пациента (13 мужчин, 19 женщин), страдающих БП. В данной группе ТКС проводилось дважды. Средний возраст на момент первичного исследования составил $52,6 \pm 7,8$ лет. Повторное обследование в группе проводилось через $7,3 \pm 1,2$ лет (при минимальном периоде 5 лет и максимальном – 8 лет).

Кроме этого с помощью ТКС был проведен скрининг общей популяции для поиска лиц группы риска, в связи с чем были обследованы 193 неврологически здоровых добровольца и 15 клинически здоровых родственников пациентов с БП (подробная демографическая характеристика в следующем разделе).

ТКС выполняли на ультразвуковом сканере “Logiq 9” фирмы “GE” (США) в В-режиме с получением изображений и анализом следующих структур головного мозга: черной субстанции, третьего и боковых желудочков. Исследование структур головного мозга проводили фазированным секторным датчиком частотой 2,5 МГц через транстемпоральное УЗ окно с двух сторон в трех стандартных аксиальных плоскостях сканирования: 1) на уровне среднего мозга; 2) на уровне третьего желудочка и таламусов; 3) на уровне центральной части боковых желудочков (рисунок 13).

На приборе выставляли следующие предустановки: глубина локации 140–160 мм, зона фокуса на глубине 7–8 см, динамический диапазон в пределах 45–50 дБ. Яркость и контрастность выставляли индивидуально при каждом конкретном исследовании. Датчик располагали горизонтально в области чешуи височной кости по линии, соединяющей наружный край орбиты и наружное слуховое отверстие (орбитомеатальная линия). При аксиальном сканировании получали изображение среднего мозга, который визуализируется в виде бабочки, пониженной эхогенности, окруженной эхогенными базальными цистернами. В качестве ориентира нахождения среднего мозга могут выступать, огибающие его задние мозговые артерии, которые визуализируются при активации режима цветового доплеровского картирования. В ножках мозга, преимущественно

гомолатерально по отношению к датчику, оценивали область черной субстанции, которая в норме имеет пониженную эхогенность и не отличается от окружающей ее структуры среднего мозга. В этой же плоскости сканирования, дорзальнее области черной субстанции, около средней линии среднего мозга при качественном ультразвуковом окне обычно визуализируются небольшие, округлой формы красные ядра, которые по эхогенности сравнимы с базальными цистернами. Для детального рассмотрения области черной субстанции изображение среднего мозга оптимизировали, увеличивая его в 2-3 раза. В случае обнаружения ГЧС эту область обводили курсором вручную с последующим автоматическим расчетом площади (рис. 14). Измерение площади ГЧС проводилось с гомолатеральной стороны по отношению к датчику.

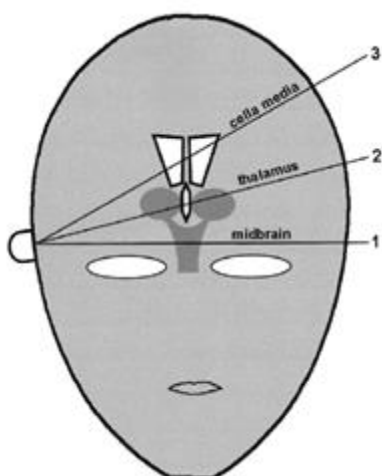


Рис. 13. Схематическое изображение плоскостей сканирования при транскраниальной сонографии [Walter U., Behnke S. et al., 2007].

- 1 – уровень среднего мозга (*midbrain*);
- 2 – уровень III желудочка и таламусов (*thalamus*) с углом наклона датчика 10° ;
- 3 – уровень центральной части бокового желудочка (*cella media*) с углом наклона датчика 25° .

Далее переходили в плоскость сканирования третьего желудочка и таламусов, что достигалось наклоном датчика вверх примерно на 10° от плоскости исследования среднего мозга. В этой плоскости между гипозоногенными, овоидной формы таламусами визуализировали анэхогенный третий желудочек, границы которого представлены параллельно расположенными линейными структурами повышенной эхогенности. Измерение ширины третьего желудочка производилось вручную маркерами, которые устанавливали по внутреннему краю гиперэхогенных границ желудочка.

При наклоне датчика вверх приблизительно на 25° от исходной плоскости сканирования среднего мозга визуализировали анэхогенную центральную часть

контрлатерального бокового желудочка, границы которого представлены гиперэхогенными линейными структурами. Вычисление ширины боковых желудочков производили аналогично измерению третьего желудочка.

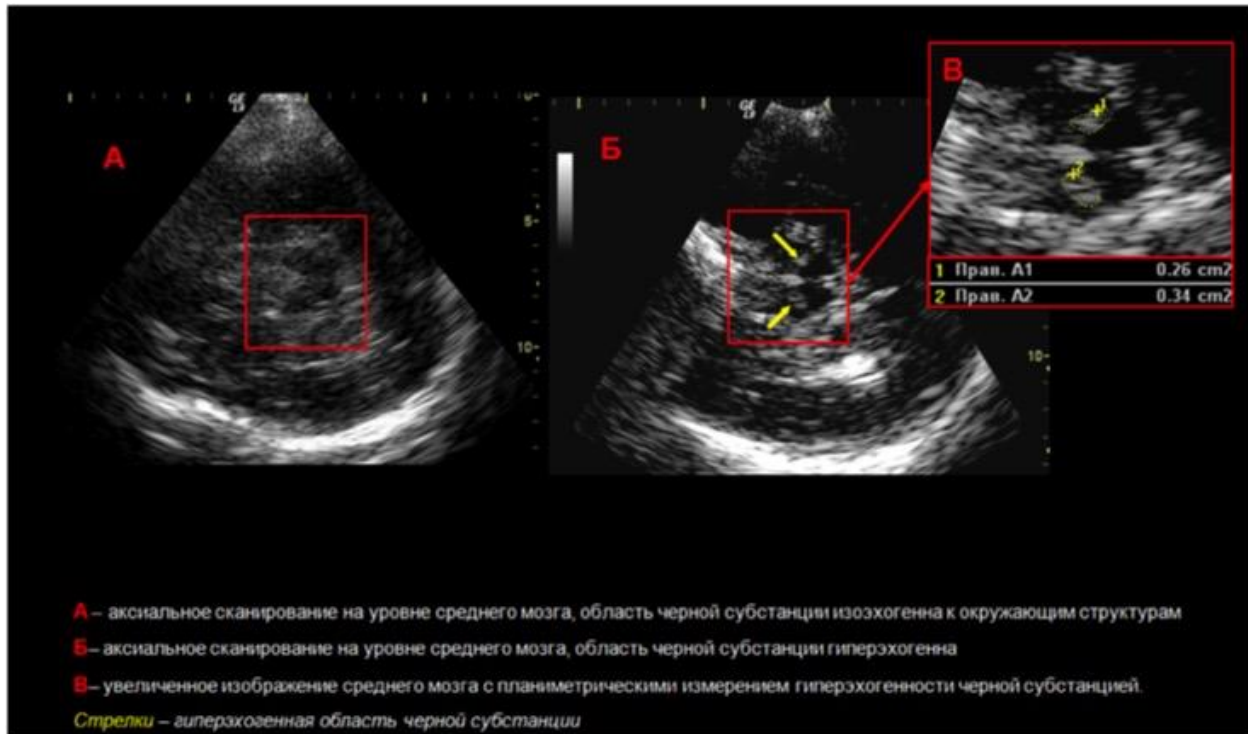


Рис. 14. Изоэхогенность (слева) и гиперэхогенность (справа, стрелки) черной субстанции.

Предшествовавшей работой была определена значимость феномена гиперэхогенности черной субстанции в диагностике БП. Было проведено исследование 88 больных с БП (соотношение мужчин и женщин – 37/51, средний возраст – $55,1 \pm 10,5$ лет) с удовлетворительными УЗ-окнами для проведения ТКС и 56 неврологически здоровых лиц контрольной группы, сопоставимой по полу и возрасту с основной. Обобщенные результаты ТКС, полученные в группах представлены с таблице 2.

По проведенному ROC-анализу чувствительность и специфичность ГЧС для диагностики БП при разграничительном значении 20 мм^2 составила 90,8% и 86,5%, соответственно (рис. 15). AUROC= 0,931.

УЗ-характеристики группы БП и контрольной группы

УЗ-характеристика	Болезнь Паркинсона	Контрольная группа
Площадь ГЧС, мм ²	26 [31; 38]	0 [0; 16]*
Ширина III желудочка, мм	4,9 ± 1,5	4,4 ± 1,6
Ширина бокового желудочка, мм	16,9 ± 1,8	16,6 ± 1,6

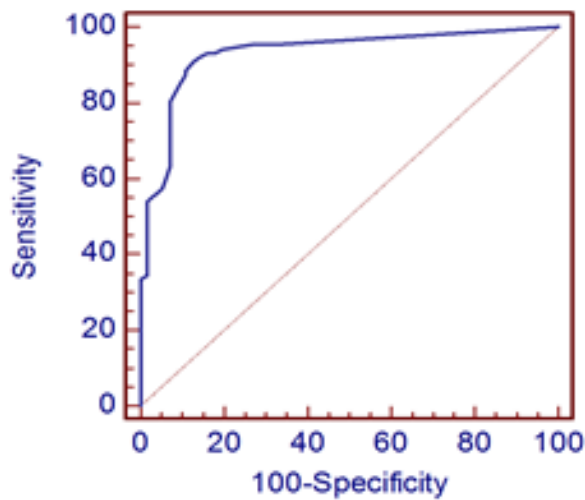


Рис. 15. ROC-кривая гиперэхогенности черной субстанции в диагностике БП.

В связи с этим патологическими значениями площади ГЧС считались 20 мм² и более. При этом значении встречаемость феномена ГЧС в группе БП составила 90,9%, в контрольной группе – 14,3%.

Ольфактометрия

Ольфактометрия проводилась в группе риска (N=37) и в контрольной группе (N=21), в том числе и при динамическом наблюдении. Подробная характеристика обследованных представлена в следующем разделе.

Для оценки обонятельных нарушений использовался расширенный Sniffin' Sticks-тест фирмы "Burghart Medizintechnik" (Германия), оценивающий три параметра – порог обоняния, дискриминация и идентификация запахов (рис. 16). Порог определялся с помощью 16 триплетов фломастеров с возрастающей концентрацией запаха н-бутанола, при этом в каждом триплете лишь один фломастер из трех обладал запахом. Дискриминация также исследовалась с помощью 16 триплетов фломастеров, в триплете необходимо было определить один запах, отличающийся от остальных двух. Идентификация определялась по 16 запахам, каждый из которых необходимо было правильно сопоставить с одним из четырех предложенных вариантов наименований (см. приложение 17).



Рис. 16. Sniffin' Sticks-тест (<http://www.burghart-mt.de>).

Для определения наиболее специфичного параметра ольфактометрии для БП и его разграничительного значения было проведено соответствующее исследование, совместно с отоневрологами [Алексеева Н.С. и др., 2012]. В исследование вошли 113 пациентов с БП (соотношение мужчин/женщин – 56/57, средний возраст – $59,3 \pm 10,2$) и 35 человек сопоставимой контрольной группы.

Результаты в группах по порогу обоняния, дискриминации и идентификации приведены в табл. 3.

Табл. 3.

Оценка обонятельной функции у пациентов с БП и в контроле

Тест	Болезнь Паркинсона	Контрольная группа
Порог, баллы	2,6 ±1,5	5,7 ±2,5*
Дискриминация, баллы	8,7 ±4,3	13,1 ±2,1*
Идентификация, баллы	8,2 ±4,4	14,3 ±1,6*

* $p(U) < 0,01$

По проведенному ROC-анализу чувствительность и специфичность для порога обоняния при разграничительном значении 4 балла составила 79% и 69%, соответственно; для дискриминации при разграничительном значении 11 баллов – 70% и 77%, для идентификации при «cut-off»-значении - 90% и 80% (рис. 17). AUROC=0,907.

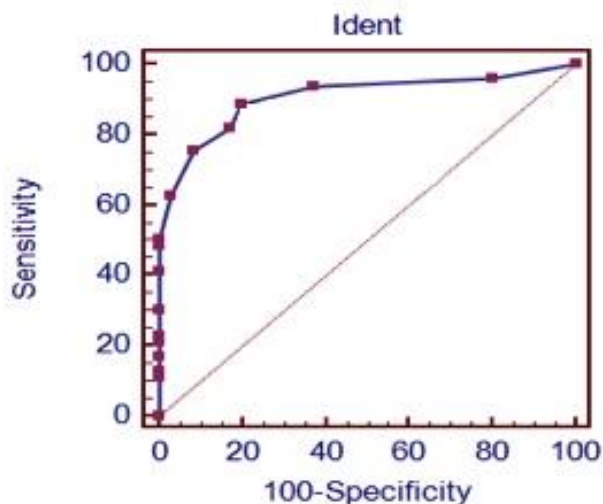


Рис. 17. ROC-кривая идентификации Sniffin' Sticks-теста с диагностике БП.

В связи с этим для группы риска был выбран тест идентификации, как наиболее диагностически точный для БП. При этом патологическими значениями по тесту идентификации считались 12 баллов и меньше. При этом значении встречаемость патологической гипосмии по идентификационному тесту в группе БП составила 83%, в контрольной группе – 21%.

Саккадометрия

С помощью саккадометрии были обследованы лица из группы риска БП – 26 пациентов, 16 мужчин и 10 женщин, средний возраст – $52,0 \pm 11,3$ лет.

Нейрофизиологическое исследование движений глаз проводилось на программно-аппаратном комплексе «Взор» [Базиян Б.Х., Дмитриев И.Э., 1996]. 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 (рис. 18).

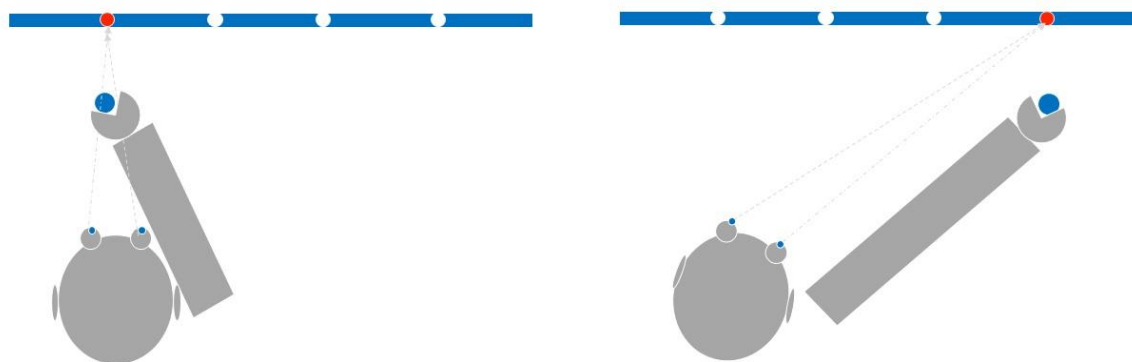


Рис. 18. Схематическое изображение выполнения координированного теста с вовлечением глаз, руки и головы.

При этом анализировались три основные характеристики: латентный период движений глаз, их длительность и процент многоступенчатых движений глаз (мульти-саккадность) (рис. 19).

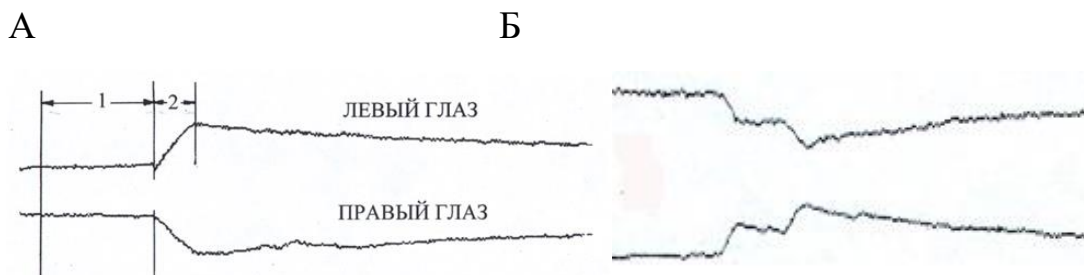


Рис. 19. Пример саккадометрии. А: 1 – латентный период, 2 – длительность саккады. Б – мульти-саккадность.

Для расчета пограничных значений этих параметров и выбора из них наиболее специфичного и чувствительного параметра были взяты значения, полученные в исследовании к.м.н. Л.А.Чигалейчик и представленные в таблице 4 [Чигалейчик Л.А., 2001].

Табл. 4.

Параметры саккадометрии в группе болезни Паркинсона и в контроле.

Параметры саккадометрии	Болезнь Паркинсона (N=16)	Контрольная группа (N=23)
Латентный период, мс	183,2+11,0	209,9+17,9
Длительность, мс	157,4+33,3	90,6+8,7
Мультисаккадность, %	≥ 5	≤ 4

На основании этих данных рассчитывались разграничительные «cut-off» значения. Разграничительное значение как пересечение нормальных распределений для латентного периода составило 200 мс, для длительности саккад – 110 мс (www.desmos.com). При этом «длительность» представляет собой время осуществления движений глаз от начала первой саккады до завершения последней, то есть в параметре «длительность» учитывается мультисаккадность, по этой причине параметр «мультисаккадности» не рассматривался отдельно. d-Коэна параметра «латентный период» составила 1,8. d-Коэна параметра «длительность» составила 2,7. В связи с большей диагностической точностью был выбран параметр длительности в качестве определяющего патологические результаты в координированном тесте саккадометрии (при разграничительном значении 110 мс). При этом разграничительном значении и при допущении нормальности распределения встречаемость патологически увеличенной длительности в группе БП ориентировочно составила 87,5%, в контрольной группе – 4,3%.

2.4. Исследование группы риска болезни Паркинсона

Дизайн исследования

Исследование группы риска БП проводилось в два этапа.

На **первом этапе** были сформированы группы в зависимости от наличия/отсутствия двух ведущих и доказанных факторов риска, ассоциированных с БП – феномена гиперэхогенности черной субстанции (ГЧС) и мутаций в генах паркинсонизма:

1) группа риска БП, состоящая из:

- подгруппы клинически здоровых носителей ГЧС,
- подгруппы клинически здоровых носителей мутаций;

2) контрольная группа клинически здоровых лиц без таковых факторов риска (ГЧС и мутаций).

На **втором этапе** в сформированной группе риска и в контрольной группе проводился поиск продромальных маркеров БП – продромальных проявлений заболевания: гипосмии, расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз, депрессии, констипации и легкой паркинсонической симптоматики.

Формирование группы риска и характеристика обследованных пациентов

Для формирования подгруппы риска из носителей ультразвукового маркера БП, ГЧС, проводился скрининг общей популяции с помощью ТКС по стандартной методике, описанной выше. Для этого была обследована выборка из общей популяции, в которую вошли 193 неврологически здоровых человека (средний возраст – $52,4 \pm 13,7$ лет, соотношение мужчин и женщин – 104/89), имеющие удовлетворительные височные окна для проведения ультразвукового исследования. Феномен ГЧС был выявлен у 27 (13,9%), из них согласились на дальнейшее комплексное обследование и полностью его прошли 22 человека. Таким образом, 22 испытуемых вошли в подгруппу риска по линии

ультразвукового маркера БП и, соответственно, в общую группу риска. Средний возраст в подгруппе составил $53,2 \pm 9,6$ лет; соотношение мужчин и женщин – 14/8.

Асимптомные носители мутаций выявлялись среди родственников пациентов БП – симптомных носителей мутаций. Из молекулярно-генетических методов использовались вышеописанные метод MLPA (гены *LRRK2*, *PARK2*) и секвенирование (ген *GBA*). Для выявления асимптомных носителей были обследованы 57 клинически здоровых родственников (первой и второй степени родства) больных БП, у которых было подтверждено наличие соответствующих мутаций в вышеперечисленных генах. Средний возраст в группе обследованных родственников составил $41,7 \pm 17,4$ лет, соотношение мужчин и женщин – 21/36. У 18 из них выявлены мутации, аналогичные таковым у больного родственника. Из них 15 человек (трое с мутацией в гене *LRRK2*, трое – в гене *PARK2* и девять – в гене *GBA*) согласились на дальнейшее обследование и полностью его прошли. Таким образом, 15 человек вошли в подгруппу генетического риска БП по линии ДНК-диагностики и, соответственно, в общую группу риска. Средний возраст в данной подгруппе составил $43,2 \pm 13,7$; соотношение мужчин и женщин – 9/6.

Таким образом, в общую группу риска, состоящую из двух подгрупп, вошли 37 человек. Средний возраст в группе – $49,2 \pm 12,3$ лет, соотношение мужчин и женщин – 23/14.

Контрольная группа формировалась при скрининге общей популяции из добровольцев, у которых по ТКС не было выявлено ГЧС. Также у них были исключены основные «паркинсонические» мутации с помощью метода MLPA и мажорные мутации гена *GBA* – N370S, L444P (методика описаны выше в соответствующем разделе). Согласились и полностью прошли все обследования второго этапа 21 человек, которые и составили контрольную группу. Средний возраст в контрольной группе – $48,6 \pm 11,9$ лет, соотношение мужчин и женщин – 10/11. При сопоставлении контрольной группы с общей группой риска, а также с подгруппой по ультразвуковому и с подгруппой по генетическому маркеру статистически значимых возрастных и гендерных различий получено не было.

Методы исследования продромальных биомаркеров БП

В сформированной группе риска и в контрольной группе проводился поиск «продромальных маркеров» БП: гипосмии, РПБДГ, депрессии, констипации и легкой паркинсонической симптоматики.

Гипосмия. Количественная ольфактометрия проводилась с помощью идентификационного Sniffin' Sticks-теста ("Burghart Medizintechnik", Германия). Гипосмия диагностировалась при 12 баллах по тесту и ниже.

Расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз. Выявление РПБДГ проводилось с помощью двух взаимодополняющих опросников. Во-первых, использовался скрининговый опросник на наличие РПБДГ (REM sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire, RBDSQ) [Stiasny-Kolster K., 2007]. Наличие РПБДГ по этому опроснику диагностировалось при 4 баллах и выше. Второй опросник – тест из одного вопроса для выявления РПБДГ (RBD Single Question, RBD1Q) [Postuma R.B., Arnulf I. et al., 2012]. Опросники представлены в приложении 18. При получении конфликтующих результатов по опросникам проводилась полисомнография для уточнения наличия РПБДГ (на базе Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, д.м.н. М.Р. Нодель, д.м.н. Г.В. Ковров).

Депрессия. Наличие или отсутствие депрессии оценивали по опроснику Бека (Beck Depression Inventory) (см. приложение 19) [Beck A.T. et al., 1996]. Наличие депрессии определялось при 10 баллах и выше.

Констипация. Оценку констипации проводили по вопросам из опросника немоторных симптомов БП (Non-motor symptoms questionnaire, NMSQ) (см. приложение 20) [Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P. et al., 2006].

Легкая паркинсоническая симптоматика (mild parkinsonian signs) оценивалась по моторной подшкале унифицированной рейтинговой шкалы БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS) и диагностировалась при 2 баллах и выше [Louis E.D., Bennett D.A., 2007].

Расчет вероятности продромальной стадии

Расчет вероятности продромальной стадии для конкретного индивида проводился по вероятностному классификатору, основанному на применении теоремы Байеса. В расчетах за основу бралась распространенность БП по возрастам (пре-тестовая вероятность), на которую накладывалось произведение отношений правдоподобия (LR, likelihood ratio) положительных/отрицательных результатов для каждого фактора риска и продромального маркера. В результате расчета получался определенный процент вероятности продромальной стадии – вероятности развития заболевания в ближайшие 10 лет (пост-тестовая вероятность) [Berg D. et al. 2015].

У каждого обследуемого оценивались 7 факторов риска: возраст, пол, воздействие пестицидов/растворителей, курение, употребление кофе, наличие ГЧС по транскраниальной сонографии, отягощенность семейного анамнеза/носительство мутации в генах *GBA*, *LRRK2*, *PARK2*. Также в расчет принимались 5 продромальных маркеров: гипосмия с помощью Sniffin' Sticks теста, расстройство поведения в REM-фазу сна по опросникам RBDSQ/RBD1Q, депрессия по шкале Бека, констипация в рамках опросника немоторных нарушений БП NMSQ, моторные проявления по UPDRS. Методы оценки продромальных маркеров приведены выше.

Пре-тестовая вероятность и отношения правдоподобия для факторов риска/продромальных маркеров, используемые в работе, оценивались так же, как рекомендовано в исследовательских критериях продромальной стадии БП (табл. 5 и табл. 6, соответственно). Расчет пост-тестовой вероятности проводился с помощью онлайн-калькулятора – <http://www.sample-size.net/post-probability-calculator-test-new/>. Продромальная стадия считалась «вероятной» при превышении 80%, и «возможной» – при >50%. Учитывая невысокую чувствительность метода, показанную в валидизированных исследованиях, предпочтение отдавалось 50%-ному разграничительному уровню.

Пре-тестовая вероятность продромальной стадии в разных возрастных группах.

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 D. et al., 2015]

Повторное обследование группы риска и контрольной группы в динамике

Из общей группы риска 12 обследуемых были осмотрены повторно на предмет динамики продромальных маркеров. В группу повторного обследования вошли 9 носителей ГЧС и 3 носителя мутаций (двое с мутаций L444P гена *GBA* и один с мутацией G2019S гена *LRRK2*). Соотношение мужчин и женщин – 6/6. Средний возраст на момент первоначального осмотра составил $45,7 \pm 9,6$ лет, при повторном обследовании – $52,0 \pm 10,0$ лет. Временной интервал между исходным и повторным осмотрами – $6,3 \pm 1,2$ лет, с минимальным периодом в 5 лет и максимальным в 8 лет (у троих обследованных).

Из контрольной группы повторно осмотрены 8 обследуемых (4 мужчин и 4 женщины). Средний возраст на момент первоначального осмотра составил $48,0 \pm 8,1$ лет, при повторном – $53,8 \pm 7,6$ лет. Временной интервал между исходным и повторным осмотрами – $5,6 \pm 1,0$ лет, с минимальным периодом в 5 лет и максимальным в 8 лет (у одного обследованного).

Поиск дополнительных биомаркеров, ассоциированных с БП, в группе риска

Кроме продромальных биомаркеров, в группе риска исследовались биомаркеры, ассоциированные с БП: нарушение цветовосприятия по ЦЗВП (n=32),

истончение СНВС по данным ОКТ (n=20) и нарушение саккад по анализу траектории движений глаз (n=26). Перечисленные методики описаны выше.

Табл. 6.

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 LRRK2	25	-
- мутация N370S в гене GBA	2	-
- мутация L444P в гене GBA	10	-
Отягощенный семейный анамнез:		
- sibс 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

LR+ – отношение правдоподобия положительного результата; LR – отношение правдоподобия отрицательного результата. Цветом выделены факторы риска, взятые за основу для формирования группы риска. Адаптировано из: [Berg D. et al., 2015]

2.5. Статистическая обработка данных

Обработка данных проводилась в пакетах Statistica 10.0 и MedCalc 18.

Количественные данные описывались с помощью среднего, стандартного отклонения, медианы, квартилей, минимума и максимума. Качественные данные представлялись в виде абсолютных частот и процентов.

Данные оценивались на предмет нормальности распределения с помощью графических методов и с помощью теста Шапиро-Уилка. Гипотеза о равенстве дисперсий проверялась с помощью теста Левена.

Для сравнения двух независимых групп в случае нормально распределенных данных использовались Т-тест Стьюдента, в случае отклонения от нормального распределения – тест Манна–Уитни и тест Краскела–Уоллеса. В случае повторных измерений применялись тест Уилкоксона и MANOVA.

Для оценки ассоциации качественных признаков использовался тест хи-квадрат, тест хи-квадрат с поправкой на непрерывность Йетса и двусторонний точный критерий Фишера.

В работе проводился корреляционный анализ с помощью метода ранговой корреляции Спирмена. Рассчитывались коэффициент корреляции и значение p . Слабая корреляционная связь ($r < 0,3$) даже при статистической значимости не учитывалась.

В пакете MedCalc проводился ROC-анализ и расчет отношений шансов.

Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 0,05. При множественных сравнениях использовалась поправка Бонферрони.

ГЛАВА 3.

ГЕНЕТИКА ПАРКИНСОНИЗМА

3.1. Генетическая структура болезни Паркинсона в российской популяции

В работе была исследована частота встречаемости основные генетических форм болезни Паркинсона и их клинические характеристики. Были проанализированы 6 моногенных форм паркинсонизма: *SNCA* (локус PARK1), *PRKN* (*PARK2*), *PINK1* (*PARK6*), *DJ1* (*PARK7*), *LRRK2* (*PARK8*), *ATP13A2* (*PARK9*), а также *GBA*-ассоциированная БП, рассматриваемая в настоящий момент предположительно как аутосомно-доминантная форма.

Исследование мутаций моногенных форм паркинсонизма при БП

С помощью метода MLPA обследована большая невыборочная серия случаев с БП (n=306) на частые мутации в генах *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*.

По результатам проведенного исследования у 24 (7,8%) было выявлено носительство мутаций в 4 генах моногенного паркинсонизма: *SNCA*, *PARK2*, *PINK1* и *LRRK2*. Мажорная мутация G2019S в гене *LRRK2* выявлена у 8 пациентов (2,6%, рис. 20), гетерозиготная делеция экзона 3 в гене *PINK1* – у одного пациента (0,3%), гетерозиготная дупликация 2-7 экзонов гена *SNCA* – у одного пациента (0,3%).

Мутации в гене *PARK2* были выявлены у 14 пациентов (4,6%):

- гомозиготная делеция экзонов 1-2,
- гетерозиготная делеция экзона 2,
- гетерозиготная дупликация экзона 2 (у 2х пациентов),
- гетерозиготная делеция экзона 3 (рис. 21),
- гетерозиготная делеция экзонов 3-4 (у 3х пациентов),
- гомозиготная делеция экзонов 3-4,
- гетерозиготная делеция экзонов 3-5,
- гетерозиготная делеция экзонов 3-7,

- гетерозиготная делеция экзона 7,
- гомозиготная делеция экзона 8 (рис. 22),
- гетерозиготная делеция экзона 8.

В генах *DJ1*, *ATP13A2* мутаций обнаружено не было.

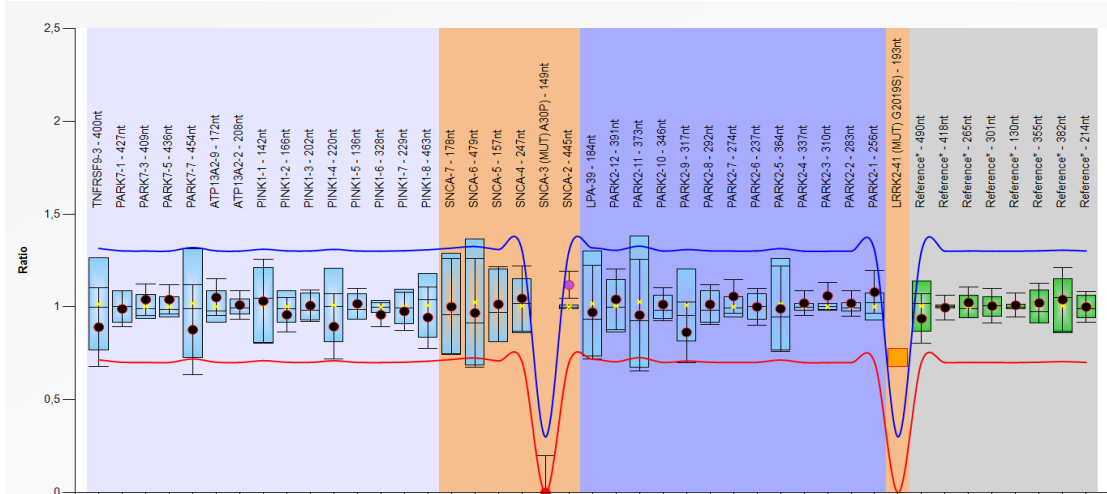


Рис. 20. Результаты MLPA у пациента с мутацией G2019S в гене *LRRK2*.

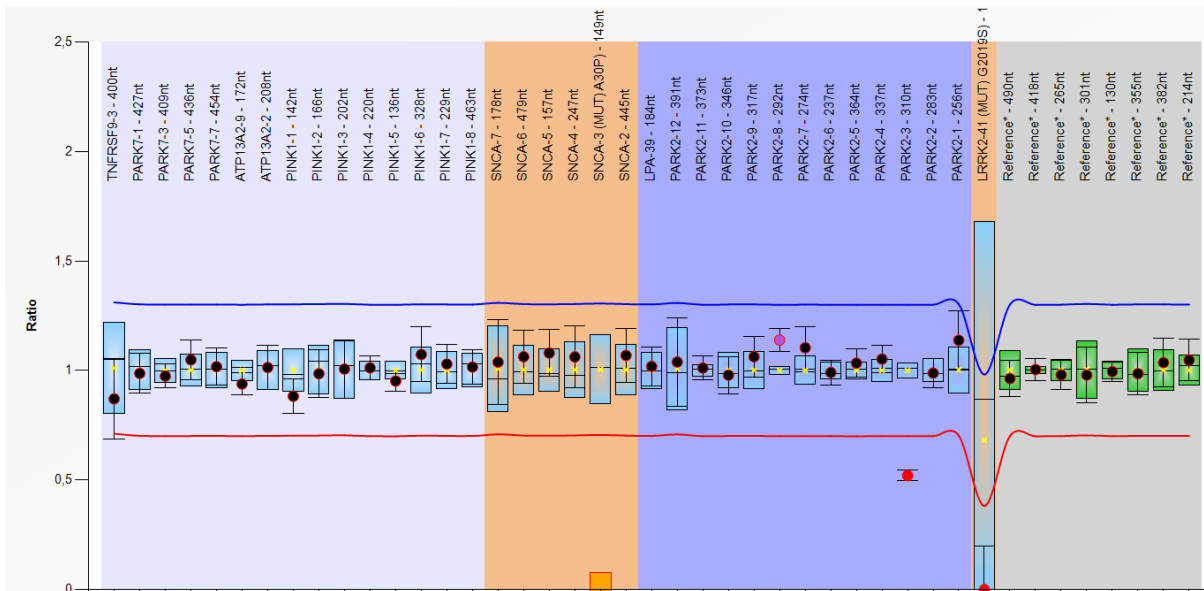


Рис. 21. Результаты MLPA у пациента с гетерозиготной делецией 3 экзона в гене *PARK2*.

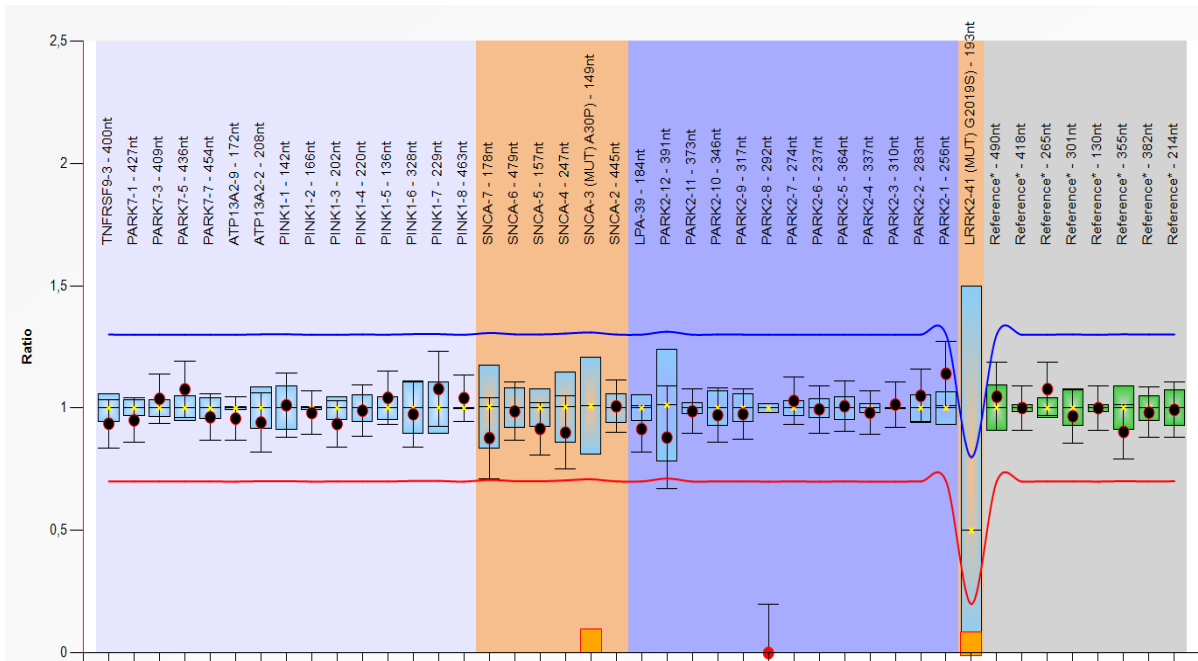


Рис. 22. Результаты MLPA пациента с гомозиготной делецией 8 экзона в гене *PARK2*.

Встречаемость носительства мутаций в группах с ранним/поздним началом заболевания, а также среди семейных/спорадических случаев представлена в таблице 7. Статистически значимо частота встречаемости носителей мутаций при раннем паркинсонизме (12,3%) была выше по сравнению с поздним паркинсонизмом (5,2%, $p(\chi^2)=0,045$); различий между спорадическими (7,0%) и семейными (9,3%) случаями по встречаемости мутаций не выявлено ($p>0,05$).

Группа пациентов с мутациями в гене *PARK2* клинически представлена случаями с молодым возрастом начала симптоматики: средний возраст начала – $35,0 \pm 15,9$ лет, раннее начало наблюдалось в 10 случаях (71,4%), при этом у двоих начало заболевания было в детском возрасте (в 8 и в 10 лет). Носители *PARK2* чаще встречались среди случаев раннего начала (8,8%), чем среди поздних случаев заболевания (2,1%, $p(F)=0,007$). Процент встречаемости среди семейных и спорадических случаев был сопоставим – 4,7% и 4,5%, соответственно, хотя внутри группы носителей мутаций в *PARK2* чаще встречались спорадические случаи – 9/14 (64,3%).

Табл. 7.

Представленность носительства мутаций в общей группе и в подгруппах раннего/позднего начала, среди семейных/спорадических случаев.

Группы	Носители <i>PARK2</i>	Носители <i>LRRK2</i>	Носители <i>PINK1</i>	Носители <i>SNCA</i>	В целом носители мутаций
Общая выборка (n=306)	14 (4,6%)	8 (2,6%)	1 (0,3%)	1 (0,3%)	24 (7,8%)
- с ранним началом (n=114)	10 (8,8%)*	3 (2,6%)	0	1 (0,9%)	14 (12,3%)*
- с поздним (n=192)	4 (2,1%)*	5 (2,6%)	1 (0,5%)	0	10 (5,2%)*
- семейные случаи (n=107)	5 (4,7%)	4 (3,7%)	1 (0,9%)	0	10 (9,3%)
- спорадические (n=199)	9 (4,5%)	4 (2,0%)	0	1 (0,5%)	14 (7,0%)

* $p < 0,05$

У большинства больных с мутациями в гене *PARK2*, 10/14 (71,4%), в клинической картине на фоне леводопа-терапии наблюдались выраженные, инвалидизирующие лекарственные дискинезии (в том числе, в одном случае с поздним началом болезни). Выраженных когнитивных нарушений или психотической симптоматики ни в одном случае не отмечалось. Носители гетерозиготных делеций, гомозиготных делеций и гетерозиготных дупликаций по клинической картине существенно не отличались. Таким образом, в группе *PARK2* преобладал фенотип с ранним началом, преимущественно спорадические случаи и с высоким риском лекарственных дискинезий.

В группе носителей мутации G2019S в гене *LRRK2* чаще встречались случаи с поздним началом – 5/8 (62,5%). Средний возраст начала заболевания составил $46,6 \pm 11,9$ лет (старше на 10 лет по сравнению с носителями *PARK2*, $p(U)=0,09$). Однако процент встречаемости носителей *LRRK2* среди случаев с ранним и

поздним паркинсонизмом был идентичным – 2,6%. В половине случаев отмечался отягощенный семейный анамнез. При этом процент встречаемости носителей среди семейных случаев был в полтора раза больше, чем среди спорадических случаев, хотя и статистически не отличался – 3,7% и 2,0%. В трех случаях к двигательным проявлениям БП присоединились тяжелые психотические нарушения с галлюцинозом и выраженные когнитивные нарушения. У двух пациентов в клинической картине присутствовали лекарственные дискинезии. Таким образом, в группе *LRRK2* преобладал преимущественно фенотип БП, преимущественно с поздним началом, с отягощенным семейным анамнезом и в ряде случаев с когнитивными нарушениями.

Отдельного внимания и описания заслуживает редкий случай носительства мутации в гене *PINK1*. Это первое наблюдение данной формы паркинсонизма в России. У пациента Е., 62 лет, основные жалобы были представлены дрожанием рук, больше правой, общей замедленностью, нечеткостью речи, повышенным слюноотделением, снижением памяти, частыми эпизодами тревоги и депрессии, нарушением сна. Длительность заболевания до поступления на стационарное лечение в Научный центр неврологии составила около двух лет, первыми признаками БП явились эпизоды легкого дрожания в правой руке и общая замедленность. Спустя несколько месяцев от начала заболевания в связи с паническими атаками и депрессией, возникшими на фоне стресса, проходил курс стационарного лечения в психиатрической клинике, после которого отметил существенное усиление тремора, появление слюнотечения, изменения походки, дикции. Семейный анамнез по БП отягощен: у матери с 60 лет отмечались тремор рук и нарастающая общая скованность, у бабушки по материнской линии также был тремор рук. Из сопутствующей патологии: длительная артериальная гипертензия и сахарный диабет II типа. При осмотре в неврологическом статусе: тревожно-депрессивный синдром, легкая девиация языка вправо, выраженная гипомимия, гиперсаливация, гипокинезия с акцентом слева при отсутствии ригидности, высокоамплитудный тремор покоя в правой руке, в меньшей степени в правой ноге, сутулость. Постуральной неустойчивости нет, легкая микробазия.

При МРТ-исследовании головного мозга выявлены неспецифические изменения сосудистого генеза. При проведении транскраниальной сонографии – небольшое двустороннее повышение площади гиперэхогенного сигнала от области черной субстанции (21 мм² с двух сторон). По ДНК-диагностике методом МЛРА выявлена гетерозиготная делеция 3 экзона в гене *PINK1* (рис. 23). При назначении противопаркинсонической терапии, в том числе леводопа-содержащих препаратов, отмечалась существенная положительная динамика в виде уменьшения тремора и гипокинезии.

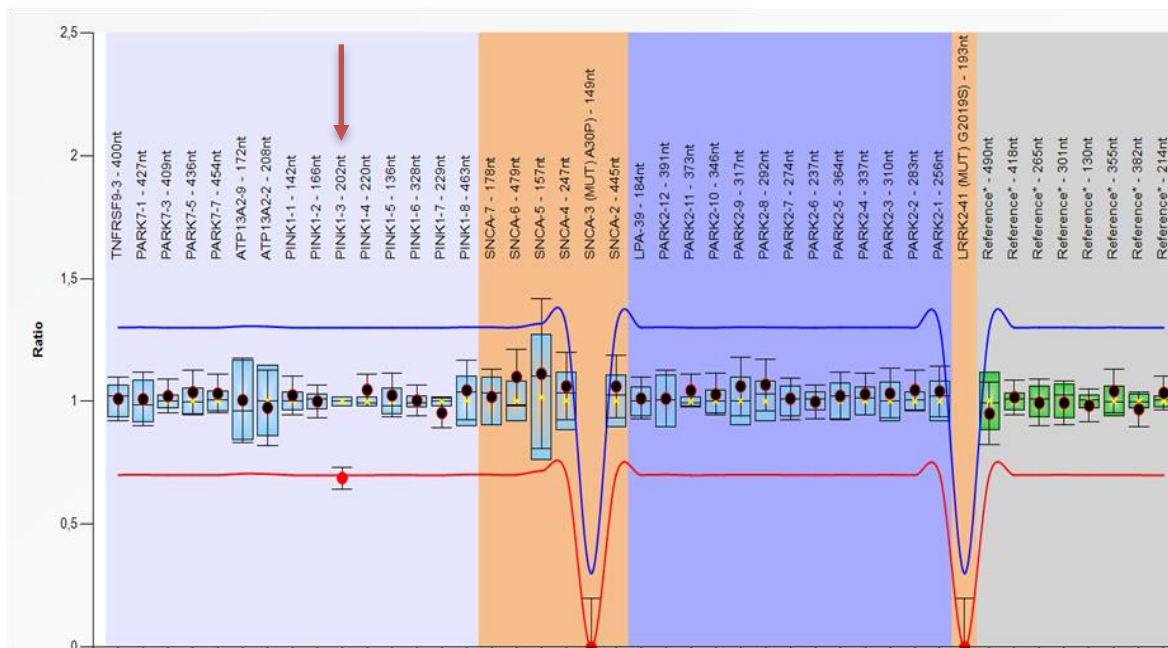


Рис. 23. Результаты МЛРА пациента с гетерозиготной делецией 3 экзона в гене *PINK1*.

Также приведем отдельное описание носительства дупликации в гене *SNCA* (ввиду особой роли кодируемого данным геном белка альфа-синуклеина в генезе БП). Пациент П., 44 лет, обратился в Научный центр неврологии с жалобами на скованность и замедленность движений, преимущественно в левой руке и ноге, эпизодически дрожание в левой руке. Вышеописанные жалобы отметил впервые около 4х месяцев назад, противопаркинсоническую терапию не получает. На транскраниальной сонографии гиперэхогенности черной субстанции нет.

Церулоплазмин в пределах нормальных значений. Из сопутствующих заболеваний: артериальная гипертония и подагра. Семейный анамнез по основному заболеванию не отягощен. При осмотре отмечается гипомимия, брадилалия, гипофония, мышечный тонус умеренно повышен в левой руке по экстрапирамидному типу, гипокинезия в левых конечностях, непостоянный постуральный тремор и тремор покоя в левой руке, когнитивных нарушений не выявлено. На амбулаторном этапе назначена терапия агонистом дофаминовых рецепторов – ропиниролом. По результатам ДНК-диагностики выявлена гетерозиготная дупликация 2-7 экзонов гена *SNCA* (рис. 24).

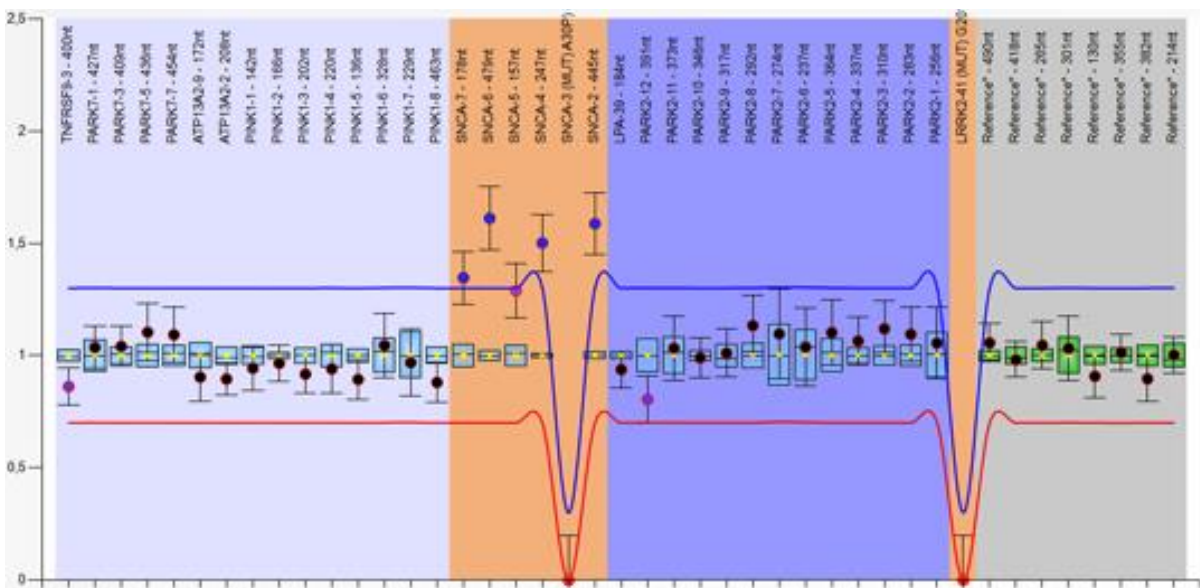


Рис. 24. Результаты MLPA с гетерозиготной дупликацией 2-7 экзонов *SNCA*.

Таким образом, общий процент встречаемости моногенных форм в российской популяции составил 7,8%. Наиболее частой формой оказалась *PARK2*-ассоциированная, выявленная у 4,6% пациентов и обусловленная структурными перестройками гена, Клинически она была представлена ранним, спорадическим паркинсонизмом с лекарственными дискинезиями. На втором месте – *LRRK2*-ассоциированная форма (2,6%), вызванная мажорной мутацией G2019S, клинически представленная поздним, семейными паркинсонизмом с когнитивными нарушениями. В российской популяции выявлены единичные случаи носительства мутаций в *SNCA* (0,3%) и в *PINK1* (0,3%), представленные

экзонными перестройками в данных генах, для каждой из этих форм также приведены фенотипические особенности.

Исследование мутаций в гене GBA при БП

Для определения вклада в генетическую структуру мутаций в гене *GBA* первоначально была обследована большая выборка пациентов с БП (n=424) на мажорные мутации N370S и L444P в сравнении с контрольной группой (n=392). Затем, вторым этапом, в меньшей группе больных (n=192) и в контрольной группе (n=197) проведено секвенирование всех кодирующих экзонов *GBA* для поиска других, более редких известных и новых мутаций. Для носителей определенных мутаций в гене *GBA* выделены фенотипические особенности.

Мажорная мутация N370S (рис. 25) была установлена у 10/424 (2,4%) пациентов с БП (в четырех случаях с семейной формой и в трех случаях с ранним началом), и в одном случае в контрольной группе. Расчет отношений шансов показал, что данная мутация ассоциирована с БП (ОШ=9,5; 95% ДИ 1,21–74,09; p=0,01). Вторая, наиболее часто встречающаяся, мутация L444P (рис. 26) была выявлена в 8 случаях БП (один случай семейной формы и три случая с ранним началом) и в одном случае в контрольной группе, частота встречаемости составила 1,9%. Расчет отношений шансов показал четкую тенденцию к статистической значимости, что также свидетельствует об ассоциированности данной мутации с заболеванием (ОШ=7,6; 95% ДИ 0,94–60,67; p=0,057). В связи с неоспоримой патогенностью мутация L444P включена в общий процент *GBA*-ассоциированного паркинсонизма.

Суммируя полученные результаты, проведенный нами мутационный скрининг двух мажорных мутаций в гене *GBA* (N370S и L444P) выявил 18/424 (4,3%) случаев носительства мажорных мутаций в группе больных с БП и 2/397 (0,5%) в группе контроля (ОШ=8,59; 95%-ДИ 1,99–37,13; p=0,004).

Секвенирование всех 11 экзонов *GBA* гена на 192 образцах ДНК пациентов с БП позволило выявить дополнительно еще шесть нуклеотидных вариантов: E326K, T369M, E388K, R496H, L94V, G(-12)X.

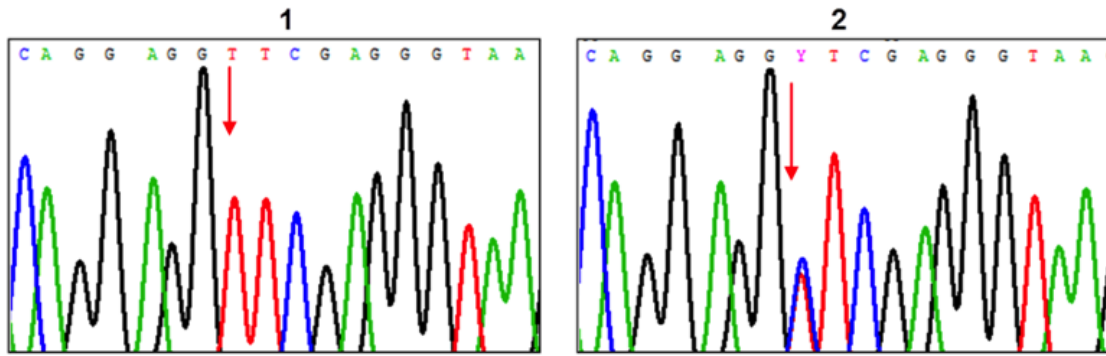


Рис. 25. Мутация N370S в гене *GBA* (2) в сравнении с нормальным аллелем (1), выявленные методом секвенирования по Сэнгеру.

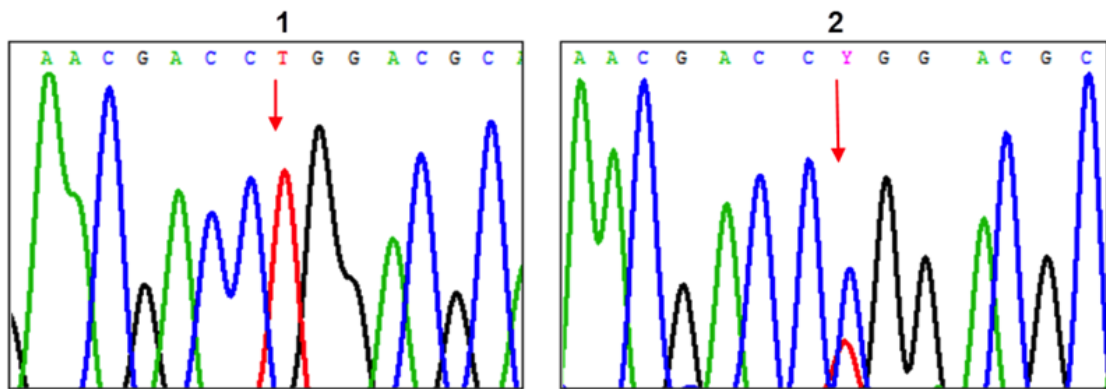


Рис. 26. Мутация L444P в гене *GBA* (2) в сравнении с нормальным аллелем (1), выявленные методом секвенирования по Сэнгеру.

Варианты E326K и T369M, с наибольшим процентом встречаемости, упоминаются в литературе как непатогенные полиморфизмы для пациентов с болезнью Гоше, но значимо ассоциированные с БП [Duran R. et al., 2013]. По нашим данным процент встречаемости мутации T369M для пациентов с БП составил 6,8% (13/192), для контрольной группы – 1,5% (3/197). Риск носительства этой мутации для пациентов с БП был статистически значимо выше в сравнении с контрольной группой (ОШ=3,69; 95% ДИ 1,2–11,31; $p=0,01$). Частота встречаемости мутации E326K была практически в два раза выше для пациентов с БП по сравнению с контрольной группой – 4,7% (9/192) и 2,5% (5/197), соответственно. Однако различие не было статистически значимым (ОШ=1,87; 95% ДИ 0,62–5,62; $p=0,26$).

поэтому данная мутация не вошла в общий процент *GBA*-ассоциированного паркинсонизма.

Ещё четыре варианта выявленных нами мутаций встречались в нашей выборке пациентов с БП только один раз и не были идентифицированы в контрольной группе. Два из них (E388K, R496H) ранее были описаны в литературе для пациентов с БП в других популяциях, ассоциированность данных вариантов с БП остается открытой. Две другие (L94V, G(-12)X) найдены впервые и локализованы за пределами области экзонов 8–11, в которой находится большинство известных мутаций. Предположительная патогенность этих вариантов аналитическими алгоритмами SIFT и PolyPhen2 оценена как толерантная для L94V и повреждающая для G(-12)X. Следовательно, из этих четырех вариантов патогенным представляется только терминирующая замена G(-12)X, которая может являться причиной развития БП.

Таким образом, суммарная частота встречаемости мутаций и ассоциированных полиморфизмов в гене *GBA* в российской популяции больных с БП составила 11,6% (2% для контрольной группы). Результаты представлены в таблице 8.

Сравнительный анализ двух групп пациентов с БП – с найденными мутациями и без мутаций в гене *GBA* – не выявил заметных различий. Обе группы не отличались друг от друга по основным демографическим характеристикам. Так соотношение мужчин и женщин составило в группе с мутациями 48% и 52%, в группе без мутаций – 43% и 57%. Возраст на момент осмотра также статистически значимо не отличался: $58 \pm 9,7$ лет в группе с мутациями и $56,7 \pm 11,6$ лет в группе сравнения. Группы не различались по основным клиническим характеристикам, относящимся к заболеванию. Так, средний возраст начала заболевания составил $49,7 \pm 11,1$ лет и $48,6 \pm 11,6$ лет, соответственно; процент встречаемости ранних форм БП (с возрастом начала младше 45 лет): 47,6% и 45% ($p > 0,05$). Отягощенность семейного анамнеза по БП в группе с мутациями (30,9%) была сопоставима с таковой (28,1%) в группе сравнения. Среднее значение стадии заболевания по шкале Hoehn–Yahr в группах также не различались ($2,7 \pm 0,8$ и $2,4 \pm 0,7$, соответственно).

Встречаемость нуклеотидных вариантов гена *GBA*, ассоциированных с БП, в группе БП и контрольной группе

Мутации	Экзон	Болезнь Паркинсона	Контроль
N370S	9	10/424 (2,4%)*	1/397 (0,25%)
L444P	10	8/424 (1,9%)	1/397 (0,25%)
T369M	8	13/192 (6,8%)*	3/197 (1,5%)
G(-12)X [#]	2	1/192 (0,5%)	0/197 (0%)
Суммарно	-	∑ 11,6%	∑ 2%

* $p < 0,05$; # – ранее неописанный вариант.

Проведенное сравнение трех основных групп с различными нуклеотидными вариантами в *GBA* гене (N370S, L444P и T369M) между собой выявил некоторые особенности в каждой из групп (табл. 9). По возрасту начала заболевания отмечалась тенденция к более раннему началу БП в группе с мутацией L444P и к более позднему – с мутацией T369M, хотя и статистически незначимая. Семейные случаи заболевания наблюдались с большей частотой в группе с мутацией N370P. По форме заболевания и по первому симптому БП: в группе L444P чаще встречалась акинетико-ригидная форма с гипокинезией в виде первого симптома, тогда как в группе T369M – дрожательная форма с дрожательным гиперкинезом руки или ноги в качестве первой жалобы (по форме заболевания $p(F)=0,017$). С полученными различиями согласуется и распределение по темпу прогрессирования заболевания: так, у пациентов с мутацией T369M чаще наблюдалось медленное прогрессирование, которое обычно характерно для дрожательной формы БП. По тяжести заболевания группы статистически значимо не различались.

В группе БП с мутацией N370S был выявлен случай гомозиготного носительства, однако по клиническим характеристикам пациент не отличался от классической идиопатической БП: начало в 59 лет с замедленности движений в правой руке и изменения походки. В семье случаев БП не наблюдалось, пациент

принадлежит к этнической группе евреев-ашкенази. На транскраниальной сонографии была обнаружена гиперэхогенность черной субстанции. Данных за наличие болезни Гоше у данного пациента не было.

Табл. 9.

Сравнение клинико-демографических характеристик у носителей основных вариантов в гене *GBA*.

Клинико-демографические характеристики	L444P (n=8)	N370S (n=10)	T369M (n=13)
Пол, м/ж	3/5	6/4	7/6
Возраст, лет	52 ± 9	59 ± 8	58 ± 12
Возраст начала БП, лет	46 ± 8	53 ± 9	53 ± 13
Раннее начало, %	50%	50%	38%
Семейные случаи, %	13%	40%	31%
Форма БП, акинетико-ригидная/смешанная /дрожательная (акинетико-ригидная, %)	3/5/0 (38%)*	2/8/0 (20%)	0/13/0 (0%)*
Первый симптом БП, гипокинезия/тремор (гипокинезия %)	5/3 (63%)	4/6 (40%)	4/9 (31%)
Прогрессирование#, медленное/умеренное/быстрое (медл, %)	2/4/2 (25%)	2/8/0 (20%)	5/8/0 (39%)
Стадия по шкале Hoehn–Yahr	2,5 ± 1,0	2,4 ± 0,6	2,3 ± 0,7

* $p < 0,05$. # медленное прогрессирование – смена стадий через более чем 5 лет; умеренное прогрессирование – смена стадий через 2–5 лет, быстрое прогрессирование – смена стадий в течение 2 лет или менее [Левин О.С., Федорова Н.В., 2014].

У одного из носителей мутации N370S было выявлено также носительство мутации G2019S в гене *LRRK2*, клиническая картина заболевания была следующая: начало заболевания в 47 лет, смешанная форма заболевания с умеренным темпом прогрессирования, отягощенный семейный анамнез (мать больного страдала БП).

В группе с мутацией T369M был выявлен 1 случай гомозиготного носительства мутации, однако, клиническая картина была сходна с идиопатической

БП. У больной 59 лет на протяжении последних 2 лет постепенно развивалась смешанная форма БП, семейный анамнез не отягощен.

Кроме основных трех перечисленных вариантов при секвенировании гена *GBA* был выявлен случай носительства нового варианта – G(-12)X. У пациентки с ранее не описанной мутацией G(-12)X, 64 лет, каких-либо особенностей в клинической картине не наблюдалось. На протяжении четырех лет постепенно нарастал дрожательно-ригидный синдром преимущественно слева, с хорошим ответом на леводопа-терапию, гиперэхогенностью черной субстанции с двух сторон и отсутствием подобных случаев заболевания в семье.

Таким образом, в российской популяции общий процент встречаемости *GBA*-ассоциированной формы составил 11,6%. Наиболее часто из мутаций встречается замена T369M (6,8%), клинически характеризуемая «мягким» течением заболевания: медленным прогрессированием, преобладанием дрожания в фенотипе и преимущественно поздним началом. На втором месте – замена N370S (2,4%) также с относительно «мягким» течением заболевания: смешанной формой и отягощенным семейным анамнезом. Реже встречается замена L444P (1,9%), определяющая более тяжелое течение, представленная спорадическими случаями с ранним началом, акинетико-ригидной формой заболевания. Описан случай носительства патогенной мутации G(-12)X (0,5%) без каких-либо фенотипических особенностей. В российской популяции также встречаются варианты E326K (4,7%), E388K (0,5%), R496H (0,5%) гена *GBA*. Ассоциация с БП данных вариантов на настоящий момент не подтверждена, и они рассматриваются в данной работе как полиморфизмы. Суммарно встречаемость генетических форм паркинсонизма (моногенных и *GBA*-ассоциированных) в российской популяции достигает 19,4%.

3.2. Анализ генетических ассоциаций при болезни Паркинсона

За исключением моногенных форм большинство случаев первичного паркинсонизма имеют мультифакторную природу с полигенной предрасположенностью к развитию заболевания. Для поиска значимых генетических факторов предрасположенности в работе проведен анализ ассоциаций БП с рядом потенциально значимых полиморфизмов, прежде всего, из числа микросателлитных повторов, связанных с нейродегенеративными заболеваниями.

Исследование ассоциации динуклеотидных повторов гена SNCA с БП

В работе исследован полиморфный микросателлитный участок промоторной области гена альфа-синуклеина – SNCA-Rep1. Для этого были генотипированы по длине аллелей 460 пациентов с БП и 460 лиц контрольной группы. Распределение частоты встречаемости аллелей в группах представлено в таблице 10.

Табл. 10.

Частота встречаемости аллелей полиморфизма SNCA-Rep1.

Аллель	Болезнь Паркинсона	Контрольная группа
-2 (255)	0	1 (0,1%)
-1 (257)	2 (0,2%)	2 (0,2%)
0 (259)	240 (26,0%)	264 (28,7%)
1 (261)	611 (66,4%)	609 (66,2%)
2 (263)	65 (7,1%)*	41 (4,5%)
3 (265)	2 (0,2%)	3 (0,3%)

* – $p < 0,05$.

Фрагментный анализ показал, что наиболее часто встречающимся аллелем в группе БП и в контрольной группе является Rep1-261. Аллель размером 263 п.о. достоверно чаще встречался при БП, чем в контрольной группе (7,1 и 4,5% соответственно; ОШ=1,7; 95% ДИ 1,11–2,48; $p(\chi^2)=0,02$).

Различий по распределению частот встречаемости аллелей между пациентов женского и мужского пола не наблюдалось ($p>0,05$). Также не наблюдалось статистически значимых различий по возрасту начала заболевания и по тяжести между пациентов с разными генотипами ($p>0,05$, табл. 11).

Табл. 11.

Гендерное распределение, возраст начала заболевания и тяжесть по шкале Хен-Яр в зависимости от генотипа SNCA-Rep1.

Генотип	Н	м	ж	Начало, лет	Тяжесть, стадия
-1 (257) / 1 (261)	2	2	0	42; 46	3; 3
0 (259) / 0 (259)	37	21	16	48,7±12,2	2,5±0,2
0 (259) / 1 (261)	148	68	80	49,3±13,2	2,3±0,1
0 (259) / 2 (263)	18	8	10	46,5±5,7	2,5±0,4
1 (261) / 1 (261)	209	95	114	50,2±12,7	2,3±0,1
1 (261) / 2 (263)	41	17	24	49,8±14,2	2,3±0,2
1 (261) / 3 (265)	2	1	1	49; 57	2; 2,5
2 (263) / 2 (263)	3	1	2	56; 56; 57	2; 2; 2,5

Таким образом, в исследовании показана ассоциация аллеля SNCA-Rep1-263 с БП, носительство которого, однако, существенно не влияет на фенотипические проявления заболевания.

Исследование ассоциации тринуклеотидных повторов гена ATXN2 с БП

Полная экспансия CAG-повторов гена ATXN2 приводит к развитию одного из известных нейродегенеративных заболеваний – спиноцеребеллярной атаксии 2 типа, однако в некоторых популяциях «промежуточная» экспансия могла быть связана с развитием БП и другой патологии. Для определения значимости количества тринуклеотидных повторов в развитии БП были исследованы 445 пациентов с БП и контрольная группа из 353 человек.

В выборке пациентов с БП выявлено 18 случаев (4,04%) носительства «промежуточного» аллеля ATXN в гетерозиготном состоянии – 28, 30 либо 32 CAG-

повторов (88,89%, 5,56% и 5,56%, соответственно). Нормальный аллель содержал 22, 23, 24 либо 26 повторов. В контрольной группе выявлено 5 случаев носительства «промежуточного» аллеля – 1,4% (ОШ=2,93; 95% ДИ 1,01–9,12; $p=0,046$).

Результаты секвенирования найденных «промежуточных» аллелей показали, что последовательность CAG-повторов гена *ATXN2* прерывается на CAA-вставки (Табл. 12). Расположены они симметрично, в девятой позиции с 5'-конца участка экспансии, через каждые четыре CAG-триплета, в большинстве случаев – 3 CAA-вставки. Пример сиквенса с CAA-вставками в CAG-повторы гена *ATXN2* представлен на рисунке 27.

Табл. 12.

Варианты расположения CAA-вставок в CAG-последовательностях у больных БП.

CAG повторов	CAA вставок	Нуклеотидная последовательность	N
28	2	(CAG) ₈ -CAA-(CAG) ₄ -CAA-(CAG) ₁₄	3
	3	(CAG) ₈ -CAA-(CAG) ₄ -CAA-(CAG) ₄ -CAA-(CAG) ₉	13
30	3	(CAG) ₈ -CAA-(CAG) ₄ -CAA-(CAG) ₄ -CAA-(CAG) ₁₁	1
32	1	(CAG) ₈ -CAA-(CAG) ₂₃	1

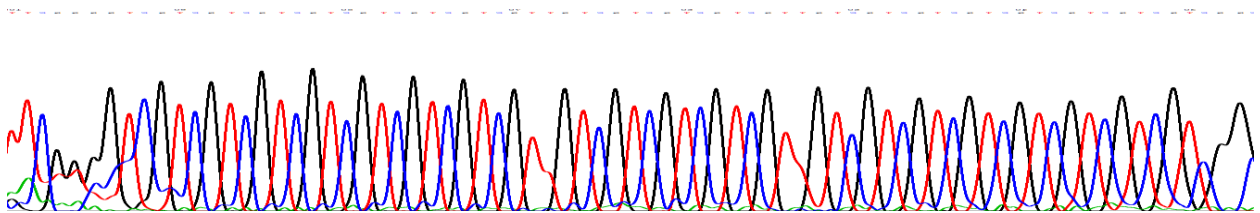


Рис. 27. CAA-вставки в CAG-тракте гена *ATXN2*, выявленные секвенированием по Сэнгеру.

Проведенный анализ клинических проявлений показал, что средний возраст начала БП составил $50,4 \pm 12,9$ лет. Из 18 выявленных носителей «промежуточного» аллеля 8 случаев были с ранним началом (44%), 7 пациентов с акинетико-ригидной формой БП (39%), у 6 отмечался отягощенный семейным анамнез (33%), стадия заболевания по шкале Hoehn–Yahr – $2,3 \pm 0,8$.

Таким образом, выявлена ассоциация БП с «промежуточной» CAG-экспансией гена *ATXN2* с CAA-вставками, клинически часто протекающая в виде акинетико-ригидной формы БП.

Исследование ассоциации гексануклеотидных GGGGCC-повторов гена C9orf72 с БП

Экспансия гексануклеотидных GGGGCC-повторов в 1-ом интроне гена *C9orf72* ответственна за развитие таких нейродегенеративных заболеваний, как боковой амиотрофический склероз и лобно-височная дегенерация. В работе исследована ассоциация БП с количеством повторов в данном гене в группе из 175 пациентов с БП и в контрольной группе из 223 обследуемых.

По результатам исследования оказалось, что в контрольной группе наиболее часто встречаются аллели с 2, 5 и 8 копиями гексануклеотидных повторов. Процентное распределение обследованных из контрольной группы по длине большего нормального аллеля представлено на рисунке 28.

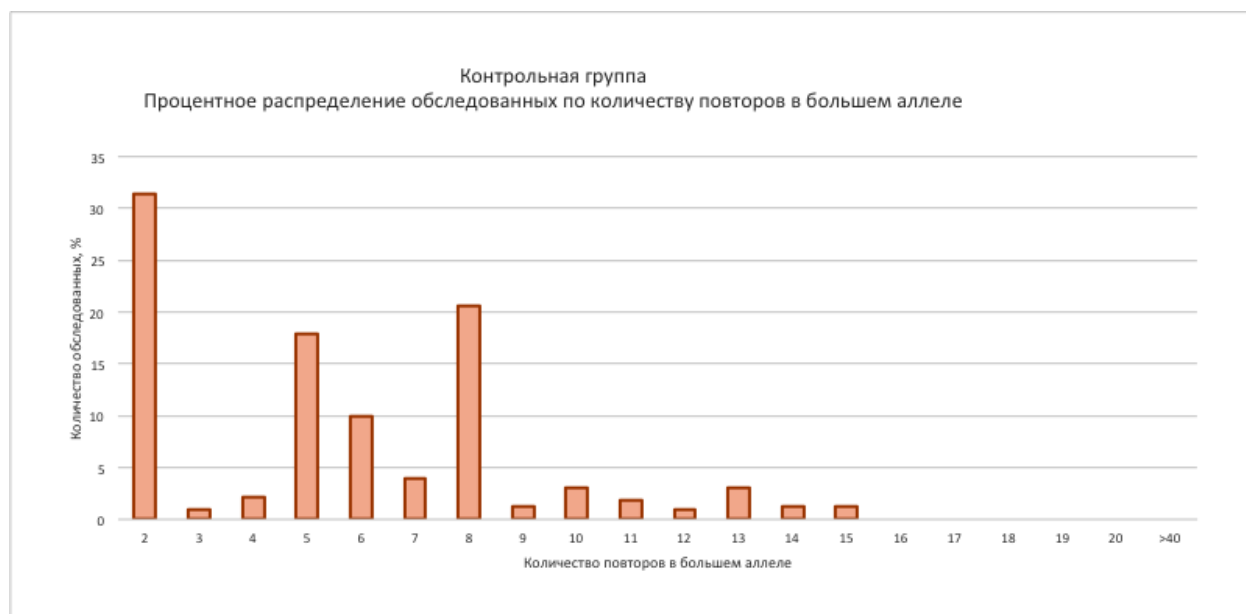


Рис 28. Процентное распределение обследованных лиц по количеству повторов гена *C9orf72* в большем аллеле в контрольной группе.

Схожий профиль распределения по длине нормальных аллелей (до 17 повторов) был получен и для группы пациентов (табл. 13). В группе БП у 4/175 пациентов обнаружена «промежуточная» экспансия гексануклеотидных повторов (19–20 повторов), частота ее встречаемости при БП составила 2,3% (ОШ=11,78; 95% ДИ 0,63–220,32; $p=0,099$). «Полной» патологической экспансии ни в контрольной группе, ни среди пациентов с БП выявлено не было.

Табл. 13.

Распределение пациентов обследованных групп по количеству GGGGCC-повторов в большем аллеле гена *C9orf72*.

Количество повторов*	Болезнь Паркинсона N=175	Контрольная группа N=223
2–8	150 (85,7%)	194 (87%)
9–17 [#]	21 (12%)	29 (13%)
19–20	4 (2,3%)	0
21– 60	0	0

* количество повторов в большем аллеле, [#] носительство 18 повторов не выявлено.

Клинически пациенты с «промежуточной» экспансией GGGGCC-повторов *C9orf72* существенно не отличались от классической картины БП, кроме одной пациентки с ранним началом заболевания и дистоническими проявлениями. Из 4 выявленных носителей было 2 случая с ранним началом заболевания, 2 с акинетико-ригидной формой и 1 случай с отягощенным семейным анамнезом по БП.

Таким образом, связь БП с экспансией *C9orf72* в российской популяции не подтверждена.

Исследование ассоциации тринуклеотидных повторов гена FMR1 с БП

Микросателлит из тринуклеотидных CGG-повторов промоторной области гена *FMR1* в случае экспансии ответственен за развитие синдрома ломкой X-

хромосомы у детей и синдрома FXTAS с тремором и атаксией у взрослых. Для исследования ассоциации с первичным паркинсонизмом количества повторов обследованы 67 пациентов с БП и 95 лиц контрольной группы.

Распределение по количеству повторов в контрольной группе и в группе БП графически представлено на рисунке 29. По результатам обследования в выборке пациентов с БП частота носительства «промежуточной» экспансии (число CGG-повторов варьировало от 39 до 43) составила 14.9% (10/67) а в контрольной группе – 3.2% (3/95), ОШ=5,4; 95% ДИ 1,29–25,86; $p=0,007$.

Группу носителей «промежуточной» экспансии составили преимущественно случаи с поздним началом (8/10), смешанной формой (9/10, т.е. в 90% случаев присутствовал тремор), в половине случаев отмечался отягощенный семейный анамнез (5/10). Соотношение мужчин и женщин – 6:4.

Таким образом, исследованием подтверждена значимость промежуточной экспансии *FMR1* для развития БП. Фенотипическими признаками носительства этого фактора риска может служить тремор в клинической картине заболевания.

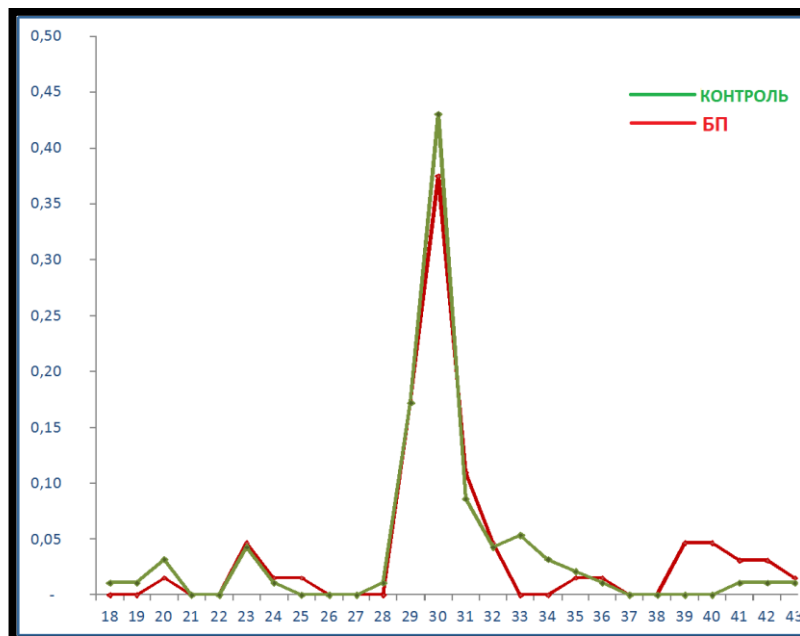


Рис 29. Процентное распределение обследованных из группы БП и контрольной группы по количеству CGG-повторов гена *FMR1*.

**Исследование ассоциаций полиморфизмов в генах *LINGO1* *LINGO2*
с БП и ЭТ**

Фенотипически и, возможно, патогенетически близкое к БП заболевание – эссенциальный тремор (ЭТ) – ассоциировано с полиморфизмами в генах *LINGO1* и *LINGO2*. В связи с этим инициировано исследование по изучению данных генов в российской популяции у пациентов с БП (n=91) и с ЭТ (n=105) в сравнении с контрольной группой (n=191).

Первым этапом с помощью метода мультиплексной ПЦР были проанализированы 6 некодирующих вариантов, показавших значимость для пациентов с ЭТ и, реже, с БП в других популяциях: rs9652490, rs11856808 (*LINGO1*), rs1412229, rs10968280, rs10812774, rs7033345 (*LINGO2*). Полученные значения MAF для данных полиморфизмов представлены в таблице 14.

Табл. 14.

Частота встречаемости полиморфизмов в *LINGO1* и *LINGO2*.

Полиморфизм	Болезнь Паркинсона	Эссенциальный тремор	Контрольная группа
<i>LINGO1:</i>			
<i>rs9652490 A>G</i>	0,148	0,210	0,196
<i>rs11856808 C>T</i>	0,264 [#]	0,319	0,343 [#]
<i>LINGO2:</i>			
<i>rs10968280 T>A</i>	0,121	0,114	0,115
<i>rs7033345 T>C</i>	0,242	0,295	0,283
<i>rs1412229 A>T</i>	0,511	0,500	0,503
<i>rs10812774 T>C</i>	0,489	0,524	0,537

[#] – тенденция к статистически значимому различию (p=0,06).

Проведенный анализ не выявил каких-либо статистически значимых ассоциаций рассматриваемых полиморфизмов с БП или ЭТ. Вместе с тем была получена тенденция к ассоциации полиморфизма rs11856808 гена *LINGO1* с БП, не

достигающая уровня статистической значимости (более низкая частота минорного аллеля "Т" в группе БП по сравнению с группой контроля, $p(\chi^2)=0,06$).

Вторым этапом был проведен анализ кодирующих областей генов *LINGO1* и *LINGO2* методом секвенирования в подгруппах больных с БП и ЭТ. Данный анализ позволил выявить в гене *LINGO1* пять известных полиморфизмов: rs3743481, rs61737308, rs2271396, rs2271397 и rs2271398 (табл. 15), причем частота минорного аллеля полиморфизма rs3743481 в подгруппе ЭТ оказалась значимо ниже по сравнению с подгруппой БП ($p=0,0008$). Глобальная MAF для полиморфизма rs3743481 по данным Exome Aggregation Consortium составляет 0,4576, то есть близка к полученному значению для подгруппы БП. Три полиморфизма (rs2271396, rs2271397 и rs2271398) были сцеплены и имели частоту встречаемости минорного аллеля меньше по сравнению с другими популяциями в обеих группах – БП и ЭТ.

Табл. 15.

Полиморфизмы в кодирующих областях гена *LINGO1*.

Полиморфизм (dbSNP)	Нуклеотидная замена	MAF ExAC	БП			ЭТ		
			Гет.	Гом.	MAF	Гет.	Гом.	MAF
rs3743481	g.77614803G>A	0,4576	30	5	0,513*	23	4	0,277*
rs61737308	g.77614797C>T	0,0090	0	0	0	2	0	0,018
rs2271396	g.77615193C>G	0,6693	20	3	0,333	27	1	0,259
rs2271397	g.77615433T>C	0,6703	20	3	0,333	27	1	0,259
rs2271398	g.77615442G>A	0,668	20	3	0,333	27	1	0,259

Гет. – число гетерозигот. Гом. – число гомозигот. * – статистически значимое различие ($p<0,05$). MAF ExAC – частота минорного аллеля по базе данных Exome Aggregation Consortium.

В подгруппе БП при секвенировании гена *LINGO2* однонуклеотидных замен выявлено не было.

В подгруппе ЭТ при мутационном скрининге кодирующей области гена *LINGO2* у одного пациента была выявлена однонуклеотидная замена

g.27949151G>A (NC_000017.11), приводящая к аминокислотной замене р.Arg507Cys (рис. 30.).

Предположительная патогенность этой мутации аналитическим алгоритмом SIFT была оценена как толерантная, а PolyPhen2 – как повреждающая. Данный случай ЭТ являлся спорадическим с манифестацией заболевания в молодом возрасте (с 27 лет). В неврологическом статусе у пациента отмечался тремор рук эссенциального типа, а также тремор головы с дистоническим компонентом и наличием слабо выраженного тортиколлиса. Дистоническая составляющая тремора головы была верифицирована с помощью игольчатой ЭМГ с мышц шеи, выявившей признаки залповой активности двигательных единиц.

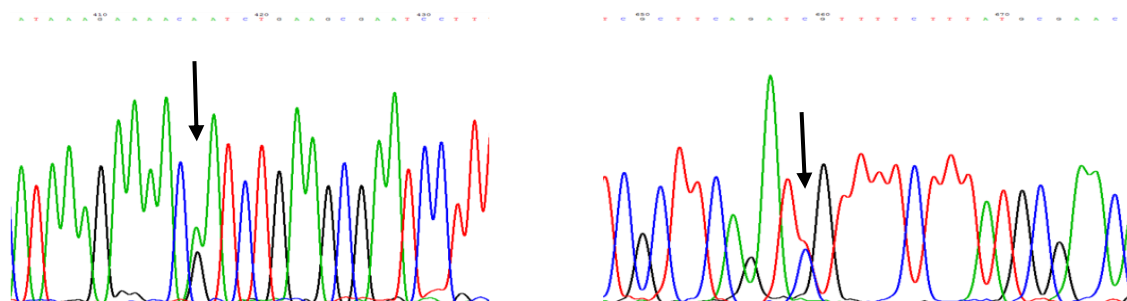


Рис. 30. Мутация Arg507Cys в гене *LINGO2*. Стрелкой указано место нуклеотидной замены. (слева: сиквенс с прямого праймера; справа: сиквенс с обратного праймера).

Таким образом, изученные полиморфизмы генов *LINGO1* и *LINGO2* не являются значимыми факторами риска для БП в российской популяции.

В целом, результаты анализа ассоциаций различных полиморфных участков выявили связь БП с аллельным вариантом SNCA-Rep1-263, который, однако, не оказывал существенного влияния на клиническую картину заболевания. Показано, что «промежуточная» CAG-экспансия в гене *ATXN2* в российской популяции ассоциирована с БП, и при данном полиморфизме чаще встречается акинетико-ригидная форма заболевания. Промежуточная экспансия гексаповторов в гене *C9orf72* не является фактором риска БП для российской популяции. «Промежуточная» экспансия CGG-повторов в гене *FMRI* ассоциирована с БП и,

возможно, модифицирует клиническую картину в сторону дрожательного фенотипа. Выявлена вероятная протективная роль минорного аллеля полиморфизма rs11856808 гена *LINGO1* для российской популяции в отношении развития БП.

3.3. Генетика атипичного паркинсонизма

В исследовании изучены основные 4 нозологические формы, относящиеся к атипичному паркинсонизму: деменция с тельцами Леви (ДТЛ), мультисистемная атрофия (МСА), прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП) и кортико-базальный синдром (КБС). Для первых двух заболеваний изучены гены, ассоциированные с синуклеинопатиями, для двух других – с таупатиями.

Деменция с тельцами Леви: исследование мутаций в гене GBA и в основных генах паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2, ATP13A2)

ДТЛ является фенотипическим и патогенетическим продолжением спектра БП. В связи с этим были исследованы те же гены, что и при БП.

Методом MLPA и секвенированием гена *GBA* обследованы 13 пациентов с ДТЛ. По результатам анализа MLPA в группе больных ДТЛ мутаций в генах *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *PARK7*, *LRRK2* и *ATP13A2* выявлено не было.

При секвенировании гена *GBA* выявлена мутация L444P у одного пациента. Соответственно частота встречаемости носителей мутаций в *GBA* среди пациентов с ДТЛ составила 7,7%.

Носитель мутации L444P в гене *GBA*, 70 лет, впервые стал отмечать боли в правом плече и скованность в правой руке около 7 лет назад. Примерно тогда же окружающие стали замечать появление замедленности мышления, сниженный фон настроения, плаксивость, появились иллюзии. Симптоматика прогрессировала. Семейный анамнез по основному заболеванию не отягощен. В неврологическом статусе на момент поступления в Научный центр неврологии: дизартрия, гипофония, выраженная олигобрадикинезия, непостоянный, мелкоамплитудный тремор рук, явления вегетативной недостаточности (колебания артериального давления с тенденцией к гипотонии), требуется помощь в самообслуживании, беспокоят зрительные галлюцинации, выраженная брадифрения, выраженные когнитивные нарушения. По данным когнитивных вызванных потенциалов:

выделена сенсорная составляющая ВП, когнитивная составляющая не выделена, пик Р300 не выделен. На КТ головного мозга: в обоих полушариях головного мозга определяется слабое диффузно-очаговое снижение плотности белого перивентрикулярного вещества, преимущественно вокруг передних рогов боковых желудочков. Определяется слабое расширение левого бокового желудочка и умеренное расширение субарахноидального пространства полушарий большого мозга и базального цистернального пространства.

Описанным случаем подтверждена значимость мутаций *GBA* для случаев ДТЛ в российской популяции.

Мультисистемная атрофия: исследование мутаций в гене GBA и в основных генах паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2, ATP13A2)

МСА также как и БП, и ДТЛ относится к синуклеинопатиям, поэтому в работе по изучению генетики МСА были охвачены все гены первичного паркинсонизма. Методом MLPA и секвенированием *GBA* обследованы 28 пациентов с МСА.

В группе МСА при секвенировании *GBA* мутаций выявлено не было.

По результатам MLPA-анализа (гены *SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, LRRK2* и *ATP13A2*) выявлен 1 случай носительства дупликации экзонов 2–7 гена *SNCA* (рис. 31), то есть встречаемость мутаций *SNCA* в группе больных МСА оказалась равной 3,6% (1/28).

Приводим краткое описание указанного случая.

Больная А.Л., 53 лет, около двух лет назад стала предъявлять жалобы на общую замедленность движений, тихий голос, снижение памяти. Спустя полгода присоединились скованность и боли в ногах. На МРТ: умеренное неравномерное расширение конвекситального субарахноидального пространства и боковых желудочков. На фоне приема пирибедила, ропинирола, леводопы/бенсерзида отмечались эпизоды выраженной гипотонии с выраженной слабостью,

сонливостью. На момент поступления в Научный центр неврологии кроме вышеперечисленных жалоб также беспокоят стягивающие боли в руках и ногах, колебания АД от 200/100 до 60/40 мм рт. Ст., запоры. Семейный анамнез на отягощен. При осмотре: фон настроения снижен, 25 баллов по шкале MoCA, затруднения при выполнении пробы Лурии, гипосмия, гипомимия, горизонтальный нистагм при взгляде в стороны, гипофония, умеренная гипокинезия с легкой ригидностью с акцентом слева, легкий постуральный тремор пальцев левой кисти, небольшая неустойчивость в пробе Ромберга, кистевой аналог рефлекса Россолимо с двух сторон (патологических стопных знаков нет). Ортостатическая гипотензия (140/80 мм рт. Ст. лежа и 90/50 мм рт. Ст. стоя), запоры, учащенное мочеиспускание. На фоне леводопа-терапии умеренный положительный эффект (действие препарата начинается спустя 1,5 ч от приема, в течение последующих 2-х часов отмечает некоторый регресс олигобрадикинезии).

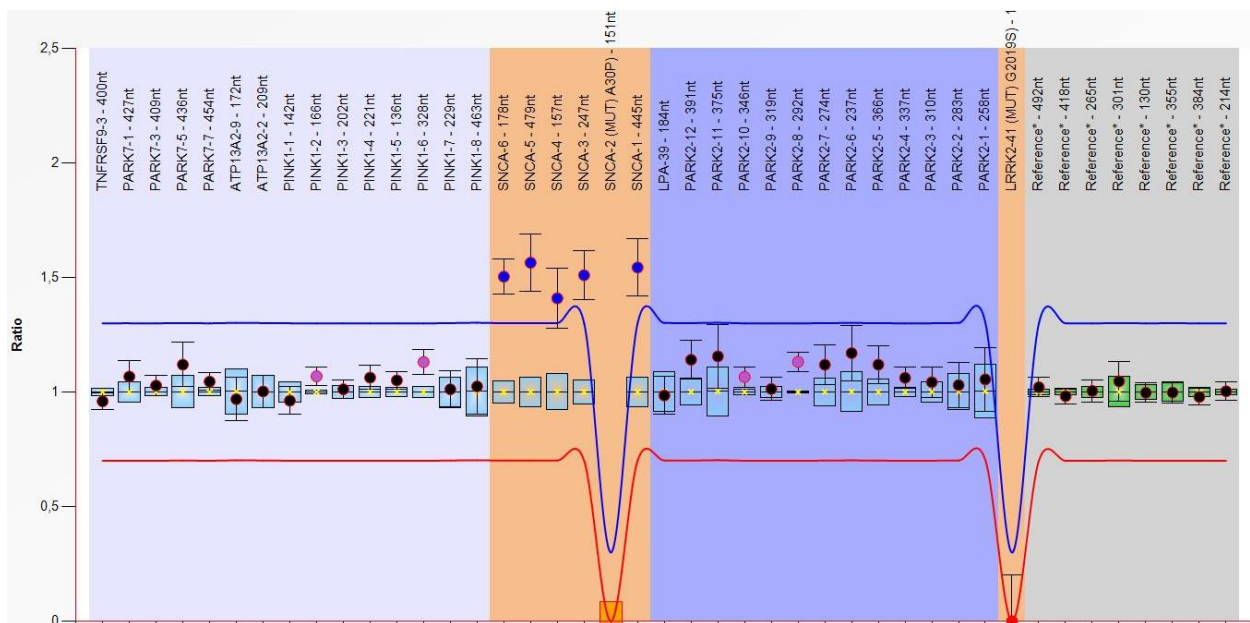


Рис. 31. Результаты MLPA пациента с гетерозиготной дупликацией экзонов *SNCA*.

Описанный случай свидетельствует о встречаемости мутаций в *SNCA* среди случаев МСА.

Прогрессирующий надъядерный паралич: исследование мутаций в генах *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*, *NPC1* и гаплотипов гена *MAPT*

ПНП относится к таупатиям, по этой причине в работе исследованы 3 гена, ассоциированных с данной патологией, а также ген *NPC1*, который потенциально может проявляться фенкопией ПНП. Молекулярно-генетическими методами обследованы 20 пациентов с ПНП.

В группе больных ПНП мутаций в генах *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*, *NPC1* выявлено не было.

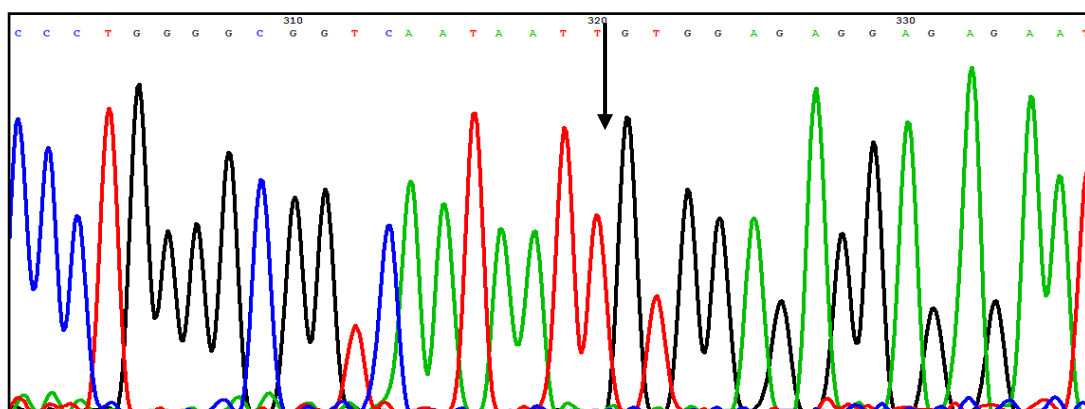


Рис. 32. Гаплотип Н1/Н1, выявленный при сиквенсе гена *MAPT* (rs9468) у пациента с ПНП.

При анализе гаплотипов *MAPT* встречаемость генотипа Н1/Н1, ассоциированного с ПНП, составила 90% (18/20); соответствующий сиквенс представлен на рисунке 32. Также выявлен 1 носитель гаплотипа Н1/Н2 (рис. 33) и 1 носитель гаплотипа Н2/Н2 (рис. 34). Таким образом, частота гаплотипа Н1 в группе ПНП составила 92,5%, а Н2 – 7,5%.

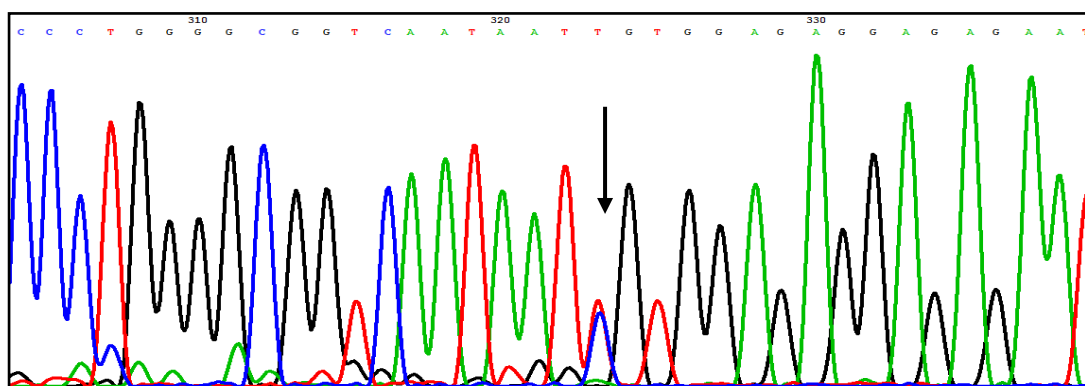


Рис. 33. Гаплотип Н1/Н2, выявленный при сиквенсе *MAPT* (rs9468).

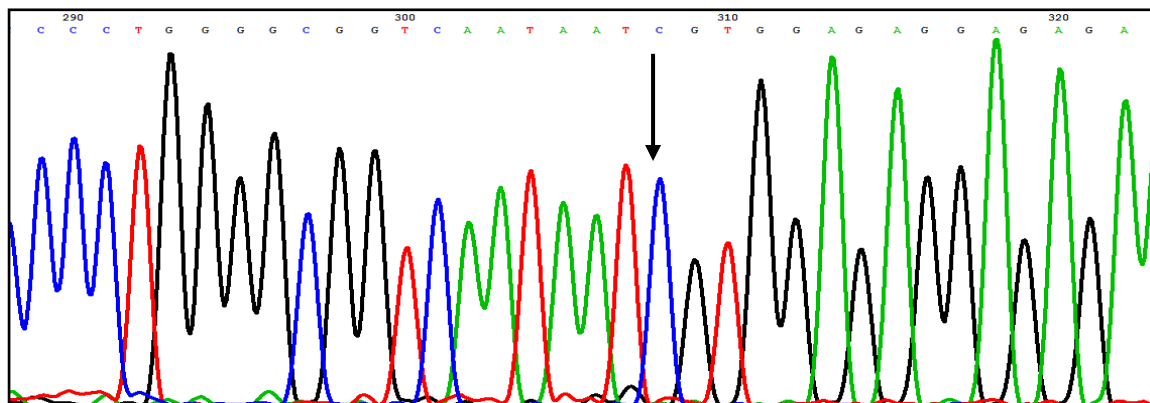


Рис. 34. Гаплотип H2/H2, выявленный при сиквенсе *MAPT* (rs9468).

Кортико-базальный синдром: Исследование мутаций в генах MAPT, GRN, C9orf72, в основных генах паркинсонизма (SNCA, PARK2, PINK1, DJ1, LRRK2, ATP13A2) и гаплотипов гена MAPT

Генетически гетерогенная группа из 15 пациентов с КБС была обследована на гены синуклеинопатий и таупатий.

У пациентов с КБС мутаций в генах *GRN*, *C9orf72*, *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2* выявлено не было.

При анализе гаплотипов *MAPT* из 15 пациентов с КБС выявлены 3 носителя гаплотипа H1/H2, у остальных больных был гаплотип H1/H1, то есть встречаемость гаплотипа H1 в группе КБС составила 90%.

При исследовании гена *MAPT* выявлен один носитель мутации Leu687Val в 9 экзоне с генотипом H1/H2. По программе предсказания патогенности мутации PolyPhen2 замена определена как вероятно повреждающая (0,997), по программе SIFT – как патогенная (0,017). Таким образом, встречаемость мутаций *MAPT* среди пациентов КБС составила 6,7%. Приводим этот клинический случай.

Пациент С.К., 36 лет, около года назад стал отмечать появление нечеткости речи и “заплетания” языка, что связывал с периодическими подъемами артериального давления до 160/100 мм рт. ст. Примерно тогда же отметил, что при длительном письме меняется почерк. Спустя 6 месяцев от появления первых жалоб нечеткость речи стала практически постоянной. На МРТ головного мозга выявлено

асимметричное умеренное расширение субарахноидального пространства височных долей, больше справа, сильвиевых щелей, нижних рогов боковых желудочков, умеренное расширение боковых желудочков и субарахноидальных пространств лобных долей полушарий головного мозга. На ЭЭГ: умеренные диффузные изменения. Семейный анамнез не отягощен. В неврологическом статусе на момент поступления: ориентирован в месте, времени, собственной личности. Глазные щели, зрачки D=S, движения глазных яблок в полном объеме. Чувствительность на лице сохранна, точки выхода ветвей тройничного нерва безболезненны. Лицо симметрично, мимические пробы выполняет удовлетворительно. Слух не снижен, нистагма нет. Дисфонии, дисфагии нет, легкая дизартрия. Язык при выведении из полости рта по средней линии. Парезов нет, мышечный тонус в правой руке минимально повышен по пирамидному типу. Сухожильные рефлексы оживлены, с рук равные, с ног $D \leq S$. Патологических стопных знаков нет, кистевой аналог рефлекса Россолимо справа. Координаторные пробы выполняет удовлетворительно, в пробе Ромберга устойчив. Динамические пробы выполняет с дисдиадохикинезом, олигобрадикинезией. Поверхностная чувствительность не нарушена; снижена двухмерно-пространственная, мышечно-суставная чувствительность в дистальных отделах конечностей, больше в ногах. Функции тазовых органов не нарушены. Идеомоторная апраксия в руках, больше справа, апраксия письма, оромандибулярная апраксия, элементы афферентной моторной афазии, дисбазии. Тестирование по шкале MoCA 26/30.

По когнитивным вызванным потенциалам P300: выраженные признаки нарушения когнитивной функции.

Консультация психолога: у пациента наблюдается афферентная моторная афазия и аграфия, снижение динамических характеристик коммуникативной речи. Выявлена недостаточность динамической и кинестетической организации произвольных движений и действий. В мнестической сфере легкое влияние интерференции на процесс слепообразования. Общая инертность при выполнении нейропсихологических проб.

Логопедическое обследование: Дизартрия, оральная апраксия, дисграфия по моторному типу.

Спустя 2 года при повторном осмотре: адекватен, контактен, фон настроения ровный, опрятен, речь малоразборчива, артикуляция практически отсутствует, при этом может написать на планшете собственную развернутую фразу с небольшими грамматическими ошибками, импрессивная речь нарушена незначительно, выраженная апраксия – не может надуть щеки, показать язык, нахмуриться, закрыть глаза, в руках малодоступно повторение движений, хуже справа, письмо ручкой недоступно (рис. 35), гипомимия с редким замедленным миганием, движения глазных яблок в полном объеме, нистагма нет, лицо симметрично, язык в полости рта по средней линии, парезов нет, легкая спастичность в правой руке, рефлексы оживлены с акцентом справа, патологических кистевых и стопных знаков нет, координаторные пробы в доступном объеме без дисметрии, четких чувствительных нарушений не выявлено, походка несколько замедленна на расширенной базе, легкое шарканье.



Рис. 35. Графические пробы, выполненные пациентом С.К.

Заключение логопеда: На момент обследования больной считает себя заболевшим в течение 3х лет. Ориентирован в месте, времени и собственной личности. Больной отмечает заплетание языка, поперхивание жидкой пищей, нечеткость речи, выраженные трудности речевого общения, распад процесса письма. Понимание диалогической речи доступно, импрессивная речь значительно опережает экспрессивную. Доминируют симптомы динамической афазии с элементами эфферентной моторной дисфазии. Понимание медленной речи не

нарушено, за исключением трудностей восприятия логико-грамматических конструкций. При обследовании наблюдается практически неразборчивая речь больного. Наблюдается легкая асимметрия слева, сглаженность левой носогубной складки, язык из полости рта не выводит. Отмечаются грубые нарушения орально-артикуляционного праксиса, при этом отсутствуют ошибки, поиски позы. Оральная апраксия – возникают трудности (невозможность) при облизывании губ, надувании щек, пациент не может посвистеть, поцокать языком. Больной не справляется с воспроизведением мимических проб, сразу отказывается их выполнять, поясняя: «не могу». При фонации отсутствуют губные звуки (п, б, м, в, ф). Речевые автоматизмы присутствуют в виде перечисления дней недели, прямого счета от 1 до 10. Больной практически не пользуется мимикой и жестами. Повторная речь доступна в виде простых слогов, слов, произнесение простых предложений недоступно. При этом визуальный образ необходимого артикуляционного уклада не облегчает задачу. Отмечается недостаточность объема удержания речевой информации, объем слухо-речевой памяти резко снижен. Называние – отдельное называние часто употребляемых предметов и наиболее распространенных действий сопровождается крайне неразборчивой речью. Чтение возможно в виде простых слов и несложных словосочетаний. Доступно копирование отдельных букв и простых слов, не отрывая руки от листа бумаги. На письме отмечается дисграфия, апраксия процесса письма, персеверации слов и фраз, аграмматизмы в виде пропусков слогов, слов, предлогов. Выполнение графомоторной пробы нарушено. Заключение: комплексная моторная (афферентно-эфферентная) афазия грубой степени выраженности, динамическая афазия грубой степени. Дизартрия умеренной степени.

Таким образом, исследование достаточно большого спектра генов, которые могли бы быть ассоциированы с атипичным паркинсонизмом, выявило лишь единичных носителей мутаций в генах *GBA*, *SNCA*, *MAPT*. Причем у первых двух клиническая картина была пограничной с БП: между ДТЛ и БП в случае мутации в *GBA* и между МСА и БП в случае мутации в *SNCA*. Выявленная мутация в гене

MART привела к развитию быстро прогрессирующей первичной апраксии речи, эволюционировавшей в кортикобазальный синдром.

Подтверждена частая встречаемость гаплотипа N1 гена *MART* среди пациентов с ПНП и КБС.

3.4. Секвенирование нового поколения в диагностике генетических форм паркинсонизма

В выборке преимущественно ранних и семейных форм паркинсонизма проведен поиск значимых мутаций в 300 генах нейродегенеративной патологии методом секвенирования нового поколения (NGS) с использованием разработанной оригинальной панели.

В результате проведения NGS у каждого из 26 пациентов с паркинсонизмом в «сыром» файле содержалось в среднем 1762 нуклеотидных варианта. После установления фильтра по типу мутации (несинонимичные / приводящие к сдвигу рамки считывания / приводящие к преждевременной терминации) в среднем оставался 121 вариант на образец. После установления фильтра по частоте встречаемости минорного аллеля (< 5%) оставалось в среднем 29 вариантов. И, наконец, после просмотра генов на предмет соответствия фенотипу – 0–6 вариантов. Отобранные варианты для каждого случая представлены в таблице 16.

Табл. 16.

Гены, варианты в которых были выявлены при NGS и соответствуют фенотипу пациента.

№	Пациент	Диагноз	Пол	Начало	Анамнез	Гены
1	PD29	БП	Ж	41	Сем.	<i>SYNJ1, SYNJ1</i>
2	PD58	БП	М	50	Сем.	<i>ATP13A2</i>
3	RB59	БП	М	43	Спор.	<i>FBXO7, PARK7</i>
4	PD102	БП	М	35	Сем.	<i>EIF4G1</i>
5	PD158	БП	М	45	Сем.	<i>LRRK2</i>
6	PD166	БП	Ж	49	Спор.	-
7	PD218	БП	Ж	41	Сем.	<i>HTRA2, FBXO7</i>
8	PD360	БП	М	34	Спор.	<i>LRRK2, GIGYF2</i>
9	PD362	БП	М	61	Сем.	<i>PARK7, SYNJ1</i>
10	PD364	БП	Ж	30	Сем.	-
11	PD403	БП	Ж	30	Сем.	<i>ATP13A2, PINK</i>

12	PD467	БП	М	25	Спор.	-
13	PD534	БП	М	11	Спор.	<u>PINK1, PINK1</u>
14	PD542	БП	Ж	42	Спор.	<u>VPS35, GIGYF2</u>
15	PD576	БП	М	36	Спор.	<u>PINK1, LRRK2,</u> <u>LRRK2</u>
16	PD616	БП	Ж	47	Спор.	-
17	PD689*	БП	М	24	Сем.	<u>LRRK2*</u>
18	PD758	БП	М	33	Спор.	<u>LINGO2</u>
19	PD927	БП	Ж	37	Спор.	<u>HTRA2, LRRK2</u>
20	PD505	ПНП	Ж	62	Спор.	-
21	PD639	КБС	Ж	60	Спор.	<u>NEFH, PARK7</u>
22	PD880	КБС	Ж	69	Спор.	<u>LRRK2, LRRK2,</u> <u>ALS2, PARK2,</u> <u>PRPH, SQSTM1</u>
23	PD281	МСА-п	М	55	Спор.	-
24	PD912	ЛВД-п	М	65	Сем. (БП)	<u>TARDBP, PARK2,</u> <u>PRNP, DCTN1</u>
25	PD45	Парк. – дист.	Ж	18	Спор.	-
26	TD57	Дист. – парк.	М	22	Спор.	<u>PLA2G6</u>

Парк.-дист. – фенотип «паркинсонизм-дистония». Сем. – семейный случай. Спор – спорадический случай. Выделенный шрифт – варианты неопределенного значения в гене. Подчеркнутый шрифт – патогенный вариант и вероятно патогенный вариант в гене. Не выделенный шрифт – доброкачественный вариант и вероятно доброкачественный вариант в гене. *– случай подробно разобран как пример рассмотрения мутаций.

Каждый вариант, перечисленный в таблице 16, был рассмотрен на предмет соответствия критериям и классифицирован согласно правилам Руководства [Рыжкова О.П. и др, 2017].

Приведем пример такого рассмотрения. У больного С.И., 55 лет, наблюдалось раннее начало БП в 24 года, семейный анамнез отягощен. При NGS анализе выявлен несинонимичный вариант в гене *LRRK2*: NM_198578: exon34: c.T4937C: p.M1646T (рис. 36). По базе данных dbSNP нуклеотидная замена значителся как rs35303786, с частотой минорного аллеля 0,0048, она является либо миссенс-вариантом (ENST00000298910), либо интронным вариантом, либо вариантом в некодирующем транскрипте. По популяционной базе ExAC, MAF=0,0092 (при этом в европейской популяции частота даже выше и составляет 0,01424).

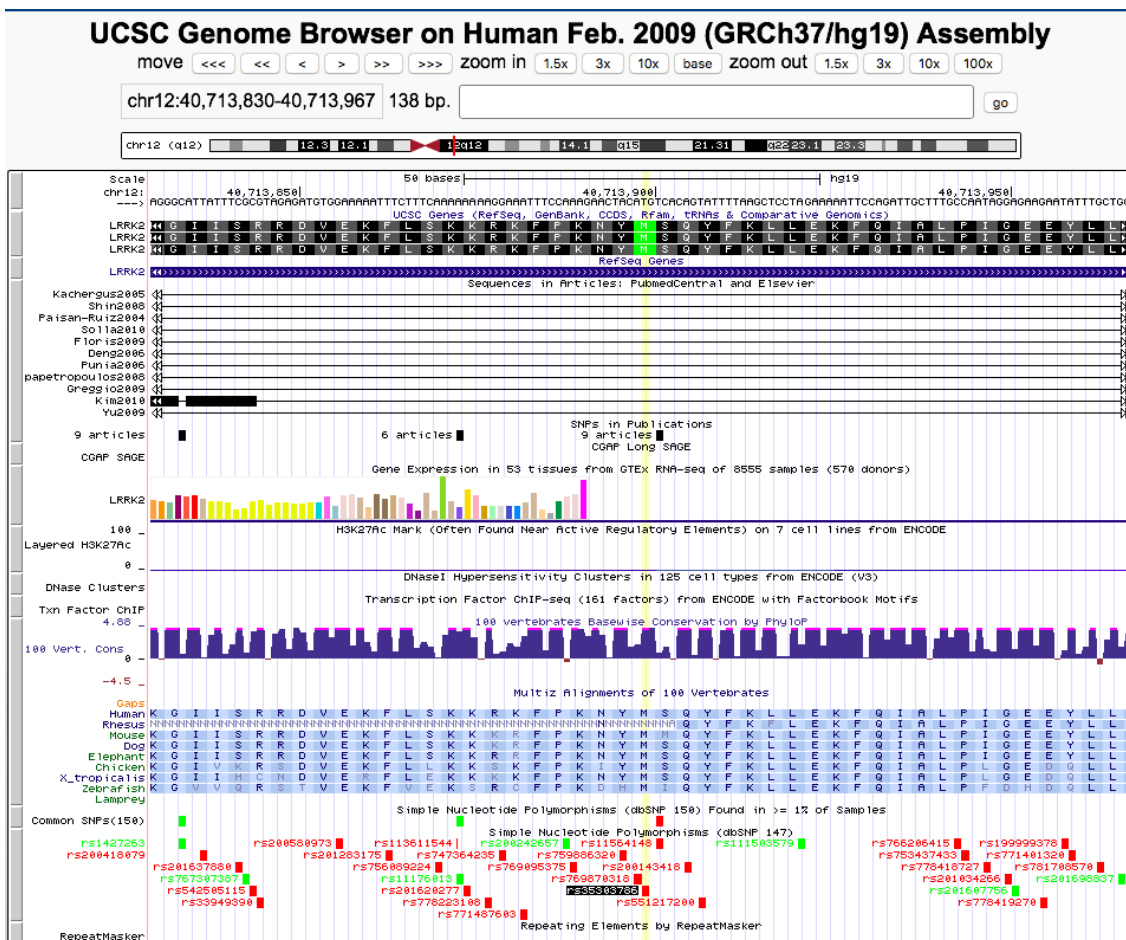


Рис. 36. Нуклеотидная замена с.Т4937С в гене *LRRK2* (браузер UCSC).

По 5 программ предсказания патогенности были получены неоднозначные результаты – 2 программы предсказали патогенность варианта и 3 программы – доброкачественность:

- SIFT - непатогенный «Т (0,37)».

- PolyPhen2 hdiv - доброкачественный «В (0,001)».
- Mutation Taster - патогенный «D - amino acid sequence changed, protein features (might be) affected, splice site changes».
- Gerp++ - патогенный «5,7» (>2).
- CADD – непатогенный «13,81» (<20).

В связи с полученными данными по программе Mutation Taster, говорящими о том, что вариант может приводить к изменению белка и к изменению сплайсинга, вариант дополнительно был оценен с помощью следующих программ, по которым патогенность не выявлена:

- SNPs&Go –нейтральный «Neutral Polymorphism (Reliability Index 7)»
- Human Splicing Finder – непатогенный «Probably no impact on splicing».

По базе UniProt в белке дардарине аминокислота 1646, к замене которой приводит вариант, не располагается в активных центрах белка, так как расположена в COR-домене между ROC-доменом (1328-1511) и протеин-киназным доменом (1879-2138), ближайшие к данной аминокислоте сайты связывания ГТФ и АТФ – (1341-1348) и (1885-1893).

По базе GTEх транскрипт ENST00000298910 практически не выявляется в черной субстанции (рис. 37).

Вариант не значится в базе данных LOVD. По ClinVar вариант может быть доброкачественным или неопределенного значения («Conflicting interpretations of pathogenicity: Benign (1), Likely benign (1), Uncertain significance (1)»).

В базах данных Ensemble и Pubmed найдены 4 публикации, в которых упоминается р.М1646Т *LRRK2*, при этом в трех из них нуклеотидная замена интерпретируется как полиморфизм:

- 1) Di Fonzo A., Tassorelli C., De Mari M. et al. Comprehensive analysis of the *LRRK2* gene in sixty families with Parkinson's disease// Eur J Hum Genet. – 2006. – V.14. – N.3. – P.322-331.

- 2) Mata I.F., Kachergus J.M., Taylor J.P. et al. *LRRK2* pathogenic substitutions in Parkinson's disease// *Neurogenetics*. – 2005. – V.6. – P.171-177.
- 3) Rubio J.P., Topp S., Warren L. et al. Deep sequencing of the *LRRK2* gene in 14,002 individuals reveals evidence of purifying selection and independent origin of the p.Arg1628Pro mutation in Europe // *Hum Mutat*. – 2012. – V.33. – N.7. – P.1087-1098.

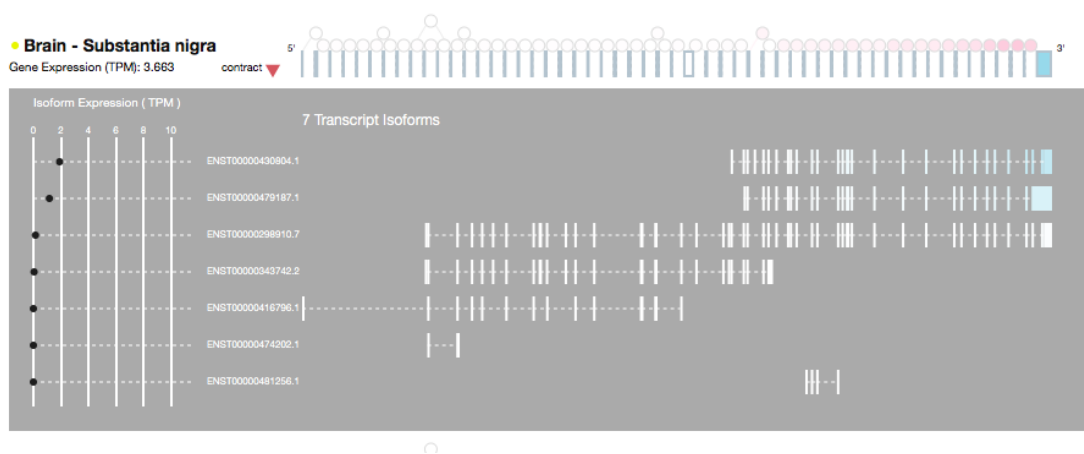


Рис. 37. Транскрипты гена *LRRK2* в черной субстанции (база данных GTEx).

В одной статье показана ассоциативная связь данного полиморфизма с БП: исследованы 8611 пациентов с БП в сравнении с контрольной группой из 6929 человек ОШ=1,43; 95% ДИ 1,15–1,78; $p=0,0012$ (Ross O.A., Soto-Ortolaza A.J., Heckman M.G. et al., *LRRK2* exonic variants and susceptibility to Parkinson's disease// *Lancet Neurol*. – 2011. – V.10. – N.10. – P.898-908).

Из критериев интерпретации вариантов применимы следующие три:

BS1: частота аллеля больше, чем ожидаемая для заболевания: для аутосомно-доминантного заболевания частота аллеля не должна превышать 0,01%.

PP4: фенотип пациента или/и семейная история высокоспецифичны для заболевания с данной наследственной этиологией.

PP5: источники с хорошей репутацией указывают на патогенность варианта, но независимая оценка не проводилась.

Таким образом, нуклеотидная замена классифицируется как вариант неопределенного значения, так как критерии доброкачественности и патогенности противоречат друг другу.

В результате подобного подробного анализа каждого варианта из всех 26 образцов выявлены 9 образцов с вариантами неопределенного значения, 2 – с вероятно патогенными вариантами и 1 – с патогенным вариантом, что суммарно составляет 46,2% (12/26) в исследуемой выборке. Процент встречаемости патогенных вариантов составил 11,5% (3/26) (рис. 38). Интерпретация по критериям и классификация вариантов для этих образцов представлена в таблице 17.

Среди 19 пациентов с БП у 8 выявлены варианты неопределенного значения в генах *LRRK2*, *HTRA2*, *SYNJ1*, *VPS35*, *PINK1*, *LINGO2* и у одного – 2 патогенных варианта в гене *PINK1*. То есть выявляемость не доброкачественных вариантов с помощью NGS среди БП составила 47,4% (9/19), патогенных – 5,7% (1/19).

Интерпретация по критериям и классификация вариантов				
Пациент /Диагноз	Ген: вариант	rs/ MAF 1000G	SIFT/ PolyPhen2 hdiv/ MutTast/gerp++/ CADD	Критерии и классификация варианта
PD29 - БП	<i>SYNJ1</i> : nonsynonymous SNV NM_003895:exon32:c.G4358A:p.G1453E	rs61750217/ 0.008	D/D/D/5,1/22,9	BS1+PP3+PP4 = неопред.
PD218 - БП	<i>HTRA2</i> : nonsynonymous SNV NM_145074:exon1:c.G367T:p.G123C	н/д	T/B/D/-0,2/9,8	BP4+PM2+PP4 = неопред.
PD360 - БП	<i>LRRK2</i> : nonsynonymous SNV NM_198578:exon32:c.C4624T:p.P1542S	rs33958906/ 0.013	T/D/D/5,8/17,6	BS1+PS1+PP3+PP4+PP5 = неопред.
PD534 - БП	<i>PINK1</i> : frameshift deletion NM_032409:exon1:c.309delC:p.A103fs	н/д	D/-/D/3,2/-	PVS1+PM2+PP3+PP4 = патоген.
	<i>PINK1</i> : frameshift deletion NM_032409:exon8:c.1557delG:p.L519fs	н/д	D/-/D/3,9/-	PVS1+PM2+PP3+PP4 = патоген.
PD542 - БП	<i>VPS35</i> : nonsynonymous SNV NM_018206:exon17:c.C2320A:p.L774M	rs192419029/ н/д	D/D/D/2,6/4,4	PM2+PP3+PP4= неопред.
	<i>LRRK2</i> : nonsynonymous SNV	rs202009639/	T/P/D/5,6/23,2	PM2+PP3+PP4=

PD576 -	NM_198578:exon13:c.G1517A:p.R506Q	н/д		неопред.
БП	PINK1 : nonsynonymous SNV NM_032409:exon5:c.C1105A:p.L369I	н/д	D/D/D/6/29,9	PM2+PP3+PP4= неопред.
PD758 -	LINGO2 : nonsynonymous SNV NM_152570:exon7:c.C581A:p.T194K	н/д	-/D/D/6,2/17,4	PM2+PP3+PP4 = неопред.
PD689* -	LRRK2 : nonsynonymous SNV NM_198578:exon34:c.T4937C:p.M1646T	rs35303786/ 0,0048	T/B/D/5,7/13,8	BS1+PP4+PP5 = неопред.
PD927 -	HTRA2 : nonsynonymous SNV NM_145074:exon1:c.G365T:p.W122L	н/д	T/P/D/4,6/21,8	PM2+PP3 = неопред.
	LRRK2 : nonsynonymous SNV NM_198578:exon32:c.G4541A:p.R1514Q	rs35507033/ 0.0016	T/P/D/5,0/13,1	BS1+BP4+PP5+PP4 = неопред.
PD880 -	LRRK2 : nonsynonymous SNV NM_198578:exon9:c.A1081G:p.R361G	н/д	D/P/D/3,1/11,7	PM2+PP3+PP4 = неопред.
PD912 -	TARDBP : stopgain NM_007375:exon6:c.G736T:p.E246X	н/д	T/-/D/5,8/40	PM4+PM2+PP3+PP4 = вер. патоген.
ЛВД-п	PARK2 : nonsynonymous SNV NM_004562:exon11:c.C1204T:p.R402C	rs55830907/ 0.0022	D/D/D/1,8/15,2	PM1+PM2+PP3 = неопред.
	PRNP : nonsynonymous SNV	н/д	D/D/D/5,0/22,3	PM2+PP3 =

	NM_183079:exon2:c.G143A:p.R48H			неопред.
TD57 – дист.- парк.	<u>PLA2G6</u> : nonsynonymous SNV NM_003560:exon15:c.G2129A:p.R710H	rs147455037/ н/д	D/D/D/4,4/28,5	PS1+PM2+PP3+PP5+PP4 = <u>вер. патоген.</u>

MAF: minor allele frequency – частота минорного аллеля. Nonsynonymous SNV – несинонимичный вариант. Stopgain – вариант, приводящий к преждевременной терминации. Frameshift deletion – делеция со сдвигом рамки считывания. н/д – нет данных. BS1-PP5 – критерии для интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности. Неопред. – вариант неопределенного значения. Вер. патоген. – вероятно патогенный вариант. Патоген. – патогенный вариант. Дист.-парк – фенотип «дистония – паркинсонизм».

SIFT: D – Deleterious; T – Tolerated. **PolyPhen 2 HDIV**: D – Probably damaging, P – possibly damaging; B – benign. **MutationTaster**: D – disease_causing; P(N) – polymorphism. **GERP++**: значение >2 считается патогенным. **CADD**: значение >20 считается патогенным.

* – у пациента PD689 вариант в гене *LRRK2* подробно разобран на соответствие критериям и классифицирован.

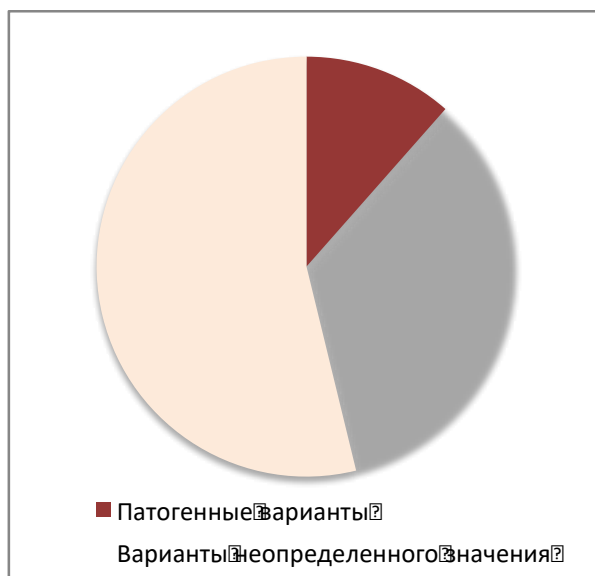


Рис. 38. Доля случаев с выявленными патогенными вариантами и вариантами неопределенного значения в выборке больных, исследованных методом NGS.

Ни в случае ПНП, и ни в случае МСА вариантов для рассмотрения выявлено не было.

Из двух случаев КБС в одном выявлен вариант в гене *LRRK2* неопределенного значения.

В одном случае лобно-височной деменции выявлен вероятно патогенный вариант в гене *TARDBP*.

Из двух случаев с фенотипом «паркинсонизм-дистония» в одном выявлен вероятно патогенный вариант в гене *PLA2G6*.

Приведем клиническое описание всех трех пациентов с выявленными патогенными вариантами (мутациями) в генах *PINK1*, *TARDBP*, *PLA2G6*.

Носитель мутации в гене *PINK1*, больной А.А., 27 лет, поступил в Научный центр неврологии с жалобами на периоды обездвиженности, сопровождающиеся общей скованностью, слабостью, нарушением глотания, речи, потребность в посторонней помощи, на произвольные размахистые движения в руках и ногах, мешающие самообслуживанию и которые появляются на фоне действия препаратов. Считает себя больным с 11 лет, когда впервые стал замечать прихрамывание на правую ногу, слабость в ней. Спустя некоторое время

изменилась походка, стал «отклоняться» вправо при ходьбе. В 12 лет диагностирован «ювенильный паркинсонизм», назначена леводопа/карбидопа (наком) 250 мг по ¼ т. 4 р/д с хорошим эффектом. В 15 лет в связи с недостаточным действием препаратов доза накома увеличена до ½ т. 4 р/д. Затем на первых курсах обучения в ВУЗе в связи с нагрузками самостоятельно стал увеличивать дозу накома, к терапии также был добавлен прамипексол. Примерно тогда же стали появляться лекарственные дискинезии. Чуть позже добавлен амантадин (ПК-мерц). На настоящий момент принимает леводопа/бенсеразид (мадопар) 250 мг ½ т 8 р/д, мадопар Д ½ т. 3 р/д, мадопар ГСС 2 капс. н/н, ПК-мерц 4 т/д, ропинирол (реквив модутаб) 8 мг/д. Консультирован нейрохирургом – показано хирургическое лечение. В неврологическом статусе: в оптимальном «on»-периоде: контактен, ориентирован. Менингеальных знаков нет. ЧН: глазные щели, зрачки равные, объём движения глазных яблок полный, нистагма нет. Лицо симметрично. Дизартрии, дисфагии, дисфонии нет. Язык по средней линии. Парезов нет. Легкие хореоформные гиперкинезы в руках и ногах, вовлекающие и руки, и ноги относительно симметрично. Мышечный тонус в руках и ногах снижен. Сухожильные рефлексy в руках живые, симметричные, в ногах – повышены. Патологических стопных знаков не выявлено. Координаторные пробы выполняет с легкой дисметрией за счет гиперкинезов. В пробе Ромберга устойчив. Ходьба существенно не изменена, за исключением легких гиперкинезов. Чувствительных нарушений нет. Функции тазовых органов контролирует. На «пике дозы»: грубые хореобаллические гиперкинезы в руках и ногах, затрудняющие самообслуживание. В «off»-периоде: аспонтанность, гипомимия, гипофония, легкая дизартрия, гипокинезия больше справа с ригидностью. Рекомендован постоянный прием: мадопар 250 мг ¼ т. 10р/д, мадопар ГСС 1 кап бр/д, реквив модутаб 8мг утром, ПК-мерц 1т 4р/д, клоназепам 2мг ¼ т н/н.

Носитель мутации в гене *TARDBP*, больной А.М., 70 лет, сбор жалоб и анамнеза затруднен из-за когнитивных нарушений. При расспросе сам больной отмечает головокружение, дрожание рук, замедленность движений, снижением памяти (анамнез частично собран со слов родственников). Известно, что

замедленность движений, скованность, нарушение походки, непостоянное дрожание рук, больше левой, появились около 3 лет назад. При назначении мадопара (леводопа/бенсеразид) клинического эффекта не наблюдалось, наоборот, появлялась общая слабость, головокружение. На МРТ головного мозга: смешанная гидроцефалия, преимущественно наружная, в субкортикальных и глубоких отделах белого вещества обоих полушарий большого мозга – немногочисленные очаги, выраженное уменьшение объема височных долей, атрофия гиппокампа и парагиппокампальных извилин, умеренное расширение нижних рогов боковых желудочков. В семейном анамнезе: у матери с возраста 70 лет отмечались односторонняя скованность и тремор. В неврологическом статусе: сознание ясное, ориентирован правильно, критика к своему состоянию снижена, расторможен, дурашлив. Оценка по шкале MoCA 22 балл (рис. 39), по батарее лобных тестов – 13 баллов (умеренная лобная дисфункция). Глазные щели, зрачки равные, несколько сужены. Умеренное ограничение взора вверх. Конвергенция ослаблена. Чувствительность на лице сохранена. Лицо гипомимично, симметрично в покое и при выполнении мимических проб. Слух снижен на оба уха. Нистагма нет. Глотание, фонация, речь не нарушены. Язык по средней линии. Мышечная сила достаточная. Умеренная мышечная ригидность, симптом «зубчатого колеса» в руках и ногах без четкой разницы сторон. Паратонии с двух сторон. Тремор покоя в левой кисти. Умеренная олигобрадикинезия в руках $s>d$, в ногах $s>d$ при выполнении динамических проб. Сухожильные и периостальные рефлексy живые, симметричны, выше в ногах. Патологических стопных знаков нет. Рефлекс Маринеску–Радовичи с двух сторон. Координаторные пробы выполняет удовлетворительно. В пробе Ромберга легкая неустойчивость. Ретропульсия в пробе Тевенара. Ходьба с микробазией, расширенной базой, легким при шаркиванием левой ногой, с элементами пропульсии. Ахейрокинез, больше слева. Поза с легким наклоном корпуса вперед. Четких расстройств чувствительности не выявлено. Функции тазовых органов сохранены. Ортостатической гипотензии нет.

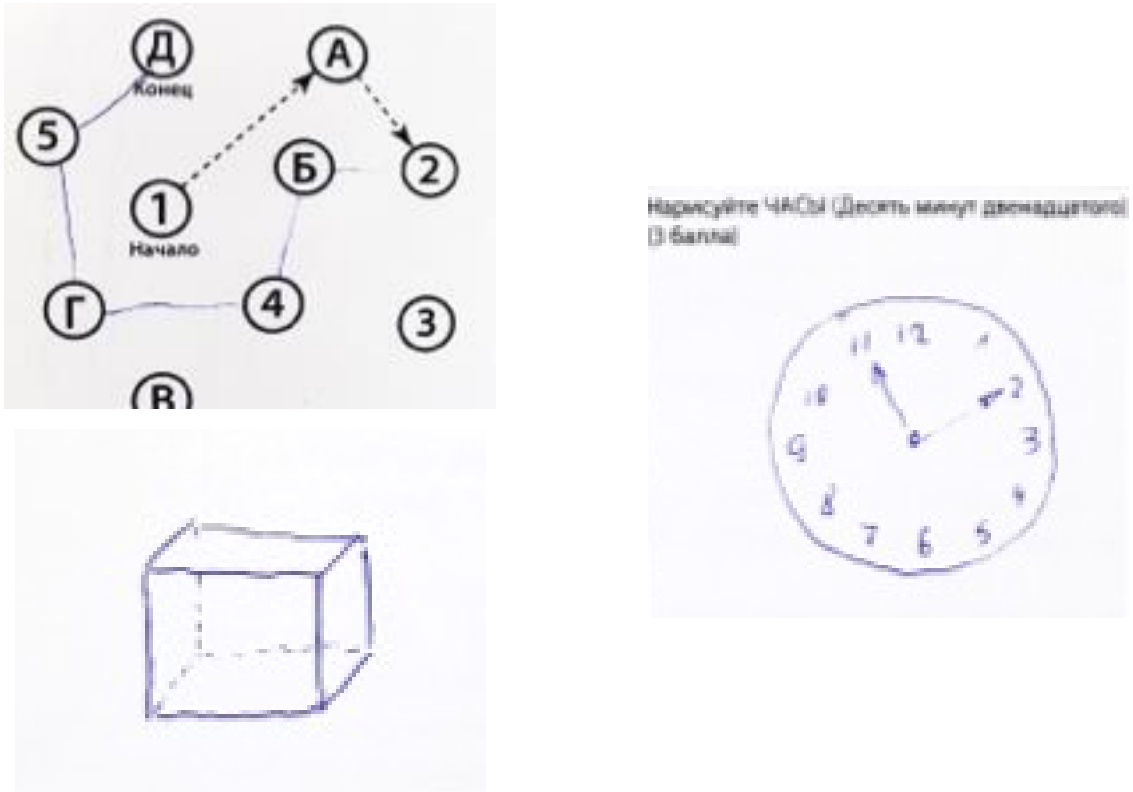


Рис. 39. Выполнение заданий MoCA больным А.М. (отсутствие выраженных зрительно-пространственных нарушений).

Консультация нейропсихолога: На первый план в обследовании выступают нарушения в эмоционально-личностной сфере – конфликтность, вербальная и невербальная расторможенность, проявления агрессивных действий. В когнитивной сфере, с учетом нарушения слуха (со слов пациента). значительно снижены показатели непосредственной (механической) и долгосрочной памяти. С учетом эмоциональной импульсивности, снижение внимания к анализу зрительно-пространственных представлений. В психологической структуре в отражении схемы тела наблюдается кинестетическая недостаточность. В речевой сфере – изменения по типу дизартрии. При письме незначительная микрография. Легкое снижение произвольной (функция контроля) деятельности. Консультация психоневролога: Психоорганический синдром по эксплозивному, эйфорическому типу. Умеренное когнитивное расстройство. Лобно-височная деменция. Нарушения личности и поведения в связи с органическим поражением. Во время госпитализации пациент поддерживал удовлетворительный контакт с

окружающими (как с медицинским персоналом, так и с другими больными), к лечению был настроен положительно, в самообслуживании в посторонней помощи не нуждался. Фон настроения оставался ровным, со склонностью к эйфоричности, дурашливости.

Носитель мутации в гене *PLA2G6*, больной Э.А., 26 лет, обратился в Научный центр неврологии с жалобами на: нарушение глотания, практически полное отсутствие речи, шаткость и неустойчивость при ходьбе, головокружение, нечеткость зрения при взгляде вниз, напряжение в мышцах правой руки, в шее, дрожание в правой руке. Из анамнеза известно, что приблизительно в 22 года стали беспокоить периоды головокружения и нечеткости зрения при взгляде вниз. В 23 года после тяжелого пищевого отравления появились и стали постепенно прогрессировать осиплость голоса, нарушение речи. Около года назад после физической нагрузки появилось напряжение в правой руке, которое постепенно прогрессирует. В последнее время присоединилось напряжение в мышцах шеи – латеротортиколлис. При обследовании: церулоплазмин в норме; колец Кайзера–Флейшера нет; на МРТ единичные очаги глиозной трансформации в базальных ганглиях; на ЭНМГ и ЭЭГ без патологии. При исследовании ликвора: без существенных отклонений. При пробе с мадопаром по медицинской документации отмечалась положительная динамика, субъективно – без изменений. В последующем принимал прамипексол до 1,5 мг/сут также без эффекта. Хороший эффект отмечается только на небольших дозах клоназепама – исчезают дрожание, внутренняя тревога, несколько уменьшается дистония в руке. Семейный анамнез: не отягощен. В неврологическом статусе: ориентирован, контактен. Менингеальных знаков нет. Экзофтальм. Глазные щели, зрачки равные. Фотореакция сохранена. Нарушение саккадических движений в вертикальной плоскости, возможны только плавные замедленные движения глазных яблок вверх и вниз. Движения глазных яблок в горизонтальной плоскости не нарушены. Нистагма нет. Лицо симметрично. Язык по средней линии, фасцикуляций нет. Небная занавеска практически не сокращается с двух сторон. Гипофония.

Дисфагия. Грубая гипокинетическая дизартрия. Парезов нет. Сегментарная дистония с проксимальном отделе правой руки с дрожанием (рис. 40), правосторонний латеротортиколлис, напряжена грудино-ключично-сосцевидная мышца, гипертрофия мышц плечевого пояса справа. Мышечный тонус несколько повышен по экстрапирамидному типу в правой руке. Дрожание мелкоамплитудное и высокочастотное в правой кисти при статической нагрузке. Сухожильные рефлексy с руке выше справа, в ногах – оживлены. Общая гипокинезия. В пробе Ромберга устойчив. ПНП – удовлетворительно. Постуральная неустойчивость. Неустойчивость при ходьбе, база не расширена, не «держит прямую линию». Чувствительных нарушений нет Тазовых нарушений нет.



Рис. 40. Образец почерка пациента А.Э.

Таким образом, с помощью разработанной NGS-панели были установлены «конечные» молекулярно-генетические диагнозы в случаях нейродегенеративных заболеваний, сопровождающихся паркинсонизмом, выявление которых было бы невозможно другими рутинными методами ДНК-диагностики.

Процент выявляемости вариантов нуклеотидной последовательности, ассоциированных с фенотипом, в целевой выборке больных с паркинсонизмом составил 46,2%, включая варианты неопределенного значения и патогенные варианты.

3.5. Генетика паркинсонизма. Обсуждение результатов

Генетическая структура болезни Паркинсона в российской популяции

В работе была исследована большая выборка пациентов с БП с помощью метода MLPA. По результатам исследования выявлены носители мутаций в ряде генов паркинсонизма и проведены клинико-генетические сопоставления.

Общая встречаемость носительства мутаций, выявленных с помощью MLPA, составила 7,8%. Это покрывает около трети того, что можно выявить при тщательном и широком молекулярно-генетическом исследовании всех известных мутаций и генов, ассоциированных с БП. Следовательно, выявляя достаточно высокий процент молекулярных дефектов, MLPA может рассматриваться как эффективный скрининговый метод. Достоинством этого метода также является возможность регистрировать изменения копийности экзонов генов: такие мутации, иногда захватывающие протяженные мультиэкзонные области, трудно диагностируются обычными методами.

В настоящее время принято считать, что мутации в гене *PARK2* являются самой частой причиной развития БП. В проведенной работе доля пациентов с делециями/дупликациями в гене *PARK2* составила 4,6%. Полученная частота носительства мутаций *PARK2* сопоставима с результатами многочисленных исследований, проведенных в США – 3,5–3,6% [Alcalay R.N. et al., 2010; Marder K. et al., 2010], Великобритании – 3,7% [Kilarski L.L. et al., 2012], Польше – 4,7% [Koziorowski D. et al., 2013]. В наших предыдущих исследованиях с использованием традиционных методов ДНК-диагностики, также были показаны сравнимые результаты – 5,8% [Багыева Г.Х., 2009] и 3,8% [Semenova E.V. et al., 2012]. На сегодня считается доказанной патогенетическая значимость не только гомозиготных, но и гетерозиготных и мутаций *PARK2* [Klein C. et al., 2007; Kay D.M. et al., 2010]. Отметим, что в нашей работе с помощью метода MLPA исследовался только один тип мутаций – экзонные перестройки, который составляет от 33% до 67% от всех мутаций *PARK2*; нами не исследовались миссенс-мутации в данном гене, которых описано свыше 120 [Marder K. et al., 2010],

поэтому общий процент встречаемости паркинопатий в целом может быть существенно больше.

Среди важных клинических особенностей паркинопатий следует отметить раннее начало, сравнительно медленное прогрессирование, частое развитие пирамидного синдрома, дневные флюктуации выраженности симптомов, высокую чувствительность к леводопе и быстрое появление дискинезий даже на небольших дозах препарата, редкое развитие вегетативных и когнитивных нарушений [Иллариошкин С.Н. и соавт., 2007]. Большинство из характерных клинических признаков было отмечено и в нашей группе носителей мутаций *PARK2*.

Сходной по клинической картине является генетическая форма, обусловленная гомозиготными мутациями в гене *PINK1*. Благодаря методу МЛРА нам удалось выявить случай гетерозиготного носительства в этом гене; таким образом, встречаемость экзонных перестроек в *PINK1* составила в нашей группе 0,3%. Для сравнения: частота мутаций *PINK1* в исследовании, проведенном в Великобритании, составила 0,7% [Kilarski L.L. et al., 2012], в Польше – 2,7% [Koziorowski D. et al., 2013], в Иране – до 11% [Darvish H. et al., 2013]. В нашей стране этот случай является первым клиническим описанием доказанного носительства мутации в гене *PINK1* при БП. В отличие от гомозиготного носительства с ранним началом заболевания, для гетерозиготного носительства характерен классический идиопатический фенотип позднего паркинсонизма, что и наблюдалось у выявленного нами пациента. Рядом исследователей показано, что для *PINK1*-формы БП достаточно характерна тревожная и депрессивная симптоматика, встречающаяся в трети случаев и часто предшествующая двигательным нарушениям. В описанном нами случае также, помимо двигательных симптомов, присутствовали клинически значимые тревога и депрессия, которые на определенном этапе потребовали обращения к психиатру. Также особенностью является наличие отягощенного семейного анамнеза с наследованием по аутосомно-доминантному типу, что еще раз подтверждает патогенность гетерозиготного носительства мутаций в гене *PINK*.

Одной из наиболее распространенных генетических форм БП является *LRRK2*-ассоциированный паркинсонизм. В гене *LRRK2* выявлено более 50 мутаций, наиболее частая из них – миссенс-мутация G2019S, встречающаяся в европейской популяции с частотой 0,4–10% в зависимости от наличия или отсутствия семейного анамнеза. В данной работе частота встречаемости оказалась равной 2,6%. По результатам предыдущих наших исследований с использованием других молекулярно-генетических методов доля носителей G2019S составила 1,1% [Багыева Г.Х., 2009], среди спорадических – 0,7%, среди семейных – 7,7% [Иллариошкин С.Н. с соавт., 2007; Illarioshkin S.N. et al., 2007]. По клиническим характеристикам в большинстве случаев *LRRK2*-паркинсонизм близок к обычной клинической картине БП с поздним началом заболевания, реже он может быть представлен фенотипом ДТЛ. У выявленных нами носителей также преобладал классический фенотип БП, при этом в части случаев отмечено развитие деменции.

Несмотря на то, что исторически ген *SNCA* (альфа-синуклеин) при БП был открыт первым, мутации в нем описаны в лишь единичных семьях по всему миру. В гене *SNCA* встречаются точковые мутации (р.А53Т, р.А30Р, р.Е46К, р.Н50Q, р.G51D, р.А53Е), а также дупликации, трипликации и квадрипликации. Фенотип зависит от дозы гена и варьирует от идиопатической БП при дупликации гена *SNCA* до ДТЛ при его трипликации, также при некоторых точковых мутациях встречаются атипичные случаи с фенотипом МСА. На сегодняшний день описано 47 случаев дупликации *SNCA* у членов 32 семей из Азии, Европы и Америки, средний возраст начала заболевания составил 48 лет (от 18 до 77 лет). Большинство носителей дупликации клинически представлены паркинсонизмом в сочетании с немоторными проявлениями: галлюцинациями, РПБДГ, вегетативной недостаточностью, когнитивными нарушениями [Deng H. et al., 2018; Pankratz N. et al., 2009]. Таким образом, уникальный случай, выявленный в российской популяции, по возрасту начала заболевания (44 года) соответствует описанным случаям в мировой литературе, однако в связи с непродолжительным периодом заболевания судить о дополнительных фенотипических особенностях затруднительно.

В настоящей работе не было выявлено носительство мутаций в генах *DJ-1* и *ATP13A2*, которые, согласно многим исследованиям, также редки в других популяциях. Мутации в гене *DJ-1* встречаются достаточно редко (1%) и клинически проявляются ранним паркинсонизмом, сходным с *PARK2*-ассоциированным фенотипом. В отличие от всех предыдущих форм заболевания, редкая *ATP13A2*-ассоциированная форма паркинсонизма фенотипически проявляется ранним атипичным паркинсонизмом с быстрым прогрессированием, транзиторным ответом на леводопа-терапию, дополнительными пирамидными знаками и выраженными когнитивными нарушениями [Klein C. et al., 2012].

В российской популяции процент встречаемости мутаций в гене *GBA* при БП (11,6%) выше, чем в перечисленных генах моногенного паркинсонизма. По результатам других работ в различных популяциях мира, мутации в гене *GBA* встречаются также чаще, чем мутации в генах *LRRK2*, *PARK2*, *SNCA*: например, в популяции евреев-ашкенази – в 15–30%, в китайской – в 4,3%, в японской – в 9,4%, в смешанной европейской – в 6,7% [Sidranky E., Lopez G., 2012]. Высокий процент в российской и в других популяциях говорит о безусловной важности этого гена в патогенезе БП.

Из всех мутаций основные, мажорные мутации N370S и L444P в нашей выборке больных встречались с частотой 4,3%. Частота встречаемости мажорных мутаций *GBA* в других популяциях различается: так, в Норвегии среди пациентов с БП она составляет 2,3%, в Китае – 2,4%, в Бразилии – 3,0%, среди евреев-ашкенази ожидаемо выше – 15% [Sidransky E., Lopez G., 2012]. Наиболее частой из двух мутаций практически во всех популяциях является N370S. Такой же результат был получен в нашем исследовании: замена N370S в гене *GBA* встречалась в 2,4% случаев БП, L444P – в 1,9%. В другом российском исследовании, в котором оценивались только мажорные мутации, наиболее частой оказалась L444P (1,8%), а не N370S (0,9%), при меньшей суммарной частоте – 2,7% [Emelyanov A. et al., 2012]. Сходными с нашими результатами были получены в другом российском исследовании пациентов с болезнью Гоше (без БП), в котором также преобладала мутация N370S (45%), а не L444P (23%) [Букина Т.М., Цветкова И.В., 2007].

До настоящего момента обсуждается значимость для БП двух других мутаций *GBA* – Т369М и Е326К, которые не вызывают болезнь Гоше (т.е. являются достаточно «мягкими» мутациями). В нашем исследовании было показано, что носительство Т369М увеличивает риск БП в 3,7 раз (мутация встречалась в 6,8% случаев носительства среди больных с БП и только в 1,5% в контрольной группе). Однако не во всех исследованиях в других популяциях удалось показать данную ассоциацию, по причине неоднозначности результатов был проведен мета-анализ, включивший пациентов с БП (n=4920) и контрольную группу (n=3500), в котором была доказана связь Т369М с БП (ОШ=1,78, 95%-ный ДИ 1,25–2,53, p=0,002) и отмечен небольшой, «мягкий» эффект данной мутации [Mallett V. et al., 2016]. Дополнительным доказательством значимости мутации Т369М является тот факт, что с данной заменой ферментативная активность глюкоцереброзидазы падает. В нашей работе в виду подтвержденной значимости Т369М для БП случаи носительства мутации были включены в *GBA*-ассоциированный паркинсонизм.

Для варианта Е326К подобной ассоциации в российской популяции найти не удалось, хотя данный вариант и встречался в группе БП чаще, чем в контроле (4,7% vs 2,5%). По данным литературы вариант Е326К редко обнаруживается в азиатских популяциях, еврейской и португальской [Mitsui J., et al., 2009; Bras J., Paisan-Ruiz C. et al., 2009], однако для некоторых европейских популяций показана ассоциация аллеля Е326К с БП [Pankratz N. et al., 2012], а для британской популяции некоторыми авторами этот вариант рассматривается как доминирующий [Horowitz M. et al., 2011]. Данный полиморфизм часто встречается совместно с другими мутациями (на одном аллеле) и обладает модифицирующим эффектом, уменьшая ферментативную активность глюкоцереброзидазы в сочетании с другой мутацией [Horowitz M. et al., 2011]. При этом активность фермента только при одной замене Е326К уменьшается незначительно – до 9,8 мкмоль/л/ч от нормы в 11,9 мкмоль/л/ч (для сравнения, замена Т369М больше снижает активность – до 7,6 мкмоль/л/ч) [Mallett V. et al., 2016], что еще раз свидетельствует об очень «мягком» эффекте данной замены. В нашей группе БП среди 9 пациентов–носителей Е326К только у двух пациентов отмечалась носительство двух мутаций (L444P/Е326К с возрастом

начала 39 лет и T369M/E326K с возрастом начала 57 лет). В связи с отсутствием статистически значимой ассоциации варианта E326K в нашей работе на российской популяции случаи носительства данного варианта не были включены в *GBA*-ассоциированный паркинсонизм.

Хотя большинство найденных мутаций (N370S, L444P, T369M) располагались в 8–11 экзонах – в области, где и сосредоточены большинство мутаций согласно литературным данным, в нашей работе была выявлена мутация вне этой области, что подтверждает необходимость секвенировать ген *GBA* полностью.

Клинико-генетические сопоставления выявленной группы *GBA*-ассоциированного паркинсонизма с не-носителями *GBA* мутаций не выявило существенных отличий по гендерным и возрастным параметрам, по тяжести состояния и по отягощенности семейного анамнеза. Отсутствие различий также было отмечено при мультицентровом анализе мутаций *GBA* [Sidransky E. et al., 2009], хотя ряд исследований выявляют более ранний возраст начала и когнитивные нарушения при *GBA*-паркинсонизме [Mata I. et al., 2008; Nichols W.C. et al., 2009; Neumann J. et al., 2009; Setor-Salvia N. et al., 2012].

В нашем совместном исследовании фенотипического профиля пациентов БП с носительством мутаций *GBA* в российской популяции было показано, что для носителей мутаций характерно медленное прогрессирование заболевания, хороший ответ на леводопа-терапию, сопровождающийся, однако, предрасположенностью к развитию моторных флюктуаций и дискинезий, а также когнитивный дефицит, представленный зрительно-пространственными нарушениями [Ганькина О.А. с соавт., 2016].

При разных мутациях в *GBA* могут быть разные фенотипические особенности, которые зависят, главным образом, от «патогенности» мутации, например, при одних мутациях (L444P) отмечается более тяжелое течение, при других (T369M) – более мягкое. Данное деление на «мягкие» и «жесткие» мутации *GBA* на сегодняшний день является общепринятым [Gan-Or Z. et al., 2015]. При этом сочетание мутаций в разных паркинсонических генах может не приводить к появлению каких-то дополнительных особенностей, как было показано на примере

аутосомно-доминантной формы *LRRK2*-ассоциированного паркинсонизма в сочетании с «мягкой» мутацией в гене *GBA* (N370S). Показано, что гомозиготное носительство «мягких» мутаций (N370S, T369M) приводит к «мягкому» классическому позднему паркинсонизму без признаков болезни Гоше, несмотря на носительство 2-х мутаций. Таким образом, для разных точковых мутаций в гене *GBA* были показаны различные фенотипические характеристики, отражающие разную степень патогенетического воздействия.

GBA-паркинсонизм в данной работе рассматривается в рамках моногенного паркинсонизма, так как статус «фактора риска» гена *GBA* для БП в настоящий момент пересматривается в сторону «моногенности». Этому также способствовала работа М. Anheim с соавторами, в которой была просчитана пенетрантность БП у носителей *GBA*-мутаций [Anheim M. et al., 2012]. Согласно расчетам пенетрантность соответствует доминантной модели наследования (7,6% к 50-ти годам, 13,7% – к 60-ти, 21,4% – к 70-ти и 29,7% – к 80-ти), что ставит ген *GBA* в ряд с моногенными формами. Несмотря на эти данные, ввиду сохраняющихся вопросов, медико-генетическое консультирование родственников больных с *GBA*-мутациями рекомендовано проводить как с потенциальными носителями «фактора риска» БП, а не с носителями «моногенной формы паркинсонизма», также с учетом отсутствия патогенетического лечения. К сожалению, существующая фермент-заместительная терапия болезни Гоше не может быть использована в качестве превентивного лечения продромальных стадий БП, так как рекомбинантная глюкоцереброзидаза не проходит гемато-энцефалический барьер, и применение данного препарат у пациентов с болезнью Гоше не предотвращало развитие паркинсонизма [Sidransky E., Lopez G., 2012].

Таким образом, в работе проведен комплексный анализ генетической структуры первичного паркинсонизма в российской популяции с определением частоты и выделением фенотипических особенностей отдельных генетических форм. В по результатам анализа было показано, что встречаемость мутаций в гене *LRRK2* составила 4,6%, в *PARK2* – 2,6%, в гене *PINK1* – 0,3%, в гене *SNCA* – 0,3%

и в гене *GBA* – 11,6% (рис. 41). Полученные результаты по основным генам БП в российской популяции сопоставимы с подобными данными в других европейских популяциях.

Суммарно с помощью метода MLPA, направленного на диагностику моногенного паркинсонизма, и секвенирования гена *GBA* возможно выявление мутаций у каждого пятого пациента с БП в российской популяции – до 19,4% (с учетом крайне редких случаев носительства двух патогенных мутаций у больного, в нашей выборке был выявлен только один такой носитель).

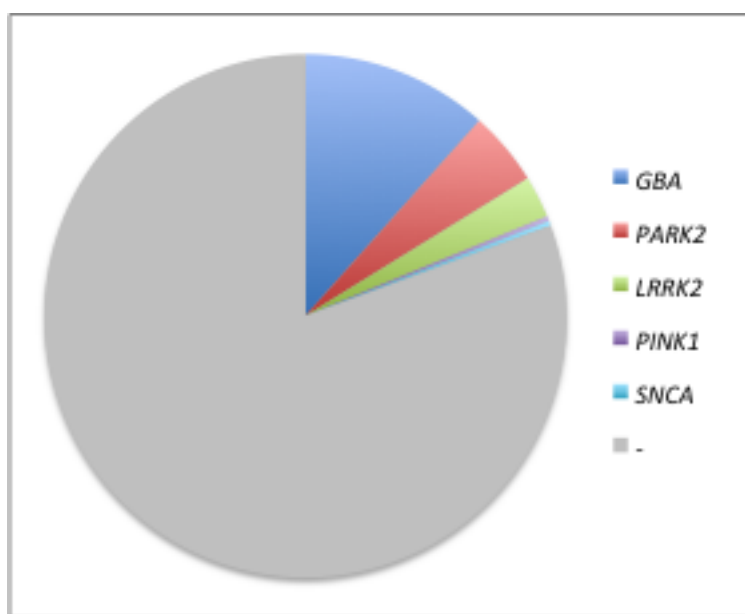


Рис. 41. Структура первичного паркинсонизма в российской популяции в виде процентной представленности моногенных и *GBA*-ассоциированных форм.

Представление о частоте встречаемости мутаций позволяет определять очередность выполнения молекулярно-генетических анализов. Так в работе была показана достаточно высокая эффективность MLPA как скринингового метода для определения генетических форм БП. Кроме MLPA рекомендовано проведение мутационного скрининг гена *GBA* на мажорные мутации, а также выполнение полного секвенирования кодирующей области этого гена (при отсутствии мажорных мутаций).

Кроме частоты встречаемости мутаций основой для выбора очередности проведения ДНК-диагностики служат фенотипические особенности. Для каждой

генетической формы в работе был описан фенотипический профиль, который не является строго обязательным, но который, однако, позволяет сориентироваться в выборе молекулярно-генетических исследований.

Анализ генетических ассоциаций при болезни Паркинсона

БП в большинстве случаев является мультифакторным заболеванием, в котором на полигенный фон накладываются различные факторы риска внешней среды, приводящие суммарно с возрастом к развитию заболевания. В свете этого представляется важным выявление и изучение генетических вариантов, являющихся факторами риска и вносящих вклад в развитие заболевания.

В работе были изучены полиморфные участки ДНК, патогенетически связанные либо с БП, либо с другими нейродегенеративными заболеваниями, в фенотипе которых могут присутствовать признаки паркинсонизма. Для исследования были выбраны микросателлитные полиморфизмы генов *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1* и полиморфизмы генов *LINGO1* и *LINGO2*.

Микросателлиты представляют собой тандемные повторы 1–6-нуклеотидных мотивов и встречаются на протяжении всего генома человека. Микросателлиты могут иметь различную локализацию как в кодирующей, так и в некодирующей области гена. Они влияют на процессы транскрипции и, располагаясь в кодирующей части, на функции конечного белка.

Основным геном для БП является *SNCA*, и в первую очередь именно его микросателлитный полиморфный участок Rep1, располагающийся в промоторе гена, был исследован на предмет связи с заболеванием. Микросателлит имеет структуру, состоящую из динуклеотидных повторов - (TC)₁₀₋₁₁ (TT) (TC)₉₋₁₁ (TA)₇₋₉ (CA)₁₀₋₁₃.

В российской популяции встретились практически все аллельные варианты полиморфизма Rep1, отличающиеся длиной – 255, 257, 259, 261, 263, 265. Наиболее частым оказался аллель Rep1-261 – 66,2%, с меньшей частотой встречались Rep1-259 – 28,7% и Rep1-263 – 4,5%. Согласно недавно проведенному мета-анализу примерно такое же обобщающее распределение частот наблюдается и в других популяции мира: Rep1-261 – 61,5%, Rep1-259 – 25,2%, Rep1-263 – 12,2% [Shu L. et al., 2018].

Результатами нашего исследования подтверждена ассоциация аллеля Rep1-263 с БП: носительство данного аллеля увеличивает риск развития БП в 1,7 раз. В ряде зарубежных исследований также было выявлено предрасполагающее влияние Rep1-263, которое было подтверждено в обобщающем мета-анализе [Maraganore D.M. et al., 2006; Shu L. et al., 2018]. При этом протекторное действие аллеля меньшей длины Rep1-259, выявленное в некоторых исследованиях [Markopoulou E. et al., 2013; Shu L. et al., 2018], в нашей работе установлено не было.

В исследовании проведен подробный анализ влияние генотипа *SNCA* на возраст начала заболевания и тяжесть состояния, а также гендерное распределение. Каких-либо закономерностей выявить не удалось. Не подтвержден более ранний возраст начала заболевания и более тяжелое течение при носительстве Rep1-263, как было показано в других исследованиях [Hadjigeorgiou G.M. et al., 2006; Pankratz N. et al., 2009; Shu L. et al., 2018], и не подтверждено более позднее начало заболевания при носительстве меньшего, «протекторного» аллеля Rep1-259 [Shu L. et al., 2018].

Интересно отметить, что в мета-анализе наблюдалось четкое увеличение риска БП с увеличением длины аллеля: от «протекторного» Rep1-259 (ОШ=0,85), до «предрасполагающих» аллелей Rep1-261 (ОШ=1,06), Rep1-263 (ОШ=1,22) и Rep1-265 (ОШ=1,89). Относительно недавно были получены доказательства того, почему более длинный аллель может приводить к предрасположенности к БП: оказалось, это напрямую связано с увеличением экспрессии альфа-синуклеина. Во-первых, уровень мРНК и белка альфа-синуклеина выше при длинных аллелях 261 п.о. и 263 п.о. по сравнению с коротким 259 п.о. [Cronin K.D. et al., 2009; Linneriz S. et al., 2009]. Во-вторых, степень метилирования первого интрона *SNCA* ниже для длинных аллелей, а известно, что гипометилирование приводит к увеличению экспрессии [Ai S.X. et al., 2014]. И, в-третьих, в работе А. Afek с соавторами показано, что длинные аллели (с большим числом СА-динуклеотидов) имеют большую аффинность к ряду факторов транскрипции, тем самым способствуя транскрипции гена *SNCA* [Afek A. et al., 2018]. Таким образом, наши данные

располагаются в ряду этих доказательств и подтверждают, что длинный аллель SNCA-Rep1-263 способствует развитию БП.

В работе исследовалась связь между БП и экспансией тринуклеотидных CAG-повторов в гене *ATXN2*. У этого гена, также как и у генов *C9orf72* и у *FMRI*, «полная» патологическая экспансия повторов приводят к развитию моногенного заболевания – СЦА2, тогда как «промежуточная» экспансии с числом копий повторов выше верхней границы нормальных аллелей, но ниже заведомого патологического порога, может определять риск развития мультифакторных заболеваний, в частности БП. Связь «промежуточной» экспансии *ATXN2* с БП была показана в ряде исследований [Gispert S. et al., 2012; Yamashita C. et al., 2014; Wang J.L. et al., 2009]. В то же время, в одной из работ связь *ATXN2* с БП подтвердить не удалось [Wang L. et al., 2015]. По полученным нами данным в российской популяции носительство «промежуточной» экспансии повторов в гене *ATXN2* ассоциировано с БП и увеличивает риск развития этого заболевания в 1,4 раза.

Продукт гена *ATXN2* является многофункциональным белком, вовлеченным в целый ряд метаболических путей, обеспечивающих ключевые функции нейронов. Неудивительно, что изменение его функционирования может вносить вклад в нейродегенеративные процессы мультифакторных заболеваний, обладая определенным плейотропизмом. В частности, в российской популяции было показано патологическое значение «промежуточной» CAG-экспансии *ATXN2* также для случаев другого нейродегенеративного заболевания - бокового амиотрофического склероза [Lysogorskaia E.V. et al., 2015].

«Промежуточный» вариант аллеля *ATXN2* при БП так же, как и аллель нормальной длины, характеризуется наличием САА-вставок на протяжении CAG-тракта, что было показано как в нашем, так и в зарубежных исследованиях [Kim J. M., Hong S. et al.; 2007]. Эти данные позволяют предположить, что прерывание CAG-тракта имеет не только стабилизирующую роль, препятствуя формированию «полной» мутации в последующих мейозах, но и имеет собственную модифицирующую функцию, имеющую отношение к клинической реализации мутации. То есть в случае «промежуточной» экспансии с САА-вставками она не

является «промежуточным» состоянием на пути формирования «полной» экспансии без САА-вставок (на пути реализации в фенотип СЦА2).

По литературным данным, среди случаев БП, ассоциированных с экспансией в гене *ATXN2*, превалирует акинетико-ригидная форма [Wu T. et al., 2013]. Анализ клинических проявлений *ATXN2*-ассоциированной формы БП в данной работе также выявил достаточно высокий процент встречаемости акинетико-ригидной формы – 39%. Других существенных клинических отличий выявлено не было.

Таким образом, проведенный скрининг позволяет рассматривать наличие «промежуточной» экспансии СAG-повторов в гене *ATXN2* как фактор риска развития БП в российской популяции.

В работе была исследована ассоциация БП с экспансией гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72*. «Полная» экспансия приводит развитию таких нейродегенеративных заболеваний, как боковой амиотрофический склероз и лобно-височная дегенерация. «Промежуточная» экспансия обсуждаемо связана с фенотипами других нейродегенеративных заболеваний, в частности БП. Распределение количества повторов в гене *C9orf72* в российской популяции соответствует распределениям, приведенным в литературе для других популяций [Wollacott I.O.C., Mead S., 2014]. В нашей работе наиболее часто встречался аллель с 2 повторами, на втором месте – с 8 повторами, и затем – с 5 повторами. Для сравнения, в работе N.J. Rutherford с соавторами исследована большая контрольная группа (n=1444) на предмет количества повторов: аллели с 2-мя гексануклеотидными повторами встречались наиболее часто, в 55,4% случаев, с 5-ю – в 13,4%, с 8-ю повторами – в 11,5% [Rutherford N.J. et al., 2012].

В нашей группе БП так же, как и в других исследованиях, нами не было обнаружено ни одного случая с «полной» патологической экспансией повторов в гене *C9orf72* [Cooper-Knock J. et al., 2013; Harms M.B. et al., 2013; Lesage S. et al., 2013; Lin C.-H. et al., 2014; Yeh T.-H. et al., 2013]. В мультицентровом исследовании количества повторов *C9orf72* при БП была выявлена крайне низкая частота встречаемости «полной» экспансии (0,06%). В этой работе были найдены 4 таких пациента из 7232, при этом у троих из них отмечались когнитивные нарушения уже

в первые годы от начала паркинсонизма, что указывает на возможную лобно-височную дегенерацию, сопровождающуюся паркинсонизмом, а не на БП [Theuns J. et al., 2014]. При *C9orf72*-ассоциированной лобно-височной дегенерации обнаруживаются патоморфологические изменения в черной субстанции – цитоплазматические включения (p62-позитивные/TDP-негативные, отличные от телец Леви) с потерей дофаминергических нейронов, что и обуславливает паркинсоническую симптоматику в рамках данного заболевания, приводя к фенокопии БП на начальных стадиях [Cooper-Knock J. et al., 2013].

Значимость «промежуточного» числа копий повторов *C9orf72* для развития БП в нашей работе не подтверждена. В данной работе термин «промежуточная» экспансия был принят для аллелей с 19–20 повторами. Связано это с тем, что данное количество повторов встречается только в группе БП; ни 18 повторов ни ≥ 21 повтора в группах не встречаются. На самом деле на настоящий момент нет единого мнения, какое количество повторов в случае с *C9orf72* считать «промежуточным». Некоторые авторы принимают за «промежуточную экспансию» разброс от 20 до 30 повторов, другие – с 7 и выше, с 10 и выше или с 17 и выше [Ng A.S.L., Tan E.-K., 2017]. Значимость «промежуточной» экспансии для БП была выявлена в ряде зарубежных работ [Cannas A. et al., 2015; Jiao B. et al., 2013; Nuytemans K. et al., 2013; Theuns J. et al., 2014]. Клинически случаи носительства «промежуточной» экспансии описываются как классический фенотип БП с хорошей реакцией на леводопу, без признаков заинтересованности мотонейрона или лобно-височной деменции. Однако другие авторы, сходно с нами, значимость «промежуточной» экспансии при БП не подтверждают [Xi Z. et al., 2012; Nuytemans K. et al., 2014].

Скорее всего, столь противоречивые результаты связаны со «слабым» эффектом «промежуточной» экспансии, с ее небольшим вкладом в развитие БП, как, например, в случае с вариантами E326K и T369M гена *GBA*. При этом на вероятную значимость «промежуточной» экспансии на клеточном и молекулярном уровне указывают данные о снижении транскрипции при увеличенном количестве повторов, данные о гиперметиляции промотора и самой экспансии (больше в

головном мозге, чем в периферической крови), уменьшающем экспрессию гена. Также есть данные о нестабильности «промежуточной» экспансии при передаче из поколения в поколение (пример французской семьи с удвоением повторов в следующем поколении) [Ng A.S.L., Tan E.-K., 2017].

Так или иначе, на настоящий момент полученные данные пока не позволяют рассматривать «промежуточную» экспансию гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72* как значимый фактор риска развития БП в российской популяции. Возможно, для окончательного решения вопроса требуется дальнейшее расширение анализируемых когорт.

Еще одним микросателлитом, исследуемым в работе, стала экспансия CGG-повторов в гене *FMR1*. «Полная» экспансия приводит синдрому X-ломкой хромосомы, «премутация» – к синдрому FXTAS с тремором и атаксией, а «серая зона» или «промежуточная» экспансия – рассматривается в качестве потенциального фактора риска БП. По этой причине в работе изучена ассоциация «промежуточной» экспансии *FMR1* с БП в российской популяции.

В контрольной группе, также как и в группе БП в распределении по количеству тринуклеотидных CGG-повторов доминировали аллели с 30 повторами, на втором месте – с 29 повторами, на третьем – 31 повтором. В других работах наиболее часто встречающийся диапазон такой же – 28–32 CGG-повторов [Entezari A. et al., 2016]. Случаев носительства премутации в гене *FMR1* (55–200 CGG-повторов) ни в группе БП, ни в контрольной группе нами выявлено не было. По данным литературы премутация также не характерна для БП и относительно редко встречается в популяции (1 : 250–813 среди мужчин и 1 : 130–256 среди женщин) [Entezari A. et al., 2016].

В нашей выборке в качестве «промежуточной» экспансии был принят диапазон 39–54 CGG-повтора (реально встречались 39–43 повторов). Некоторые авторы за «промежуточную» экспансию принимают также 39 повторов и выше, другие – 40, 41 или 45 повторов и выше. Известно, что для «промежуточной» экспансии характерно увеличение уровня мРНК-транскрипта *FMR1* с токсическими свойствами, и это повышение наблюдается, начиная именно с

количества 39 повторов, в связи с чем мы остановились именно на таком делении [Hall D.A. et al., 2011]. «Промежуточная» экспансия нестабильна и с 14%-ной вероятностью может переходить в «премутацию» при передаче по материнской линии. Описаны случаи перехода «промежуточной» в «полную» мутацию через 2–3 поколения [Entezari A. et al., 2016].

В нашем исследовании встречаемость «промежуточной» экспансии в контрольной группе составила 3,2%, среди пациентов БП она оказалась существенно выше – 14,9%; по расчетам риск развития БП с носительством «промежуточной» экспансии выше в 5,4 раз, чем без таковой. В целом полученные цифры встречаемости экспансии сопоставимы с другими популяциями: в контрольных выборках – 0,3–4,4%, а при БП – 3,1–11% [Hall D.S. et al., 2011]. Кроме единичных исследований, большинство авторов сходится во мнении, что экспансия CGG-повторов в гене *FMR1* является фактором риска развития БП [Costa A. et al., 2011; Zhang X et al., 2012; Loesch D.Z. et al., 2013]

Что касается фенотипа БП, ассоциированного с «промежуточной» CGG-экспансией *FMR1*, то здесь нет единого мнения, многие исследователи не находят каких-либо специфических черт в клинической картине. В нашей выборке *FMR1*-ассоциированные случаи БП были представлены преимущественно поздним паркинсонизмом (80%) с дрожательным гиперкинезом в неврологическом статусе (90%). Не во всех исследованиях тремор покоя указывается как характеристика *FMR1*-ассоциированного паркинсонизма; так, в работе A. Entezari с соавторами он наблюдался только в 5 случаях из 11 [Entezari A. et al., 2016]. При этом дрожательный гиперкинез является неотъемлемой характеристикой синдрома FXTAS с премутацией *FMR1*, и среди больных FXTAS тремор покоя паркинсонического типа встречается в достаточно большом проценте случаев – 26% [Niu Y.-Q. et al., 2014].

Таким образом, проведенный скрининг позволяет рассматривать экспансию CGG-повторов в гене *FMR1* как значимый фактор риска развития БП для российской популяции, обладающий определенными фенотипическими предпочтениями.

В работе кроме микросателлитных тандемных повторов были исследованы однонуклеотидные полиморфизмы генов *LINGO1* и *LINGO2*. Сначала были проанализированы полиморфизмы в некодирующей части генов, ассоциированные с ЭТ, затем с помощью секвенирования проанализированы кодирующие экзоны этих генов.

Проведенное исследование не выявило значимых ассоциаций изучаемых полиморфизмов в генах *LINGO1* и *LINGO2* с БП или с ЭТ. При анализе была нами обнаружена тенденция к ассоциации полиморфизма rs11856808 с БП, которая может свидетельствовать о возможной протективной роли данного полиморфизма в отношении развития БП, требующей дальнейших исследований на выборках большего объема. Полученные данные в наибольшей мере согласуются с данными проведенного ранее мета-анализа на китайской популяции, выявившего ассоциацию полиморфизма rs11856808 с БП и не подтвердившего взаимосвязи с данным заболеванием полиморфизмов rs9652490 в гене *LINGO1*, rs10968280 и rs7033345 в гене *LINGO2* [Chen Y. et al, 2015].

В отличие от полученных результатов, в ряде других исследований выявлены определенные взаимосвязи. В 2009 г. в полногеномном исследовании ассоциаций GWAS на исландской когорте была впервые показана ассоциация полиморфизмов rs9652490 и rs11856808 гена *LINGO1* с повышенным риском ЭТ, причем ассоциация минорного аллеля G rs9652490 с повышенным риском ЭТ была подтверждена на австрийской, немецкой и североамериканской когортах [Stefansson H. et al., 2009], а также на азиатской когорте [Tan E.-T. et al., 2009]. Наряду с этим, мультицентровое исследование Villarino-Guell показало ассоциацию не минорного, а мажорного аллеля T полиморфизма rs9652490 гена *LINGO1* с повышенным риском ЭТ и БП в популяции Северной Америки (США, Канада). В этом же исследовании была выявлена ассоциация полиморфизма rs1412229 гена *LINGO2* с ЭТ, и ассоциация полиморфизма rs10968280 гена *LINGO2* с БП. По данным Wu и соавт., генотип CC полиморфизма rs7033345 гена *LINGO2* ассоциирован с повышенным риском и ЭТ, и БП, а генотип CC по полиморфизму

rs10812774 LINGO2 ассоциирован с повышенным риском ЭТ на азиатской популяции больных [Wu Y- W., Prakash K.M. et al, 2010].

В подтверждение вышеописанных результатов анализ полиморфизмов в гене *LINGO1* на немецкой и французской когортах выявил повышенную частоту минорного аллеля *rs9652490*, *rs11856808*, *rs8030859* у пациентов с ЭТ [Thier S. et al., 2010]. В то же время в двух исследованиях на китайской популяции не было выявлено ассоциации полиморфизмов *rs9652490* и *rs11856808* с ЭТ [Zuo X., et al, 2010; Wu Y.- W., Rong T.Y. et al., 2011]. Также следует отметить, что в целом ряде исследований – на китайской, североамериканской, франко-испанской, немецкой и австралийской когортах – не было выявлено ассоциации наиболее изученного полиморфизма *rs9652490* с БП [Deng H. et al., 2012]. Такая противоречивость результатов в исследованиях ассоциаций может быть обусловлена популяционными различиями, а также отсутствием «сильной» взаимосвязи полиморфизмов с заболеваниями.

Определение патогенетической значимости идентифицированной в настоящем исследовании мутации в гене *LINGO2* для развития ЭТ требует дальнейшего анализа в дополнительных исследованиях, которое выходит за рамки данной работы.

Таким образом, результаты исследования подтверждают достаточно сложные генетические основы идиопатической БП. Представляется, что развитие БП является результирующей суммой множества предрасполагающих и протективных полиморфизмов в различных генах, ассоциированных с заболеванием.

В работе показана определенная универсальность некоторых генетических факторов для развития нейродегенеративного процесса. Так, подтвержденные генетические ассоциации БП с микросателлитными локусами, связанными с другими заболеваниями (в частности, *ATXN2* и *FMR1*), свидетельствуют о плейотропизме этих генов. Полученные данные являются собственным взглядом на дискуссионную проблему участия «промежуточных» экспансий в нейродегенеративном процессе, позволяя уточнить патогенез заболеваний на

примере российской популяции и подчеркнуть многокомпонентность нейродегенеративных процессов с разной весовой значимостью участвующих факторов.

Выявление основных и модифицирующих генетических факторов открывает возможности вплотную приблизиться к вопросу персонализированности диагностики, более специализированному медико-генетическому консультированию и, в перспективе, к мультитаргетному терапевтическому подходу при нейродегенеративных заболеваниях.

Генетика атипичного паркинсонизма

Исследований генетики атипичного паркинсонизма ранее в российской популяции не проводилось, и это первое комплексное исследование всех четырех нозологий, относящихся к атипичному паркинсонизму – ДТЛ, МСА, ПНП и КБС. Кстати, можно отметить, что некоторыми зарубежными авторами термин «первичный паркинсонизм» используется и в отношении случаев атипичного паркинсонизма, т.е. БП и атипичный паркинсонизм объединяются в единую группу [Scholz S.W., Bras J. et al., 2015]; этим подчеркивается, что они фенотипически и патогенетически близкие нейродегенеративные заболевания.

Из синдромов атипичного паркинсонизма ДТЛ является своеобразным «корковым» продолжением клинико-морфологического спектра с БП («БП -> БП с деменцией -> ДТЛ -> болезнь Альцгеймера»). По новым клиническим критериям MDS, опубликованным в 2015 году, ДТЛ является подтипом БП и рассматривается внутри этой нозологии [Postuma R.V. et al., 2015]. Насколько это правомочно, покажет время. В данной работе ДТЛ рассматривалась традиционно отдельно от БП, вместе с другими синдромами атипичного паркинсонизма.

Многочисленными генетическими исследованиями показана связь ДТЛ с БП (гены *GBA*, *SNCA*), а также с болезнью Альцгеймера (гены *ApoE*, *PSEN1*, *APP*). В нашей работе были исследованы гены моногенного паркинсонизма (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*) и ген *GBA*. При этом был выявлен один носитель мутации L444P гена *GBA*, что составило 7,7%. Носителей мутаций в других генах в выборке не было найдено.

Полученный процент встречаемости носителей мутаций в гене *GBA* близок к проценту в исследовании ДТЛ с помощью метода NGS, в котором было выявлено 13% случаев с вариантами в гене *GBA*, 10% случаев с вариантами в гене *PSEN1* и 2% с мутациями в гене *APP* [Geiger J.T. et al., 2016]. Еще одним исследованием с помощью экзомного секвенирования выявлены 5,7% случаев носительства мутаций в гене *GBA* из 87 патоморфологически подтвержденных случаев ДТЛ [Keogh M.J., 2016]. При скрининге основных мутаций варианты N370S и L444P

определяют 3,5% носительства *GBA*-мутаций в 57 случаев ДТЛ [Mata I.F. et al., 2008]. По данным исследования Т. Shiner с соавторами встречаемость мутаций *GBA* при ДТЛ среди евреев-ашкенази была ожидаемо выше и составила 31% [Shiner T. et al., 2016].

В целом, проведение генетических исследований при ДТЛ достаточно сложно в силу объективных причин. ДТЛ – возраст-зависимое заболевание, и анализ сцепления для определения новых/кандидатных генов возможен только в редких семейных случаях. ДТЛ – это гетерогенная группа, поэтому желательно, чтобы случаи были верифицированы и клинически, и патоморфологически, что возможно только в мультицентровых исследованиях. Так исследование GWAS, включившее 1743 случая ДТЛ и 4454 контроля, подтвердило ассоциацию ДТЛ с геном *GBA* (ОШ=2,55, 95% ДИ 1,88–3,46), а также с генами *ApoE* и *SNCA* [Guerreiro R. et al., 2018]. В большом мультицентровом исследовании гена *GBA* при ДТЛ (n=721 vs n=1962 в контрольной группе) выявлено около трех десятков мутаций *GBA*. Для ДТЛ ОШ составил 8,28, что оказалось выше, чем для БП с деменцией, ОШ=6,48 [Nalls M.A. et al., 2013]. Для сравнения, в аналогичном исследовании мутаций *GBA* при БП ОШ оказалось еще чуть ниже – 5,43 [Sidransky E. et al., 2009]. Наблюдаемая постепенно снижающая градация еще раз указывает на единый фенотипический спектр этих заболеваний – от ДТЛ к БП. Отдельной работой было показано, что мутации *GBA* могут модифицировать течение БП, предрасполагая к развитию деменции, а следовательно – к реализации в виде фенотипа ДТЛ [Setor-Salvia N. et al., 2012].

Описанный нами клинический случай носительства мутации *GBA*, в целом, является промежуточной формой между фенотипом ДТЛ и БП с деменцией. В таких случаях разделение возможно только по условному клиническому правилу «одного года», а патоморфологическая картина может существенно не отличаться на этой стадии. Некоторой особенностью описанного случая является достаточно поздний возраст начала заболевания – 70 лет, тогда как было показано, что для носителей мутаций *GBA* характерно более раннее начало по сравнению с не-носителями (63,5 года vs 68,9 лет) [Nalls M.A. et al., 2013]. Тем более, что в данном

случае была выявлена «жесткая» мутация L444P, также предрасполагающая к более раннему началу заболевания [Gan-Or Z. et al., 2015].

Таким образом, на нашей выборке подтвердилась значимость мутаций *GBA* для случаев ДТЛ, что подчеркивает общие патогенетические основы ДТЛ и БП.

К синуклеинопатиям относится также МСА. По литературным данным до настоящего времени не удалось выявить каких-либо каузальных мутаций, характерных именно для МСА, поэтому поиск генетических причин проводится преимущественно среди уже известных генов, ассоциированных с паркинсонизмом. В данной работе была исследована выборка случаев МСА паркинсонического типа на мутации в генах моногенного паркинсонизма (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*) и в гене *GBA*. По результатам работы была выявлена носительница дупликации гена *SNCA*. Таким образом, встречаемость *SNCA*-ассоциированной формы при МСА составила 3,6%. Других мутаций в выборке российской популяции найдено не было.

Формально выявленный случай соответствует диагностическим критериям МСА. В пользу данного диагноза: спорадичность заболевания, достаточно быстрое прогрессирование, нечеткий ответ на леводопа-терапию и выраженная ортостатическая гипотензия, признаки пирамидной недостаточности, вестибуло-мозжечковых нарушений. С другой стороны, обращают на себя внимание нетипичные признаки, больше характерные для БП: когнитивные нарушения с умеренными атрофическими изменениями больших полушарий по МРТ, гипосмия, гиперэхогенность черной субстанции по ТКС. Представляется, что вероятнее всего, найденный редкий случай с мутацией *SNCA* является «МСА-подобным» представлением БП, который, однако, патоморфологически может сочетать в себе признаки БП и МСА.

Подобная неоднозначная картина, пограничная между МСА и БП, описана в единичных случаях носительства *SNCA* в нескольких зарубежных работах. В британской семье точковая мутация G51D в гене *SNCA* определяла развитие аутосомно-доминантного паркинсонизма с ранним началом, выраженной ортостатической гипотензией, пирамидной недостаточностью. При

патоморфологическом исследовании обнаружены нейрональные и глиальные включения альфа-синуклеина, то есть патоморфологическая картина соответствовала одновременно и БП, и МСА [Keily A.P. et al., 2015]. Похожее описание приводится в финской семье с новой мутацией *SNCA* – A53E [Pasanen P. et al., 2014]. Не только при точковых мутациях описаны включения в олигодендроцитах, есть описания «МСА-подобной» патоморфологической картины при дупликациях и трипликациях *SNCA* [Obi T. et al., 2008; Fujishiro H. et al., 2013]. Что касается клинического фенотипа, то в целом у носителей дупликации *SNCA* обычно наблюдается нетипичная картина БП с дополнительными клиническими признаками: когнитивными нарушениями вплоть до деменции, вегетативной недостаточностью, расстройствами поведения в фазу быстрого сна, зрительными галлюцинациями, и только у некоторых – классический фенотип БП [Deng H. et al., 2018]. В частности, есть описание семьи из Швеции, в которой при дупликации *SNCA* у пробанда первоначально была диагностирована «МСА» (также как и в нашем описании) из-за выраженной, рано начавшейся ортостатической гипотензии, с последующим присоединением паркинсонизма [Fuchs J. et al., 2007].

Еще одним доказательством связи *SNCA* с МСА служат исследования GWAS, в некоторых из которых показана ассоциация с несколькими полиморфизмами этого гена [Jellinger K.A., 2018]. Однако увеличения экспрессии альфа-синуклеина при МСА не наблюдается, что говорит всё-таки о других патогенетических механизмах заболевания, отличных от БП [Federoff M. et al., 2015].

Таким образом, кроме гена *SNCA* мутаций в других генах в группе МСА не выявлено. Это еще раз подтверждает то, что в редких случаях возможно выявление переходных форм между БП и МСА, но в целом, генетическая составляющая МСА на сегодняшний день не определена.

К группе атипичного паркинсонизма также относится ПНП, представляющий собой таупатию (в отличие от синуклеинопатий – БП, ДТЛ и МСА). ПНП патогенетически во многом пересекается закономерно с другими таупатиями – с КБС и с лобно-височной дегенерацией [Yokoyama J.S. et al., 2017].

Понимание ПНП как нозологии в последние годы претерпело существенные изменения. В 2017 году были сформулированы новые клинические критерии диагностики заболевания [Hoeglinger G.U. et al., 2017]. Согласно этим критериям, возможно выделение до 10 различных форм ПНП, которые клинически могут проявляться преимущественно окуломоторными нарушениями, «застываниями» при ходьбе, постуральной неустойчивостью, кортико-базальным синдромом, лобной симптоматикой, нарушениями речи, а также паркинсонизмом и классическим фенотипом синдрома Ричардсона. В критерии не вошли, но описаны также случаи с преимущественно мозжечковой симптоматикой и с фенотипом первичного бокового склероза. Очевидно, что с таким разнообразием форм точная прижизненная (*ante mortem*) диагностика ПНП крайне сложна, а с предыдущими клиническими критериями от 1996 года предельно сужена до синдрома Ричардсона.

В данной работе при отборе больных в группу ПНП использовались критерии 1996 года. Стоит отметить, что данные критерии обладают очень высокой специфичностью (95–100%), но низкой чувствительностью (24%) [Hoeglinger G.U. et al., 2017], поэтому в отобранной группе больных с ПНП вероятность ошибочного диагноза сведена к минимуму, и группа является достаточно однородной.

В работе был выбран спектр генов, ассоциированных прежде всего с таупатиями – *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*. Ген *MAPT* – основной ген таупатий, кодирующий белок тау. Мутации в *MAPT* могут проявляться разнообразной клинической симптоматикой: лобной дисфункцией, деменцией, паркинсонизмом, амиотрофиями, надъядерным параличом взора. На настоящий момент найдено около 40 точковых мутаций в 100 семьях, из которых только 10 мутаций встречались в единичных описанных случаях ПНП [Im S.Y. et al., 2015]. Точковые мутации в гене *GRN*, как считается, ответственны за 25% семейных случаев лобно-височной деменции, и их патогенность связана с потерей функцией белка. Патоморфологическая картина представлена включениями белка TDP и асимметричной атрофией, затрагивающей передние отделы височной доли, височно-теменные и лобные области. Мутации *GRN* клинически могут быть

представлены поведенческим вариантом лобно-височной деменции, афазией со снижением беглости речи, кортико-базальным синдромом [Bang J. et al., 2015]. Мутации в гене *C9orf72*, как отмечалось выше, ответственны за развитие лобно-височной деменции и бокового амиотрофического склероза. Помимо перечисленных генов у пациентов ПНП исследован ген *NPC1*, мутации в котором ответственны за развитие болезни Ниманна–Пика типа С, клинически проявляющейся параличом вертикального взора с экстрапирамидными нарушениями и потенциально представляющей собой дифференциально-диагностическую альтернативу ПНП [Zech M. et al., 2013]. Таким образом, в работе у каждого пациента с ПНП были исследованы секвенированием все 14 экзонов гена *MAPT*, 12 экзонов гена *GRN*, 25 экзонов гена *NPC1*, с помощью фрагментного анализа оценено количество гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72*.

В российской выборке больных с ПНП ни в одном из этих генов мутаций выявлено не было.

По литературным данным при ПНП найдены лишь единичные случаи с патогенными мутациями, как например, с мутациями в гене *MAPT*. Возможно, что в случае ПНП для развития заболевания генетическая составляющая не столько важна, и в патогенезе участвуют преимущественно другие факторы, или же она пока неизвестна. Во всяком случае, как показывают исследования, мутации в известных генах *MAPT*, *GRN*, *C9orf72* для развития ПНП не столь значимы.

В работе удалось показать превалирование гаплотипа Н1 гена *MAPT* среди пациентов с ПНП, который встречался в нашей выборке в 92,5% случаев, тогда как гаплотип Н2 *MAPT* – только в 7,5%. В общей популяции гаплотип Н1 является также распространенным, но встречается в меньшем проценте случаев – в 78%. Полученный процент (92,5%) среди пациентов с ПНП соответствует литературным данным, по которым указывается 94%-ная частота встречаемости Н1 [Caffrey T.M., Wade-Martins R., 2007]. Маркеры гаплотипов охватывают достаточно протяженную область, выходя за пределы гена *MAPT*. Подробно описаны около 25 полиморфизмов, сцепленных между собой в гаплотип. Выделены также подгаплотипы, из которых более значимым для ПНП оказался Н1с-подгаплотип

[Im S.-Y. et al., 2015]. Есть данные, что при H1-гаплотипе отмечается больший уровень экспрессии тау, однако, на сегодня нет окончательного понимания, как именно этот гаплотип способствует развитию ПНП [Caffrey T.M., Wade-Martins R., 2007].

Таким образом, также как и для случаев МСА, генетическая составляющая при ПНП не выявлена за исключением подтверждения ассоциации гаплотипа H1 с заболеванием.

КБС – еще одна нозология из синдромов атипичного паркинсонизма, хотя КБС трудно назвать одним «заболеванием», скорее действительно «синдром», имеющий под собой различные нейродегенеративные причины, патоморфологически крайне гетерогенные (кортико-базальная дегенерация, ПНП, болезнь Альцгеймера, болезнь Пика, ДТЛ, прионное заболевание).

В большинстве случаев КБС является таупатией, в связи с этим были выбраны для исследования те же гены, что и для ПНП – *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*. С учетом того, что в группу вошли преимущественно пациенты с проявлениями паркинсонизма, были также исследованы гены моногенных форм паркинсонизма – *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*.

Из всех пациентов с КБС и из всех генов был выявлен только один случай носительства мутации в гене *MAPT* – патогенная замена L687V. Выявленный случай является первым в России описанием первичной прогрессирующей апраксии речи и одновременно первым описанием клинической картины у пациента с мутацией в гене *MAPT*. Первичная прогрессирующая апраксия речи являет собой условную границу между КБС и первичной прогрессирующей афазией, относящейся к лобно-височной деменции. В данном случае начало заболевания наблюдалось в 35 лет с нарушения дикции. Симптоматика достаточно быстро прогрессировала, и спустя 2 года при повторном осмотре наблюдался практически мутизм. Апрактические нарушения на тот момент уже захватывали не только оромандибулярную область, но и всё лицо, и обе руки (больше правую); четко выявлялась гипокинезия; поведенческие нарушения отсутствовали. На МРТ

была выявлена асимметричная атрофия височных долей, больше справа, и лобных долей, что характерно для лобно-височной дегенерации.

В описании клинического примера отражены трудности дифференциальной диагностики между моторной афазией, апраксией речи, дизартрией (поэтому в описании достаточно подробно приведен не только неврологический осмотр, но и логопедическое заключение). Трудности связаны с тем, чем достаточно сложно разграничить близкие проявления первичной прогрессирующей афазии и первичной прогрессирующей апраксии речи, между которыми проводилась дифференциальная диагностика в этом случае. Как феномен апраксия речи может быть и при первом, и при втором заболевании, единственной отличающейся характеристикой логопедического варианта первичной прогрессирующей афазии – это аграмматизмы [Jung Y. et al., 2013]. По диагностическим критериям прогрессирующая апраксия речи может эволюционировать в логопедический вариант первичной прогрессирующей афазии с последующим присоединением поведенческих нарушений, то есть развернутой картиной лобно-височной деменции [Botha H. et al., 2015]. Как и в нашем клиническом примере, начало было преимущественно с апраксии речи, которая переросла в выраженные нарушения устной экспрессивной речи (до мутизма) с некоторыми аграмматизмами в письменной речи (выявляемых при письме на планшета). При осмотре логопедом также отмечались некоторые трудности восприятия логико-грамматических конструкций. То есть к первичной прогрессирующей апраксии речи добавились признаки первичной прогрессирующей афазии (помимо генерализации апраксии).

Некоторыми авторами отмечаются различные «эпицентры» нейродегенерации при этих двух состояниях. Патоморфологические изменения при логопедическом варианте первичной прогрессирующей афазии обнаруживают в левой задней фронто-инсулярной области, тогда как при первичной прогрессирующей апраксии речи – в верхней премоторной, дополнительной моторной областях. Отличия имеются и по микроскопической картине: тау-патология встречается во всех случаях первичной прогрессирующей апраксии речи, тогда как при логопедическом варианте афазии – только в половине, в

остальных возможно обнаружение TDP-43 включений или амилоидных бляшек [Jung Y. et al., 2013].

Мутация L687V (по другой номенклатуре L266V) в гене *MAPT* впервые была описана у японского пациента, у которого в 34 года появились трудности в речи и письме. В процессе развития заболевания у больного присоединились поведенческие нарушения и семантическая деменция, пациент скончался в возрасте 40 лет [Kobayashi T. et al., 2003]. Эта же мутация описана еще в одном наблюдении – у пациента в возрасте 33 лет появились апатия и расторможенность с последующим присоединением брадикинезии и развитием мутизма, пациент скончался в возрасте 37 лет [Hogg M. et al., 2003]. В обоих случаях патоморфологическая картина характеризовалась тау-позитивными включениями с нейродегенеративными изменениями в лобной, височной коре, в хвостатом ядре и черной субстанции. В обоих случаях прослеживался аутосомно-доминантный тип наследования. Еще одним выявленным случаем с этой мутацией является пациентка, заболевшая поведенческим вариантом лобно-височной деменции в возрасте 37 лет, также с отягощенным семейным анамнезом [Ogaki K. et al., 2012]. Исходя из приведенных примеров, клиническая картина данной мутации характеризуется ранним началом и быстрым прогрессированием симптоматики, что наблюдалось также в нашем случае у пациента С.К. Единственным отличием наблюдаемого нами пациента явились начальные проявления в виде апрактических нарушений.

При другой мутации *MAPT* описано сходное начало заболевания, но возраст начала и некоторые клинические особенности рознятся. У пациентки в возрасте 47 лет появились признаки апраксии речи (как и в случае С.К.), по прошествии четырех лет присоединилась дистония в правой руке (кортико-базальный синдром), а спустя 6 лет развился мутизм. Мать пациентки также страдала нарушениями речи с 60 лет и умерла в возрасте 67 лет от болезни мотонейрона. При ДНК-диагностике у пробанда выявлена новая мутация С291R в гене *MAPT* [Marshall C.R. et al., 2015]. Таким образом, варианты начальных симптомов (топического расположения очага дегенерации) не определяются конкретной

мутацией и зависят от других факторов. В то же время, сроки начала заболевания и темп прогрессирования зависят от конкретной мутации, скорее всего, от степени ее патогенности (также как при разных мутациях в гене *GBA*). Картина же на развернутых стадиях заболевания единообразна.

В работе в выборке пациентов с КБС была отмечена повышенная частота встречаемости H1 гаплотипа *MART* – 90%. Полученные цифры для КБС сходны с таковыми при ПНП (92,5%) и существенно превышают частоту в общей популяции по другим исследованиями (78%) [Caffrey T.M., Wade-Martins R., 2007]. Для сравнения, в исследовании, проведенном Н. Houlden с соавторами, из 57 случаев патоморфологически подтвержденного диагноза «кортико-базальной дегенерации» гаплотип H1 встречался в 92,1%, тогда как в контрольной группе только в 76,6% [Houlden H. et al., 2001]. Таким образом, полученная ассоциация по H1-гаплотипу патогенетически сближает КБС с ПНП.

В настоящей работе по изучению генетической составляющей атипичного паркинсонизма проведен скрининг большого числа генов, потенциально ассоциированных с фенотипом. Несмотря на тщательный отбор в группы, проводимый строго на основании соответствующих диагностических критериев и широкий спектр исследованных генов, найденные носители мутаций единичны. Суммарно из 76 случаев атипичного паркинсонизма выявлено 3 носителя, что составляет 4,1%. По сравнению с БП (19,4%) это существенно меньше, и говорит о том, что либо генетическая составляющая для атипичного паркинсонизма еще не известна (не выявлены значимые гены), либо о том, что генетические изменения не являются основными для развития заболеваний.

В случаях ДТЛ и МСА (синуклеинопатий) найдены мутации, ассоциированные с БП. Данные случаи были отнесены к атипичным на основании их фенотипических особенностей: выраженных когнитивных и психотических нарушений в одном случае, в другом – выраженной вегетативной недостаточности. И когнитивные, и вегетативные нарушения могут наблюдаться при БП, но в меньшей степени. Учитывая выявленные «паркинсонические» мутации, данные пациенты являют собой генетические формы БП с фенотипом ДТЛ и МСА. Если

ДТЛ является подтипом БП, то в случае МСА – это возможно либо фенкопия, либо действительно «переходная» с БП форма. Можно заключить, что поиск мутаций моногенного паркинсонизма среди пациентов с атипичными формами может выявлять в небольшом проценте случаи БП.

Среди пациентов с КБС и ПНП (таупатиями) найден один носитель мутации в гене белка тау – *MAPT*. Представленный случай также являет собой «переходную» форму между лобно-височной деменцией и кортико-базальным синдромом, тем самым стирая границы между различными формами таупатий. Найденная повышенная частота встречаемости Н1-гаплотипа гена *MAPT* также сближает две нозологии – КБС и ПНП – между собой, указывая на первостепенную вовлеченность тау-белка в патогенез этих заболеваний.

***Секвенирование нового поколения (NGS) в диагностике генетических форм паркинсонизма:
исследование 300 генов нейродегенеративной патологии при паркинсонизме с
использованием оригинальной панели***

На сегодняшний день возможности, предоставляемые панельными/экзомными/геномными форматами NGS, беспрецедентны, позволяя у одного обследуемого проводить анализ сотен и тысяч генов одновременно. Это особенно важно ввиду определенной «стертости» границ между различными формами нейродегенерации и сложности гено-фенотипических сопоставлений.

Представленные данные являются результатом разработки собственной панели для диагностики нейродегенеративных заболеваний мозга с помощью метода NGS (совместная разработка ФГБНУ НЦН, ОФО «Синтол» и ЦКП «Биотехнология»). Предварительно была проведена большая работа по выбору соответствующих генов, подбору условий проведения NGS, по освоению и оптимизации подходов к обработке результатов биоинформатическими методами.

На настоящий момент в сформированную панель вошли 300 генов, ассоциированных с различными формами атаксий, деменций, паркинсонизма, лейкоэнцефалопатий, параличей и др. нейродегенеративных заболеваний. Представленные случаи с выявленными мутациями не были бы распознаны без применения NGS. Как результат – в общей исследованной группе пациентов с паркинсонизмом в 46,2% случаев были выявлены патогенные варианты и варианты неопределенного значения, а в группе БП – 47,4% (из них патогенные и вероятно патогенные встречались в 11,5% и 5,7% случаев, соответственно). Полученный процент оказался выше, нежели в других аналогичных исследованиях, которые устанавливают стандартный диагностический уровень для NGS – 25–30%. Возможно, более высокий процент в нашей работе связан с достаточно большой долей ранних и семейных форм в представленной выборке.

В работе приведены три описания выявленного с помощью NGS носительства патогенных мутаций в генах *PINK1*, *TARDBP*, *PLA2G6*.

Фенотип пациента-носителя мутаций в *PINK1* представляет собой классическое описание раннего паркинсонизма (в данном случае ювенильного), характерного для носителей гомозиготных мутаций в гене *PINK1*. Клиническая картина характеризуется хорошим ответом на противопаркинсоническую терапию, но с ранним развитием выраженных моторных флуктуаций и лекарственных дискинезий, инвалидизирующих больного. Фенотип существенно отличается от описанного в работе больного с гетерозиготной мутацией в *PINK1*, с традиционным поздним началом БП.

Клиническое описание приведенного случая с мутацией в *TARDBP* – типичная картина лобно-височной деменции, в сочетании с паркинсонизмом. Лобно-височная деменция является второй по частоте среди деменций пресенильного возраста и характеризуется расстройством личности и поведения с расторможенностью и/или апатико-абулическим синдромом в отсутствие первичных нарушений памяти, праксиса, гнозиса. Лобно-височная деменция – это спектр клинических синдромов с выраженной гетерогенностью клинической картины, генетических причин и нейропатологических изменений [Левин О.С., 2010]. Клинически в спектре заболевания выделяют поведенческий вариант (или болезнь Пика) и два варианта первичных прогрессирующих афазий – семантическая деменция и афазия со снижением беглости речи/аграмматический вариант [Bang et al., 2015]. Лобно-височная деменция также пересекается клинически и патогенетически, как уже отмечалось выше, с такими нейродегенеративными заболеваниями, как КБС, ПНП и боковой амиотрофический склероз. Известно несколько генов, вовлеченных в патогенез. Наиболее часто встречаются мутации в генах *GRN*, *C9orf72* и *MAPT*. Реже встречаются мутации в генах *CHMP2B*, *VCP*, *SQSTM1*, *TBK1*, *UBQLN2*, еще реже *TARDBP*, *FUS*. Данный случай интересен не только редкостью выявленной мутации, но и наличием паркинсонизма в клинической картине и в семейном анамнезе.

Третий пациент – носитель мутации в гене *PLA2G6* (*PARK14*). Мутации в этом гене приводят к развитию одной из форм нейродегенераций с накоплением железа

в мозге – PLAN (от англ.: *PLA2G6-Associated Neurodegeneration*). В структуре нейродегенераций с накоплением железа форма PLAN занимает второе место по частоте встречаемости [Hogarth P. et al., 2015]. Ген *PLA2G6* кодирует фосфолипазу A2. При типичной форме заболевания наблюдается раннее развитие атаксии, аксиальной гипотонии, спастичности, атрофии зрительных нервов, часто такие дети не доживают до 10 лет. При атипичной форме заболевания с началом на третьем десятилетии в клинической картине преобладают паркинсонизм и дистония, в связи с чем эта форма получила свое второе название с акронимом PARK14. При данной форме признаков накопления железа в базальных ганглиях может и не быть, что и наблюдалась у данного описанного больного. Клиническая картина в данном наблюдении также полностью соответствует взрослой форме нейродегенерации с накоплением железа в мозге 2 типа, однако, сложностью в диагностике явилось отсутствие признаков накопления железа в головном мозге.

Отдельно стоит остановиться на интерпретации результатов NGS, предложенной в 2017 [Рыжкова О.П. и др, 2017]. Данные критерии и классификация, как отмечают и сами авторы, неоднозначны. Представляется, что они требуют соответствующего уточнения для многофакторных заболеваний. Например, для утверждения «патогенный» применительно к конкретному варианту выставлен достаточно жесткий барьер по показателю MAF: 0,01 для аутосомно-доминантных и 0,5 для аутосомно-рецессивных мутаций; данный барьер не проходят даже ряд классических мутаций, ассоциированных с БП. Также для возраст-зависимых заболеваний практически не применим анализ «трио» (оба родителя и ребенок) и определение мутаций *de novo*, по этим же причинам сложно определение сегрегации в семье. Требуются специализированные подходы для выявления аллельных и функциональных критериев. Таким образом, в нашей выборке использовались преимущественно предсказательные критерии и критерии об источниках, которых зачастую оказывалось недостаточно для установления патогенности варианта, поэтому некоторые варианты получили статус «неопределенного значения», например, варианты в генах *VPS35*, *SYNJ1*, *HTRA2*, *LRRK2*. Подробно сложности интерпретации обсуждены в обзоре S. Olgiati с

соавторами, в котором приводится пример того, как классические мутации, ассоциированные с расстройствами движений – *SNCA* (PARK1) p.Ala53Thr, *PRKRA* (DYT16) p.Pro222Leu и *TARDBP* p.Ala382Thr – ложно интерпретируются как «доброкачественные» [Olgiati S. et al., 2016]. Таким образом, проблему интерпретации результатов еще предстоит решить. По этим причинам представляется важным выносить в заключение не только патогенные варианты, но и варианты с неопределенной значимостью, которые в свою очередь должны рассматриваться как потенциально патогенные.

Дальнейшее развитие метода NGS возможно не только за счет перехода на экзомное и геномное секвенирование, но и использование не так давно появившихся программ обработки данных, которые отчасти снимают основные ограничения метода – трудности в выявлении нуклеотидных повторов и крупных делеций/инсерций. Неизбежно ожидается дальнейшее развитие программ предсказания патогенности вариантов и расширение открытых баз данных.

NGS как новый метод ДНК-диагностики проходит свои стадии развития, но уже сейчас понятно, что он займет одно из центральных мест в поиске каузальных мутаций. Разработанная в ФГБНУ НЦН панель показала достаточно высокие диагностические возможности в целевой выборке пациентов. С помощью нее нам удалось выявить варианты, классифицированные как не относящиеся к доброкачественным (т.е. потенциально значимые), в 46,2% случаях, и в том числе в 11,5% случаев – варианты, однозначно относящиеся к патогенным.

ГЛАВА 4.

БИОМАРКЕРЫ ПАРКИНСОНИЗМА

4.1. Цветовые зрительные вызванные потенциалы при БП

При исследовании ЦЗВП в первую очередь определялся значимый нейрофизиологический маркер, ассоциированный с БП. После чего проводились подробные клиничко-нейрофизиологические корреляции для определения патогенетических аспектов заболевания. Для этого с помощью ЦЗВП были обследованы сформированные группа контроля (n=58) и группа БП (n=46), состоявшая из подгруппы получающих лечение (n=25) и подгруппы с самой начальной стадией без лечения – «drug-naïve» (n=21).

В работе были исследованы значения латентностей и амплитуд на 6 различных цветовых паттернов (черно-белый, красно-черный, зелено-черный, сине-черный, сине-желтый и красно-зеленый) в контрольной группе и в общей группе БП, а также в подгруппе БП «с лечением» и в подгруппе БП «без лечения». Были получены следующие результаты, представленные в таблицах 18 и 19.

При сравнении групп между собой (контрольной группы с общей группой БП, контрольной группы с подгруппой «без лечения», контрольной группы с подгруппой «с лечением», а также подгруппы «без лечения» и подгруппы «с лечением»), оказалось, что группа БП отличалась от контрольной группы увеличенными латентными периодами на черно-белый и зелено-черный паттерн (табл. 20). При этом отмеченное различие прежде всего было за счет подгруппы «без лечения», так как подгруппа с лечением не отличалась от контроля.

Длительность латентного периода пика P100 на зелено-черный паттерн в контрольной группе, подгруппе «с лечением» и в подгруппе «без лечения» представлено на рисунке 42.

Табл. 18.

Латентность пика P100 на различные цветовые паттерны в группах

Паттерн	Контрольная группа	Группа БП	- подгруппа "с лечением"	- подгруппа "без лечения"
Черно-белый, мс	104,5 ± 6,1	107,5 ± 6,9*	106,0 ± 7,8	109,1 ± 5,3*
Красно-черный, мс	109,3 ± 7,8	110,1 ± 6,4	110,7 ± 8,5	114,0 ± 7,5
Зелено-черный, мс	106,2 ± 6,4	110,1 ± 6,4*	108,3 ± 6,9	112,3 ± 5,1*
Сине-черный, мс	114,1 ± 9,1	116,4 ± 8,4	115,3 ± 8,7	117,7 ± 8,0
Сине-желтый, мс	107,5 ± 9,5	109,6 ± 7,0	107,2 ± 8,7	111,2 ± 5,0*
Красно-зеленый, мс	107,4 ± 9,4	108,0 ± 6,0	107,1 ± 8,6	108,5 ± 3,3

* – увеличенная латентность по сравнению с контрольной группой (см. табл. 20)

Табл. 19.

Амплитуда пика P100 на различные цветовые паттерны в группах

Паттерн	Контрольная группа	Группа БП	- подгруппа "с лечением"	- подгруппа "без лечения"
Черно-белый, мкВ	9,3 ± 4,7	8,4 ± 3,6	8,7 ± 3,8	8,0 ± 3,3
Красно-черный, мкВ	7,4 ± 4,2	6,9 ± 3,3	6,9 ± 3,5	7,0 ± 3,0
Зелено-черный, мкВ	9,1 ± 4,3	8,6 ± 3,7	8,7 ± 3,9	8,4 ± 3,5
Сине-черный, мкВ	6,7 ± 4,1	6,5 ± 3,3	6,7 ± 3,6	6,2 ± 2,9
Сине-желтый, мкВ	9,2 ± 5,0	8,0 ± 4,3	9,3 ± 5,2	7,1 ± 3,3
Красно-зеленый, мкВ	6,6 ± 3,4	5,6 ± 2,8	6,5 ± 2,7	5,0 ± 2,7

Табл. 20.

Сравнение латентностей пика P100 на различные цветовые паттерны между группами (p(U)-значения)

Паттерн	Контрольная группа – группа БП	Контрольная группа – подгруппа “с лечением”	Контрольная группа – подгруппа “без лечения”	Подгруппа “с лечением” – подгруппа “без лечения”
Черно-белый	0,001*	0,451	0,000004*	0,004
Красно-черный	0,015	0,387	0,002	0,061
Зелено-черный	0,00001*	0,049	<0,0000001*	0,004
Сине-черный	0,039	0,418	0,009	0,122
Сине-желтый	0,077	0,888	0,014	0,050
Красно-зеленый	0,356	0,983	0,187	0,202

* – статистически значимые различия (уровень статистической значимости с поправкой Бонферони $p=0,00208$)

Табл. 21.

Сравнение амплитуд пика P100 на различные цветовые паттерны между группами (p(U)-значения)

Паттерн	Контрольная группа – группа БП	Контрольная группа – подгруппа “с лечением”	Контрольная группа – подгруппа “без лечения”	Подгруппа “с лечением” – подгруппа “без лечения”
Черно-белый	0,309	0,626	0,238	0,655
Красно-черный	0,984	0,747	0,692	0,707
Зелено-черный	0,673	0,784	0,681	0,854
Сине-черный	0,814	0,656	0,923	0,710
Сине-желтый	0,307	0,974	0,146	0,270
Красно-зеленый	0,228	0,729	0,042	0,061



Рис. 42. Латентность пика P100 на зелено-черный паттерн в исследованных группах.

Пример вызванных потенциалов на различные цветовые паттерны представлен на рис. 43. Значения латентностей и амплитуд из представленного случая приведены в таблице 22.

Табл. 22.

Значения латентностей и амплитуд из иллюстрирующего случая

Паттерн	Латентность P100		Амплитуда P100	
	OS	OD	OS	OD
Черно-белый, мс	112	108	6,42	3,71
Красно-черный, мс	112	118	3,55	7,01
Зелено-черный, мс	117	113	6,27	9,9
Сине-черный, мс	120	117	7,43	8,24
Сине-желтый, мс	118	105	5,62	8,23
Красно-зеленый, мс	115	112	6,89	10,1

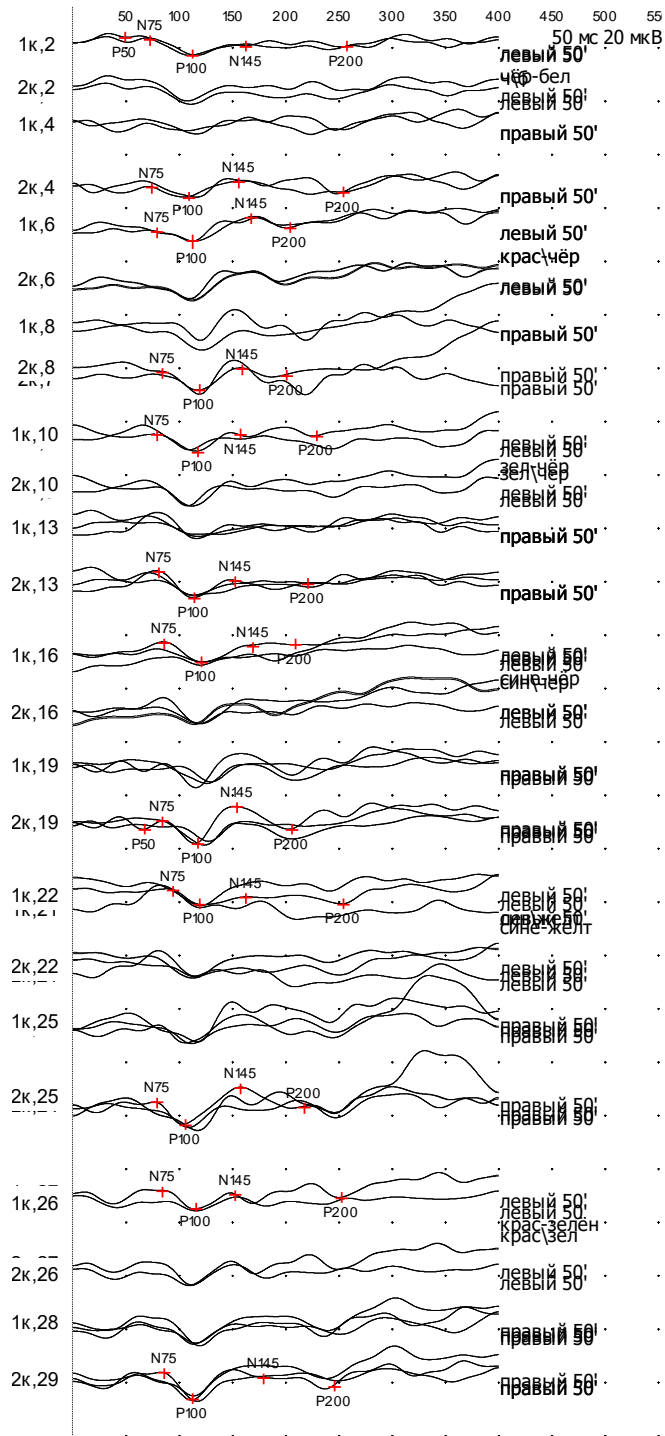


Рис. 43. Пример цветных зрительных вызванных потенциалов.

С помощью ROC-анализа было рассчитано разграничительное значение латентности P100 на зелено-черный паттерн между контрольной группой и подгруппой «без лечения». Площадь под кривой AUROC=0,78 (рис. 44). При

патологических значениях ≥ 110 мс чувствительность и специфичность максимальны и составляют 78% и 72%, соответственно (табл. 23).

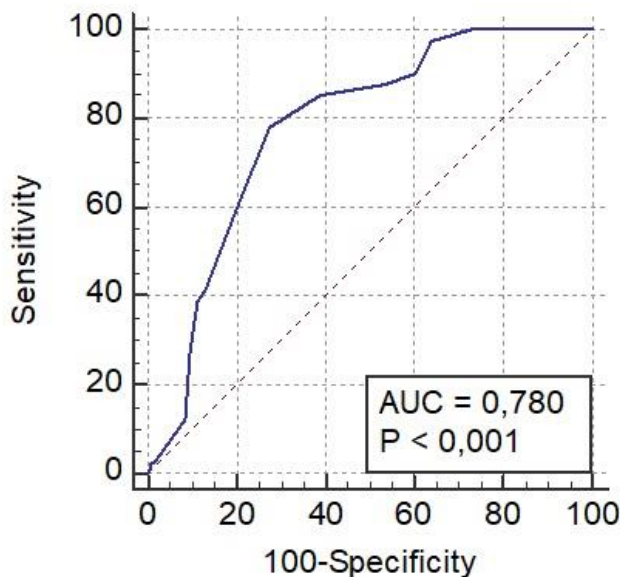


Рис. 44. ROC-кривая для параметра латентности P100 на зелено-черный паттерн. Sensitivity – чувствительность. Specificity – специфичность. AUC – площадь под кривой.

Табл. 23

Разграничительные значения по латентности P100 на зелено-черный паттерн и соответствующие им чувствительность и специфичность метода

Латентность пика P100	Чувствительность	Специфичность
>107 мс	85,37%	61,21%
>108 мс	78,05%	72,41%
>110 мс	60,98%	79,31%
>112 мс	41,46%	87,07%

Для того, чтобы понять, связана ли сторонность клинической картины БП со сторонностью, получаемой по ЦЗВП, были взяты случаи, в которых межочулярная асимметрия (разница между OD и OS) по латентности P100 на зелено-черный

паттерн была не меньше 3 мс и выбранная максимальная латентность была не менее 110 мс, то есть показатели относилась к заведомо патологическим. Для этих случаев составлена четырехпольная таблица 24, по которой связи между клинической и нейрофизиологической сторонностью выявлено не было ($p=0,25$).

Табл. 24

Распределение случаев по сторонности клинической картины БП и по сторонности патологически увеличенной латентности P100 на зелено-черный паттерн

Клиническая картина БП	Увеличенная латентность	
	OS	OD
s	5	7
d	9	5

Получены ожидаемые тенденции различий латентностей и амплитуд P100 у мужчин и у женщин как в группе контроля, так и в группе БП (табл. 25 и 26). Единственное статистически значимое различие получено для латентности пика P100 на красно-черный паттерн в контрольной группе.

Считается, что нарушать цветовосприятие может также возраст. В связи с этим исследовались корреляционные связи возраста с латентностями и амплитудами при разных паттернах. В контрольной группе оказалось, что возраст удлиняет латентность P100 при 3 паттернах: при сине-черном ($r=0,427$, $p<0,05$), сине-желтом ($r=0,389$, $p<0,05$) и красно-зеленом ($r=0,394$, $p<0,05$). Амплитуда с возрастом не коррелировала.

Табл. 25.

Гендерные различия латентностей пика P100 на различные цветовые паттерны в контрольной группе и группе БП

Паттерн	Контрольная группа		Группа БП	
	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.
Черно-белый, мс	105,9 ± 6,2	103,6 ± 5,8	109,3 ± 6,7	106,0 ± 6,9
Красно-черный, мс	112,5 ± 7,5*	107,5 ± 7,5*	114,6 ± 6,9	110,3 ± 8,9
Зелено-черный, мс	108,2 ± 6,9	105,1 ± 6,0	111,9 ± 5,9	108,6 ± 6,6
Сине-черный, мс	116,5 ± 8,4	112,7 ± 9,2	118,7 ± 7,8	114,8 ± 8,7
Сине-желтый, мс	112,0 ± 10,4	105,3 ± 8,3	112,5 ± 6,5	105,5 ± 5,7
Красно-зеленый, мс	111,8 ± 6,2	105,1 ± 10,0	109,6 ± 5,7	105,6 ± 5,8

* – статистически значимое различие $p=0,0007$ при уровне значимости с поправкой Бонферрони $p<0,004$

Табл. 26.

Гендерные различия амплитуд пика P100 на различные цветовые паттерны в контрольной группе и группе БП

Паттерн	Контрольная группа		Группа БП	
	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.
Черно-белый, мкВ	7,9 ± 3,5	10,2 ± 5,1	8,1 ± 3,7	8,4 ± 3,5
Красно-черный, мкВ	6,5 ± 2,6	7,8 ± 4,8	6,7 ± 3,0	7,1 ± 3,5
Зелено-черный, мкВ	8,0 ± 3,2	9,7 ± 4,7	8,1 ± 3,4	8,8 ± 4,0
Сине-черный, мкВ	6,0 ± 3,1	7,2 ± 4,5	6,1 ± 3,1	6,9 ± 3,5
Сине-желтый, мкВ	6,5 ± 3,1	10,6 ± 5,2	6,4 ± 2,1	10,3 ± 5,5
Красно-зеленый, мкВ	4,8 ± 1,1	7,6 ± 3,8	4,5 ± 2,1	7,2 ± 2,9

В группе БП выявлена прямая корреляционная связь между возрастом и латентностью на сине-черный паттерн ($r=0,366$, $p<0,05$, рис. 45), а также обратная корреляционная связь между амплитудой на сине-желтый паттерн ($r=-0,345$, $p<0,05$).

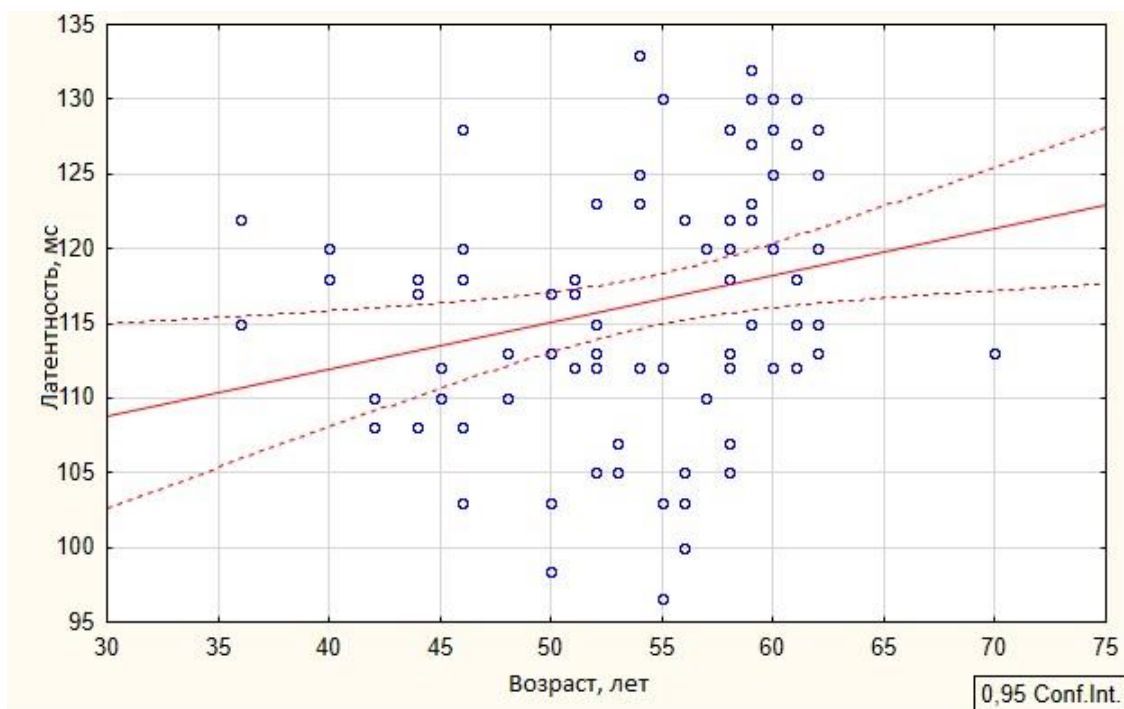


Рис. 45. Корреляция латентности P100 на сине-черный паттерн с возрастом в группе БП

В подгруппе БП «с лечением» возраст коррелировал с латентностью P100 на сине-черный паттерн ($r=0,387$, $p<0,05$), а в подгруппе «без лечения» – также с латентностью на сине-черный паттерн ($r=0,357$, $p<0,05$) и с амплитудой на черно-белый ($r=-0,394$, $p<0,05$) и красно-черный паттерны ($r=-0,489$, $p<0,05$).

В группе БП возраст на момент исследования ожидаемо коррелировал с возрастом начала заболевания ($r=0,852$, $p<0,05$), и при исследовании корреляций выявлена прямая связь между латентностью P100 на сине-черный паттерн и возрастом начала заболевания ($r=0,310$, $p<0,05$), других корреляционных связей с возрастом начала в группе БП не обнаружено. Для подгруппы БП «с лечением» корреляционных связей также выявлено не было, а для подгруппы БП «без лечения» выявлена обратная связь между возрастом начала и амплитудами на три паттерна: черно-белый ($r=-0,400$, $p<0,05$), красно-черный ($r=-0,458$, $p<0,05$) и сине-черный ($r=-0,370$, $p<0,05$).

Различий параметров ЦЗВП между пациентами с отягощенным семейным анамнезом и пациентами без такового выявлено не было ($p>0,05$).

Различия по форме заболевания – между акинетико-ригидной формой и смешанной формой – были получены только для амплитуды N75-P100 на сине-черные клетки ($p(U)=0,0062$ при уровне значимости с поправкой Бонферрони $p<0,008$). Для акинетико-ригидной формы амплитуда была ниже $4,5\pm 2,4$ мкВ по сравнению со смешанной формой $4,7\pm 2,1$ мкВ. Стоит отметить, что при вычисленном статистически значимом различии средние значения амплитуд разнятся не столь сильно.

В работе исследовались зависимости параметров ЦЗВП от нескольких клинических коррелятов тяжести и прогрессирования заболевания: длительности болезни, тяжести состояния по шкале Хен–Яра, суточной потребности в леводопе, эквивалентной дозы противопаркинсонических препаратов. По причине различий между подгруппой «с лечением» и подгруппой «без лечения» по длительности заболевания ($6,3 \pm 4,7$ лет vs $1,8 \pm 1,4$ лет, $p(U)<0,001$) и тяжести по шкале Хен–Яр ($2,5 \pm 0,6$ стадия vs $1,4 \pm 0,6$ стадия, $p(U)<0,001$) и, соответственно, по наличию лечения эти подгруппы рассматривались по отдельности.

В подгруппе «без лечения» амплитуда ответа на сине-черный паттерн обратно коррелировала с длительностью заболевания ($r=-0,354$, $p<0,05$, рис. 46), другие параметры ЦЗВП с длительностью не коррелировали. Параметры ЦЗВП с тяжестью заболевания по Хен–Яра не коррелировали.

В подгруппе «с лечением» параметры ЦЗВП также не коррелировали с длительностью и тяжестью заболевания. При исследовании корреляций между медикаментозным лечением и параметрами ЦЗВП выявлены следующие связи. Для суточной потребности в леводопе показана прямая связь с латентностью P100 на красно-черный ($r=0,353$, $p<0,05$), зелено-черный ($r=0,397$, $p<0,05$), сине-черный ($r=0,363$, $p<0,05$) и сине-желтый ($r=0,780$, $p<0,05$, сильная корреляционная связь) паттерны и обратная связь с амплитудой на сине-желтый паттерн ($r=-0,732$, $p<0,05$, сильная корреляционная связь). Для суточной суммарной потребности в противопаркинсонической терапии в расчете эквивалентных доз показана прямая корреляционная связь с латентностью на красно-черный ($r=0,406$, $p<0,05$, рис. 47)

и зелено-черный ($r=0,445$, $p<0,05$, рис. 48) паттерны, а также обратная корреляционная связь с амплитудой ответа на черно-белый паттерн ($r=-0,369$, $p<0,05$, рис. 49).

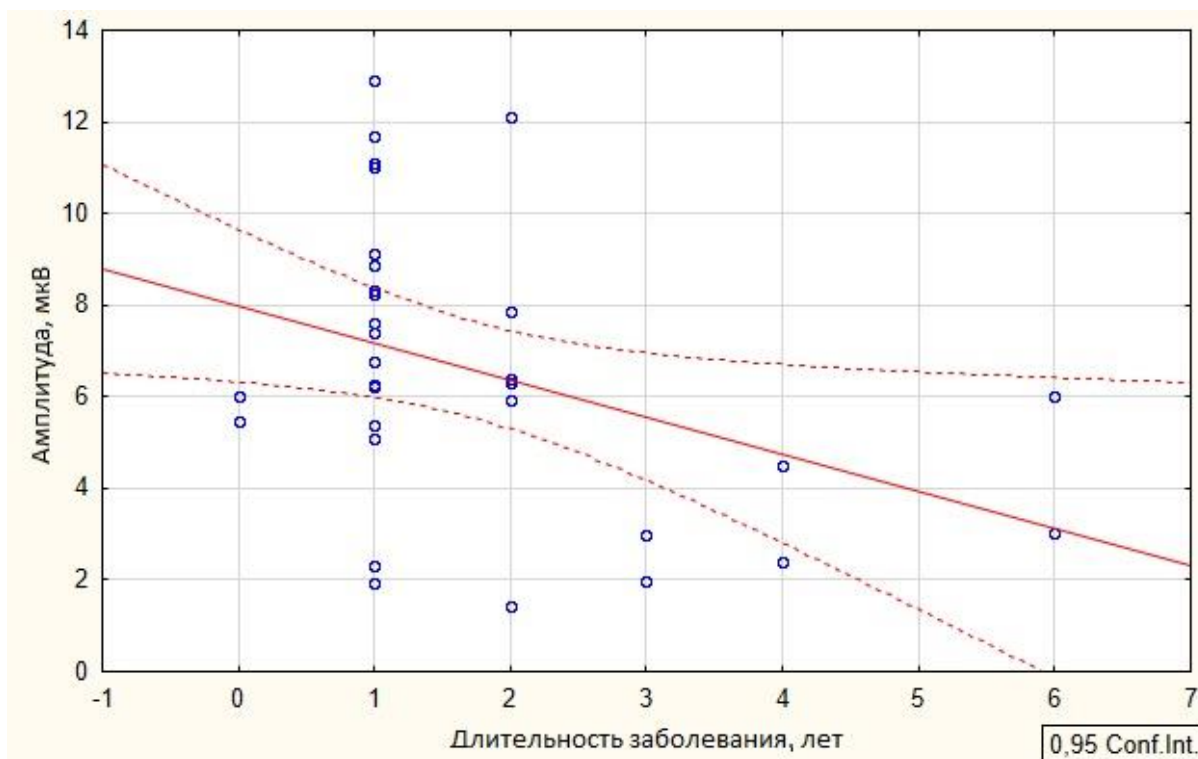


Рис. 46. Корреляция амплитуды P100 на сине-черный паттерн с длительностью заболевания в группе БП “без лечения”

Также необходимо отметить, что в выборке БП «с лечением» длительность заболевания коррелировала с тяжестью по шкале Хен–Яра ($r=0,748$, $p<0,05$), суточная потребность в леводопе – с возрастом ($r=0,480$, $p<0,05$) и тяжестью по Хен–Яра ($r=0,536$, $p<0,05$), а суммарная потребность в противопаркинсонической терапии – с длительностью ($r=0,434$, $p<0,05$), тяжестью заболевания по Хен–Яру ($r=0,497$, $p<0,05$) и с потребностью в леводопе ($r=0,824$, $p<0,05$).

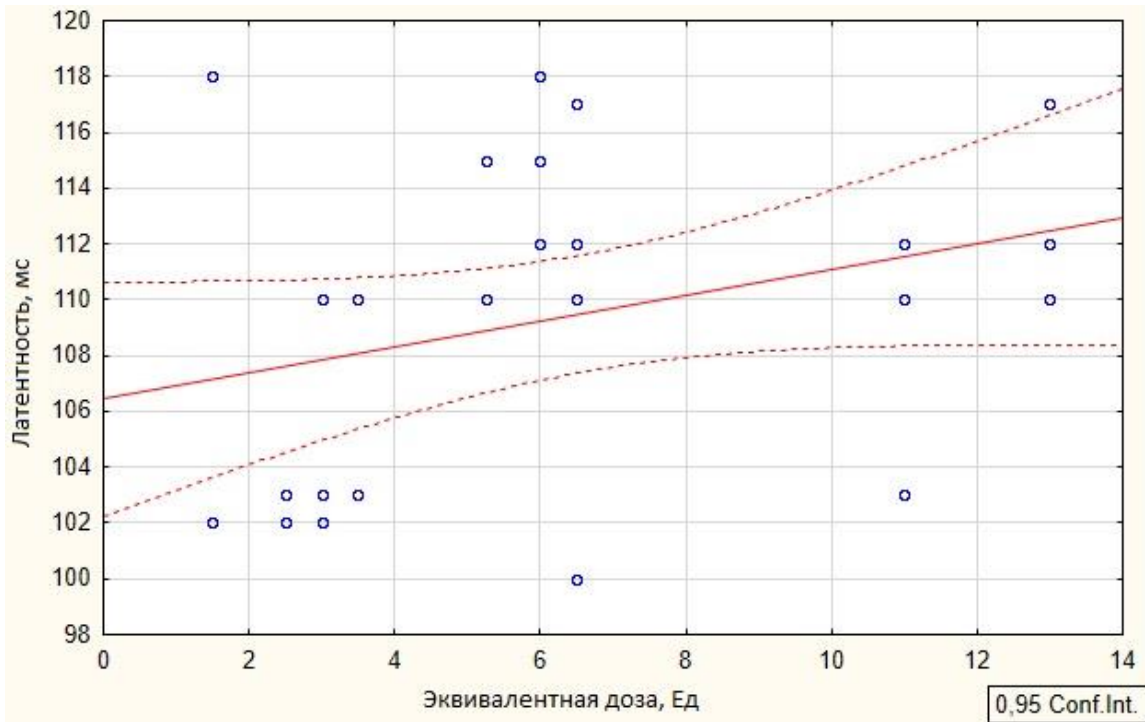


Рис. 47. Корреляция латентности P100 на красно-черный паттерн с суточной эквивалентной дозой

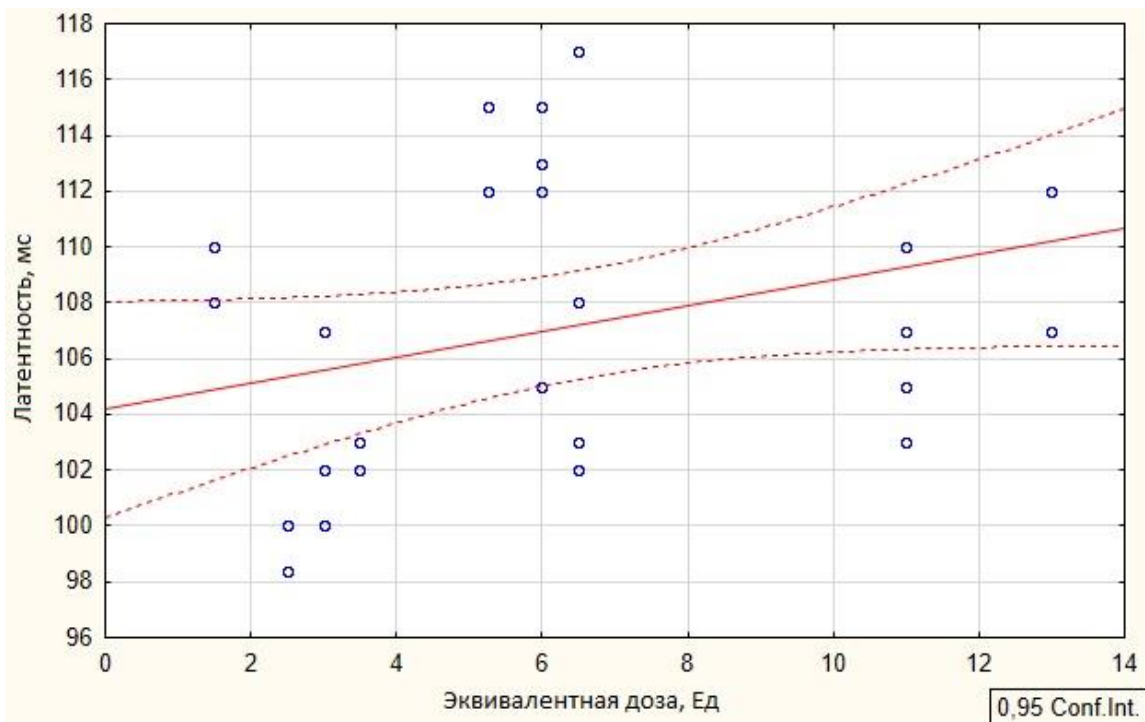


Рис. 48. Корреляция латентности P100 на зелено-черный паттерн с суточной эквивалентной дозой

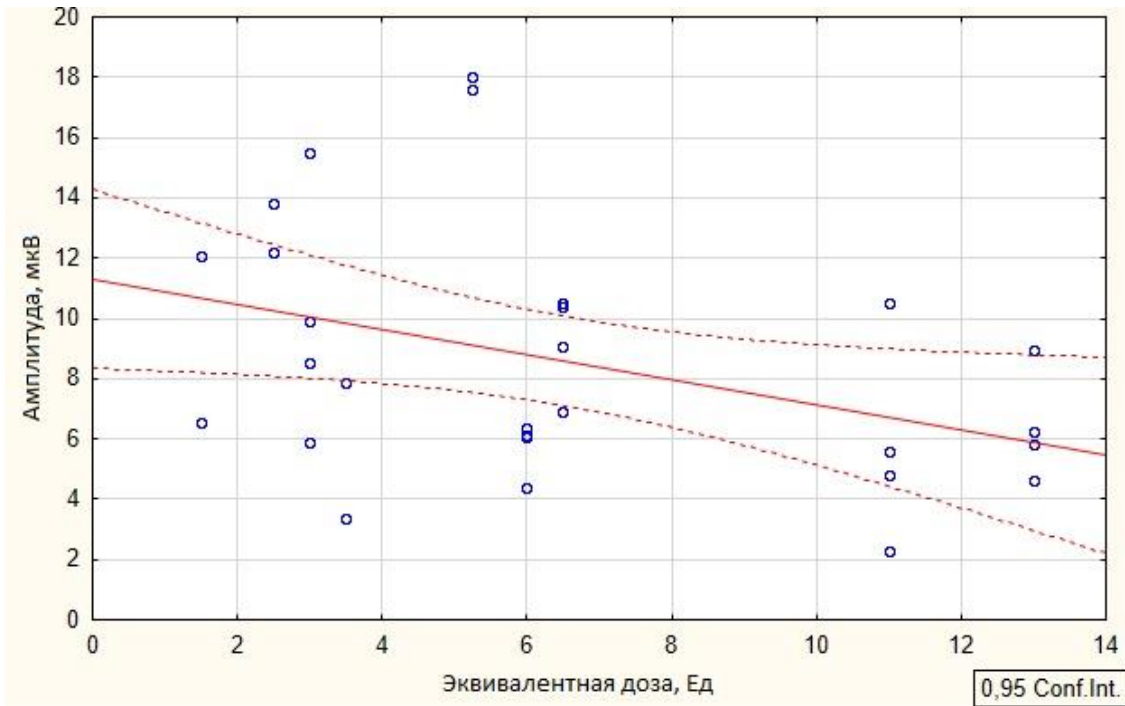


Рис. 49. Корреляция амплитуды P100 на черно-белый паттерн с суточной эквивалентной дозой

4.2. Оптическая когерентная томография при БП

При оптической когерентной томографии (ОКТ) также, как при ЦЗВП, сначала определялся значимый для БП биомаркер из всего спектра характеристик. Затем проводились подробные клинико-визуализационные корреляции для выявления патогенетических механизмов и особенностей заболевания. Для этого с помощью ОКТ была обследована группа пациентов с БП (n=24) и контрольная группа (n=20).

По результатам проведенной ОКТ была оценена средняя толщина слоя нервных волокон сетчатки (СНВС). В контрольной группе она составила $102,2 \pm 9,8$ мкм, в группе БП – $102,0 \pm 10,0$ мкм, группы статистически значимо не различались по данному показателю ($p(U)=0,76$).

В таблице 27 представлены средние значения толщины СНВС по квадрантам, в таблице 28 – по секторам. Группы отличались статистически значимо только по толщине СНВС в нижнем квадранте – в группе БП она была меньше (рис. 50).

На рисунке 51 приведен пример томограммы при БП.

Табл. 27

Толщина СНВС в квадрантах в группе БП и контрольной группе

Квадрант	Контрольная группа	Группа БП	p(U)
Верхний квадрант (ВрхК), мкм	$115,0 \pm 17,5$	$118,8 \pm 20,8$	0,441
Назальный квадрант (НзК), мкм	$75,3 \pm 10,1$	$77,0 \pm 13,1$	0,350
Нижний квадрант (НжК), мкм	$128,4 \pm 13,8$	$120,7 \pm 13,2$	0,009*
Височный квадрант (ВсчК), мкм	$61,9 \pm 8,6$	$66,6 \pm 18,3$	0657

* – статистически значимое различие между группами (при уровне значимости с поправкой Бонферрони $p < 0,0125$).

Толщина СНВС в секторах в группе БП и контрольной группе

Сектор	Контрольная группа	Группа БП	p(U)
1 - Средний сектор ВрхК, мкм	123,9 ± 25,3	125,3 ± 23,1	0,563
2 - Назальный сектор ВрхК, мкм	118,4 ± 21,9	119,6 ± 18,8	0,850
3 - Верхний сектор НзК, мкм	78,1 ± 13,4	82,3 ± 14,9	0,229
4 - Нижний сектор НзК, мкм	70,9 ± 11,0	74,4 ± 12,9	0,269
5 - Назальный сектор НжК, мкм	120,3 ± 17,9	110,5 ± 20,4	0,015
6 - Средний сектор НжК, мкм	158,6 ± 28,0	144,9 ± 22,6	0,011
7 - Височный сектор НжК, мкм	99,1 ± 19,1	96,8 ± 16,9	0,458
8 - Нижний сектор ВсчК, мкм	55,3 ± 8,7	56,0 ± 8,9	0,981
9 - Верхний сектор ВсчК, мкм	67,7 ± 10,1	68,6 ± 13,1	0,956
10 - Височный сектор ВрхК, мкм	102,8 ± 20,2	104,2 ± 21,6	0,617

Уровень значимости с поправкой Бонферрони $p < 0,005$.

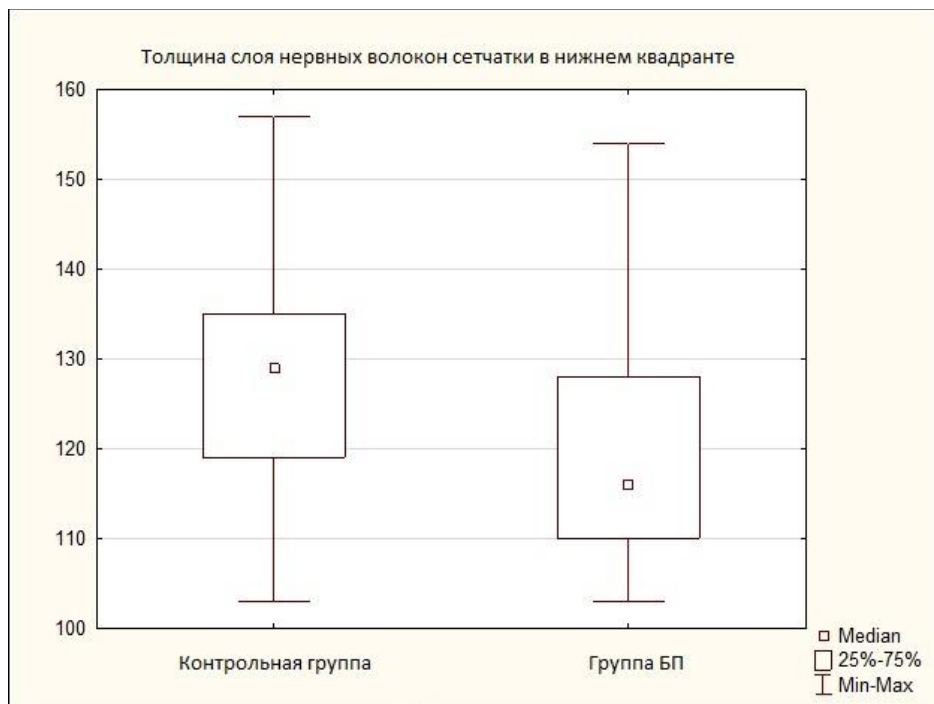


Рис. 50. Толщина СНВС в нижнем квадранте в контрольной группе и группе БП.

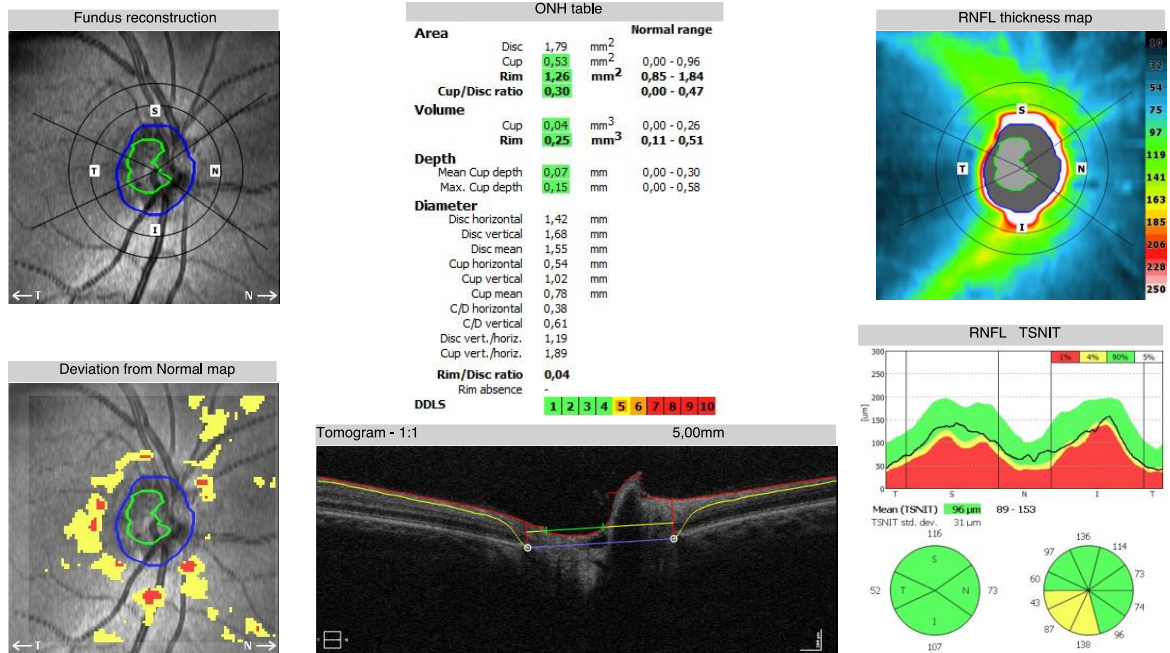


Рис. 51. Пример томограммы, полученной с помощью ОКТ, у пациентки с БП.

Для ROC-анализа был взят нижний квадрант (рис. 52). Площадь под кривой составила 0,671 ('роог'), патологическими значениями признаны ≤ 116 мкм, при этом чувствительность и специфичность составили соответственно – 56% и 82% (табл. 29).

При данном разграничительном значении встречаемость патологического истончения СНВС в нижнем квадранте в контрольной группе составила 30% (6/20), а в группе БП – 70,8% (17/24).

Табл. 29

Разграничительные значения по толщине СНВС в нижнем квадранте и соответствующие им чувствительность и специфичность метода

Толщина СНВС	Чувствительность	Специфичность
≤ 112 мкм	36,59%	86,84%
≤ 115 мкм	46,34%	81,58%
≤ 116 мкм	56,1%	81,58%
≤ 117 мкм	58,54%	78,95%

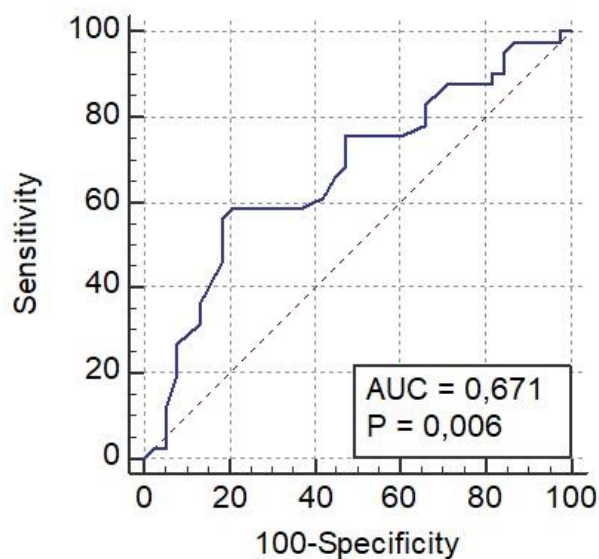


Рис. 52. ROC-кривая для параметра толщины СНВС в нижнем квадранте. Sensitivity – чувствительность. Specificity – специфичность. AUC – площадь под кривой.

В работе исследована взаимосвязь сторонности клинической картины БП со сторонностью по данным ОКТ. Среди томограмм были выбраны только те, у которых по межочулярной асимметрии разница между OD и OS составила более 3 мкм по толщине СНВС, и максимальное из этих значений соответствовало критерию патологического истончения, то есть толщина СНВС была 116 мкм и менее. Распределение больных представлено в таблице 30. Взаимосвязь между сопоставляемыми показателями не выявлена ($p(F)=0,597$).

Табл. 30

Распределение случаев по сторонности клинической картины БП и по сторонности патологически истонченного СНВС в нижнем квадранте

Клиническая картина БП	Истончение СНВС	
	OS	OD
s	6	3
d	4	1

При сравнении толщины СНВС у мужчин и у женщин получены следующие различия. В контрольной группе у мужчин в нижнем секторе назального квадранта

толщина СНВС оказалась меньше, чем у женщин, $66,5 \pm 8,9$ мкм и $73,9 \pm 11,4$ мкм, соответственно. В группе БП в височном секторе нижнего квадранта также выявлено различие между мужчинами и женщинами – $90,8 \pm 15,1$ мкм и $106,3 \pm 15,5$ мкм, соответственно ($p < 0,05$).

При исследовании корреляционных связей возраста с параметрами ОКТ в контрольной группе выявлена обратная связь между возрастом и толщиной СНВС в нижнем квадранте ($r = -0,443$, $p < 0,05$), в среднем ($r = -0,420$, $p < 0,05$) и височном ($r = -0,449$, $p < 0,05$) секторах нижнего квадранта, а также в среднем ($r = -0,340$, $p < 0,05$) и височном ($r = -0,334$, $p < 0,05$) секторах верхнего квадранта. В группе БП выявлена также обратная связь между возрастом и толщиной СНВС в нижнем квадранте ($r = -0,327$, $p < 0,05$, рис. 53).

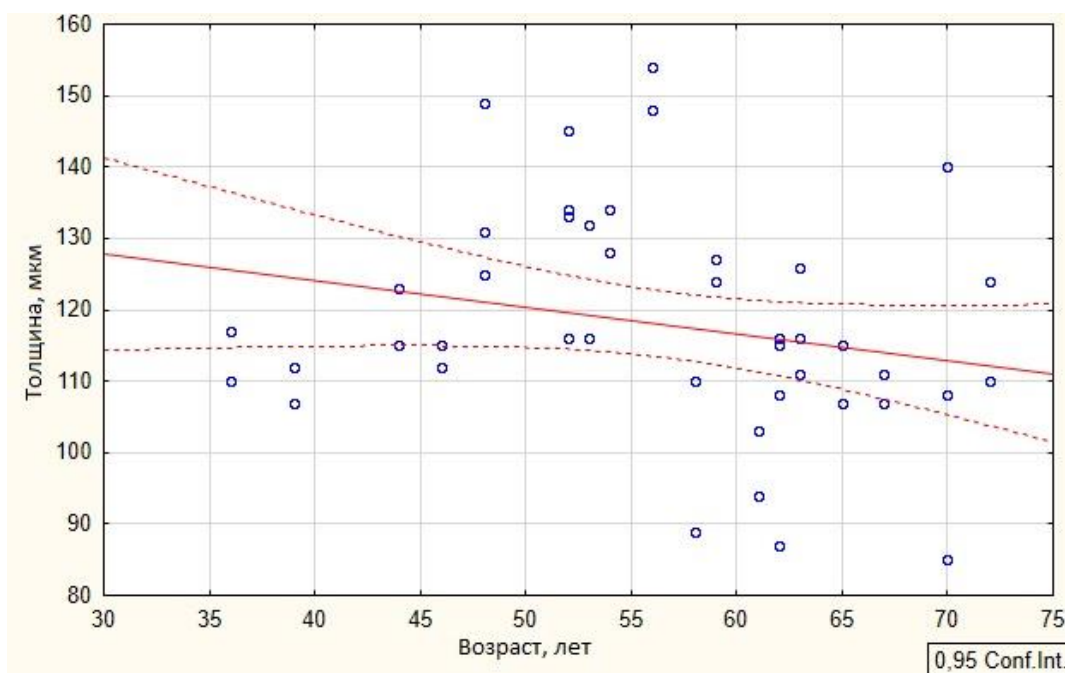


Рис. 53. Взаимосвязь толщины СНВС в нижнем квадранте с возрастом в группе БП.

При исследовании корреляций между длительностью течения заболевания в группе БП, тяжестью состояния по шкале Хен–Яра связи с параметрами ОКТ выявлено не было ($p > 0,05$). При этом длительность заболевания ожидаемо коррелировала с тяжестью по Хен–Яру ($r = 0,79$, $p < 0,05$).

4.3. Транскраниальная сонография при БП: проспективное исследование

Для оценки динамического изменения или стабильности гиперэхогенности черной субстанции – маркера БП, определяемого с помощью транскраниальной сонографии, была обследована группа из 32 пациентов с БП.

В проспективном исследовании была оценена динамика всех УЗ-характеристик: площадь черной субстанции, ширина III и боковых желудочков спустя 5–8 лет от момента первоначального обследования. Полученные результаты представлены в таблице 31.

Табл. 31.

УЗ-характеристики в динамике у пациентов с БП.

УЗ-характеристики	Первое обследование	Второе обследование	p(U)
Площадь ЧС, мм ²	25,4 ± 7,4	25,5 ± 4,3	0,24
Ширина III желудочка, мм	4,6 ± 1,2	4,8 ± 1,4	0,0016*
Ширина бокового желудочка, мм	17,9 ± 1,7	17,9 ± 1,2	0,55

* – статистически значимое различие при уровне значимости с поправкой Бонферрони, $p < 0,017$. ЧС – черная субстанция.

На рисунке 54 представлены изменения площади черной субстанции в динамике, при первичном обследовании («до») и при повторном обследовании («после»).

Основной маркер интереса – площадь черной субстанции (ГЧС) – оставалось без изменений, то есть не менялась на протяжении более 5-летнего периода наблюдения. Из трех параметров в течение времени отмечается только расширение III желудочка.

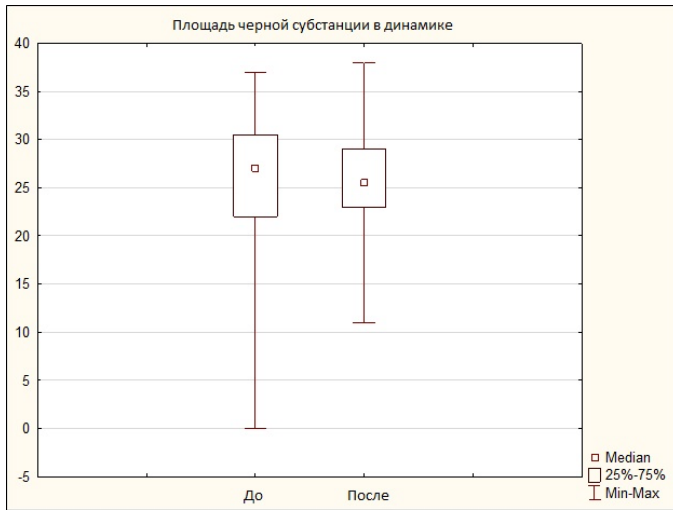


Рис. 54. Площадь черной субстанции в динамике – при первом и повторном исследовании.

4.4. Биомаркеры паркинсонизма. Обсуждение результатов

Цветовые зрительные вызванные потенциалы при БП

Нарушение цветовосприятия при БП, как показано в ряде работ, связано в том числе с дофаминергическим дефицитом на всем пути обработки зрительной информации – от сетчатки до латерального колленчатого тела и зрительной коры. Именно поэтому для комплексной оценки зрительной функции – от сетчатки до корковых центров – в работе выбран метод ЦЗВП.

Для изучения зрительной дисфункции при БП были отобраны 6 различные цветовых паттернов, из которых три наиболее традиционно исследуются при БП – черно-белый, сине-желтый и красно-зеленый; они же, согласно современным представлениям, наиболее физиологично объясняют восприятие цвета на основании принципа «противопоставления» (сравнения) цветов. В работе также были дополнительно исследованы три паттерна, которые менее изучены и впервые были использованы в работе L. Barbato с соавторами в 1994 году [Barbato L. et al., 1994]. Кроме этих дополнительных цветовых паттернов, второй особенностью нашего исследования явилось четкое разделение группы БП на подгруппы: получающих лечение противопаркинсоническими препаратами и не получающих лечения («drug-naïve»). Благодаря этим двум особенностям удалось выявить соответствующие различия между группами: увеличенные латентности P100 на черно-белый и зелено-черный паттерны прежде всего у пациентов с БП без лечения. При этом подгруппа «с лечением» от контрольной группы не отличалась. Полученные данные как раз могут объяснить противоречивые результаты, полученные в других исследованиях: в некоторых из них различия находили, в других – нет. Представляется, что лечение противопаркинсоническими препаратами уменьшает или нивелирует те изменения, которые исходно наблюдаются у впервые диагностированных пациентов с БП. И уже на ранних стадиях заболевания возможно выявление вполне определенного паттерна нарушений цветовосприятия, характерного непосредственно для БП и не связанных с медикаментозной терапией.

Измененное восприятие зеленого цвета при БП подтверждается в ряде других работ [Silva M.F. et al., 2005; Bryant M. et al., 2010].

Исходя из полученных различий между контрольной группой и подгруппой «без лечения», нами было рассчитано разграничительное значение для латентности P100 на зелено-черный паттерн, которое составило 110 мс (меньшие значения считаются нормальными). При этом площадь под ROC-кривой составила 0,78, что соответствует «средним» («fair») диагностическим возможностям метода. Для сравнения повторно приведем полученные AUROC значения для ТКС – 0,931 и для обонятельного Sniffin-Stick's теста – 0,907, которые указывают на «отличные» («excellent») диагностические возможности методов.

При рассмотрении сторонности клинических и нейрофизиологических нарушений намечается тенденция к контралатеральной взаимосвязи, однако статистическая значимость не была получена, возможно, из-за небольшого объема выборки.

Амплитуды исследованных вызванных ответов между группами и подгруппами не отличались, что подчеркивает их значительную вариабельность и указывает на отсутствие диагностической значимости при БП.

Гендерные различия по параметрам зрительных вызванных потенциалов – достаточно хорошо известный факт. Полученные нами результаты еще раз подтверждают несколько большую латентность у мужчин и несколько большую амплитуду у женщин практически по всем цветовым паттернам, при этом статическая значимость различий достигается только по латентности P100 на красно-черный паттерн. Данные изменения объясняются в том числе анатомическими особенностями зрительной системы.

Возрастные нарушения цветовосприятия затрагивают, главным образом, спектр синего цвета, что связано прежде всего с изменениями оптических сред с возрастом. В данном исследовании получен ряд взаимосвязей параметров ЦЗВП с возрастными характеристиками (возрастом на момент обследования и возрастом начала заболевания). Все они носят однонаправленный характер – увеличение латентности и уменьшение амплитуд с возрастом. Наиболее часто среди всех

паттернов, которые коррелировали с возрастом на момент обследования/возрастом начала заболевания, регистрировался сине-черный, что подтверждает возрастные изменения в данном спектре. В меньшей степени возрастные характеристики коррелировали с нейрофизиологическими параметрами на красно-черный, еще реже на черно-белый и сине-желтый паттерны. При этом стоит отметить, что параметры ЦЗВП на зелено-черный паттерн ни в общей группе БП, ни в подгруппах «с лечением» и «без лечения» с возрастными характеристиками не коррелировали.

В работе исследовались также такие клинические характеристики, как отягощенность семейного анамнеза и форма заболевания. Наличие отягощенного семейного анамнеза не влияло на параметры ЦЗВП. При рассмотрении форм БП были получены сниженные амплитуды при акинетико-ригидной форме заболевания по сравнению со смешанной формой. Известно, что акинетико-ригидная форма характеризуется особенно неблагоприятным течением заболевания, сопровождающимся ранними когнитивными и постуральными нарушениями. При этом рядом работ было показано, что зрительная дисфункция связана с когнитивными нарушениями и может вносить вклад в такие проявления БП, как застывания, нарушение ходьбы, постуральные нарушения и падения, что также соотносится с полученными результатами.

Прямые и косвенные параметры тяжести состояния – длительность течения болезни, тяжесть состояния по Хен–Яру и потребность в медикаментозной коррекции – исследовались на предмет взаимосвязи с параметрами ЦЗВП. Все они также носили единообразный характер – удлинение латентностей и уменьшение амплитуд. Например, длительность заболевания в подгруппе «без лечения» была обратно связана с амплитудой на сине-черный паттерн; при этом тяжесть по шкале Хен–Яра с параметрами ЦЗВП не коррелировала – скорее всего, в связи с небольшой тяжестью заболевания и небольшим разбросом значений начальных стадий БП в данной подгруппе. В подгруппе «с лечением» проводимая медикаментозная коррекция, как уже было отмечено выше, существенно модифицирует латентности, «нормализуя» их значения по сравнению с увеличенными латентностями у пациентов без лечения. При этом «внутри этой

нормализации» выявлена та же закономерность – с увеличением потребности в терапии увеличиваются латентности и снижаются амплитуды. Тяжесть же заболевания с параметрами ЦЗВП не коррелировала, что можно объяснить небольшим разбросом значений по шкале Хен–Яра: пациенты, вошедшие в группу «с лечением», находились преимущественно на 2-й и 3-й стадиях заболевания. Длительность заболевания не коррелировала с параметрами ЦЗВП, возможно, потому, что менее четко отражает тяжесть заболевания – в отличие от потребности в терапии.

Таким образом, ЦЗВП может использоваться как вспомогательный метод, оказывающий определенную диагностическую помощь у пациентов с БП. Метод можно применять для диагностики и уточнения характера зрительной дисфункции и нарушения цветовосприятия, причем уже на самых ранних стадиях заболевания. Основным диагностическим параметром является латентность пика P100 на зелено-черный паттерн (патологическими значениями ≥ 110 мс). Параметры ЦЗВП связаны с возрастными характеристиками, с формой заболевания и с проводимой терапией.

Оптическая когерентная томография при БП

Оптическая когерентная томография является достаточно точным методом прижизненной визуализации сетчатки и ее структурных слоев.

Из всех параметров, полученных по ОКТ – средняя толщина СНВС в перипапиллярной области, толщина по квадрантам и секторам – выявлено только истончение СНВС в нижнем квадранте при БП по сравнению с контрольной группой. Эти данные соответствуют результатам, полученным в мета-анализе 13 исследований [Yu J.-g. et al., 2014].

Однако проведенный ROC-анализ свидетельствует о посредственной диагностической значимости данной методики. Площадь под ROC-кривой для ОКТ невелика и является наименьшей из представленных методик. В ряде других исследований ОКТ также не показало значимых отличий БП от контрольной

группы. Рассчитанное разграничительное значение составило 116 мкм для толщины СНВС в нижнем квадранте.

В отличие от исследования С. La Morgia с соавторами, в настоящей работе сторонности и связи истончения СНВС с контролатеральной клинической картиной БП не выявлено [La Morgia С. et al., 2013]. Также не выявлено связи параметров ОКТ с длительностью и тяжестью заболевания.

С возрастом происходит истончение СНВС в верхнем и нижнем квадранте в контрольной группе, а в группе БП – в нижнем квадранте. При этом группа контроля и БП были сопоставимы по возрасту. Согласно другим исследованиям, истончение СНВС в нижнем и верхнем квадрантах связано прежде всего с увеличением распространенности глаукомы с возрастом.

Таким образом, ОКТ имеет ограниченную диагностическую значимость для выявления случаев БП.

Транскраниальная сонография при БП: результаты проспективного исследования

Отсутствие динамики по площади черной субстанции спустя продолжительное время после первого исследования говорит о стабильности данного маркера на протяжении заболевания.

Расширение желудочковой системы, в частности, третьего желудочка, отражает прогрессирование атрофических, нейродегенеративных процессов головного мозга при прогрессировании БП.

Подобных работ по изучению динамики УЗ-маркеров при БП немного. В работе S. Behnke с соавторами площадь ГЧС не менялась у пациентов с БП с интервалом между обследованиями свыше 8 лет [Behnke S. et al., 2013]. Подобные результаты были получены в исследованиях A.Iranzo и P.Mahlknecht с соавторами с интервалом между обследованиями больше 5 лет [Iranzo A., Stockner H. et al., 2014; Mahlkecht P. et al., 2013].

Целью данного анализа являлось обоснование использования маркера ГЧС для формирования группы риска БП. Согласно исходной гипотезе, если ГЧС является стабильным биомаркером («фактором риска» – в терминах критериев MDS для продромальной стадии БП) и не меняется с течением заболевания, то с большой долей вероятности его можно выявить у лиц, предрасположенных к БП до начала моторных симптомов заболевания.

Сразу после первого исследования по ТКС стало ясно, что ГЧС может также встречаться и у здоровых лиц – так, авторами методики уже в середине 1990-х годов у 2 из 30 был обнаружен повышенный эхосигнал в области черной субстанции [Becker et al., 1995]. Интересно, что спустя 2 года у одного из них появилась клиническая картина паркинсонизма и был поставлен диагноз БП. Исходя из этого, встал вопрос о функциональной значимости феномена ГЧС – является ли данный феномен маркером nigростриарного неблагополучия и предрасположенности к развитию БП у клинически здоровых лиц.

Учитывая, что ГЧС встречается в 10% случаев в популяции, крайне показательным, что, по данным патоморфологических исследований, такой же процент (10%) лиц старше 60 лет достигает пресимптоматической стадии БП с наличием телец Леви и признаками дегенерации нейронов черной субстанции [Behnke et al., 2003; Berg et al., 1999].

В ряде работ показано, что ГЧС ассоциирована в основными факторами риска развития БП: возрастом, мужским полом, генетической предрасположенностью и отягощенным семейным анамнезом.

1) *Возраст.* Предположительно возраст-зависимое уменьшение количества дофаминергических клеток является значимым патогенетическим механизмом в развитии БП. Было показано, что встречаемость ГЧС увеличивается с возрастом. Если в общей популяции в среднем ГЧС встречается в 10%, то у лиц старше 60 лет она может наблюдаться у 14%, а у лиц старше 85 лет – у 25% [Berg D., Siefker C., Becker G., 2001; Behnke et al., 2007].

2) *Пол.* Длительно обсуждается протективное влияние эстрогенов и большая частота встречаемости БП среди мужчин. В недавно проведенных двух

широкомасштабных исследованиях была подтверждена тенденция к более частой встречаемости ГЧС среди мужчин без БП, чем среди женщин [Lierpelt et al., 2011; Schweitzer et al., 2007].

3) *Генетическая предрасположенность*. В работе U. Walter с соавторами на примере асимптомных носителей мутаций в гене *PARK2* наличие ГЧС было сопряжено с дисфункцией нигростриарной системы по ПЭТ [Walter et al., 2004].

4) *Отягощенный семейный анамнез*. ГЧС чаще присутствует при отягощенном семейном анамнезе, что подтверждается исследованием родственников больных с БП, у которых феномен ГЧС выявляется значительно чаще (45%), чем в группе без семейного анамнеза [Ruprecht-Dorfler et al., 2003; Schweitzer et al., 2007]. В другом исследовании также продемонстрирована ассоциация ГЧС с отягощенным семейным анамнезом по БП [Lierpelt et al., 2008].

В последнее время накапливается всё больше доказательств того, что у клинически здоровых лиц ГЧС ассоциирована с известными продромальными признаками БП, как моторными, так и немоторными, и с нигростриарной дисфункцией по нейровизуализационным данным. Разберем основные факты, известные на сегодняшний день, по этим ассоциациям.

Гипосмия. Снижение обоняния является признанным немоторным и премоторным признаком БП. В исследовании, включавшем 1204 здоровых добровольца, показано, что ГЧС связана с низкими баллами по обонятельному тесту идентификации [Lierpelt et al., 2011]. Кроме того, в этом же исследовании была оценена встречаемость ГЧС среди пациентов с гипосмией, она оказалась больше, чем обычно наблюдается в общей популяции – свыше 30% случаев. В свою очередь, у пациентов с сочетанием ГЧС и гипосмии в 70% обнаруживалась нигростриарная дисфункция по ОФЭКТ [Sommer et al., 2004]. При 4-летнем проспективном наблюдении у троих из этих 11 человек с ГЧС и с гипосмией появились моторные нарушения паркинсонического типа при неврологическом осмотре [Naehner et al., 2007]. Еще в одном исследовании выявлена связь ГЧС с гипосмией в выборке из 1603 здоровых обследованных (ОШ=1,48, ДИ 1,12–1,96) [Berg et al., 2010].

Депрессия. У пациентов с депрессией без признаков паркинсонизма встречаемость ГЧС была статистически значимо выше по сравнению с обследуемыми без аффективных нарушений (40% vs. 13%) [Walter U., Hoerpner J. et al., 2007].

Расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз. Повышенная частота встречаемости ГЧС была обнаружена среди пациентов с нарушениями поведения в REM-фазу сна. В группе из 55 таких пациентов в 37% случаев выявлена ГЧС, тогда как в группе контроля из 165 человек ГЧС присутствовала только в 11% [Stockner et al., 2009]. Подобный процент встречаемости был показан в другом исследовании – 41% среди пациентов с REM-нарушениями поведения против 10% среди здоровых лиц [Iwanami et al., 2010].

Двигательные нарушения. Легкая паркинсоническая симптоматика может выявляться у клинически здоровых лиц, предрасположенных к развитию БП, задолго до начала заболевания при определенных провокационных пробах – при нагрузке, превосходящей компенсационные возможности nigростриарной системы. При блокировании дофаминергической передачи нейролептической терапией у пациентов с ГЧС чаще возникали экстрапирамидные осложнения, чем у пациентов без ГЧС [Berg D., Jabs V. et al., 2001]. В нескольких исследованиях была показана ассоциация ГЧС с моторными нарушениями, определяемыми при тэппинг-пробе [Hoerpner et al., 2009] и при тестировании по шкале UPDRS [Berg et al., 2010; Behnke et al., 2007; Liepelt et al., 2008]. В одном оригинальном исследовании было показано, что у здоровых танцоров с легкой односторонней гипокинезией («dead arm») намного чаще встречалась ГЧС (у 9 из 11), чем без гипокинезии (у 2 из 11); при этом у всех танцоров при неврологическом осмотре каких-либо нарушений выявлено не было [Ruprecht-Dorfler et al., 2007].

Трансформация в БП при проспективном наблюдении. Наиболее убедительным стало доказательство, полученное в проспективном исследовании, показавшем 17-кратно повышенный риск развития БП у изначально здоровых лиц с ГЧС [Berg et al., 2013].

Нигростриарная дисфункция по данным нейровизуализации.

Вышеперечисленные клинические ассоциации нашли свое подтверждение и в нейровизуализационных исследованиях. Из 20 клинически здоровых обследованных с ГЧС в 60% случаев обнаружено уменьшение пресинаптического захвата в нигростриарной системе по ПЭТ [Berg et al., 1999; Berg et al., 2002]. Спустя 8 лет при повторном проведении ПЭТ у 2 из 10 больных с ГЧС отмечено значительное асимметричное уменьшение сигнала, и в одном случае из этих двух клинически диагностирована БП [Behnke et al., 2010]. В другом исследовании при количественной оценке пресинаптического захвата по ПЭТ группа с ГЧС располагалась между группой без ГЧС и группой с БП, то есть у клинически здоровых лиц с ГЧС наблюдается промежуточное состояние дофаминергической системы между нормой и патологией [Behnke et al., 2009].

Таким образом, ГЧС является стабильным маркером, не меняющимся в процессе заболевания, поэтому данный маркер может использоваться в широких исследовательских целях, в том числе, по-видимому, для диагностики предрасположенности к БП до развития моторных проявлений заболевания.

ГЛАВА 5.**ГРУППА РИСКА БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА****5.1. Продромальные биомаркеры в группе риска и в контрольной группе**

В группе риска и в контрольной группе был проведен комплекс исследований, определяющих наличие или отсутствие тех или иных продромальных маркеров БП. Подробные результаты представлены в приложении 21, 22 и 23. Обобщенные результаты по их встречаемости в группах и подгруппах – в таблице 32.

Табл. 32

Встречаемость продромальных маркеров в группах обследуемых.

Продромальные проявления	Общая группа риска	Лица с ГЧС	Носители мутаций паркинсонизма	Контрольная группа
Гипосмия, %	37,8*	36,4*	40 [#]	9,5
РПБДГ, %	18,9	18,2	20	9,5
Депрессия, %	37,8	36,4	40	19,1
Констипация, %	21,6	31,8	6,7	19,1
Легкая паркинсоническая симптоматика, %	29,7 [#]	27,3	33,3 [#]	9,5

РПБДГ – расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз. ГЧС – гиперэхогенность черной субстанции. * – $p(F) < 0,05$; # – $p(F) < 0,1$.

При сравнении общей группы риска и отдельных подгрупп с контролем выявлено статистически значимое различие по встречаемости гипосмии, которая значимо выше в общей группе и среди лиц с наличием ГЧС ($p < 0,05$). Также выявлена тенденция к преобладанию гипосмии и среди носителей паркинсонических мутаций, однако в связи с небольшим объемом выборки статистически незначимая. Подобные тенденции выявлены и для общей группы и подгруппы с мутациями в отношении легкой паркинсонической симптоматики. В целом, встречаемость по

другим продромальным маркерам – РПБДГ и депрессии – была выше практически в 2 раза, но статистической данное различие не подтвердилось. У четверых индивидов в связи с неоднозначными результатами, полученными по опросникам РПБДГ, проводилась полисомнографии. В отношении констипации, ее встречаемость в контрольной группе была условно по середине, между подгруппой носителей мутаций (меньшая встречаемость) и подгруппой лиц с ГЧС (большая) ($p < 0,05$).

Если сравнивать группы по числу выявленных маркеров у каждого обследуемого, то в общей группе риска в среднем у обследуемого обнаруживается 1 [0;2] маркер, тогда как в контрольной группе – 0 [0;1] ($p(U)=0,022$). Распределение по числу лиц с разным количеством продромальных маркеров в общей группе риска и контрольной группе графически представлено на рисунке 55. Такое же распределение для подгрупп лиц с ГЧС и носителей мутаций – на рисунке 56.

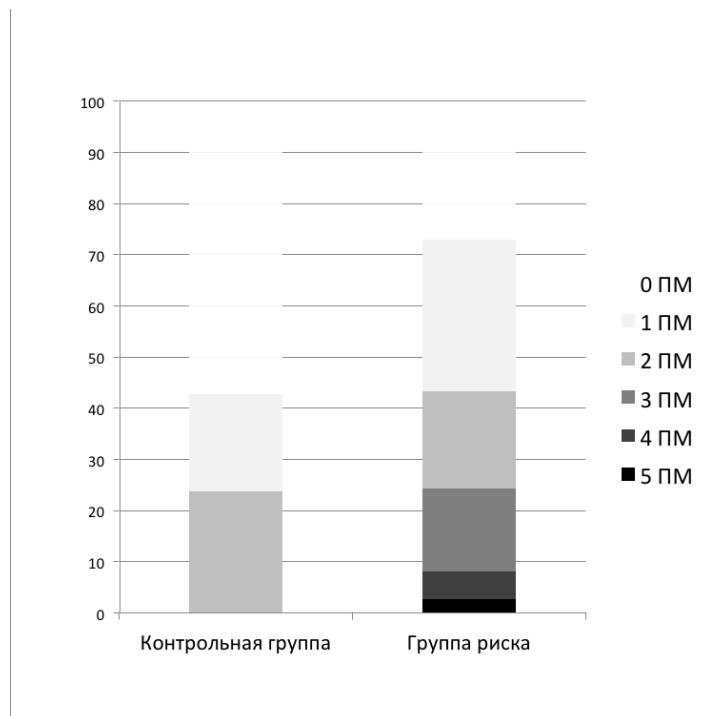


Рис. 55. Распределение обследуемых лиц по числу выявленных продромальных проявлений в общей группе риска и контрольной группе. ПМ – продромальный маркер.

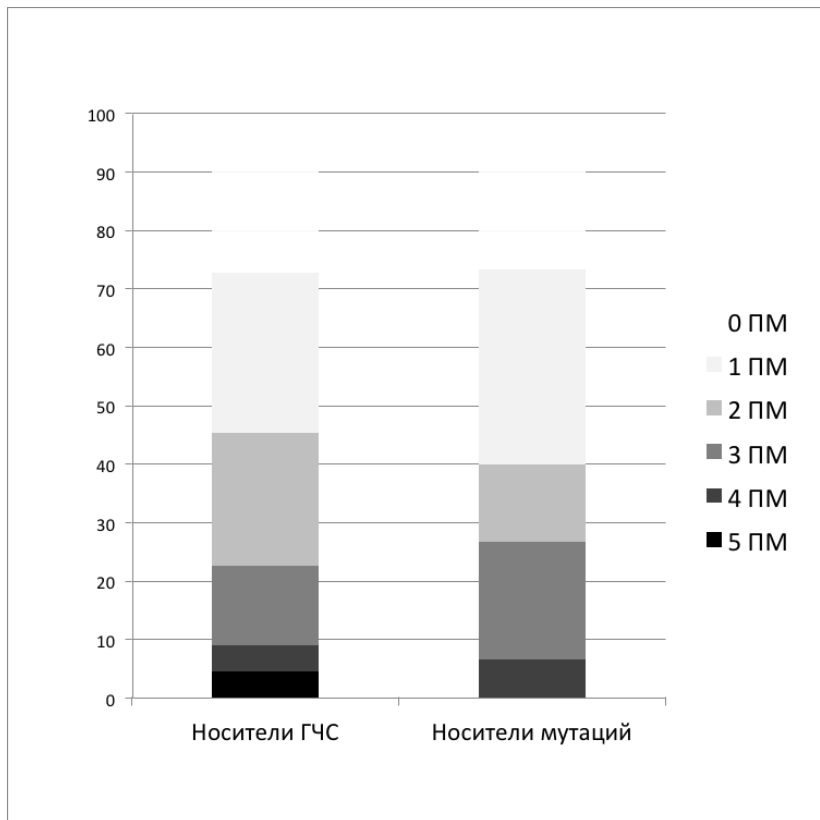


Рис. 56. Распределение обследуемых лиц по числу выявленных продромальных проявлений в подгруппах генетического и ультразвукового риска. ПМ – продромальный маркер. ГЧС – гиперэхогенность черной субстанции

При сравнении подгрупп между собой статистически значимых различий не выявлено. При сравнении подгрупп с контрольной группой статистической значимости достигло различие у подгруппы лиц с наличием ГЧС – 1 [0;2] ($p(U)=0,037$), но не у подгруппы носителей мутаций – 1 [0;3] ($p(U)=0,116$), вероятно, по причине небольшого объема выборки.

Именно деление по границе «трех продромальных маркеров» дало статистически значимое различие между контрольной группой и общей группой риска ($p=0,012$). Встречаемость носителей, как минимум, трех продромальных маркеров в контрольной группе составила 0%, в общей группе риска – 24,3%. Деление по границе двух и четырех продромальных маркеров статистической значимости не достигало. Статистически значимое различие с контрольной группой справедливо и для подгруппы носителей ГЧС ($p=0,027$), и для подгруппы носителей мутаций ($p=0,023$). Процент обследуемых с тремя патологическими

маркерами среди асимптомных лиц с ГЧС – 22,7%, среди асимптомных носителей мутаций – 26,7%.

При исследовании корреляции количества продромальных проявлений БП с возрастом в общей группе риска выявлена их прямая взаимосвязь ($r=0,44$; $p<0,05$; рис. 57), в контрольной группе подобной корреляции не выявлено ($r=0,26$, $p>0,05$). Рассматривая подгруппы по отдельности, можно видеть положительную корреляционную связь с возрастом у носителей мутаций ($r=0,72$; $p<0,05$; рис. 58), но не у лиц с ГЧС ($r=0,17$, $p>0,05$).

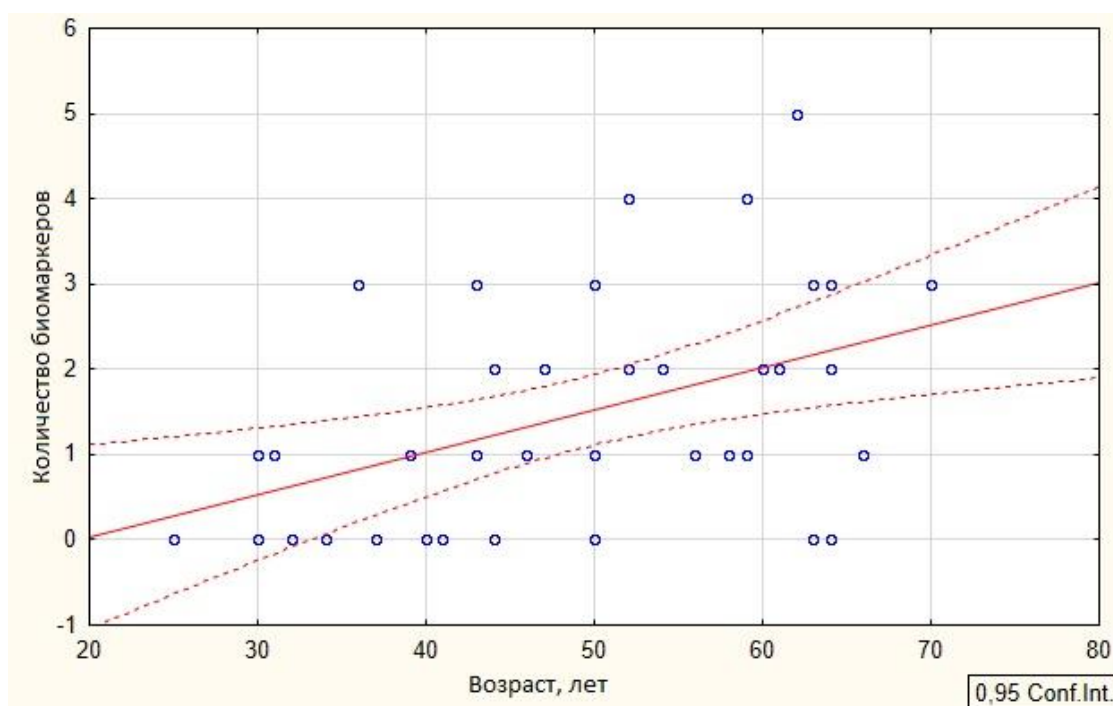


Рис. 57. Взаимосвязь возраста с количеством патологических продромальных маркеров в общей группе риска.

Стоит отметить, что в подгруппе носителей генетического маркера не выявлено какой-либо связи с конкретным геном – *LRRK2*, *PARK2* или *GBA*, то есть у них могла обнаруживаться разная «нагруженность» патологическими маркерами, вне связи с конкретной мутацией (табл. 33). Также не отмечалось статистически большей частоты встречаемости патологических биомаркеров у носителей мутаций в каком-либо конкретном гене, хотя патологические биомаркеры

встречались в 1,5 раза чаще у носителей *LRRK2*, нежели у носителей мутаций в генах *PARK2* и *GBA*.

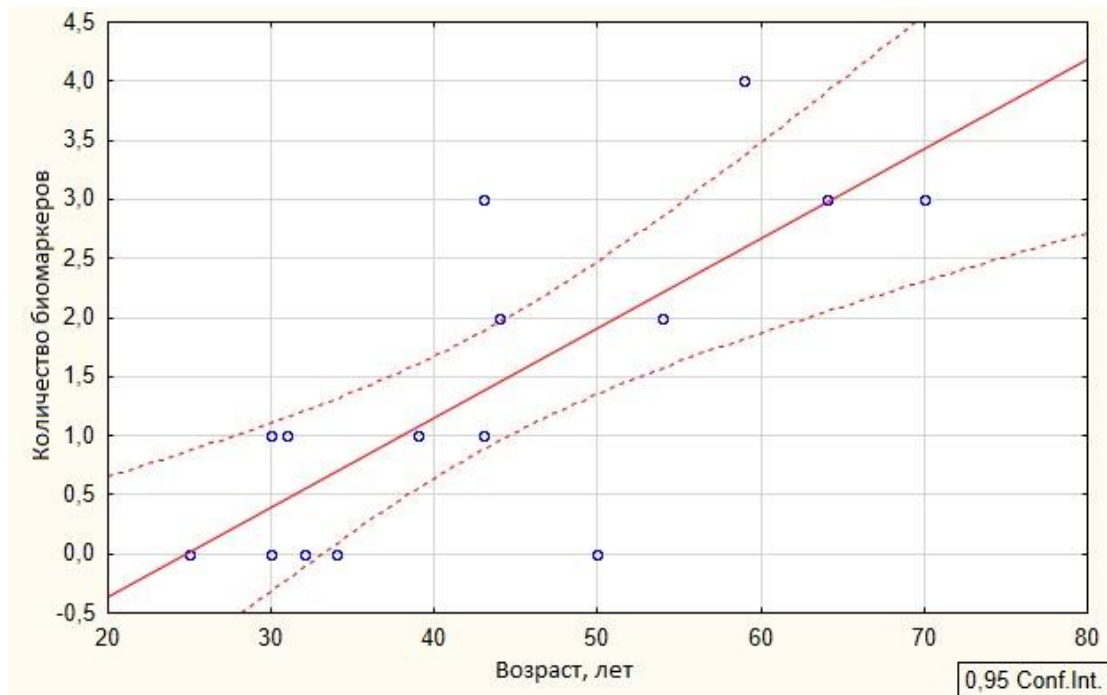


Рис. 58. Взаимосвязь возраста с количеством патологических продромальных маркеров у носителей мутаций.

Табл. 33

Встречаемость продромальных маркеров у носителей мутаций в генах *LRRK2*, *PARK2*, *GBA*.

Ген	Гипосмия	РПБДГ	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм	Всего
<i>LRRK2</i>	2/3	1/3	2/3	0/3	1/3	6/15 (40%)
<i>PARK2</i>	1/3	0/3	1/3	0/3	2/3	4/15 (26,7%)
<i>GBA</i>	3/9	2/9	3/9	1/9	2/9	11/45 (24,4%)

В пределах группы риска проводился анализ взаимосвязи продромальных патологических маркеров (табл. 34). Выявлены статистически значимые взаимосвязи между депрессией и РПБДГ, депрессией и легкой паркинсонической моторной симптоматикой ($p < 0,05$). При этом между РПБДГ и легкой моторной

симптоматикой отмечается также тенденция к взаимосвязи, однако, статистически незначимая ($p < 0,1$).

Табл. 34

Взаимосвязь продромальных маркеров ($p(F,x)$ -значения в матрице попарных сравнений).

Продромальные маркеры	РПБДГ	Гипосмия	Депрессия	Констипация
Гипосмия	0,224	-	-	-
Депрессия	0,007*	0,200	-	-
Констипация	0,521	0,340	0,114	-
Легкая паркинсоническая симптоматика	0,099	0,161	0,007*	0,611

* – статистически значимый результат, $p < 0,05$.

5.2. Расчет вероятности продромальной стадии с учетом факторов риска

Предложенный MDS метод расчета позволяет суммировать у конкретного индивидуума несколько факторов риска и продромальных маркеров в единое интегративное значение вероятности продромальной стадии. В расчетной формуле учитывались 7 факторов риска (возраст, пол, курение, употребление кофе, воздействие пестицидов/растворителей, наличие ГЧС, наличие отягощенного семейного анамнеза/мутации) и 5 продромальных маркеров (гипосмия, РПБДГ по опросникам, депрессия, констипация, паркинсонизм). Встречаемость курения, употребления кофе, воздействия пестицидов/растворителей в группах представлено в таблице 35. Группы по встречаемости факторов риска не отличались друг от друга ($p > 0,05$).

Табл. 35

Встречаемость факторов риска в общей группе риска и контрольной группе.

Факторы риска	Группа риска	Контрольная группа
Не курение	17 (45,9%)	9 (42,9%)
(Курение – «фактор антириска»)	9 (24,3%)	8 (38,1%)
(Курение в прошлом – «фактор антириска»)	11 (29,7%)	4 (19,0%)
Употребление менее 2–3 чашек кофе в день	8 (21,6%)	7 (33,3%)
Воздействие пестицидов/растворителей	4 (10,8%)	1 (4,7%)

Приведем пример расчета такой вероятности. Пациент с вероятной продромальной стадией БП, 52 лет, был включен в группу риска по наличию ГЧС (справа 36 мм², слева 34 мм²). При расспросе оказалось, что у обследуемого болел БП отец. По проведенному ДНК-анализу мутаций в основных генах паркинсонизма, выявляемых методом MLPA, и мажорных мутаций в гене *GBA* выявлено не было. Пациент раньше курил, на настоящий момент бросил. Кофе употребляет очень редко. По работе часто контактировал с хладагентами,

спиртами, герметиками, растворителями. По опросникам выявлено наличие РПБДГ, депрессии (13 баллов по шкале Бека), констипации не выявлено. По обонятельному Sniffin' Sticks тесту идентификации – гипосмия (9 баллов). При неврологическом осмотре четкое снижение амплитуды выполнения тэппинг-теста слева. Исходя из вышеперечисленного, расчет вероятности продромальной стадии у данного пациента проходил следующим образом:

- Пре-тестовая вероятность = 0,4.

- $LR = 4,7$ (гиперэхогенность черной субстанции) * 1,2 (пол) * 2,5 (отягощенный семейный анамнез) * 0,8 (курение) * 1,35 (кофе) * 1,5 (растворители) * 2,3 (РПБДГ) * 4 (гипосмия) * 1,8 (депрессия) * 0,8 (констипация) * 10 (моторные нарушения) = 3026.

- Пост-тестовая вероятность = 92,4%.

По данному методу рассчитаны вероятности для каждого обследуемого. Индивидуальные значения вероятности продромальной стадии для каждого обследуемого в подгруппах риска и в контрольной группе графически представлены на рисунке 59.

По критерию Краскала–Уоллиса группы статистически значимо различались по процентной вероятности продромальной стадии: медиана а квартили в подгруппе носителей ГЧС – 3,5% [1,0; 28,8], в подгруппе носителей мутаций – 5,7% [0,7; 34,6], в контрольной группе – 0% [0; 0]. При этом обе подгруппы отличались от контрольной группы ($p < 0,001$) и не различались между собой ($p = 0,81$).

В контрольной группе ни случаев «возможной» продромальной стадии, ни случаев «вероятной» продромальной стадии выявлено не было. В подгруппе носителей ГЧС было выявлено 2 обследуемых, находящихся на «вероятной продромальной стадии» БП (с вероятностью, превышающей 80%). В подгруппе носителей мутаций – 1 обследуемый на «вероятной продромальной стадии» и 2 обследуемых на «возможной продромальной стадии» (с вероятностью, превышающей 50%). Суммарно у 5 обследуемых из общей группы риска

диагностирована «продромальная стадия БП» (13,5%), у двоих в подгруппе носителей ГЧС и у троих в подгруппе носителей мутаций (9,1% и 20%, соответственно, $p > 0,05$).

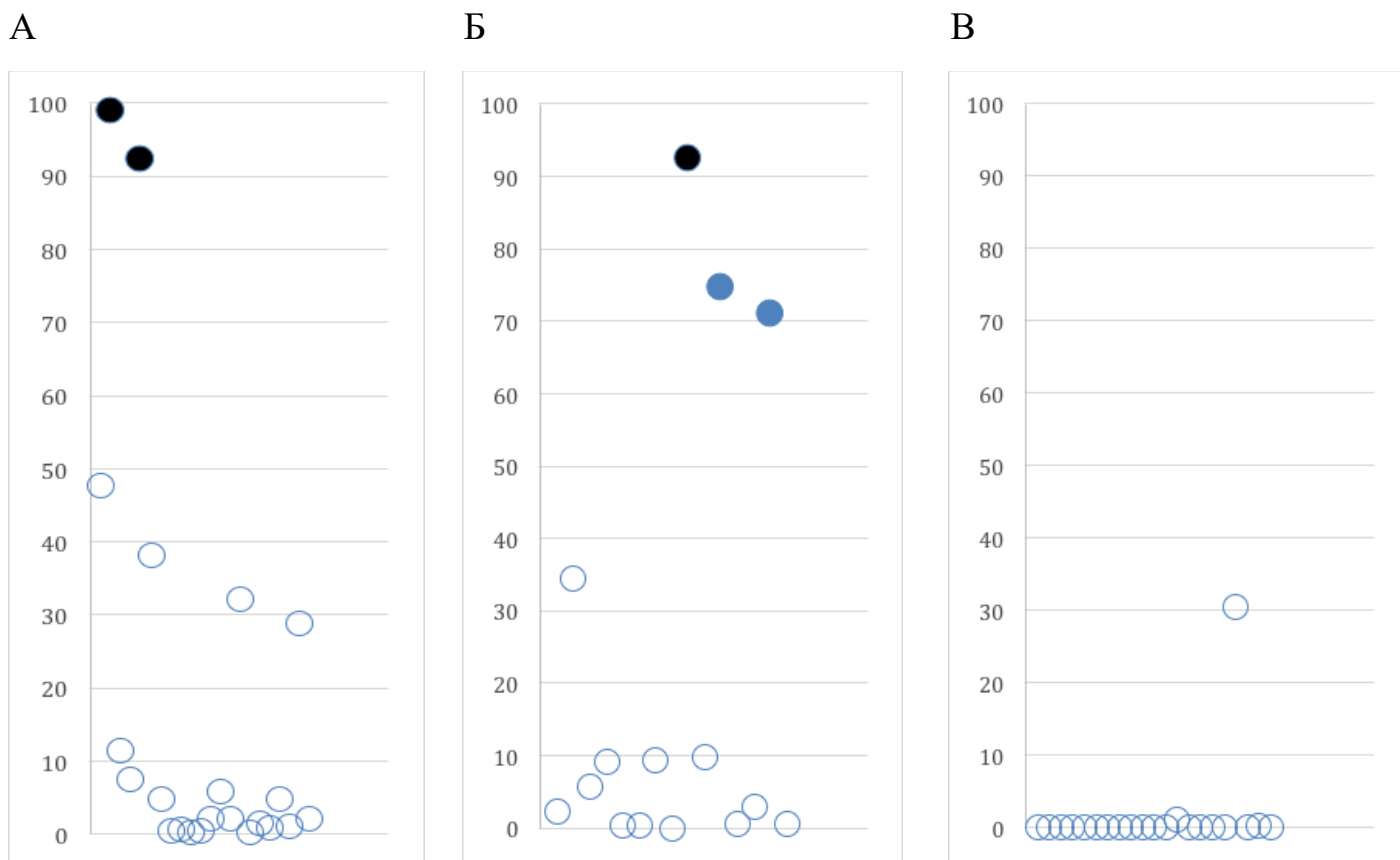


Рис. 59. Значения вероятностей продромальной стадии у обследованных лиц. А – подгруппа носителей ГЧС. Б – подгруппа носителей мутаций. В – контрольная группа. Закрашенными маркерами представлены случаи с вероятностью $> 50\%$, черным кружком – случаи с вероятностью $> 80\%$.

5.3. Динамическое наблюдение за группой риска и контрольной группой

За время наблюдения у 5 пациентов какой-либо динамики по продромальным биомаркерам обнаружено не было и у 7 наблюдалось увеличение их количества на 1–2 биомаркера ($p(W)=0,018$), исходно 0,5 [0; 1] и повторно 1 [0,5; 2,5]. Подробно динамика по маркерам у каждого обследуемого приведена в приложении 24, графически представлена на рисунке 60. Увеличение количества наблюдается за счет всех 5 биомаркеров в одинаковой степени: у двоих за это время появилась гипосмия, у одной – РПБДГ, у двоих присоединились симптомы депрессии, и что более примечательно – у двоих появилась легкая паркинсоническая симптоматика, выраженность которой, однако, не позволяет диагностировать БП по общепринятым критериям.

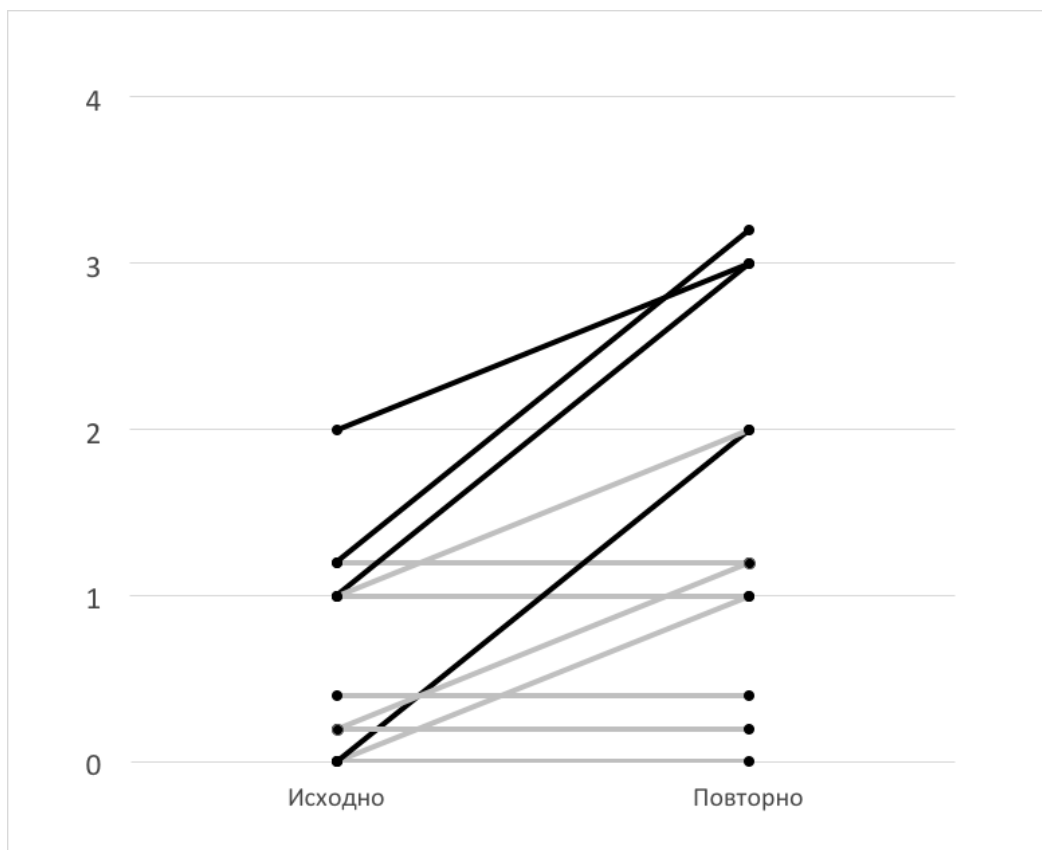


Рис. 60. Изменение количества патологических продромальных маркеров БП в группе риска при динамическом наблюдении.

Как видно из рисунка 60, наибольшего внимания заслуживают четверо обследованных, отмеченных на рисунке более темным цветом, у которых за время наблюдения присоединились 2 продромальных маркера и/или у которых общее количество маркеров составило 3 (условно «группа высокого риска»). При этом у троих из них диагностировано РПБДГ (рис. 61) и у двоих появилась легкая паркинсоническая симптоматика. В одном случае (63 года) спустя 7 лет присоединился непостоянный, среднеамплитудный тремор покоя в правой руке без гипокинезии и ригидности. В другом случае (50 лет) через 5 лет появилась отчетливая асимметричная гипокинезия, умеренная при выполнении двигательных проб, без сопутствующих ригидности/тремора покоя.

Расчет вероятности продромальной стадии по критериям MDS в «группе высокого риска» показал повышенный процент вероятности у трех из четырех (4,8%; 28,8%, 32,2%, 34,6%), хотя и не достаточный для установления «возможной продромальной стадии БП».

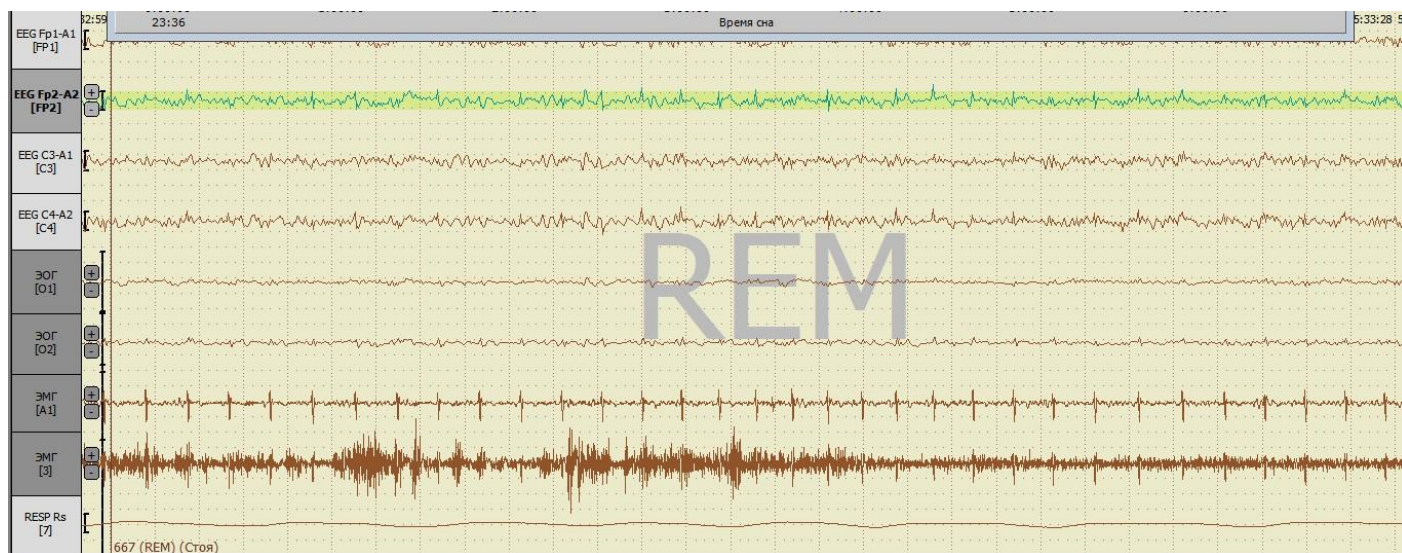


Рис. 61. Пример полисомнографии с регистрации РПБДГ у пациента, 43 лет, из группы риска.

В контрольной группе количество маркеров в динамике существенно не изменилось ($p(W)=0,686$): исходно 0,5 [0; 1,25] и повторно 0,5 [0; 1]. Динамика количества продромальных маркеров представлена на рисунке 62. В двух случаях

присоедилось по одному продромальному маркеру (депрессия и констипация). В трех случаях наблюдалось уменьшение количества за счет одного из маркеров (гипосмии, РПБДГ и асимметричной гипокинезии). И в одном случае количество продромальных маркеров в динамике осталось неизменным – 2, однако, по опроснику РПБДГ нарушений сна повторно не выявлялось, но присоединилась депрессия (пограничное значение в 10 баллов по шкале Бека).

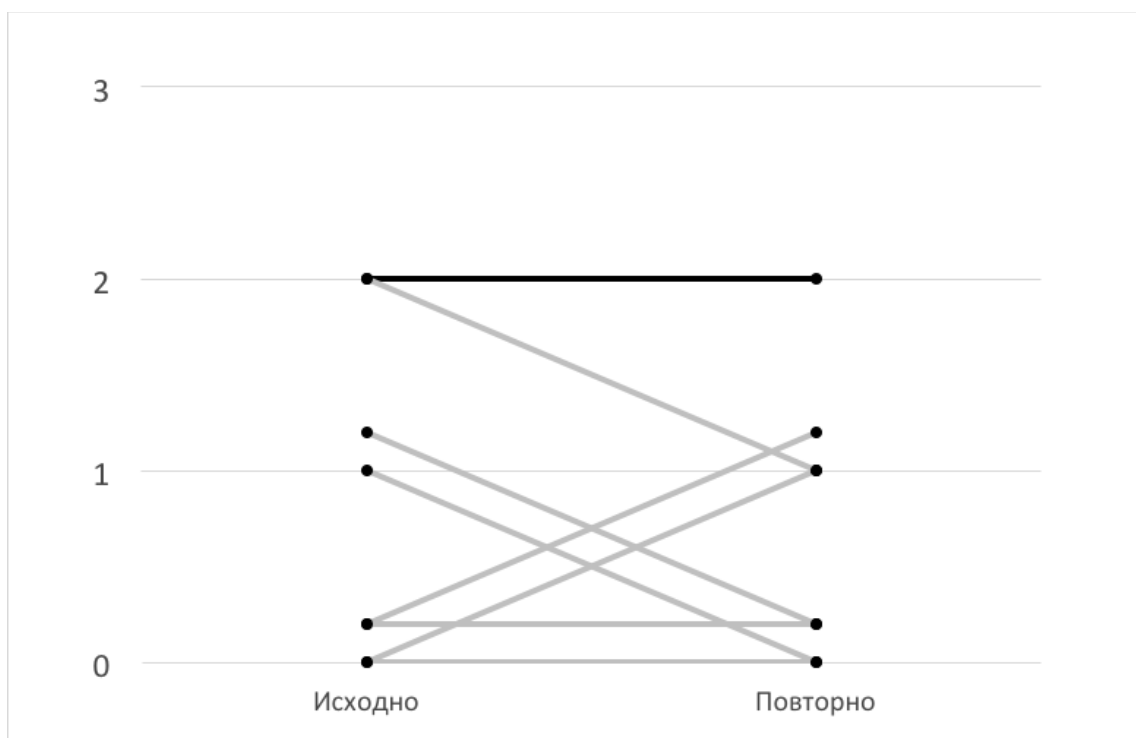


Рис. 62. Изменение количества патологических продромальных маркеров БП в контрольной группе при динамическом наблюдении.

Анализ MANOVA с повторными измерениями показал статистически значимое различие при сравнении двух групп в динамике ($p=0,022$).

5.4. Встречаемость патологических маркеров, выявляемых с помощью ЦЗВП, ОКТ и саккадометрии, в группе риска

Кроме продромальных маркеров в группе риска нами исследовались также другие патологические маркеры, показавшие различную диагностическую значимость при БП. Исследовались удлинение латентности Р100 на зелено-черный паттерн по ЦЗВП (≥ 110 мс), истончение СНВС в нижнем квадранте по ОКТ (≤ 116 мкм) и увеличение длительности саккадических движений по саккадометрии (≥ 110 мс).

По ЦЗВП у 32 обследованных медиана и квартили составили 108 [102,5; 113] мс. По ОКТ у 20 обследованных – 120 [111; 131,5] мкм. По саккадометрии у 26 обследованных – 117 [95; 121,5] мс.

Как видно из таблицы 36, в группе риска БП встречаемость патологических маркеров зрения была статистически значимо меньше по сравнению с группой пациентов с БП, что, впрочем, вполне ожидаемо ($p(F) < 0,05$). При сравнении с контрольной группой группа риска БП отличалась только встречаемостью патологического маркера по саккадометрии ($p(F) < 0,05$), но не по ЦЗВП или ОКТ.

Табл. 36

Встречаемость патологических маркеров зрения в группе риска, в группе БП и в контрольной группе.

Методы исследования	Группа БП	Группа риска	Контрольная группа
ЦЗВП, % (N)	90,5% (19/21)*	28,1% (9/32)	39,7% (23/58)
ОКТ, % (N)	70,8% (17/24)*	40% (8/20)	30% (6/20)
Саккадометрия, % (N)	87,5% (14/16)*	50% (13/26)	4,3% (1/23)*

ЦЗВП – цветовые зрительные вызванные потенциалы. ОКТ – оптическая когерентная томография. * – $p < 0,05$, статистически значимое различие с группой риска.

Рассматривая связи патологических маркеров ЦЗВП, ОКТ и саккадометрии между собой, мы выявили взаимосвязь («сцепленность») между маркерами ЦЗВП

и ОКТ (табл. 37). Патологические маркеры зрения с «незрительными» продромальными маркерами (обонянием, РПБДГ, депрессией, констипацией, паркинсонизмом) не коррелировали (табл. 37).

Табл. 37

Взаимосвязь патологических биомаркеров БП в группе риска (р-значения в матрице попарных сравнений).

Маркеры БП	ЦЗВП	ОКТ	Саккадометрия
РПБДГ	0,586	0,694	0,455
Гипосмия	0,454	0,675	0,446
Депрессия	0,169	0,325	0,388
Констипация	0,480	0,694	0,545
Паркинсонизм	0,459	0,113	0,500
ЦЗВП	-	0,0048*	0,449
ОКТ	-	-	0,622

* – статистически значимый результат ($p < 0,05$).

5.5. Группа риска болезни Паркинсона. Обсуждение результатов

На сегодняшний день нет единой общепризнанной модели развития БП. Остаются открытыми десятки вопросов, и в первую очередь два ключевых: 1) Каковы временные и топографические характеристики распространения нейродегенеративного процесса? 2) Какова связь нейродегенерации с клиническими и суррогатными биомаркерами, с их появлением, развитием, характеристиками? Если для клинической стадии БП есть четкая точка отсчета – это постановка диагноза, и относительно нее описаны различные клинические формы заболевания, характер их течения, сопровождающие их немоторные симптомы, характер изменения некоторых суррогатных биомаркеров и т.д., то для продромальной стадии практически ничего из этого не известно.

Полученные в данной работе результаты направлены на подбор и систематизацию значимых факторов риска и продромальных маркеров, ассоциированных с БП, которые помогли бы разработать оптимальный алгоритм выявления лиц с высоким риском развития заболевания, то есть пациентов с предположительно продромальной стадией. В качестве фиксированных «первичных» параметров были выбраны два ведущих фактора риска БП – феномен ГЧС и наличие мутации в одном из генов паркинсонизма. На сегодняшний день они являются наиболее изученными, общепризнанными и не подвержены изменениям во времени.

В данной работе были исследованы мутации, наиболее значимые в молекулярной структуре БП - мутации в генах *LRRK2*, *PARK2* и *GBA*. Для каждой из них описаны встречаемость в общей популяции и среди больных с БП, доказана их патогенетическая значимость, рассчитана пенетрантность [Anheim M et al., 2012; Klein C. et al., 2007]. В связи с этим наличие таких мутаций было отобрано в качестве одной из отправных точек. Мутации в гене *LRRK2* были взяты за отправную точку также в исследовании ASAP (Clinical evaluation of Asymptomatic G2019S *LRRK2*-related Parkinson's disease expression), которое началось в 2010 году. В этом исследовании асимптомные носители мутации обследуются в динамике на

предмет гипосмии, нарушений поведения в REM-фазе сна, депрессии, констипации, а также дофаминергического дефицита в нигростриатной системе по данным ОФЭКТ. Последние результаты исследования показали, что конверсия в БП среди асимптомных носителей *LRRK2* в возрасте 64 лет составила 12% в течение 4х лет [Sierra M. et al., 2017]. Еще в одном исследовании асимптомных носителей *GBA* спустя 2 года было показано ухудшение обоняния, усугубление депрессии, РПБДГ, когнитивных и моторных нарушений по соответствующим шкалам [Beavan M. et al., 2015].

В данном исследовании мы не стали ограничиваться только асимптомными носителями мутаций, то есть родственниками больных, так как случаи семейного паркинсонизма встречаются не более чем в 10% БП. Мы воспользовались второй отправной характеристикой для формирования группы риска – феноменом ГЧС, который среди больных БП встречается в 90–95%, а среди здоровых – лишь в 10–14% [Berg D. et al., 2008; Walter U., Behnke S. et al., 2007; Li D.-H. et al., 2016]. ГЧС ассоциирована со специфичными для БП немоторными симптомами, не меняется в процессе течения заболевания и отражает повышенное содержание железа в области черной субстанции как признаков «готовности» нигральных нейронов к дегенерации паркинсонического типа [Berg D. et al., 2008; Lobsien E. et al., 2012]. В нескольких исследованиях показан субклинический дофаминергический дефицит у носителей ГЧС по данным ПЭТ с F18-флюородопой [Behnke S. et al., 2010]. В 2012 году были представлены первые результаты исследования PRIPS (Prospective validation of Risk factors for the development of Parkinson Syndrome) с числом участников свыше 1800, где было показано, что для носителей ГЧС относительный риск развития БП за три года доказательно высок и составляет 17,4 [Berg D. et al., 2013]. При комбинации ГЧС с гипосмией и легкими двигательными изменениями по моторной подшкале UPDRS относительный риск может достигать 48,4 [Berg D., 2012]. Полученные результаты указывают на хороший диагностический потенциал ГЧС для идентификации лиц с продромальной стадией, а также на увеличение диагностической значимости ГЧС в случае комбинации данного феномена с другими биомаркерами, что и было применено в нашем исследовании.

В настоящей работе на втором этапе нами применялся комплекс методов обследования, направленный на выявление ряда продромальных маркеров БП – гипосмии, РПБДГ, депрессии, констипации, легкой паркинсонической симптоматики.

Среди основных премоторных проявлений БП на сегодняшний день широко обсуждается *гипосмия*, встречающаяся в 80% случаев манифестировавшей БП и в трети случаев на продромальной додиагностической стадии БП по анамнестическим данным [Herting V. et al., 2008; Ponsen M.M. et al., 2009; Chen H. et al., 2015]. Несмотря на хорошую прогностическую значимость маркера, специфичность гипосмии не высока, так как она может предшествовать не только БП и деменции с тельцами Леви, но и болезни Альцгеймера. Снижение обоняния объясняется патоморфологическими исследованиями, в которых показано, что обонятельные луковицы поражаются на начальных стадиях еще до вовлечения черной субстанции в процесс нейродегенерации [Braak H. et al., 2003; Duda J.E., 2010]. Гипосмия была взята за основной премоторный биомаркер БП в исследовании PARS (Parkinson Associated Risk Syndrome), промежуточные результаты которого опубликованы в 2012 году [Siderowf A. et al., 2012]. Гипосмия была выявлена у 13% из 5 тысяч человек без диагноза БП, заполнивших тест на обоняние по почте. Было показано, что гипосмию часто сопровождают другие немоторные проявления БП – депрессия, тревога, констипация, легкие двигательные паркинсонические знаки. По результатам исследования PARS, опубликованного в 2017 году, среди лиц с гипосмией спустя 4 года конверсия в БП составила 67% при патологических находках на ОФЭКТ и 2,8% без таковых [Jennings D. et al., 2017]. Несмотря на столь высокую конверсию, этот подход к проведению скрининга имеет свои ограничения, так как считается, что гипосмия опережает моторную симптоматику не более чем на 4–7 лет [Postuma R.B. et al., 2011]. В упомянутом ранее исследовании PRIPS относительный риск развития БП среди лиц с гипосмией за три года составил 3,9 – что в 4 раза меньше по сравнению с ГЧС [Berg D. et al., 2012]. Возможно, это указывает на то, что ольфактометрию

стоит применять не как биомаркер первой линии, а как биомаркер динамического наблюдения, отражающий относительно скорое развитие моторной симптоматики.

По результатам данной работы гипосмия встречалась в 37,8% случаев в общей группе риска и статистически значимо превышала встречаемость гипосмия среди лиц контрольной группы – 9,5% (из всех продромальных биомаркеров только гипосмия показала статистически значимое различие). Повышенная частота встречаемости говорит о диагностической важности самого биомаркера и, с другой стороны, о правильности подхода к формированию группы риска на основании лиц с ГЧС и лиц с известными паркинсоническими мутациями.

Несколькими исследованиями было показано, что около 90% пациентов с *расстройством поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз* (РПБДГ), подтвержденным полисомнографией, заболевают различными вариантами синуклеинопатий: БП, деменцией с тельцами Леви, мультисистемной атрофией. В среднем период от начала нарушений поведения в REM-фазу сна до БП составляет около 13 лет (в некоторых случаях более 20–25 лет). В общей популяции встречаемость REM-нарушений мала и составляет по некоторым данным 1–1,5%. При очень высокой специфичности данного маркера чувствительность его для диагностики продромальной стадии БП не столь высока, так как только у трети больных с ранней стадией БП выявляются нарушения в REM-фазу сна [Postuma R.V., Berg D., 2016].

По результатам выполненной работы встречаемость РПБДГ в контрольной группе составила 9,5%, что существенно выше приведенных цифр. Вероятно, это связано с использованием опросников (с небольшой специфичностью), а не полисомнографии. Известно, что чувствительность и специфичность опросника РПБДГ (при разграничительном значении 5 баллов) составляет 96% и 56%, а опросника с одним вопросом – 94% и 87%; по мнению ряда исследователей, повышению диагностической точности и исключению ложноположительных / ложноотрицательных результатов способствует совместное использование опросников [Louis E.K. et al., 2017]. Кроме того, как и в некоторых других исследованиях, в работе также было использовано меньшее разграничительное

значение – 4 балла [Ляшенко Е.А. с соавт., 2014]. При конфликтующих результатах по опросникам в четырех случаях проводилась полисомнография, и в двух из этих случаев РПБДГ не было подтверждено. При этом встречаемость РПБДГ в группе риска составила 18,9%, что в 2 раза превышает таковую в контрольной группе, но различие статистической значимости не достигло.

Известно, что *депрессия* является проявлением дегенерации голубоватого пятна и ядер шва. Депрессия среди пациентов с БП отмечается как до, так и после диагноза БП примерно у четверти больных. Период от признаков депрессии до диагноза «БП» разнится в нескольких исследованиях: от 3 лет до 15–25 лет. Депрессии часто сопутствует тревога, которая тоже может быть использована в качестве продромального маркера. Риск развития БП среди лиц с депрессией в 2–3 раза выше, чем без нее [Левин О.С., 2006; Elbaz A., 2016].

В данном исследовании депрессия также практически в два раза чаще встречалась в группе риска по сравнению с контрольной группой – 37,8% и 19,1%, соответственно, что еще раз подчеркивает определенную сегрегацию патологических маркеров БП в группе риска.

Констипация связана с дегенерацией нервных сплетений в подслизистой кишке и дорсального двигательного ядра IX/X нервов. 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 [Abbott R.D., et al., 2001; Chen H. et al., 2015]. Риск развития БП среди лиц с констипацией в 3 раза выше, чем без нее. Однако специфичность данного маркера не столь высока, что объясняется множеством других причин развития констипации с возрастом [Mahlknecht P. et al., 2015].

Процент встречаемости констипации примерно был одинаков как для контрольной группы (19,1%), так и для группы риска (21,6%). Статистически значимое превышение встречаемости данного маркера среди носителей ГЧС (31,8%) по сравнению с носителями мутаций (6,7%) возможно отражает возрастные различия между группами, так как подгруппы статистически значимо различались

по возрасту, и носители ГЧС были старше носителей мутаций.

Моторные проявления БП также начинаются исподволь. За несколько лет до диагноза у больных могут отмечаться легкий ахейрокинез, изменения походки, скованность, тремор, гипокинезия [Maetzler W., Hausdorff J.M., 2012]. Однако *легкая паркинсоническая симптоматика* (mild parkinsonian signs) встречается достаточно часто – у 40% лиц пожилого возраста [Louis E.D., 2007]. При этом показано, что данная симптоматика ассоциирована с риском развития БП. Так в исследовании лиц с РПБДГ паркинсоническая симптоматика предшествовала диагнозу БП за 6–9 лет [Postuma R. V., Aarsland D. et al., 2012]. Паркинсонические знаки также встречались у асимптомных носителей мутаций *LRRK2* [Mirelman A., et al., 2011]. До настоящего времени не установлены наиболее оптимальные методы оценки, а также границы между нормой и значимыми минимальными паркинсоническими симптомами, чаще всего применяется разграничительное значение – 2 балла по моторной подшкале UPDRS [Louis E.D., Bennett D.A., 2007]. В исследовании PRIPS даже для одного балла и более по моторной подшкале UPDRS относительный риск развития БП составил 5,7 [Berg D. et al., 2012].

В контрольной группе по нашим данным встречаемость легкой паркинсонической симптоматики составила 9,5%, а в группе риска – 29,7%, несмотря на почти трехкратное превышение процента в группе риска статистически значимого различия получено не было. При сравнении носителей ГЧС (27,3%) с носителями мутаций (33,3%) легкая паркинсоническая симптоматика встречалась примерно в одинаковом проценте случаев. Здесь стоит отметить, что паркинсоническая симптоматика – не фиксированный биомаркер. Так, например, был выявлен случай легких двигательных нарушений паркинсонического характера у пациентки из группы риска. В этом случае у женщины 43 лет с ГЧС, отягощенным семейным анамнезом и выявленной мутацией H255Q в гене *GBA* при первом обследовании была выявлена легкая гипокинезия и ригидность в левой руке. Субъективно пациентка отмечала короткие и редкие периоды «слабости» в левой руке и «трудности в управлении ею», главным образом, после эмоциональной, умственной или физической нагрузки,

периоды эти беспокоили на протяжении нескольких последних лет. При этом на момент повторного осмотра спустя примерно 2 года (пациентка не вошла в группу динамического наблюдения из-за короткого интервала между обследованиями) гипокинезии в левой руке уже не отмечалось, что еще раз доказывает значительные флуктуации в двигательном статусе и длительные компенсаторные возможности двигательной системы.

Практически у четверти обследуемых из группы риска (24,3%) встречались как минимум 3 патологических продромальных маркера БП, тогда как в контрольной группе таких обследуемых не было (у обследуемых из контрольной группы наблюдалось только 1 или 2 патологических маркера). Полученное различие обосновывает статус «группы риска» у обследованных лиц с ГЧС и носителей мутаций.

Сравнивая диагностические возможности феномена ГЧС и носительства мутации в определении лиц с высоким риском развития БП, представляется, что они могут быть сопоставимы, так как лица с выявленными 3 и более патологическими биомаркерами присутствовали и в группе носителей ГЧС, и в группе носителей мутации. Вероятно, ГЧС и ДНК-диагностику следует рассматривать как взаимодополняющие скрининговые методы.

Примечательно накопление патологических продромальных маркеров БП в группе риска с возрастом. Прямая связь количества патологических маркеров и возраста выявлена в общей группе риска и в подгруппе носителей мутаций. У носителей ГЧС данная корреляция, возможно, не выявлена по причине меньшего разброса значений возраста (от 36 до 66 лет) по сравнению с носителями мутаций (от 25 до 70 лет). В контрольной группе подобных связей выявлено не было.

Тенденция к большей частоте встречаемости патологических биомаркеров среди лиц носителей мутаций в гене *LRRK2* по сравнению с носителями мутаций *PARK2* и *GBA* полностью укладывается в картину аутосомно-доминантного наследования для гена *LRRK2*, аутосомно-рецессивного для гена *PARK2* и статуса «ассоциированного с БП» для гена *GBA*.

Связь депрессии с РПБДГ, депрессии с легкой паркинсонической

симптоматикой подчеркивает топическое распространение патологического процессе на уровне ствола головного мозга, отличного по локализации от гипосмии и констипации [Braak H. et al., 2003].

Кроме продромальных маркеров в работе была исследована встречаемость факторов риска [Noyse A.J. et al., 2012]. В контрольной группе и группе риска она не различалась, вероятно, в виду небольшого объема выборок, недостаточного для выявления различий для факторов риска с небольшой «весовой» значимостью. Факторы риска в дальнейшем были использованы для расчета вероятности продромальной стадии.

Как уже отмечалось, расчет индивидуальной вероятности продромальной стадии позволяет обобщить различные факторы риска и продромальные биомаркеры в зависимости от их «весовых значений» в единое числовое значение, которое, как предполагается, определяет вероятность развития БП у данного индивида в течение ближайших 10 лет. Расчет индивидуальных вероятностей в группе риска и в контрольной группе показал результаты, схожие с теми, что уже были получены при рассмотрении встречаемости продромальных маркеров. В группе риска процент вероятности был статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой. Выявлены 5 обследуемых (13,5%), находящихся предположительно на продромальной стадии БП по критериям, предложенным MDS. Однако данный метод расчета на настоящий момент является дополнительной формой представления результатов. Для подтверждения правильности подхода требуются многолетние (более 10 лет), многоцентровые исследования с постановкой диагноза БП в качестве конечной точки.

Кроме сравнения группы риска с контрольной группой было проведено динамическое наблюдение с достаточно большим интервалом времени между исходным обследованием и повторным – 5–8 лет. В динамике исследовалось изменение количества продромальных маркеров. Как оказалось, с течением времени отмечалось увеличение количества маркеров БП в группе риска, тогда как в контрольной группе их количество существенно не менялось. Полученное различие отсылает к предыдущим результатам о корреляции количества маркеров

с возрастом в группе риска. В группе риска при динамическом наблюдении были выявлено четверо обследуемых, у которых за период наблюдения существенно увеличилось количество продромальных маркеров («группа высокого риска»). При этом в 3 случаях диагностировано РПБДГ: у двоих подтверждено с помощью полисомнографии и у одной – по опроснику RBDSQ 7 баллов и положительных ответ на вопрос RBD1Q. РПБДГ считается крайне специфичным маркером продромальной стадии синуклеинопатий, появляющимся задолго до моторной симптоматики, в связи с чем с большой долей вероятности у данных обследуемых можно ожидать развитие паркинсонизма в будущем. Из четырех выделенных обследуемых у 2 появилась легкая паркинсоническая симптоматика. В одном случае симптоматика была представлена в виде тремора покоя, тоже достаточно специфичного для БП феномена (у этого же пациента диагностирована РПБДГ по полисомнографическому исследованию). В другом случае имел место менее специфичный для БП феномен – асимметричная гипокинезия. Интересно, что у всех четверых диагностирована депрессия по шкале Бека, и только у одного – гипосмия, и у одного – констипация.

В контрольной группе также отмечалось некоторое изменение за счет практически всех маркеров, включая «обратные» изменения, в том числе легкой паркинсонической симптоматики – отсутствие при повторном осмотре первоначально выявляемой асимметричной гипокинезии, что еще раз подчеркивает достаточную вариабельность данного биомаркера.

При исследовании дополнительных патологических маркеров зрения в группе риска – по ЦЗВП, ОКТ и по саккадометрии – встречаемость патологических отклонений, отличная от контрольной группы, была выявлена только по увеличению длительности саккадических движений. По латентности Р100 на зелено-черный паттерн при ЦЗВП и по истончению СНВС в нижнем квадранте при ОКТ группа риска от контрольной группы не отличалась. Это может свидетельствовать либо о небольшой чувствительности методов ЦЗВП и ОКТ, либо о появлении указанных изменений в них позже – ближе к развитию моторной симптоматики. При этом саккадометрия оказалась более значима в выявлении лиц

из группы риска. Однако в «группе высокого риска» только у одного отмечалось удлинение саккад. По этой причине можно косвенно судить, что метод, вероятно, будет иметь ограниченное применение в ранней диагностике БП.

Формально можно вычислить значения показателя отношения правдоподобий (*likelihood ratio*, LR) LR+ и LR- для всех трёх дополнительных методов (для ЦЗВП LR+ = 2,8 и LR- = 0,3; для ОКТ LR+ = 3,1 и LR- = 0,5; для саккадометрии LR+ = 21,5 и LR- = 0,07) и включить их в расчетную формулу по критериям MDS, но здесь вновь встает вопрос об интерпретации получаемых результатов, и, как было отмечено выше, для подтверждения «жизнеспособности» формулы расчета MDS необходимы длительные исследования на больших выборках обследуемых.

Интересна находка связи патологических маркеров ЦЗВП и ОКТ в группе риска: удлинение латентности P100 на зелено-черный паттерн часто сопровождали истончение СНВС в нижнем квадранте. В «группе высокого риска» у одного наблюдалось совпадение патологических маркеров по ЦЗВП и ОКТ. Из 5 пациентов на продромальной стадии по критериям MDS у троих было выполнено оба обследования, из которых у двоих также отмечалось совпадение маркеров по ЦЗВП и ОКТ.

В настоящем исследовании была показана принципиальная возможность выявления лиц с несколькими биомаркерами БП, которые предположительно находятся в продромальной стадии БП.

Среди клинически здоровых носителей факторов риска БП (гиперэхогенности черной субстанции и паркинсонических мутаций) встречаемость продромальных маркеров заболевания (прежде всего гипосмии) оказалась выше по сравнению с сопоставимой группой лиц без факторов риска. С течением времени и с возрастом количество продромальных маркеров у лиц в группе риска по БП увеличивается. Этот факт, а также выявленная в работе взаимосвязь продромальных маркеров между собой, подтверждают возможность объективизации латентной (продромальной) стадии нейродегенеративного

процесса и реализации предложенной в работе стратегии популяционного скрининга лиц, предрасположенных к развитию БП.

Сравнение группы риска и контрольной группы по встречаемости патологических биомаркеров, в том числе в динамике, подтвердило целесообразность рассмотрения «обогащенных» выборок для поиска лиц на продромальной стадии БП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведен широкомасштабный анализ генетических аспектов первичного паркинсонизма, оценена диагностическая значимость ряда биомаркеров БП, предложена система скрининга лиц в продромальной стадии БП и проанализированы результаты такого подхода в отобранной группе риска.

Первичный паркинсонизм является генетически гетерогенным заболеванием. В работе подробно исследованы генетические основы первичного паркинсонизма в российской популяции: установлена встречаемость конкретных моногенных форм, изучено влияние различных генов на формирование фенотипа идиопатической БП, оценена возможность выявления генетических форм среди случаев атипичного паркинсонизма, разработана и апробирована NGS-панель из 300 генов на выборке преимущественно ранних и семейных случаев нейродегенеративного паркинсонизма.

По результатам работы показано, что в российской популяции наиболее значимыми (по доле выявленных случаев) являются *GBA*-, *PARK2*- и *LRRK2*-ассоциированные формы генетического паркинсонизма, описаны также отдельные случаи мутаций в генах *SNCA* и *PINK1*. Суммарно выявляемость генетических форм БП в российской популяции достигает 19,4%. Для каждой генетической формы в работе приведены описания характерной клинической картины. В целом, в представленных случаях характеристики генетических форм согласуются с фенотипическими особенностями, установленными в аналогичных зарубежных исследованиях. Отмечена варьирующая экспрессивность мутаций одного и того же гена у разных пациентов, проявляющаяся в различной тяжести фенотипических проявлений заболевания, что наиболее рельефно показано на примере *GBA*-ассоциированного паркинсонизма.

В большинстве случаев идиопатической БП предрасположенность к развитию болезни определяет не один ген, а несколько генов (комбинация аллелей риска). В

связи с этим в российской популяции исследованы ассоциации БП с полиморфизмами генов, которые предположительно могут быть связаны с этим полигенным заболеванием. Проведены ассоциативные исследования для 6 генов: *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1*, *LINGO1*, *LINGO2*. Подтверждена значимость в формировании риска БП длинного аллеля *SNCA*-Rep1-263, который, однако, не приводит к какой-либо модификации клинической картины. Показано, что «промежуточные» экспансии микросателлитных повторов в генах *ATXN2* и *FMR1* могут участвовать в развитии БП и предрасполагать к некоторым фенотипическим особенностям. Для российской популяции не доказана связь «промежуточной» экспансии гексануклеотидных повторов в гене *C9orf72* с БП, несмотря на статистическую тенденцию в расчетах частот встречаемости аллелей. Также не подтверждена связь генов семейства *LINGO1* со случаями БП, которые, согласно исследованиям в других популяциях, могут быть ассоциированы с ЭТ и БП. Исследованные полиморфизмы генов могут в российской популяции в несколько раз увеличивать риск развития заболевания: экспансия тринуклеотидных повторов в гене *FMR1* – в 5,4, экспансия тринуклеотидных повторов в гене *ATXN2* – в 2,9, длинный аллель *SNCA*-Rep1-263 – в 1,7 раз.

В работе исследован вопрос о вкладе указанных генов и о возможности выявления соответствующих генетических форм среди случаев атипичного паркинсонизма. При синуклеинопатиях (ДТЛ и МСА) проводился поиск мутаций в генах моногенного паркинсонизма. В частности, среди случаев ДТЛ найден носитель мутации *GBA*, что косвенно подтверждает близость патогенетических механизмов единство ДТЛ и БП. Среди случаев МСА выявлен носитель дубликации гена *SNCA*: данный пример клинически представляет собой «промежуточный» фенотип между БП и МСА, что является показательной иллюстрацией общего континуума и концепции «синуклеинопатий». Для таупатий (КБС и ПНП) показана высокая частота встречаемости H1-гаплотипа гена *MAPT*, кодирующего тау-белок, что свидетельствует о центральной роли данного гена при этих нейродегенеративных заболеваниях. Среди случаев КБС выявлен носитель

мутации в гене *MAPT* с особенной клинической картиной – первичной прогрессирующей апраксией речи, трансформируемой в кортико-базальный синдром. Пример показателен тем, что широкая фенотипическая гетерогенность может иметь место в рамках реализации одной генетической мутации.

Проведена разработка панели из 300 генов нейродегенеративной патологии для секвенирования нового поколения (NGS). Показана высокая эффективность подхода NGS для диагностики сложных случаев паркинсонизма (преимущественно ранних и семейных по выборке). Практически в половине случаев (46,2%) удалось выявить варианты нуклеотидной последовательности, которые классифицируются как не доброкачественные и каузально связаны с фенотипом, то есть с большой долей вероятности обуславливающие развитие данного патологического фенотипа. Разрешенные трудности в интерпретации результатов приведены в работе, но окончательные рекомендации для мультифакторных заболеваний еще ожидают своего обсуждения экспертным сообществом.

Исходя из полученных результатов, предложена конкретная очередность выполнения процедур ДНК-диагностики для случаев первичного паркинсонизма (алгоритм), построенная с учетом соответствия фенотипа, частот встречаемости мутаций и доступности молекулярно-генетических методов.

Вторая часть работы посвящена исследованию биомаркеров БП, которые важны с двух точек зрения: они могут использоваться для диагностических целей и для понимания патофизиологических механизмов развития заболевания. В работе для выявления и валидации характерных для БП биомаркеров был использован целый ряд специальных инструментальных методов исследования: транскраниальная сонография, ольфактометрия, цветовые зрительные вызванные потенциалы, оптическая когерентная томография, саккадометрия, полисомнография. При ранжировании диагностической точности изученных методов для выявления случаев БП наиболее значимыми оказались ТКС и ольфактометрии, далее – ЦЗВП, а ОКТ при этом показала наименьшую значимость. Саккадометрия и полисомнографии использовались в группе риска БП

для диагностики глазодвигательных нарушений и расстройств поведения в фазу быстрого сна, соответственно.

При ЦЗВП из всех цветовых паттернов наиболее показательным для БП оказался зелено-черный контраст. А именно: латентность пика P100 на данный реверсивный паттерн с разграничительным значением 110 мс является характерной особенностью заболевания уже на ранних стадиях, до назначения противопаркинсонической терапии. Показано, что с возрастом, а также с длительностью заболевания и с увеличением доз препаратов отмечаются увеличение латентностей и снижение амплитуд на ряд цветовых реверсивных паттернов. Полученные данные отражают системность вовлечения в патологический нейродегенеративный процесс при БП разных отделов церебральной оси, помимо собственно экстрапирамидных образований. В данном случае показана вовлеченность зрительной системы, подобно вовлеченности обонятельного анализатора, обнаруживаемой при БП с помощью ольфактометрии.

При ОКТ наиболее значимым для БП биомаркером оказалась толщина слоя нервных волокон сетчатки в нижнем квадранте с разделительным значением 116 мкм. Показано также возрастное истончение данного слоя сетчатки. Структурные атрофические изменения сетчатки при БП дополняют полученные функциональные изменения зрительной системы, тем самым подтверждая системность патологии и обнаруживая нейродегенеративные процессы за пределами черной субстанции.

При ТКС исследовалась стабильность при БП ключевого нейровизуализационного биомаркера – ГЧС – с течением времени, в процессе прогрессирования заболевания. За 5-летний (как минимум) интервал времени у пациентов с моторной стадией БП площадь ГЧС не менялась, при этом наблюдались диффузные атрофические изменения головного мозга в виде расширения желудочковой системы. То есть структурные изменения, предположительно связанные с отложением железа в проекции черной субстанции, не могут быть использованы для мониторинга прогрессирования

патологического процесса на моторной стадии заболевания, но, вероятно, наблюдаются уже на премоторных стадиях, определяя «предуготованность» нигральных нейронов к дегенерации. Экстраполируя полученные в клинической фазе БП данные на самые ранние стадии, можно полагать, что, благодаря стабильности во времени, ГЧС может использоваться в качестве отправной точки для формирования группы риска БП с последующей диагностикой продромальной стадии.

Диагностика продромальной стадии БП является ключом к разработке превентивной терапии. Только корректные принципы формирования группы риска и доказанная верификация продромальной стадии позволят в будущем провести клинические исследования эффективности нейропротекторной, превентивной терапии БП. На сегодняшний день, к сожалению, ни у одного из биомаркеров нет 100%-ной диагностической точности в определении продромальной стадии БП; поэтому представляется, что только совокупность биомаркеров позволит ее решить эту сложнейшую задачу. Вопросы наиболее рациональной комбинации биомаркеров и последовательности их применения только начинают изучаться.

В данной работе был апробирован подход к диагностике продромальной стадии БП по наличию двух исходных характеристик, являющихся общепризнанными в формировании риска БП – либо по наличию «паркинсонической» мутации, либо по наличию ГЧС. Поиск носителей мутаций осуществлялся среди родственников пациентов с БП, тогда как поиск носителей ГЧС проводился при скрининге популяционной выборки. Оба подхода показали хорошие результаты в выявлении лиц с «высоким» риском развития БП (в целом, как нами показано, эти два подхода являются взаимодополняющими).

По результатам исследования в общей группе риска БП при сравнении с контрольной группой обнаружена повышена частота встречаемости продромальных биомаркеров: гипосмии, депрессии, нарушений поведения в REM-фазу сна, констипации, легких признаков паркинсонизма. В группе риска (но не в контрольной группе) выделялись обследуемые с тремя и более продромальными

биомаркерами (условно подгруппа «высокого» риска БП). То есть именно в группе риска возможно было выявление лиц с «большой нагруженностью» продромальными маркерами БП.

Показана прямая корреляционная связь между количеством продромальных биомаркеров и возрастом, а также увеличение их количества при наблюдении группы риска в динамике. Это говорит о том, что наблюдается определенное накопление биомаркеров с течением времени у лиц с предрасположенностью к БП.

Выявлены взаимосвязи между патологическими биомаркерами: между депрессией и паркинсонизмом, депрессией и нарушением поведения в REM-фазу сна, а также между снижением скорости проведения по ЦЗВП и истончением сетчатки по ОКТ. Полученные связи указывают на то, что существует определенная «сцепленность» ряда биомаркеров между собой, в том числе, по топическому распространению нейродегенеративного процесса.

Расчет вероятности продромальной стадии по критериям MDS (впервые осуществленный применительно к российской популяции) показал, что при таком подходе и среди носителей мутаций, и среди носителей ГЧС (но не в контрольной группе) встречаются лица на продромальной стадии БП. Таким образом, была продемонстрирована принципиальная возможность выявления лиц на предположительно продромальной стадии БП с использованием разработанного нами скринингового подхода. Для формулирования дальнейших детальных рекомендаций с целью практического применения данного подхода необходимы продолжительные, широкомасштабные исследования с мультицентровым дизайном.

ВЫВОДЫ

1. Клиническая гетерогенность первичного паркинсонизма определяется разнообразием мутаций в большом числе генов. Генетическая структура болезни Паркинсона в российской популяции, изученной на примере большой невыборочной серии пациентов, представлена формами с мутациями в генах *GBA* (11,6% всех изученных случаев), *LRRK2* (4,6%), *PARK2* (2,6%), *SNCA* (0,3%) и *PINK1* (0,3%), для ряда из которых в работе представлена развернутая клиническая характеристика.
2. Ассоциативные исследования в российской популяции установили связь болезни Паркинсона с кандидатными микросателлитными полиморфными «вариантами риска» в генах *SNCA*, *ATXN2*, *FMRI*. В отличие от ряда других исследованных популяций, для российских пациентов с болезнью Паркинсона не выявлена ассоциация с промежуточной экспансией гексануклеотидных повторов гена *C9orf72* и однонуклеотидными полиморфизмами генов *LINGO1* и *LINGO2*.
3. Синдромы атипичного паркинсонизма в российской популяции отличаются от группы первичного паркинсонизма по своим генетическим характеристикам и лишь в единичных случаях могут быть обусловлены мутациями *SNCA* и *GBA*. При прогрессирующем надъядерном параличе и кортико-базальном синдроме у российских пациентов наблюдается повышенная частота встречаемости гаплотипа H1 гена *MAPT*.
4. Для болезни Паркинсона характерно раннее вовлечение в патологический процесс зрительной системы, что может быть объективизировано с помощью цветовых зрительных вызванных потенциалов и оптической когерентной томографии. Тесная корреляция параметров цветовых зрительных вызванных потенциалов с рядом ключевых клинических характеристик (возраст начала,

форма заболевания, суточная потребность в леводопе и др.) косвенно свидетельствует о системности развивающегося в организме дофаминергического дефицита у пациентов с болезнью Паркинсона.

5. Наиболее характерными маркерами зрительной дисфункции при болезни Паркинсона, особенно на ранних стадиях заболевания до медикаментозной коррекции, являются увеличенная латентность пика Р100 на зелено-черный контраст, а также истончение слоя нервных волокон сетчатки в нижнем квадранте перипапиллярной области.
6. Гиперэхогенность черной субстанции, выявляемая с помощью транскраниальной сонографии, является стабильным биомаркером болезни Паркинсона, характеристика которого (площадь гиперэхогенного сигнала) не меняется на протяжении, как минимум, 5-летнего периода наблюдения. Это позволяет использовать данный биомаркер как для диагностики болезни Паркинсона на любых стадиях, так и в качестве основы для формирования группы риска.
7. Среди клинически здоровых носителей факторов риска болезни Паркинсона (гиперэхогенности черной субстанции и паркинсонических мутаций) встречаемость продромальных маркеров заболевания (прежде всего гипосмии) выше по сравнению с сопоставимой группой лиц без факторов риска.
8. С течением времени и с возрастом количество продромальных маркеров у лиц в группе риска по болезни Паркинсона увеличивается. Этот факт, а также выявленная в работе взаимосвязь продромальных маркеров между собой, подтверждают возможность объективизации латентной (продромальной) стадии нейродегенеративного процесса и реализации предложенной в работе стратегии популяционного скрининга лиц, предрасположенных к развитию болезни Паркинсона.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Поиск мутаций в генах первичного паркинсонизма целесообразно проводить с помощью метода MLPA в качестве наиболее оптимального скринингового подхода для ДНК-диагностики при данном фенотипе. Параллельно рекомендован скрининг на мажорные мутации гена *GBA* (N370S, L444P, T369M).
2. Вторым этапом ДНК-диагностики при неустановленном молекулярно-генетическом диагнозе возможно применение панельного секвенирования нового поколения. NGS-формат секвенирования с применением разработанной нами диагностической панели для 300 генов нейродегенеративных заболеваний наиболее оправдан для определения молекулярного диагноза наиболее сложных случаев паркинсонизма, особенно ранних и семейных форм, а также при комплексных и «смежных» фенотипах заболевания..
3. Объективную оценку зрительной дисфункции при БП позволяют проводить цветовые зрительные вызванные потенциалы, исследующие длительность латентного периода пика P100 на зелено-черный контрастный паттерн.
4. Клинически здоровым лицам, находящимся в группе риска по болезни Паркинсона (носители гиперэкхогенности черной субстанции и мутаций в паркинсонических генах), может быть рекомендовано тщательное динамическое наблюдение с периодической повторной оценкой продромальных маркеров для своевременной диагностики моторной стадии заболевания и максимально раннего назначения симптоматической и, в будущем, патогенетической терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- БАС** – боковой амиотрофический склероз
- БП** – болезнь Паркинсона
- ГЧС** – гиперэхогенность черной субстанции
- ДИ** – доверительный интервал
- ДНК** – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДТЛ** – деменция с тельцами Леви
- КБД** – кортико-базальная дегенерация
- КБС** – кортико-базальный синдром
- МСА** – мультисистемная атрофия
- МРТ** – магнитно-резонансная томография
- ОКТ** – оптическая когерентная томография
- ОФЭКТ** – однофотонная эмиссионная компьютерная томография
- ОШ** – отношение шансов
- п.н.** – пар нуклеотидов
- ПДРФ** - анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов
- ПНП** – прогрессирующий надъядерный паралич
- ПЦР** - полимеразная цепная реакция
- ПЦР-РВ** – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
- ПЭТ** – позитронно-эмиссионная томография
- РНК** – рибонуклеиновая кислота
- РП-ПЦР** - полимеразная цепная реакция с праймерами, специфичными к повторам
- РПБДГ** – расстройство поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз
- СНВС** – слой нервных волокон сетчатки
- СЦА2** – спиноцеребеллярная атаксия 2 типа
- ТКС** – транскраниальная сонография
- УЗ** – ультразвук

ЦЗВП – цветовые зрительные вызванные потенциалы

ЦНС – центральная нервная система

ЭТ – эссенциальный тремор

CNV (copy number variations) – крупные делеции/инсерции

GWAS - полногеномные ассоциативные исследования

LR (likelihood ratio) - отношение правдоподобия

MAF (minor allele frequency) – частота встречаемости минорного аллеля

MDS (International Parkinson and Movement Disorder Society) – Международное общество по болезни Паркинсона и расстройствам движения

MLPA - мультиплексная пробо-зависимая лигандозная реакция

MPS - массовое параллельное секвенирование

NGS (next generation sequencing) - секвенирование нового поколения

NMSQ (Non-motor symptoms questionnaire) - опросник немоторных симптомов болезни Паркинсона

p(F) – уровень статистической значимости при точном критерии Фишера

p(U) – уровень статистической значимости при тесте Манна-Уитни

p(W) – уровень статистической значимости при тесте Уилкоксона

p(χ^2) – уровень статистической значимости при тесте хи-квадрат (в том числе с поправкой Йетса при необходимости)

RBD1Q (RBD Single Question) - тест из одного вопроса для выявления расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз

RBDSQ (REM sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire) - скрининговый опросник на наличие расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз

UPDRS (Unified Parkinson's disease rating scale) – унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева, Н.С. Нарушения обоняния при болезни Паркинсона / Алексеева Н.С., Иллариошкин С.Н., Пономарева Т.А. с соавт. // Неврол. журн. - 2012. - №1. - С.10-14.
2. Амосова, Н.А. Нарушения сна на ранней стадии болезни Паркинсона у пациентов, не принимающих противопаркинсонические препараты / Амосова Н.А., Смоленцева И.Г., Гусейнова П.М. с соавт. // Журн. неврол. психиатрии. – 2016. – Т.116. – №6. – С.77-81.
3. Багыева, Г.Х. Клинико-генетический и биохимический анализ болезни Паркинсона: механизмы предрасположенности, экспериментальные модели, подходы к терапии: дис. ... докт. мед. наук. / Багыева Гульбахар Ходжаевна. М., 2009.
4. Базиян, Б.Х. Программно-аппаратный комплекс для изучения координации движений глаз, головы и руки человека / Базиян Б.Х., Дмитриев И.Э. // Журн. высшей нервной деят. им. И.П.Павлова. - 1996. - №2. - С.396-399.
5. Букина, Т.М. Характеристика мутаций гена кислой b-D-глюкозидазы (GBA) среди 68 российских пациентов с болезнью Гоше / Букина Т.М., Цветкова И.В. // Биомедицинская химия. – 2007. – Т.53. - № 5. – С.593-602.
6. Ганькина, О.А. Особенности течения болезни Паркинсона при гетерозиготном носительстве мутаций в гене глюкоцереброзидазы А Ганькина О.А., Васенина Е.Е., Левин О.С. с соавт. // Журн. неврол. психиатр. им. Корсакова. – 2016. - №6. – С. 71-76.
7. Голубев, В.Л. Атипичный паркинсонизм / Голубев В.Л. // Медицинский совет. – 2015. - №10. – С.45-49.
8. Жукова, И.А. Анализ методов оценки обоняния у пациентов с болезнью Паркинсона / Жукова И.А., Жукова Н.Г., Ижболдина О.П. с соавт. // Журн. неврол. психиатрии им. Корсакова. – 2015. – Т.115. - №6. – С.44-49.

9. Иллариошкин, С.Н. Этапы прогрессирования болезни Паркинсона. Что определяет выживаемость и прогноз? / Иллариошкин С.Н. // Вестн. Российской военно-мед. акад. - 2013. - №4 (Прилож. 2). - С.11-13.

10. Иллариошкин, С.Н. Молекулярно-генетическая диагностика заболеваний нервной системы / Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Иванова-Смоленская И.А. // В кн.: Неврология XXI века: диагностические, лечебные и исследовательские технологии. Под ред. М.А. Пирадова, С.Н. Иллариошкина, М.М. Танащян - М.: ООО "АТМО" – 2015. - Т.1 – С.329-362.

11. Иллариошкин, С.Н. Гетерогенность спорадической болезни Паркинсона: молекулярный подход к решению проблемы / Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрин М.И. с соавт. // Анналы клин. и эксперим. неврологии. – 2007. – Т.1. - №1. – С.23-31.

12. Иллариошкин, С.Н. Паркинсонизм с ранним началом / Иллариошкин С.Н. // Атмосфера. Нервные болезни. - 2006. - № 3. - С. 14-20.

13. Катунина, Е.А. Методы диагностики болезни Паркинсона на ранних стадиях / Катунина Е.А., Титова Н.В., Авакян Г.Н. // Журн. неврол. психиатрии. – 2010. – Т.12. - №1. – С.112-118.

14. Левин, О.С. Диагностика и лечение деменции в клинической практике / Левин О.С. // М.: МЕДпресс-Информ. – 2010. – 256 с.

15. Левин, О.С. Болезнь Паркинсона. / Левин О.С., Федорова Н.В. // 2014. - М. – 384 с.

16. Левин, О.С. Диагностика и лечение депрессии при болезни Паркинсона / Левин О.С. // Атмосфера. Нервные болезни. – 2006. - №2. – С.2-8.

17. Литвиненко, И.В. Болезнь Паркинсона / Литвиненко И.В. // 2010. – М.: Миклош. – 216с.

18. Литвиненко, И.В. Взаимосвязь зрительно-пространственных нарушений при болезни Паркинсона с толщиной сетчатки глаза и коры головного мозга / Литвиненко И.В., Бойко Э.В., Куликов А.Н. с соавт. // Анн. клин. эксперим. неврологии. – 2016. – Т.10. - №2. – С.11-16.

19. Литвиненко, И.В. Нейровизуализация в диагностике нозологических форм паркинсонизма и возможности прогнозирования течения болезни Паркинсона / Литвиненко И.В., Одинак М.М., Труфанов А.Г. с соавт. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движения под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина. – М. - 2011. – С.113-130.
20. Ляшенко, Е.А. Расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз / Ляшенко Е.А., Левин О.С., Полуэктов М.Г. // Эффективная фармакотерапия. – 2014. - №22. – С.58-63.
21. Нодель, М.Р. Синдром нарушения поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз при болезни Паркинсона / Нодель М.Р., Украинцева Ю.В., Яхно Н.Н. // Неврологический журнал. – 2015. – Т.20. - №6. – С. 28-34.
22. Рыжкова, О.П. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) / Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. // Медицинская генетика. – 2017. - №7. – С. 4-17.
23. Федорова, Н.В. Болезнь Паркинсона: диагностика и лечение / Федорова Н.В. // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2016. - №1. С.13-17.
24. Чигалейчик, Л.А. Функциональная организация координированных движений глаз и головы в норме и при болезни Паркинсона: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Чигалейчик Лариса Анатольевна - М.- 2001.
25. Шток, В.Н. Экстрапирамидные расстройства: Руководство по диагностике и лечению / В.Н.Шток, И.А.Иванова-Смоленская, О.С.Левин // М.: МЕДпресс-информ. – 2002. – 608с.
26. Яхно, Н.Н. Ювенильный паркинсонизм / Яхно Н.Н., Павлова А.И., Роговина Е.Г. // Неврол. журн. – 1996. - №2. – С.29-33.
27. Abbott, R.D. Frequency of bowel movements and the future risk of Parkinson's disease / Abbott R.D., Petrovitch H., White L.R. et al. // Neurology. – 2001. – V.57. – P.456–462.

28. Afek, A. Toward deciphering the mechanistic role of variation in the Rep1 repeat site in the transcription regulation of SNCA gene / Afek A., Tagliafierro L., Glenn O.C. et al. // *Neurogenetics*. – 2018. – V.19. – N.3. – P.135-144.
29. Ai, S.X. Hypomethylation of SNCA in blood of patients with sporadic Parkinson's disease / Ai S.X., Xu Q., Hu Y.C. et al. // *J. Neurol. Sci.* – 2014. – V.337. – P.123-128.
30. Alcalay, R.N. Frequency of known mutations in early onset PD: implication for genetic counseling: the CORE-PD study / Alcalay R.N., Caccappolo E., Mejia-Santana H. et al. // *Arch. Neurol.* – 2010. – V.67. – P.1116-1122.
31. Ali, F. Corticobasal degeneration: key emerging issues / Ali F., Josephs K.A. // *J. Neurol.* – 2017. – doi: 10.1007/s00415-017-8644-3.
32. Almeida, S. Modeling key pathological features of frontotemporal dementia with C9ORF72 repeat expansion in iPSC-derived human neurons / Almeida S., Gascon E., Tran H. et al. // *Acta Neuropathol.* – 2013. – V.126. – P.385-399.
33. Anheim, M. Penetrance of Parkinson disease in glucocerebrosidase gene mutation carriers / Anheim M., Elbaz A., Lesage S. et al. // *Neurology*. – 2012. – V.78. – P.417-420.
34. Anor, C.J. Mutation analysis of C9orf72 in patients with corticobasal syndrome / Anor C.J., Xi Z., Zhang M. et al. // *Neurobiol Aging*. – 2015. – V.36. – doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.06.008.
35. Archibald, N.K. Retinal thickness in Parkinson's disease / Archibald N.K., Clarke M.P., Mosimann U.P., Burn D.J. // *Parkinsonism and Related Disorders*. – 2011. – V.17. – P.431-436.
36. Armstrong, M.J. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration / Armstrong M.J., Litvan I., Lang A.E. et al. // *Neurology*. – 2013. – V.80. – P.496-503.
37. Armstrong, R.A. Oculo-visual dysfunction in Parkinson's disease / Armstrong R.A. // *J. Parkinsons Dis.* – 2015. – V.5. – N.4. – P.715-726.
38. Bang, J. Frontotemporal dementia / Bang J., Spina S., Miller B.L. // *Lancet*. – 2015. – V.386. – N.10004. – P.1672-1682.

39. Barbato, L. Color VEPs in Parkinson's disease / Barbato L., Rinalduzzi S., Laurenti M. et al. // *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*. – 1994. – V.92. – P.169-172.
40. Barber, T.R. Prodromal parkinsonism and neurodegenerative risk stratification in REM sleep behavior disorder / Barber T.R., Lawton M., Rolinski M. et al. // *Sleep*. – 2017. - doi: 10.1093/sleep/zsx071
41. Beach, T.G. Phosphorylated a-synuclein-immunoreactive retinal neuronal elements in Parkinson's disease subjects / Beach T.G., Carew J., Serrano G. et al. // *Neurosci. Lett*. – 2014. – V.571. – P.34-38.
42. Beavan, M. Evolution of prodromal clinical markers of Parkinson disease in a glucocerebrosidase mutation positive cohort / Beavan M., McNeill A., Proukakis C. et al. // *JAMA Neurol*. – 2015. – V.72. – N.2. – P.201-208.
43. Beck, A.T. Manual for the Beck Depression Inventory-II / Beck A.T., Steer R.A., Brown R.G. // San Antonio, TX. - Psychological Corporation. – 1996.
44. Becker, G. Neuroimaging in basal ganglia disorders: Perspectives for transcranial ultrasound / Becker G., Berg D. // *Mov. Disord*. – 2001. – V.16. – N.1. – P.23–32.
45. Becker, G. Degeneration of substantia nigra in chronic Parkinson's disease visualized by transcranial color-coded real-time sonography / Becker G., Seufert J., Bogdahn U. et al. // *Neurology*. – 1995. – V.45. – P.182–184.
46. Behnke, S. Does ultrasound disclose a vulnerability factor for Parkinson's disease? / Behnke S., Berg D., Becker G. // *J. Neurol*. – 2003. – V.250. – S.1. – P.24–27.
47. Behnke, S. Substantia nigra echomorphology in the healthy very old: correlation with motor slowing / Behnke S., Double K.L., Duma S. et al. // *Neuroimage*. – 2007. – V.34. – P.1054–1059.
48. Behnke, S. Long-term course of substantia nigra hyperechogenicity in Parkinson's disease / Behnke S., Runkel A., Kassir H.A. et al. // *Mov. Disord*. – 2013. – V.28. – N.4. – P.455-459.

49. Behnke, S. Hyperechogenicity of the substantia nigra in healthy controls is related to MRI changes and to neuronal loss as determined by F-Dopa PET / Behnke S., Schröder U., Dillmann U. et al. // *Neuroimage*. – 2009. – V.47. – P.1237–1243.
50. Behnke, S. Transcranial sonography in the premotor diagnosis of Parkinson's disease / Behnke S., Schroeder U., Berg D. // *Int. Rev. Neurobiol.* - 2010. - V.90. - P.93-106.
51. Benito-Leon, J. Essential tremor: A neurodegenerative disease? / Benito-Leon J. // *Tremor Other Hyperkinet. Mov.* – 2014. – V.4. – P.252.
52. Berardelli, A. EFNS/MDS-ES recommendations for the diagnosis of Parkinson's disease / Berardelli A., Wenning G.K., Antonini A. et al. // *Eur. J. Neurol.* – 2013. – V.20. N.1. – P.16-34.
53. Berg, D. Disturbance of iron metabolism as a contributing factor to SN hyperechogenicity in Parkinson's disease: Implications for idiopathic and monogenetic forms / Berg D. // *Neurochem. Res.* – 2007. – V.32. – P.1646–1654.
54. Berg, D. Hyperechogenicity of the substantia nigra: pitfalls in assessment and specificity for Parkinson's disease / Berg D. // *J. Neural. Transm.* – 2011. – V.118. – P.453–461.
55. Berg, D. Is pre-motor diagnosis possible? – The European experience / Berg D. // *Parkinsonism Relat. Disord.* - 2012. - V.18. - Suppl. - S196-S198.
56. Berg, D. Vulnerability of the nigrostriatal system as detected by transcranial ultrasound / Berg D., Becker G., Zeiler B. et al. // *Neurology*. – 1999. – V.53 (5). – P.1026-1031.
57. Berg, D. The PRIPS study: screening battery for subjects at risk for Parkinson's disease / Berg D., Godau J., Seppi K. et al. // *Eur. J. Neurol.* - 2013. - V.20. - P.102-108.
58. Berg, D. Transcranial sonography in movement disorders / Berg D., Godau J., Walter U. // *Lancet Neurol.* – 2008. – V.7. – P.1044–1055.
59. Berg, D. Echogenicity of substantia nigra determined by transcranial ultrasound correlates with severity of parkinsonian symptoms induced by neuroleptic therapy / Berg D., Jabs B., Merschdorf U. et al. // *Biol. Psychiatry*. – 2001. – V.50. – P.463-467.

60. Berg, D. Defining at-risk populations for Parkinson's disease: Lessons from ongoing studies / Berg D., Marek K., Ross G.W., Poewe W. // *Mov. Disord.* - 2012. - V.27. - P.656-665.
61. Berg, D. Five-year follow-up study of hyperechogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease / Berg D., Merz B., Reiners K. et al. // *Mov. Disord.* - 2005. - V.20. - N.3. - P.383-385.
62. Berg, D. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease / Berg D., Postuma R.B., Adler C.H. et al. // *Mov. Disord.* - 2015. - V.30. - P.1600-1609.
63. Berg, D. Echogenicity of the substantia nigra. Association with increased iron content and marker for susceptibility to nigrostriatal injury / Berg D., Roggendorf W., Schroder U. et al. // *Arch. Neurol.* - 2002. - V.59. - P.999-1005.
64. Berg, D. Type and frequency of mutations in the LRRK2 gene in familial and sporadic Parkinson's disease / Berg D., Schweitzer K.J., Leitner P. et al. // *Brain.* - 2005. - V.128. - P.3000-3011.
65. Berg, D. Enlarged hyperechogenic substantia nigra is related to motor performance and olfaction in the elderly / Berg D., Seppi K., Liepelt I. et al. // *Mov. Disord.* - 2010. - V.25. - P.1464-1469.
66. Berg, D. Echogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease and its relation to clinical findings / Berg D., Siefker C., Becker G. // *J. Neurol.* - 2001. - V.8. - P.684-689.
67. Berg, D. Relationship of substantia nigra echogenicity and motor function in elderly subjects / Berg D., Siefker C., Ruprech-Dorfler P. et al. // *Neurology.* - 2001. - V.56. - P.13-17.
68. Bertrand, J.-A. Color discrimination deficits in Parkinson's disease are related to cognitive impairment and white-matter alterations / Bertrand J.-A., Bedetti C., Postuma R.B. et al. // *Mov. Disord.* - 2012. - V.27. - N.14. - P.1781-1788.
69. Blekher, T. Multiple step pattern as a biomarker in Parkinson disease / Blekher T., Weaver M., Rupp J. et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* - 2009. - V.15. - P.509-510.
70. Bodis-Wollner, I. Foveal vision is impaired in Parkinson's disease / Bodis-Wollner I. // *Parkinsonism Relat. Disord.* - 2013. - V.19. - P.1-14.

71. Bodis-Wollner, I. Alpha-Synuclein in the inner retina in Parkinson disease / Bodis-Wollner I., Kozlowski P.B., Glazman S., Miri S. // *Ann Neurol.* – 2014. – V.75. – P.964–966.
72. Bodis-Wollner, I. Measurements of visual evoked potentials in Parkinson's disease / Bodis-Wollner I., Yahr M.D. // *Brain.* – 1978. – V.101. – N.4. – P.661-671.
73. Boesveldt, S. Comparative study of odor identification and odor discrimination deficits in Parkinson's disease / Boesveldt S., Verbaan D., Knol D.L. et al. // *Mov. Disord.* – 2008. – V.23. – N.14. – P.1984–1990.
74. Boeve, B.F. Arguing against the proposed definition changes of PD / Boeve B.F., Dickson D.W., Duda J.E. et al. // *Mov. Disord.* – 2016. – V.31. – N.11. – P.1619-1622.
75. Boeve, B.F. Pathophysiology of REM sleep behaviour disorder and relevance to neurodegenerative disease / Boeve B.F., Silber M.H., Saper C.B. et al. // *Brain.* – 2007. – V.130. – P.2770-2788.
76. Bohnen, N.I. Color discrimination errors associate with axial motor impairments in Parkinson's disease / Bohnen N.I., Haugen J., Ridder A. et al. // *Mov Disord Clin Pract.* – 2017. – V.4. – N.6. – P.864-869.
77. Bohnen, N.I. Olfactory dysfunction, central cholinergic integrity and cognitive impairment in Parkinson's disease / Bohnen N.I., Mueller M.L.T.M., Kotagal V. et al. // *Brain.* – 2010. – V.133. – P.1747-1754.
78. Botha, H. Classification and clinicoradiologic features of primary progressive aphasia (PPA) and apraxia of speech / Botha H., Duffy J.R., Whitwell J.L. et al. // *Cortex.* – 2015. – V.69. – P.220-236.
79. Braak, H. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease / Braak H., Tredici K.D., Rueb U. et al. // *Neurobiol. Aging.* - 2003. - V.24. - P.197-211.
80. Bras, J. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Portugal / Bras J., Paisan-Ruiz C., Guerreiro R. et al. // *Neurobiol Aging.* – 2009. – V.30. – P.1515–1517.

81. Bras, J.M. Genetic susceptibility in Parkinson's disease / Bras J.M., Singleton A. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V.1792(7). – P.597–603.
82. Bryant, M. A pilot study: Influence of visual cue color on freezing of gait in persons with Parkinson's disease / Bryant M., Rintala D.H., Lai E.C., Protas E.J. // *Disabil Rehabil Assist Technol.* – 2010. – V.5. –N.6. – P.456-461.
83. Buettner, T. Color vision in Parkinson's disease: missing influence of amantadine sulphate / Buettner T., Kuhn W., Mueller T. et al. // *Clin. Neuropharmacol.* – 1995. – V.18. – N.5. – P.486-463.
84. Buettner, T. Distorted color discrimination in 'de novo' parkinsonian patients / Buettner T., Kuhn W., Mueller T. et al. // *Neurology.* – 1995. – V.45. – N.2. – P.386-387.
85. Buettner, T. L-Dopa improve colour vision in Parkinson's disease / Buettner T., Kuhn W., Ptzold T., Przuntek H. // *J. Neural. Transm. Park. Dis. Dement. Sect.* – 1994. – V.7. – N.1. –P.13-19.
86. Caffrey, T.M. Functional MAPT haplotypes: Bridging the gap between genotype and neuropathology / Caffrey T.M., Wade-Martins R. // *Neurobiol. Dis.* – 2007. – V.27. – P.1-10.
87. Calzetti, S. Simultaneous VEP and PERG investigations in early Parkinson's disease / Calzetti S., Franchi A., Taratufolo G., Groppi E. // *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* – 1990. – V.53. – P. 114-117.
88. Cannas, A. C9orf72 intermediate repeat expansion in patients affected by atypical parkinsonian syndromes or Parkinson's disease complicated by psychosis of dementia in a Sardinian population / Cannas A., Solla P., Borghero G. et al. // *J. Neurol.* – 2015. – V.262. – N.11. – P.2498-2503.
89. Chaudhuri, K.R. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management / Chaudhuri K.R., Healy D.G., Schapira A.H.V. // *Lancet Neurol.* – 2006. – V.5. – P.235–245.

90. Chaudhuri, K.R. The metric properties of novel Non-motor symptoms scale for Parkinson's disease: Results from an international pilot study / Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Brown R.G. et al. // *Mov. Disord.* - 2007. - V.22. - P.1901-1911.
91. Chaudhuri, K.R. International multicenter pilot study of the first comprehensive self-completed nonmotor symptoms questionnaire for Parkinson's disease: The NMSQuest study / Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Schapira A.H.V. et al. // *Mov. Disord.* - 2006. - V.21. - N.7. - P.916-923
92. Chaudhuri, K.R. Early Parkinson's disease and non-motor issues / Chaudhuri K.R., Naidu Y. // *J. Neurol.* - 2008. - V.255. - S.5. - P.33-38.
93. Chen, H. Meta-analyses on prevalence of selected Parkinson's non-motor symptoms before and after diagnosis / Chen H., Zhao E.J., Zhang W. et al. // *Transl Neurodegen.* - 2015. - V.4. - P.1-8.
94. Chen, Y. Analysis and meta-analysis of five polymorphisms of the LINGO1 and LINGO2 genes in Parkinson's disease and multiple system atrophy in Chinese population / Chen Y., Cao B., Yang J., et al. // *J. Neurol.* - 2015. - V.262. - N.11. - P.2478-2483.
95. Chiba-Falek, O. Effect of allelic variation at the NACP-Rep1 repeat upstream of the α -synuclein gene (SNCA) on transcription in a cell culture luciferase reporter system / Chiba-Falek O., Nussbaum R.L. // *Hum. Mol. Genet.* - 2001. - V.10. - P.3101-3109.
96. Cook, C. A critical evaluation of the ubiquitin-proteasome system in Parkinson's disease / Cook C., Petrucelli L. // *Biochim. Biophys. Acta.* - 2009. - V.1792(7). - P.664-675.
97. Cooper-Knock, J. C9ORF72 expansions, parkinsonism, and Parkinson disease / Cooper-Knock J., Frolov A., Heighley J.R. et al. // *Neurology.* - 2013. - V.81. - P.808-811.
98. Cooper-Knock, J. The widening spectrum of C9orf72-related disease; genotype/phenotype correlations and potential modifiers of clinical phenotype / Cooper-Knock J., Shaw P.J., Kirby J. // *Acta Neuropathol.* - 2014. - V.127. - P.333-345.

99. Coppola, C. A progranulin mutation associated with cortico-basal syndrome in an Italian family expressing different phenotypes of fronto-temporal lobar degeneration / Coppola C., Rossi G., Barbarulo A.M. et al. // *Neurol Sci.* – 2012. – V.33. – P.93-97.
100. Corti, O. What genetics tells us about the causes and mechanisms of Parkinson's disease / Corti O., Lesage S., Brice A. // *Physiol. Rev.* – 2011. – V.91. – P.1161-1218.
101. Costa, A. Intermediate alleles at the FRAXA and FRAXE loci in Parkinson's disease / Costa A., Gao L., Carrillo F. et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2011. – V.17. – N.4. – P.281-284.
102. Cronin, K.D. Expansion of the Parkinson disease-associated SNCA-Rep1 allele upregulates human α -synuclein in transgenic mouse brain / Cronin K.D., Ge D., Manninger P. et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – V.18. – P.3274-3285.
103. Cubo, E. Lack of association of morphologic and functional retinal changes with motor and non-motor symptoms severity in Parkinson's disease / Cubo E., Pena M.J.L., Varela E.D.-F. et al. // *J Neural Transm.* – 2014. – V.121. – P.139-145.
104. Darvish, H. Detection of copy number changes in genes associated with Parkinson's disease in Iranian patients / Darvish H., Movafagh A., Omrani M.D. et al. // *Neurosci. Lett.* – 2013. – V.551. – P.75-78.
105. Dawson, T.M. The role of Parkin in familial and sporadic Parkinson's disease / Dawson T.M., Dawson V.L. // *Mov. Disord.* – 2010. – V.25. – S.1. – P.32-39.
106. Debrey, S.M. Clinical phenotype of adult Fragile X gray zone allele carriers: a case series / Debrey S.M., Leehey M.A., Klepitskaya O. et al. // *Cerebellum.* – 2016. – V.15. – N.5. – P.623-631.
107. DeJesus-Hernandez, M. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in non-coding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis / DeJesus-Hernandez M., Mackenzie I.R., Boeve B.F. et al. // *Neuron.* – 2011. – V.72. – N.2. – P.245-256.
108. Deng, H. LINGO1 variants in essential tremor and Parkinson's disease / Deng H., Gu S., Jankovic J. // *Acta Neurol Scand.* – 2012. – V.125. – N.1. – P.1-7.

109. Deng, H. The genetics of Parkinson disease / Deng H., Wang P., Jankovic J. // *Ageing Res Rev.* – 2018. - doi: 10.1016/j.arr.2017.12.007.
110. Desplats, P. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of α -synuclein / Desplats P., Lee H.-J., Bae E.-J. et al. // *PNAS.* – 2009. – V.106. – N.31. – P.13010–13015.
111. Devos, D. ERG and anatomical abnormalities suggesting retinopathy in dementia with Lewy bodies / Devos D., Tir M., Maurage C.A. et al. // *Neurology.* – 2005. – V.65. – P.1107-1110.
112. Diederich, N.J. Progressive worsening of spatial and chromatic processing deficits in Parkinson disease / Diederich N.J., Raman R., Leurgans S., Goetz C.G. // *Arch Neurol.* – 2002. – V.59. – P.1249-1252.
113. Doepp, F. Brain parenchyma sonography and 123I-FP-CIT SPECT in Parkinson's disease and essential tremor / Doepp F., Plotkin M., Siegel L. et al // *Mov. Disord.* – 2008. – V.23(3). – P.405–410.
114. Doustar, J. Optical coherence tomography in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disease / Doustar J., Torbati T., Black K.L. et al. // *Front Neurol.* – 2017. – V.8. – P.701. – doi: 10.3389/fneur.2017.00701.
115. Duda, J.E. Olfactory system pathology as a model of Lewy neurodegenerative disease / Duda J.E. // *J. Neurol. Sci.* - 2010. - V.289. - P.49-54.
116. Duran, R. The Glucocerebrosidase E326K variant predisposes to Parkinson's disease, but does not cause Gaucher's disease / Duran R., Mencacci N.E., Angeli A.V. et al. // *Mov. Disord.* – 2013. – V.28. – P.232–236.
117. Elbaz, A. Prodromal symptoms of Parkinson's disease: Implications for epidemiological studies of disease etiology / Elbaz A. // *Rev Neurol (Paris).* – 2016. – V.172. – P.503-511.
118. Emelyanov, A. Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in Russia / Emelyanov A., Boukina T., Yakimovskii A. et al. // *Mov. Disord.* – 2012. – V.27. – N.1. – P. 158-159.

119. Entezari, A. Screening for intermediate CGG alleles of FMR1 gene in male Iranian patients with Parkinsonism / Entezari A., Khaniani M.S., Bahrami T. et al. // *Neurol Sci.* – 2016. – V.38. – N.1. – P.123-128.
120. Erdmann, J. Next generation technology edges genome sequencing toward the clinic / Erdmann J. // *Chem Biol.* – 2011. – V.18. – N.12. – P. 1513-1514.
121. Farrer, M. Alpha-synuclein gene haplotypes are associated with Parkinson's disease / Farrer M., Maraganore D.M., Lockhart P. et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2001. – V.10. – P.1847-1851.
122. Farwell, K.D. Enhances utility of family-centered diagnostic exome sequencing with inheritance model-based analysis: results from 500 unselected families with undiagnosed genetic conditions / Farwell K.D., Shahmirzadi L., El-Khechen D. et al. // *Genet Med.* - 2015. – V.17. – N.7. – P.578-586.
123. Federoff, M. Multiple system atrophy: the application of genetics in understanding etiology / Federoff M., Schottlaender L.V., Houlden H., Singleton A. // *Clin Auton Res.* – 2015. – V.25. – P.19-36.
124. Fereshtehnejad, S.-M. Validation of the MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease: Longitudinal assessment in a REM sleep behavior disorder (RBD) cohort / Fereshtehnejad S.-M., Montplaisir J.Y., Pelletier A. et al. // *Mov Disord.* – 2017. – V.32. – P.865-873.
125. Fogel, B.L. The neurogenetics of atypical parkinsonian disorders / Fogel B.L., Clark M.C., Geschwind D.H. // *Semin Neurol.* – 2014. – V.34. – P. 217-224.
126. Fredenburg, R.A. The impact of the E46K mutation on the properties of alpha-synuclein in its monomeric and oligomeric states / Fredenburg R.A., Rospigliosi C., Meray R.K. et al. // *Biochemistry.* – 2007. – V.46. – P.7107-7118.
127. Fuchs, J. Phenotypic variation in a large Swedish pedigree due to SNCA duplication and triplication / Fuchs J., Nilsson C., Kachergus J. et al. // *Neurology.* – 2007. – V.68. – N.12. – P.916-922.
128. Fujishiro, H. Diversity of pathological features other than Lewy bodies in familial Parkinson's disease due to SNCA mutations / Fujishiro H., Imamura A.Y., Lin W.-L. et al. // *Am. J. Neurodegener. Dis.* – 2013. – V.2. – N.4. – P.266-275.

129. Furtado, S. Profile of families with parkinsonism-predominant spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2) / Furtado S., Payami H., Lockhart P.J. et al. // *Mov. Disord.* – 2004. – V.19. – P.622–629.
130. Gaig, C. When does Parkinson's disease begin? / Gaig C., Tolosa E. // *Mov Disord.* - 2009. – V.24. – S.2. – P.S656-S664.
131. Gan-Or, Z. Differential effects of severe vs mild GBA mutations on Parkinson disease / Gan-Or Z., Amshalom I., Kilarski L.L. et al. // *Neurology.* – 2015. – V.84. – P.880-887.
132. Gan-Or, Z. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease / Gan-Or Z., Giladi N., Rozovski U. et al. // *Neurology.* – 2008. – V.70. – P.2277-2283.
133. Garcia-Martin, E. Electrophysiology and optical coherence tomography to evaluate Parkinson disease severity / Garcia-Martin E., Rodriguez-Mena D., Satue M. et al. // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2014. – V.55. – P.696-705.
134. Geiger, J.T. Next-generation sequencing reveals substantial genetic contribution to dementia with Lewy bodies / Geiger J.T., Ding J., Crain B. et al. // *Neurobiol. Dis.* – 2016. – V.94. – P.55-62.
135. Geschwind, D.H. The prevalence and wide clinical spectrum of the spinocerebellar ataxia type 2 trinucleotide repeat in patients with autosomal dominant cerebellar ataxia / Geschwind D.H., Perlman S., Figueroa C.P. et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1997. – V.60. – P.842–850.
136. Gilman, S. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy / Gilman S., Wenning G.K., Low P.A. et al. // *Neurology.* – 2008. – V.71. – N.9. – P.670-676.
137. Gispert, S. The modulation of amyotrophic lateral sclerosis risk by ataxin-2 intermediate polyglutamine expansions is a specific effect / Gispert S., Kurz A., Waibel S. et al. // *Neurobiol. Dis.* – 2012. – V.45. – N.1. – P.356-361.
138. Go, C.L. Assessment of substantia nigra echogenicity in German and Filipino populations using a portable ultrasound system / Go C.L., Frenzel A., Rosales R.L. et al. // *J. Ultrasound. Med.* – 2012. – V.31. – P.191-196.

139. Godeiro-Junior, C. Mutations in NPC1 in two Brazilian patients with Niemann-Pick disease type C and progressive supranuclear palsy-like presentation / Godeiro-Junior C., Inaoka R.J., Silva M.R.R., Aruiar P.C. // *Mov Disord.* – 2006. – V.21. – N.12. – P.2270-2272.
140. Goker-Alpan, O. The spectrum of parkinsonian manifestations associated with glucocerebrosidase mutations / Goker-Alpan O., Lopez G., Vithayathil J. et al. // *Arch. Neurol.* – 2008. – V.65(10). – P.1353–1357.
141. Guerreiro, R. Investigating the genetic architecture of dementia with Lewy bodies: a two-stage genome wide association study / Guerreiro R., Ross O.A., Kun-Rodrigues C. et al. // *Lancet Neurol.* – 2018. – V.17. – P.64-74.
142. Hadjigeorgiou, G.M. Association of α -synuclein Rep1 polymorphism and Parkinson's disease: influence of Rep1 on age at onset / Xiromerisiou G., Gourbali V. et al. // *Mov. Disord.* – 2006. – V.21. – P.534-539.
143. Haehner, A. Olfactory loss may be a first sign of idiopathic Parkinson's disease / Haehner A., Hummel T., Hummel C. et al. // *Mov. Disord.* – 2007. – V.22. – N.6. – P.839–842.
144. Hagerman, R.J. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome – features, mechanisms and management / Hagerman R.J., Hagerman P. // *Nature Reviews. Neurology.* – 2016. – doi: 10.1038/nrneuro.2016.82.
145. Hall, D.A. FMR1 gray zone alleles: Association with Parkinson disease in women? / Hall D.A., Berry-Kravis E., Zhang W. et al. // *Mov Disord.* – 2011. – V.26. – N.10. – P.1900-1906.
146. Harms, M.B. Parkinson disease is not associated with C9ORF72 repeat expansions / Harms M.B., Neumann D., Benitez B.A. et al. // *Neurol. Aging.* – 2013. – V.34. – N.5. – P.1519.e1-1519.e2.
147. Harnois, C. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease / Harnois C., Di Paolo T. // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1990. – V.31. – N.11. – P.2473-2475.

148. Haug, B.A. Predominant affection of the blue cone pathway in Parkinson's disease / Haug B.A., Kolle R.U., Trenkwalder C. et al. // *Brain*. – 1995. – V.118. – P.771-778.
149. Heckman, M.G. LRRK2 variation and dementia with Lewy bodies / Heckman M.G., Soto-Ortolaza A.I., Sanchez Contreras M.Y. et al. // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2016. – V.31. – P.98-103.
150. Heinzl, S. Prodromal markers in Parkinson's disease: Limitations in longitudinal studies and lessons learned / Heinzl S., Roeben B., Ben-Shlomo Y. et al. // *Front. Aging Neurosci*. – 2016. – V.8. – P.147.
151. Hernandez, D.G. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance / Hernandez D.G., Reed X., Singleton A.B. // *J Neurochem*. – 2016. – V.139. – S.1. – P.59-74.
152. Herting, B. A longitudinal study of olfactory function in patients with idiopathic Parkinson's disease / Herting B., Schulze S., Reichmann H. et al. // *J. Neurol.* - 2008. - V.255. - P.367-370.
153. Hoeglinger, G.U. Identification of common variants influencing risk of the tauopathy progressive supranuclear palsy / Hoeglinger G.U., Melhem N.M., Dickson D.W. et al. // *Nat Genet*. – 2011. – V.43. – P.699-705.
154. Hoeglinger, G.U. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The Movement Disorder Society criteria / Hoeglinger G.U., Respondek G., Stamelou M. et al. // *Mov. Disord*. – 2017. – V.32. – N.6. – P.853-864.
155. Hoepfner, J. Substantia nigra hyperechogenicity in depressive subjects relates to motor asymmetry and impaired word fluency / Hoepfner J., Prudente-Morrissey L., Herpertz S.C. et al. // *Eur. Arch Psychiatry Clin. Neurosci*. – 2009. – V.259. – P.92-97.
156. Hogarth, P. Neurodegeneration with brain iron accumulation: diagnosis and management / Hogarth P. // *J. Mov. Disord*. – 2015. – V.8. – P.1-13.
157. Hogg, M. The L266V tau mutation is associated with frontotemporal dementia and Pick-like 3R and 4R tauopathy / Hogg M., Grujic Z.M., Baker M. et al. // *Acta Neuropathol*. – 2003. – V.106. – N.4. – P.323-336.

158. Horowitz, M. The enigma of the E326K mutation in acid β -glucocerebrosidase / Horowitz M., Pasmanik-Chor M., Ron I., Kolodny E.H. // *Mol. Genet. Metab.* – 2011. – V.104. – P.35–38.
159. Houlden, H. Corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy share a common tau haplotype / Houlden H., Baker M., Morris H.R. et al. // *Neurology.* – 2001. – V.56. – N.12. – P.1702-1706.
160. Hruska, K.S. Gaucher disease: Mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (GBA) / Hruska K.S., LaMarca M.E., Scott C.R., Sidransky E. // *Hum. Mutat.* – 2008. – V.29. – P.567–583.
161. Huang, Y.W. Transcranial imaging of substantia nigra hyperechogenicity in a Taiwanese cohort of Parkinson's disease / Huang Y.W., Jeng J.S., Tsai C.F. et al. // *Mov. Disord.* – 2007. – V.22. - P.550–555.
162. Illarioshkin, S.N. Mutation analysis of the parkin gene in russian families with autosomal recessive juvenile parkinsonism / Illarioshkin S.N., Periquet M., Rawal N. et al. // *Mov. Disord.* – 2003. – V.18. – N.8. - P.914-919.
163. Illarioshkin, S.N. A common leucine-rich repeat kinase 2 gene mutation in familial and sporadic Parkinson's disease in Russia / Illarioshkin S.N., Zagorovskaya T.B., Bagyeva G.Kh. et al. // *Eur. J. Neurol.* – 2007. – V.14. – P.413-417.
164. Im, S.Y. Genetics of progressive supranuclear palsy / Im S.Y., Kim Y.E., Kim Y.J. // *J Mov Disord.* – 2015. – V.3. – N.3. – P.122-129.
165. Imbert, G. Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats / Imbert G., Saudou F., Yvert G. et al. // *Nat. Genet.* – 1996. – V.14. – P.285–291.
166. Infante, J. Spinocerebellar ataxia type 2 with Levodopa-responsive parkinsonism culminating in motor neuron disease / Infante J., Berciano J., Volpini V. et al. // *Mov. Disord.* – 2004. – V.19. – P.848–852.
167. Inoue, H. Inhibition of the leucine-rich repeat protein LINGO-1 enhances survival, structure, and function of dopaminergic neurons in Parkinson's disease models / Inoue H., Lin L., Lee X., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2007. – V.104. – N.36. – P.14430-14435.

168. Iranzo, A. Neurodegenerative disorder risk in idiopathic REM sleep behavior disorder: study in 174 patients / Iranzo A., Fernández-Arcos A., Tolosa E. et al. // *PLoS One*. – 2014. – V.9. – N.2. – P.e89741.
169. Iranzo, A. Decreased striatal dopamine transporter uptake and substantia nigra hyperechogenicity as risk markers of synucleinopathy in patients with idiopathic rapid-eye-movement sleep behavior disorder: a prospective study/ Iranzo A., Lomena F., Stockner H. et al. // *Lancet Neurol*. - 2010. - V.9. - P.1070-1077.
170. Iranzo, A. Five-year follow-up of substantia nigra echogenicity in idiopathic REM sleep behavior disorder/ Iranzo A., Stockner H., Serradell M. et al. // *Mov. Disord*. – 2014. –V.29. – N.14. – P.1774-1780.
171. Ishikawa, A. A mutant PSEN1 causes dementia with Lewy bodies and variant Alzheimer's disease / Ishikawa A., Piao Y.S., Miyashita A. et al. // *Ann Neurol*. – 2005. – V.57. – P.429-434.
172. Iwanami, M. Relevance of substantia nigra hyperechogenicity and reduced odor identification in idiopathic REM sleep behavior disorder/ Iwanami M., Miyamoto T., Miyamoti M. et al. // *Sleep Med*. – 2010. – V.11 (4). – P.361-365.
173. Izawa, M.O. Combination of transcranial sonography, olfactory testing, and MIBG myocardial scintigraphy as a diagnostic indicator for Parkinson's disease / Izawa M.O., Miwa H., Kajimoto Y., Kondo T. // *Eur. J. Neurol*. - 2012. - V.19. - P.411-416.
174. Jankovic, J. Parkinson's disease and movement disorders. / Jankovic J., Tolosa E. // Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. – 2007.
175. Jellinger, K.A. Multiple system atrophy: An oligodendroglioneural synucleinopathy / Jellinger K.A. // *J. Alzheimers Dis*. – 2018. – V.62. – N.3. – P.1141-1179.
176. Jellinger, K.A. Multiple system atrophy: pathogenic mechanisms and biomarkers / Jellinger K.A., Wenning G.K. // *J Neural Transm*. – 2016. – V.123. – P.555-572.
177. Jennings, D. Conversion to Parkinson disease in the PARS hyposmic and dopamine transporter-deficit prodromal cohort / Jennings D., Siderowf A., Stern M. et al. // *JAMA Neurol*. – 2017. – V.74. – N.8. – P.933-940.

178. Jiao, B. C9orf72 mutations is rare in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and essential tremor in China / Jiao B., Guo J.-f., Wang Y.-q. et al. // *Front. Cell. Neurosci.* – 2013. – V.24. – N.7. – P.164.
179. Jimenez, B. Development of a prediction formula of Parkinson disease severity by optical coherence tomography / Jimenez B., Ascaso F.J., Cristobal J.A., Lopez del Val J. // *Mov Disord.* – 2014. V.29. – P.68-74.
180. Jung, Y. Primary progressive aphasia and apraxia of speech / Jung Y., Duffy J., Josephs K.A. // *Semin. Neurol.* – 2013. – V.33. – N.4. – P.342-347.
181. Kajimoto, Y. Transcranial sonography of the substantia nigra and MIBG myocardial scintigraphy: complementary role in the diagnosis of Parkinson's disease / Kajimoto Y., Miwa H., Okawa-Izawa M. et al. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2009. – V.15. – P.270–172.
182. Kalia, L.V. Clinical correlations with Lewy body pathology in LRRK2-related Parkinson disease / Kalia L.V., Lang A.E., Nazrati L.-N. et al. // *JAMA Neurol.* – 2015. – V.72. – N.1. – P.100-105.
183. Kawase, Y. Olfactory dysfunction in Parkinson's disease: Benefits of quantitative odorant examination / Kawase Y., Hasegawa K., Kawashima N. et al. // *International Journal of General Medicine.* – 2010. – V.3. – P.181-185.
184. Kay, D.M. A comprehensive analysis of deletions, multiplications, and copy number variations in PARK2 / Kay D.M., Stevens C.F., Hamza C.F. et al. // *Neurology.* – 2010. – V.75. – P.1189-1194.
185. Keogh, M.J. Exome sequencing in dementia with Lewy bodies / Keogh M.J., Kurzawa-Akanbi M., Griffin H. et al. // *Transl. Psychiatry.* – 2016. – V.6. – e728.
186. Khan, N.L. Mutations in the gene LRRK2 encoding dardarin (PARK8) cause familial Parkinson's disease: clinical, pathological, olfactory and functional imaging and genetic data / Khan N.L., Jain S., Lynch J.M. et al. // *Brain.* – 2005. – V.128. – P.2786–2796.
187. Kiely, A.P. Distinct clinical and neuropathological features of G51D SNCA mutation cases compared with SNCA duplication and H50Q mutation / Kiely A.P., Ling H., Asi Y.T. et al. // *Mol. Neurodegener.* – 2015. – V.10. – P.41.

188. Kilarski, L.L. Systematic review and UK-based study of PARK2 (parkin), PINK2, PARK7 (DJ-1) and LRRK2 in early-onset Parkinson's disease / Kilarski L.L., Pearson J.P., Newsday V. et al. // *Mov. Disord.* – 2012. – V.27. – P.1522-1529.
189. Kim, H.-J. Screening for MAPT and PGRN mutations in Korean patients with PSP/CBS/FTD / Kim H.-J., Jeon B.S., Yun Y.J. et al. // *Parkinsonism and Related Disorders.* – 2010. – V.16. – P.305-306.
190. Kim, J.M. Importance of low-range CAG expansion and CAA interruption in SCA2 Parkinsonism / Kim J.M., Hong S., Kim G.P. et al. // *Arch. Neurol.* – 2007. – V.64. – N.10. – P.1510-1508.
191. Kim, J.Y. Midbrain transcranial sonography in Korean patients with Parkinson's disease / Kim J.Y., Kim S.T., Jeon S.H., Lee W.Y. // *Mov. Disord.* – 2007. V.22. – P.1922–1926.
192. Kirbas, S. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer disease / Kirbas S., Turkyilmaz K., Anlar O. et al. // *J Neuro-Ophthalmol.* – 2013. – V.33. – P.58-61.
193. Klein, C. Deciphering the role of heterozygous mutations in genes associated with parkinsonism / Klein C., Lohmann-Hedrich K., Rogaeva E. et al. // *Lancet Neurol.* – 2007. – V.6. – P.652–662.
194. Klein, C. Hereditary parkinsonism: Parkinson disease look-alikes—An algorithm for clinicians to ‘‘PARK’’ genes and beyond / Klein C., Schneider S.A., Lang A.E. // *Mov. Disord.* – 2009. – V.24. – N.14. – P.2042–2058.
195. Klein, C. Genetics of Parkinson's disease / Klein C., Westenberger A. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* – 2012. - V.2. - doi: 10.1101/cshperspect.a008888.
196. Kobayashi, T. A novel L266V mutation of the tau gene causes frontotemporal dementia with a unique tau pathology / Kobayashi T., Ota S., Tanaka K. et al. // *Ann. Neurol.* – 2003. – V.53. – N.1. – P.133-137.
197. Kolevski, G. Transcranial sonography in the evaluation of Parkinson disease / Kolevski G., Petrov I., Petrova V. // *J. Ultrasound. Med.* – 2007. – V.26 (4). – P.509-512.

198. Kouri, N. Genome-wide association study of corticobasal degeneration identified risk variants shared with progressive supranuclear palsy / Kouri N., Ross O.A., Dombroski B. et al. // *Nat Commun.* – 2015. – V.6 – doi: 10.1038/ncomms8247.
199. Koziorowski, D. Incidence of mutations in the PARK2, PINK1, PARK7 genes in Polish early-onset Parkinson disease patients / Koziorowski D., Hoffman-Zacharska D., Stawek J. et al. // *Neurol. Neurochir. Pol.* – 2013. – V.47. – P.319-324.
200. Kun-Rodrigues, C. Analysis of C9orf72 repeat expansions in a large international cohort of dementia with Lewy bodies / Kun-Rodrigues C., Ross A.O., Orme T. et al. // *Neurobiol Aging.* – 2017. – doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.023.
201. La Morgia, C. Loss of temporal retinal nerve fibers in Parkinson disease: a mitochondrial pattern? / La Morgia C., Barboni P., Rizzo G. et al. // *Eur J Neurol.* – 2013. – V.20. – N.1. – P.198-201.
202. La Morgia, C. Patterns of retinal ganglion cell damage in neurodegenerative disorders: Parvocellular vs magnocellular degeneration in optical coherence tomography studies / La Morgia C., Di Vito L., Carelli V., Carbonelli M. // *Front Neurol.* – 2017. – V.8. – P.710. – doi: 10.3389/fneur.2017.00710.
203. Labbe, C. MAPT haplotype H1G is associated with increased risk of dementia with Lewy bodies / Labbe C., Heckman M.G., Lorenzo-Betancor O. et al. // *Alzheimers Dement.* – 2016. – V.12. – N.12. – P.1297-1304.
204. Labbe, C. MAPT haplotype diversity in multiple system atrophy / Labbe C., Heckman M.G., Lorenzo-Betancor O. et al. // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2016. – V.30. – P.40-45.
205. Lang, A.E. A critical appraisal of premotor symptoms of Parkinson's disease: Potential usefulness in early diagnosis and design of neuroprotective trials / Lang A.E. // *Mov. Disord.* - 2011. - V.26. - P.775-783.
206. Lastres-Becker, I. Spinocerebellar ataxia 2 (SCA2) / Lastres-Becker I., Rub U., Auburger G. // *Cerebellum.* – 2008. – V.7. – P.115–124.
207. Lattante, S. Contribution of ATXN2 intermediary polyQ expansions in a spectrum of neurodegenerative disorders / Lattante S., Millecamps S., Stevanin G. et al. // *Neurology.* – 2014. – 83. – P.990-995.

208. Le, W. Etiopathogenesis of Parkinson disease: A new beginning? / Le W., Chen S., Jankovic J. // *Neuroscientist*. -2009. – V.15. – P.28-35.
209. Lee, J.-Y. Optical coherence tomography in Parkinson's disease: Is the retina a biomarker? / Lee J.-Y., Ahn J., Kim T.W., Jeon B.S. // *Journal of Parkinson's Disease*. – 2014. – V.4. – P.197-204.
210. Lee, J.-Y. Retinal nerve fiber layer thickness and visual hallucination in Parkinson's disease / Lee J.-Y., Kim J.M., Ahn J. et al. // *Mov. Disord.* – 2014. – V.29. – N.1. – P. 61-67.
211. Lesage, S. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors / Lesage S., Brice A. // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. - V.18. – P.48–59.
212. Lesage, S. C9orf72 repeat expansions are a rare genetic cause of parkinsonism / Lesage S., Le Ber I., Condroyer C. et al. // *Brain*. – 2013. – V.136. – P.385-391.
213. Levy, O.A. Cell death pathways in Parkinson's disease: proximal triggers, distal effectors, and final steps / Levy O.A., Malagelada C., Greene L.A. // *Apoptosis*. – 2009. – V.14(4). – P.478–500.
214. Li, D.-H. Diagnostic accuracy of transcranial sonography of the substantia nigra in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis / Li D.-H., He Y.-C., Liu J., Chen S.-D. // *Sci Rep*. – 2016. – V.6. – P.20863. – doi: 10.1038/srep20863.
215. Liepelt, I. Pre-motor signs of PD are related to SN hyperechogenicity assessed by TCS in an elderly population / Liepelt I., Behnke S., Schweitzer K. et al. // *Neurobiol. Aging*. – 2011. – V.32. – P.1599-1606.
216. Liepelt, I. Substantia nigra hyperechogenicity assessed by transcranial sonography is related to neuropsychological impairment in the elderly population / Liepelt I., Wendt A., Schweitzer K. et al. // *J. Neural. Transm.* – 2008. – V.115. – P.993-999.
217. Lin, C.-H. Lack of C9orf72 repeat expansion in Taiwanese patients with mixed neurodegenerative disorders / Lin C.-H., Chen T.-F., Chiu M.J. et al. // *Front Neurol*. – 2014. – V.5. – P.59. - doi: 10.3389/fneur.2014.00059.

218. Lindquist, S.G. Corticobasal and ataxia syndromes widen the spectrum of C9orf72 hexanucleotide expansion disease / Lindquist S.G., Duno M., Batbayli M. et al. // *Clin Gene.* – 2013. – V.83. – P.279-283.
219. Ling, S.C. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis / Ling S.C., Polymenidou M., Cleveland D.W. // *Neuron.* – 2013. – V.79. – N.3. – P.416-438.
220. Linnertz, C. Genetic regulation of α -synuclein mRNA expression in various human brain tissues / Linnertz C., Saucier L., Ge D. et al. // *PLoS One.* – 2009. – V.4. – P.e7480.
221. Litvan, I. Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop / Litvan I., Agid Y., Calne D. et al. // *Neurology.* – 1996. – V.47. – N.1. – P.1-9.
222. Liu, J. Significant study of population stratification, sensitivity analysis and trim and fill analyses on GBA mutation and Parkinson's disease / Liu J., Zhang H-X. // *Am J Med Genet.* – 2013. – V.165B. – P.96–102.
223. Liu, Y. C9orf72 mutations in neurodegenerative diseases / Liu Y., Yu J.-T., Zong Y. et al. // *Mol. Neurobiol.* – 2014. – V.49. – N.1. – P.386-398.
224. Lobsien, E. No correlation of substantia nigra echogenicity and nigrostriatal degradation in Parkinson's disease / Lobsien E., Schreiner S., Plotkin M. et al. // *Mov. Disord.* – 2012. – V.27. – P.450–453.
225. Loesch, D.Z. New evidence for, and challenges in, linking small CGG repeat expansion FMR1 alleles with Parkinson's disease / Loesch D.Z., Tassone F., Lo J. et al. // *Clin Genet.* – 2013. – V.84. – P.382-385.
226. Louis, E.D. Mild Parkinsonian signs: An overview of an emerging concept / Louis E.D., Bennett D.A. // *Mov Disord.* – 2007. – V.22. – P.1681-1688.
227. Louis, E.K. REM sleep behavior disorder in Parkinson's disease and other synucleinopathies / Louis E.K., Boeve A.R., Boeve B.F. // *Mov. Disord.* – 2017. – V.32. – N.5. – P.645-658

228. Lysogorskaia, E.V. Genetic studies of Russian patients with amyotrophic lateral sclerosis / Lysogorskaia E.V., Abramycheva N.Y., Zakharova M.N. et al. // *Amyotroph. Lateral. Scler. Frontotemporal. Degener.* – 2015. – V.17. – P.135-141.
229. Maetzler, W. Motor signs in the prodromal phase of Parkinson's disease / Maetzler W., Hausdorf J.M. // *Mov. Disord.* - 2012. - V.27. - P.627-633.
230. Mahlknecht, P. Prodromal Parkinson's disease as defined per MDS research criteria in the general elderly community / Mahlknecht P., Gasperi A., Willeit P. et al. // *Mov. Disord.* – 2016. – V.31. – P.1405-1408.
231. Mahlknecht, P. The concept of prodromal Parkinson's disease / Mahlknecht P., Seppi K., Poewe W. // *J Parkinsons Dis.* – 2015. – V.5. – P.681-697.
232. Mahlknecht, P. Substantia nigra hyperechogenicity as a marker for Parkinson's disease: a population-based study / Mahlknecht P., Seppi K., Stockner H. et al. // *Neurodegener. Dis.* – 2013. – V.12. – N.4. – P.212-218.
233. Mailankody, P. Optical coherence tomography as a tool to evaluate retinal changes in Parkinson's disease / Mailankody P., Battu R., Khanna A. et al. // *Parkinsonism and Related Disorders.* – 2015. – V.21. – P.1164-1169.
234. Malkus, K.A. Oxidative modifications, mitochondrial dysfunction, and impaired protein degradation in Parkinson's disease: how neurons are lost in the Bermuda triangle / Malkus K.A., Tsika E., Ischiropoulos H. // *Mol. Neurodegener.* – 2009. – V.4. – P.24.
235. Mallett, V. GBA p.T369M substitution in Parkinson disease: Polymorphism or association? A meta-analysis / Mallett V., Ross J.P., Alcalay R.N. et al. // *Neurol. Genet.* – 2016. – V.2. – N. 5. – e104.
236. Maraganore, D.M. Collaborative analysis of α -synuclein gene promoter variability and Parkinson disease / Maraganore D.M., de Andrade M., Elbaz A. et al. // *JAMA.* – 2006. – V.296. – P.661-670.
237. Marder, K. Predictors of Parkin mutations in early onset Parkinson disease: the CORE-PD study / Marder K., Tang M.-X., Mejia-Santana H. et al. // *Arch. Neurol.* – 2010. – V.67. – P.731-738.

238. Markopoulou, E. Genetic evidence for a dual and opposing effect of alpha-synuclein expression in preclinical versus clinical Parkinson's disease / Markopoulou E., Ahlskog J.E., Anderson K. et al. // *Mov. Disord.* – 2013. – V.80. – P.05.059.
239. Marshall, C.R. A novel MAPT mutation causing corticobasal syndrome led by progressive apraxia of speech / Marshall C.R., Guerreiro R., Thust S. et al. // *Journal of Alzheimer's Disease.* – 2015. – V.48. – P.923-926.
240. Mata, I.F. Glucocerebrosidase gene mutations. A risk factor for Lewy body disorders / Mata I.F., Samii A., Schneer S.H. et al. // *Arch. Neurol.* – 2008. – V.65. – N.3. – P.379-382
241. Matsui, H. The relation between visual hallucinations and visual evoked potential in Parkinson disease / Matsui H., Udaka F., Tamura A. et al. // *Clin Neuropharmacol.* – 2005. – V.28. – P.79-82.
242. McKeith, I.G. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium / McKeith I.G., Dickson D.W., Lowe J. et al. // *Neurology.* – 2005. – V.65. – N.12. – P.1863-1872.
243. Mehnert, S. Transcranial sonography for diagnosis of Parkinson's disease / Mehnert S., Reuter I., Schepp K. et al. // *BMC Neurol.* – 2010. – V.21. – P.10–19.
244. Metzker, M.L. Sequencing technologies – the next generation / Metzker M.L. // *Nat Rev Genet.* – 2010. – V.11. – N.1. – P.31-46.
245. Miller, D.W. α -Synuclein in blood and brain from familial Parkinson disease with SNCA locus triplication / Miller D.W., Hague S.M., Clarimon J. et al. // *Neurology.* – 2004. – V.62. – P.1835-1838.
246. Mirelman, A. Gait alterations in healthy carriers of the LRRK2 G2019S mutation / Mirelman A., Gurevich T., Giladi N. et al. // *Ann Neurol.* – 2011. – V.69. – P.193–197.
247. Miri, S. A combination of retinal morphology and visual electrophysiology testing increases diagnostic yield in Parkinson's disease / Miri S., Glazman S., Mylin L., Bodis-Wollner I. // *Parkinsonism and Related Disorders.* – 2016. – V.22. – P.S134-S137.

248. Mitsui, J. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease / Mitsui J., Mizuta I., Toyoda A. et al. // *Arch Neurol.* – 2009. – V.66. – P.571–576.
249. Mizuta, I. Meta-analysis of a synuclein/NACP polymorphism in Parkinson's disease in Japan / Mizuta I., Nishimura M., Mizuta E. et al. // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 2002. – V.73. – P.350.
250. Monaghan, K.G. ACMG Standards and Guidelines for fragile X testing: a revision to the disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories of the American College of Medical Genetics and Genomics / Monaghan K.G., Lyon E., Spector E.B. // *Genetics in Medicine.* – 2013. – V.15. – N.7. – P.575-586.
251. Mosharov, E.V. Interplay between cytosolic dopamine, calcium and α -synuclein causes selective death of substantia nigra neurons / Mosharov E.V., Larsen K.E., Kanter E. et al. // *Neuron.* – 2009. – V.30. – N.62. – N.2. – P.218–229.
252. Mueller, T. Colour vision abnormalities do not correlate with dopaminergic nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease / Mueller T., Kuhn W., Buettner T. et al. // *J. Neurol.* – 1998. – V.245. – N.10. – P.659-664.
253. Mueller, T. Colour vision abnormalities and movement time in Parkinson's disease / Mueller T., Kuhn W., Buettner T., Przuntek H. // *Eur. J. Neurol.* – 1999. – V.6. – N.6. – P.711-715.
254. Mueller, T. Distorted colour discrimination in Parkinson's disease is related to severity of the disease / Mueller T., Kuhn W., Buettner T., Przuntek H. // *Acta Neurol Scand.* – 1997. – V.96. – N.5. – P.293-296.
255. Muilwijk, D. Changes in timing and kinematics of goal directed eye-hand movements in early-stage Parkinson's disease / Muilwijk D., Verheij S., Pel J.J.M. et al. // *Transl. Neurodegener.* - 2013. - V.2. - P.1-8.
256. Nalls, M.A. A multicenter study of glucocerebrosidase mutations in dementia with Lewy bodies / Nalls M.A., Duran R., Lopez G. et al. // *JAMA Neurol.* – 2013. – V.70. – P.727-735.

257. Nalls, M.A. Large-scale meta-analysis of genome wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease / Nalls M.A., Pankratz N., Lill C.M. et al. // *Nat Genet.* – 2014. – V.46. – P.989-993.
258. Nanetti, L. Rare association of motor neuron disease and spinocerebellar ataxia type 2 (SCA2): a new case and review of the literature / Nanetti L., Fancellu R., Tomasello C. et al. // *J. Neurol.* – 2009. – V.256. – P.1926–1928.
259. Neumann, J. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease / Neumann J., Bras J., Deas E. et al. // *Brain.* – 2009. – V.132. - P.1783-1794.
260. Ng, A.S.L. Intermediate C9orf72 alleles in neurological disorders: does size really matter? / Ng A.S.L., Tan E.-K. // *J. Med. Genet.* – 2017. – V.54. – N.9. –P.591-597.
261. Nguyen-Legros, J. Functional neuroarchitecture of the retina: hypothesis on the dysfunction of retinal dopaminergic circuitry in Parkinson's disease / Nguyen-Legros J. // *Surg Radiol Anat.* – 1988. – V.10. – N.2. – P.137-144.
262. Nichols, W.C. Mutations in GBA are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset / Nichols W.C., Pankratz N., Marek D.K. et al. // *Neurology.* – 2009. – V.72. – P.310-316.
263. Nightingale, S. Visual evoked cortical potentials and pattern electroretinograms in Parkinson's disease and control subjects / Nightingale S., Mitchell K.W., Howe J.W. // *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry.* – 1986. – V.49. – P.1280-1287.
264. Niu, Y.-Q. Parkinsonism in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS): revisited / Niu Y.-Q., Yang J.-C., Hall D.A. et al. // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2014. – V.20. – N.4. – P.456-459.
265. Nolin, S.L. Fragile X full mutation expansions are inhibited by one or more AGG interruptions in premutation carriers / Nolin S.L., Glicksman A., Ersalesi N. et al. // *Genetics in Medicine.* – 2015. – V.17. – N.5. – P. 358-364.
266. Nowacka, B. Bioelectrical function and structural assessment of the retina in patients with early stages of Parkinson's disease (PD) / Nowacka B., Lubinski W., Honczarenko K. et al. // *Doc Ophthalmol.* – 2015. – V.131. – P.95-104.

267. Noyce, A.J. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease / Noyce A.J., Bestwick J.P., Silveira-Moriyama L. et al. // *Ann. Neurol.* - 2012. - V.72. - P.893-901.
268. Nuytemans, K. C9orf72 intermediate repeat copies are a significant risk factor for Parkinson disease / Nuytemans K., Bademci G., Kohli M.M. et al. // *Ann. Hum. Genet.* - 2013. - V.77. - N.5. - P.351-363.
269. Nuytemans, K. Absence of C9orf72 expanded or intermediate repeats in autopsy confirmed Parkinson disease / Nuytemans K., Inchausti V., Beecham G.W. et al. // *Mov. Disord.* - 2014. - V.29. - N.6. - P.827-830.
270. Obi, T. Clinicopathologic study of a SNCA gene duplication patient with Parkinson disease and dementia / Obi T., Nishioka K., Ross O.A. et al. // *Neurology.* - 2008. - V.70. - N.3. - P.238-241.
271. Ogaki, K. Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTLN, PSP, and CBS / Ogaki K., Li Y., Takanashi M. et al. // *Parkinsonism and Related Disorders.* - 2012. - V.19. - P.15-20.
272. Oh, Y.-S. Color vision in Parkinson's disease and essential tremor / Oh Y.-S., Kim J.-S., Chung S.-W. et al. // *European Journal of Neurology.* - 2011. - V.18. - P.577-583.
273. Okawa, M. Transcranial sonography of the substantia nigra in Japanese patients with Parkinson's disease or atypical parkinsonism: clinical potential and limitation / Okawa M., Miwa H., Kajimoto Y. et al. // *Intern. Med.* - 2007. - V.46. N.18. - P.1527-1531.
274. Olanow, C.W. Is Parkinson's disease a prion disorder? / Olanow C.W., Prusiner S.B. // *PNAS.* - 2009. - V.106. - N.31. - P.12571-12572.
275. Olgiati, S. Genetics of movement disorders in the next-generation sequencing era / Olgiati S., Quadri M., Bonifati V. // *Mov. Disord.* - 2016. V.31. - N.4. - P.458-470.
276. Olivares, D. Physiological and pathological role of alpha-synuclein in Parkinson's disease through iron mediated oxidative stress; the role of a putative iron-

responsive element / Olivares D., Huang X., Branden L. et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2009. – V.10. – P.1226-1260.

277. Pankratz, N. Meta-analysis of Parkinson's disease identification of a novel locus, RIT2 / Pankratz N., Beecham G.W., DeStefano A.L. et al. // *Ann Neurol.* – 2012. – V.71. – P.370–384.

278. Pankratz, N. Alpha-synuclein and familial Parkinson's disease / Pankratz N., Nichols W.C., Elsaesser V. E. et al. // *Mov. Disord.* – 2009. – V.24. – P.1125-1131.

279. Pareek, C.S. Sequencing technologies and genome sequencing / Pareek C.S., Smoczynski R., Tretyn A. // *J. Appl. Genetics.* – 2011. – V.52. – P.413-435.

280. Pasanen, P. A novel a-synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology / Pasanen P., Myllykangas L., Siitonen M. et al. // *Neurobiol. Aging.* – 2014. – V.35. – N.9. – P.2180.e1-5.

281. Paucar, M. PSP-CBS with dopamine deficiency in a female with a FMR1 premutation / Paucar M., Beniaminov S., Paslowski W., Svenningsson P. // *Cerebellum.* – 2016. – V.15. – N.5. – P.636-640.

282. Pavese, N. Imaging neurodegeneration in Parkinson's disease / Pavese N., Brooks D.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V.1792. – N.7. – P.722-729.

283. Pihlstrom, L. Effective variant detection by targeted deep sequencing of DNA pools: An example from Parkinson's disease / Pihlstrom L., Rengmark A., Bjornara K.A., Toft M. // *Ann Hum Genet.* – 2014. – V.78. – N.3. – P.243-252.

284. Pilotto, A. Application of the Movement Disorder Society prodromal Parkinson's disease research criteria in 2 independent prospective cohorts / Pilotto A., Heinzel S., Suenkel U. et al. // *Mov Disord.* – 2017. – V.32. – N.7. – P.1025-1034.

285. Pinkhardt, E.H. Ocular motor abnormalities in Parkinsonian syndromes / Pinkhardt E.H., Kassubek J. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2011. – V.17. – P.223-230.

286. Pittman, A.M. The structure of the tau haplotype in controls and in progressive supranuclear palsy / Pittman A.M., Myers A.J., Duckworth J. et al. // *Human Molecular Genetics.* – 2004. – V.13. – N.12. – P.1267-1274.

287. Polo, V. Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Parkinson's disease: An observational cross-sectional study / Polo V., Satue M., Rodrigo M.J. et al. // *BMJ Open*. – 2016. – V.6. – N.5. – P.e009658.
288. Polymeropoulos, M.H. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-23 / Polymeropoulos M.H., Higgins J.J., Golbe L.I. // *Science*. – 1996. – V.274. – P.1197-1199.
289. Polymeropoulos, M.H. Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease / Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E. et al. // *Science*. – 1997. - V.276. – P.2045-2047.
290. Ponsen, M.M. Hyposmia and executive dysfunction as predictors of future Parkinson's disease: A prospective study / Ponsen M.M., Stoffers D., Twisk J.W.R. et al. // *Mov. disord.* – 2009. – V.24. - N.7. – P.1060-1065.
291. Postuma, R.B. Identifying prodromal Parkinson's disease: Pre-motor disorders in Parkinson's disease / Postuma R.B., Aarsland D., Barone P. et al. // *Mov. Disord.* - 2012. - V.27. - P.617-626.
292. Postuma, R.B. A single-question screen for rapid eye movement sleep behavior disorder: a multicenter validation study / Postuma R.B., Arnulf I., Hogl B. et al. // *Mov. Disord.* – 2012. – V.27. – N.7. – P.913-916.
293. Postuma, R.B. Advances in markers of prodromal Parkinson disease / Postuma R.B., Berg D. // *Nat Rev Neurol*. – 2016. – V.12. – P.622-634.
294. Postuma, R.B. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease / Postuma R.B., Berg D., Stern M. et al. // *Mov Disord.* – 2015. – V.30. – P.1591-1601.
295. Postuma, R.B. Olfaction and color vision identify impending neurodegeneration in rapid eye movement sleep behavior disorder / Postuma R.B., Gagnon J.-F., Vendete M. et al. // *Ann. Neurol.* - 2011. - V.69. - P.811-818.
296. Postuma, R.B. How does parkinsonism start? Prodromal parkinsonism motor changes in idiopathic REM sleep behaviour disorder / Postuma R.B., Lang A.E., Gagnon J.F. et al. // *Brain*. – 2012. – V.135. – P.1860-1870.

297. Prestel, J. Predictive value of transcranial sonography in the diagnosis of Parkinson's disease / Prestel J., Schweitzer K.J., Hofer A. et al. // *Mov. Disord.* – 2006. – V.21. – P.1763–1765.
298. Pretto, D.I. CGG allele size somatic mosaicism and methylation in FMR1 premutation alleles / Pretto D.I., Mendoza-Morales G., Lo J. et al. // *J Med Genet.* – 2014. – V.51. – N. 5. – P.309-318.
299. Prusiner, S.B. Evidence for alpha-synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism / Prusiner S.B., Woerman A.L., Mordes D.A. et al. // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2015. – V.112. – P.E5308-E5317.
300. Respondek, G. Which ante mortem clinical features predict progressive supranuclear palsy pathology? / Respondek G., Kurz C., Arzberger T. et al. // *Mov. Disord.* – 2017. – V.32. – P.995-1005.
301. Ressner, P. Hyperechogenicity of the substantia nigra in Parkinson's disease / Ressner P., Skoloudik D., Hlustik P., Kanovsky P. // *J. Neuroimaging.* – 2007. – V.17. – N.2. – P.164–167.
302. Richards, S. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology / Richards S., Aziz N., Bale S. et al. // *Genet. Med.* – 2015. – V.17. – N.5. – P.405-424.
303. Rohani, M. Retinal nerve changes in patients with tremor dominant and akinetic rigid Parkinson's disease / Rohani M., Langroodi A.S., Shourchian S. et al. // *Neurol Sci.* – 2013. – V.34. – P.689-693.
304. Ronchi, D. Mutational analysis of COQ2 in patients with MSA in Italy / Ronchi D., Biase E.D., Franco G. et al. // *Neurobiology of Aging.* – 2016. – V.45. – P.213e1-213e2.
305. Roth, N.M. Photoreceptor layer thinning in idiopathic Parkinson's disease / Roth N.M., Saidha S., Zimmermann H. et al. // *Mov Disord.* – 2014. – V.29. –N.9. – P.1163-1170.

306. Rothfuss, O. Parkin protect mitochondrial genome integrity and support mitochondrial DNA repair / Rothfuss O., Fischer H., Hasegawa T. et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2009. – V.18. – N.20. – P.3832-3850.
307. Ruprecht-Dorfler, P. Echogenicity of the substantia nigra in relatives of patients with sporadic Parkinson's disease / Ruprecht-Dorfler P., Berg D., Tucha O. et al. // *Neuroimage.* – 2003. – V.18(2). – P.416-422.
308. Ruprecht-Dorfler, P. Substantia nigra hyperechogenicity correlates with subtle motor dysfunction in tap dancers / Ruprecht-Dorfler P., Klotz P., Becker G., Berg D. // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2007. - V.13. – P.362-364.
309. Rutherford, N.J. Length of normal alleles of C9orf72 GGGGCCrepeat do not influence disease phenotype / Rutherford N.J., Heckman M.G., DeJesus-Hernandez M. et al. // *Neurobiol. Aging.* – 2012. – V.33. – N.12. – P.2950.e5-7.
310. Sailer, A. A genome-wide association study in multiple system atrophy / Sailer A., Scholz S.W., Nalls M.A. et al. // *Neurology.* – 2016. – V.87. – P.1591-1598.
311. Sanchez-Contreras, M. Study of LRRK2 variation in tauopathy: progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration / Sanchez-Contreras M., Heckman M.G., Tacik P. et al. // *Mov. Disord.* – 2017. – V.32. – P.115-123.
312. Santpere, G. LRRK2 and neurodegeneration / Santpere G., Ferrer I. // *Acta Neuropathol.* – 2009. – V.117. – P.227-246.
313. Sartucci, F. Changes in pattern electroretinograms to equiluminant red-green and blue-yellow gratings in patients with early Parkinson's disease / Sartucci F., Orlandi G., Lucetti C. et al. // *Journal of Clinical Neurophysiology.* – 2003. – V.20. – N.5. – P.375-381.
314. Sartucci, F. Visual-evoked potentials to onset of chromatic red-green and blue-yellow gratings in Parkinson's disease never treated with L-dopa / Sartucci F., Porciatti V. // *J Clin Neurophysiol.* – 2006. – V.23. – N.5. – P.431-435.
315. Sato, C. Analysis of the glucocerebrosidase gene in Parkinson's disease / Sato C., Morgan A., Lang A.E. et al. // *Mov. Disord.* – 2005. – V.20. – N.3. – P.367-370.

316. Satue, M. Evaluation of progressive visual dysfunction and retinal degeneration in patients with Parkinson's disease / Satue M., Rodrigo M.J., Obis J. et al. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2017. – V.58. – P.1151–1157.
317. Schapira, A.H.V. Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease / Schapira A.H.V. // *Lancet Neurol.* – 2008. – V.7. – P.97–109.
318. Schneider, M. Retinal single-layer analysis in Parkinsonian syndromes: an optical coherence tomography study / Schneider M., Mueller H.-P., Lauda F. et al. // *J Neural Transm (Vienna)*. – 2014. – V.121. –N.1. – P.41-47.
319. Scholz, S.W. Genetics underlying atypical parkinsonism and related neurodegenerative disorders / Scholz S.W., Bras J. // *Int J Mol Sci.* – 2015. – V.16. – P.24629-24655.
320. Schottlander, L.V. The analysis of C9orf72 repeat expansions in a large series of clinically and pathologically diagnosed cases with atypical parkinsonism / Schottlander L.V., Polke J.M., Ling H. et al. // *Neurobiology of Aging.* – 2015. – V.36. – P.1221.e1-1221.e6.
321. Schweitzer, K. J. Cross-sectional study discloses a positive family history for Parkinson's disease and male gender as epidemiological risk factors for substantia nigra hyperechogenicity / Schweitzer K. J., Behnke S., Liepelt I. et al. // *J. Neural Transm.* – 2007. – V.114. – P.1167–1171.
322. Schweitzer, K.J. Substantia nigra hyperechogenicity as a marker of predisposition and slower progression in Parkinson's disease / Schweitzer K.J., Hilker R., Walter U. et al. // *Mov. Disord.* – 2006. – V.21. – N.1. – P.94–98.
323. Semenova, E.V. Analysis of PARK2 gene exon rearrangements in Russian patients with sporadic Parkinson's disease / Semenova E.V., Shadrina M.I., Slominsky P.A. et al. // *Mov Disord.* – 2012. - V.27. – P.139-142.
324. Setor-Salvia, N. Glucocerebrosidase mutations confer a greater risk of dementia during Parkinson's disease course / Setor-Salvia N., Pagonabarraga J., Houlden H. et al. // *Mov. Disord.* – 2012. – V.27. – P.393–399.

325. Shadrina, M.I. Effective quantitative real-time polymerase chain reaction analysis of the parkin gene (PARK2) exon 1–12 dosage / Shadrina M.I., Semenova E.V., Slominsky P.A. et al. // *BMC Med. Genet.* – 2007. – V.8. – P.6.
326. Shin, H.Y. Comparison study of olfactory function and substantia nigra hyperechogenicity in idiopathic REM sleep behavior disorder, Parkinson's disease and normal control / Shin H.Y., Joo E.Y., Kim S.T. et al. // *Neurol. Sci.* - 2013. – V.34. – N.6. – P.935-940.
327. Shiner, T. High frequency of GBA mutations in dementia with Lewy bodies among Ashkenazi jews / Shiner T., Mirelman A., Weisz M.G. et al. // *JAMA Neurology.* – 2016. – V.73. – N.12. – P.1448-1453.
328. Shu, L. SNCA REP1 and Parkinson's disease / Shu L., Zhang Y., Sun Q. et al. // *Neurosci. Lett.* – 2018. – V.682. – P.79-84.
329. Siderowf, A. Impaired olfaction and other prodromal features in the Parkinson at-risk syndrome study / Siderowf A., Jennings D., Eberly S. et al. // *Mov. Disord.* - 2012. - V.27. - P.406-412.
330. Sidransky, E. The link between the GBA gene and parkinsonism / Sidransky E., Lopez G. // *Lancet Neurol.* – 2012. – V.11. – P.986–998.
331. Sidransky, E. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's Disease / Sidransky E., Nalls M.A., Aasly J.O. et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – V.361. – P.1651-1661.
332. Sierra, M. Prospective clinical and DaT-SPECT imaging in premotor LRRK2 G2019S-associated Parkinson disease / Sierra M., Martinez-Rodriguez I., Sanchez-Juan P. et al. // *Neurology.* – 2017. – V.89. – P.439-444.
333. Silva, M.F. Independent patterns of damage within magno-, parvo- and koniocellular pathways in Parkinson's disease / Silva M.F., Fatia P., Regateiro F.S. et al. // *Brain.* – 2005. – V.128. – P.2260-2271.
334. Singleton, A.B. The genetics of Parkinson's disease: progress and therapeutic implications / Singleton A.B., Farrer M.J., Bonifati V. // *Mov. Disord.* – 2013. – V.28. – P.14-23.

335. Sklerov, M. Frequency of GBA variants in autopsy-proven multiple system atrophy / Sklerov M., Kang U.J., Liong C. et al. // *Mov Disord Clin Pract.* – 2017. – V.4. – P.574-581.
336. Skorvanek, M. Prevalence of prodromal Parkinson's disease as defined by MDS research criteria among elderly patients undergoing colonoscopy / Skorvanek M., Ladomirjakova Z., Han V. et al. // *J. Parkinsons Dis.* – 2017. – V.7. – N.3. – P.481-489.
337. Slotnick, S. A novel retinal biomarker for Parkinson's disease: Quantifying the foveal pit and optical coherence tomography / Slotnick S., Ding Y., Glazman S. et al. // *Mov Disord.* – 2015. – V.30. – N.12. – P.1692-1695.
338. Sommer, U. Detection of presymptomatic Parkinson's disease: Combining smell tests, transcranial sonography, and SPECT / Sommer U., Hummer T., Cormann K. et al. // *Mov. Disord.* – 2004. – V.19. – N.10. – P.1196-1202.
339. Spiegel, J. Transcranial sonography and [123I]FP-CIT SPECT disclose complementary aspects of Parkinson's disease / Spiegel J., Hellwig D., Moellers M.-O. et al. // *Brain.* – 2006. – V.129. – P.1188–1193.
340. Spund, B. Remodeling of the fovea in Parkinson disease / Spund B., Ding Y., Liu T. et al. // *J Neural Transm.* – 2013. – V.120. – P.745-753.
341. Stamelou, M. Atypical parkinsonism: diagnosis and treatment / Stamelou M., Bhatia K.P. // *Neurol. Clin.* – 2015. – V.33. – N.1. – P.39-56.
342. Stankiewicz, J. Iron in chronic brain disorders: Imaging and neurotherapeutic implications / Stankiewicz J., Panter S.S., Neema M. et al. // *Neurotherapeutics.* – 2007. – V.4. - N3. – P.371–386.
343. Stefanis, L. α -Synuclein in Parkinson's disease / Stefanis L. // *Cold Spring Harb Perspect Med.* – 2012. – V.2. – N.2 - a009399. - doi: 10.1101/cshperspect.a009399.
344. Stefansson, H. Variant in the sequence of the LINGO1 gene confers risk of essential tremor / Stefansson H., Steinberg S., Petursson H. et al. // *Nat. Genet.* – 2009. – V.41. – P.277-279.
345. Stephenson, R. Premotor Parkinson's disease: Clinical features and detection strategies / Stephenson R., Siderowf A., Stern M. // *Mov. Disord.* - 2009. - V.24. - Suppl.2. – P.S665-S670.

346. Stiasny-Kolster, K. The REM sleep behavior disorder screening questionnaire – A new diagnostic instrument / Stiasny-Kolster K., Mayer G., Schaefer S. et al. // *Mov. Disord.* - 2007. - V.22. - P.2386-2393.
347. Stockner, H. Midbrain hyperechogenicity in idiopathic REM sleep behavior disorder / Stockner H., Iranzo A., Seppi K. et al. // *Mov. Disord.* – 2009. – V.24. – N.13. – P.1906-1909.
348. Sulzer, D. Multiple hit hypotheses for dopamine neuron loss in Parkinson's disease / Sulzer D. // *TRENDS Neurosci.* – 2007. - V.30. - N.5. – P.244-250.
349. Sun, Z. New susceptible variant of COQ2 gene in Japanese patients with sporadic multiple system atrophy / Sun Z., Ohta Y., Yamashita T. et al. // *Neurol Genet.* – 2016. – doi: 10.1212/NXG.0000000000000054.
350. Swan, M. The Association Between β -Glucocerebrosidase Mutations and Parkinsonism / Swan M., Saunders-Pullman R. // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2013. – V.13. - P.368.
351. Tai, H.-C. Ubiquitin, the proteasome and protein degradation in neuronal function and dysfunction / Tai H.-C., Schuman E.M. // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2008. – V.9. – P.826-838.
352. Tan, E.-T. LINGO1 variant increases risk of familial essential tremor / Tan E.-T., Teo Y.-Y., Prakash K.-M., et al. // *Neurology.* – 2009. – V.73. – P.1161-1162.
353. Theuns, J. Global investigation and meta-analysis of the C9orf72 (G4C2)_n repeat in Parkinson disease / Theuns J., Berstraeten A., Sleegers K. et al. // *Neurology.* – 2014. – V.83. – P.1906-1913.
354. Their, S. LINGO1 polymorphisms are associated with essential tremor in Europeans / Thier S., Lorenz D., Nothnagel M., et al. // *Mov. Disord.* – 2010. – V.25. – P.709-715.
355. Tomlinson, C.L. Systematic review of levodopa dose equivalency reporting in Parkinson's disease / Tomlinson C.L., Stowe R., Patel S. et al. // *Mov. Disord.* – 2010. – V.25. – N.15. – P.2649-2685.

356. Tsai, C.F. Transcranial color-coded sonography helps differentiation between idiopathic Parkinson's disease and vascular parkinsonism / Tsai C.F., Wu R.M., Huang Y.W. et al. // *J. Neurol.* – 2007. – V.254. – P.501–507.
357. Valente, E. M. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36 / Valente E. M., Bentivoglio A. R., Dixon, P. H. et al. // *Am. J. Hum. Genet.* - 2001. – V.68. – P.895-900.
358. van de Loo, S. Reproducibility and diagnostic accuracy of substantia nigra sonography for the diagnosis of Parkinson's disease / van de Loo S., Walter U., Behnke S. et al // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 2010. – V.81. – P.1087-1092.
359. Vergouw, L.J.M. An update on the genetics of dementia with Lewy bodies / Vergouw L.J.M., van Steenoven I., van de Berg W.D.J. et al. // *Parkinsonism and Related Disorders.* – 2017. – V.43. – P.1-8.
360. Vesela, O. Colour discrimination impairment is not a reliable early marker of Parkinson's disease / Vesela O., Ruzicka E., Jech R. et al. // *J. Neurol.* – 2001. – V.248. – N.11. – P.975-978.
361. Vilarino-Guell, C. LINGO1 rs9652490 is associated with essential tremor and Parkinson disease / Vilarino-Guell C., Ross O.A., Wider C., et al. // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2010. – V.16. –N.2. – P.109-111.
362. Vilarino-Guell, C. LINGO1 and LINGO2 variants are associated with essential tremor and Parkinson disease / Vilarino-Guell C., Wider C., Ross O.A., et al. // *Neurogenetics.* – 2010. – V.11. – N.4. – P.401-408.
363. Vlaar, A.M. Transcranial duplex in the differential diagnosis of parkinsonian syndromes: a systematic review / Vlaar A.M., Bouwmans A., Mess W.H. et al. // *J. Neurol.* – 2009. - V.256. – P.530–538.
364. Walter, U. Transcranial brain parenchyma sonography in movement disorders: State of the art / Walter U., Behnke S., Eyding J. et al. // *Ultrasound Med. Biol.* - 2007. - V.33. - P.15-25.
365. Walter, U. Parkinson's disease-like midbrain sonography abnormalities are frequent in depressive disorders / Walter U., Hoeppe J., Prudente-Morrissey L. et al. // *Brain.* – 2007. – V.130. – P.1799-1807.

366. Walter, U. Brain parenchyma sonography detects preclinical parkinsonism / Walter U., Klein C., Hilker R. et al. // *Mov. Disord.* – 2004. – V.19. – N.12. – P.1445–1449.
367. Wang, J.L. Analysis of SCA2 and SCA3/MJD repeats in Parkinson's disease in mainland China: genetic, clinical, and positron emission tomography findings / Wang J.L., Xiao B., Cui X.X. et al. // *Mov. Disord.* – 2009. – V.24. – N.13. – P.2007-2011.
368. Wang, L. Large-scale assessment of polyglutamine repeat expansions in Parkinson disease / Wang L., Aasly J.O., Annesi G. et al. // *Neurology.* – 2015. – V.85. – P.1283-1292.
369. Wang, M.-D. Intermediate CAG repeat expansion in the ATXN2 gene is a unique genetic risk factor for ALS – A systematic review and meta-analysis of observational studies / Wang M.-D., Gomes J., Cashman N.R. et al. // *PLoS One.* – 2014. – V.9. – N.8. – P.e105534.
370. Warman Chardon, J.W. Axons to exons: the molecular diagnosis of rare neurological disease by next-generation sequencing / Warman Chardon J.W., Beaulieu C., Hartley T. et al. // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2015. – V.15. – N.9. – P.64.
371. Warner, J.P. A general method for the detection of large CAG repeat expansions by fluorescent PCR / Warner J.P., Barron L.H., Goudie D. et al. // *J. Med. Genet.* – 1996. – V.33. – P.1022-1026.
372. Weise, D. Substantia nigra echogenicity: A structural correlate of functional impairment of the dopaminergic striatal projection in Parkinson's disease / Weise D., Lorenz R., Schliesser M. et al. // *Mov. Disord.* – 2009. – V.24. – N.11. – 1669-1675.
373. Wilke, C. Atypical parkinsonism in C9orf72 expansions; a case report and systematic review of 45 cases from the literature / Wilke C., Pomper J.K., Biskup S. et al. // *J Neurol.* – 2016. – V.263. – P.558-574.
374. Winder-Rhodes, S.E. Glucocerebrosidase mutations influence the natural history of Parkinson's disease in a community-based incident cohort / Winder-Rhodes S.E., Evans J.R., Ban M. et al. // *Brain.* – 2013. – V.136. – P.392–399.

375. Woollacott, I.O.C. The C9orf72 expansion mutation: gene structure, phenotypic and diagnostic issues / Woollacott I.O.C., Mead S. // *Acta Neuropathol.* – 2014. – V.127. – P.319-332.
376. Wu, T. Preclinical and clinical neural network changes in SCA2 parkinsonism / Wu T., Wang C., Hallett M. et al. // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2013. - V.19. – P.158-164.
377. Wu, Y.W. Lingo2 variants associated with essential tremor and Parkinson's disease / Wu Y.W., Prakash K.M., Rong T.Y. et al. // *Hum Genet.* – 2011. – V.129. – N.6. – P.611-615.
378. Wu, Y.W. Analysis of LINGO 1 variant in sporadic and familial essential tremor among Asians / Wu Y.W., Rong T.Y., Li H.H., et al. // *Acta Neurol. Scand.* – 2011. – V.124. – N.4. – P.264-268.
379. Xi, Z. Investigation of C9orf72 in 4 neurodegenerative disorders / Xi Z., Zinman L., Grinber Y. et al. // *Arch. Neurol.* – 2012. – V.69. - N.12. – P.1583-1590.
380. Xue, Y. Solving the molecular diagnostic testing conundrum for Mendelian disorders in the era of the next-generation sequencing: single-gene, gene panel, or exom/genome sequencing / Xue Y., Ankala A., Wilcox W.R. et al. // *Genet Med.* – 2015. – V.17. – N.6. – P.444-451.
381. Yamashita, C. Evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease / Yamashita C., Tomiyama H., Funayama M. et al. // *Neurobiol. Aging.* – 2014. – V.35. – N.7. – P.1779e17-1779e21.
382. Yeh, T.-H. Screening for C9orf72 repeat expansions in parkinsonian syndromes / Yeh T.-H., Lai S.-C., Weng Y.-H. et al. // *Neurobiol. Aging.* – 2013. – V.34. – N.4. – P.1311.e3-1311.e4.
383. Yerram, S. Cortical control of saccades in Parkinson disease and essential tremor / Yerram S., Glazman S., Bodis-Wollner I. // *J. Neural. Transm.* 2013. V.120. P.145-156.
384. Yokoyama, J.S. Shared genetic risk between corticobasal degeneration, progressive supranuclear palsy, and frontotemporal dementia / Yokoyama J.S., Karch C.M., Fan C.C. et al. // *Acta Neuropathol.* – 2017. –V.133. – P.825-837.

385. Yokoyama, J.S. C9orf72 hexanucleotide repeats in behavioral and motor neuron disease: clinical heterogeneity and pathological diversity / Yokoyama J.S., Sirkis D.W., Miller B.L. // *Am. J. Neurodegener. Dis.* – 2014. – V.3. – N.1. – P.1-18.
386. Yrigollen, C.M. AGG interruptions within the maternal FMR1 gene reduce the risk of offspring with fragile X syndrome / Yrigollen C.M., Durbin-Johnson B., Gane L. et al. // *Genet Med.* – 2012. V.14. – N.8. – P.729-736.
387. Yrigollen, C.M. The role of AGG interruptions in the transcription of FMR1 premutation alleles / Yrigollen C.M., Tassone F., Durbin-Johnson B., Tassone F. // *PLoS ONE.* – 2011. – doi: 10.1371/journal.pone.0021728.
388. Yu, J.-g. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: A meta-analysis / Yu J.-g., Feng Y.-f., Xiang Y. et al. // *PLoS ONE.* – 2014. – V.9. – P.e85718. – doi:10.1371/journal.pone.0085718.
389. Zech, M. Niemann-Pick C disease gene mutations and age-related neurodegenerative disorders / Zech M., Nuebling G., Castrop F. et al. // *PLoS One.* – 2013. – V.8. – P.e82879.
390. Zhang, C.-C. Meta-analysis of the association between variants in MAPT and neurodegenerative disease / Zhang C.-C., Zhu J.-X., Wan Y. et al. // *Oncotarget.* – 2017. – V.8. – N.27. – P.44994-45007.
391. Zhang, X. Screening for FMR1 expanded alleles in patients with parkinsonism in mainland China / Zhang X., Zhuang X., Gan S. et al. // *Neuroscience Letters.* – 2012. – V.514. – P.16-21.
392. Zuo, X. Screening for two SNPs of LINGO1 gene in patients with essential tremor or sporadic Parkinson's disease in Chinese population / Zuo X., Jiang H., Guo J.F., et al. // *Neurosci. Lett.* – 2010. – V.481. – P.69-72.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 385. Чечеткин, А.О. Болезнь Паркинсона и фенотип эссенциального тремора в одной семье: новые возможности нозологической верификации с**

использованием транскраниальной сонографии / Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Неврол. журн. – 2008. – Т.5. С.10–15.

386. Федотова, Е.Ю. Транскраниальная сонография в диагностике болезни Паркинсона: дис. ... канд. мед. наук / Федотова Екатерина Юрьевна. М.: 2010.

387. Федотова, Е.Ю. Возможности транскраниальной сонографии в диагностике экстрапирамидных заболеваний / Федотова Е.Ю. Чечеткин А.О., Иллариошкин С.Н. // Анналы клин. и эксперим. неврологии. - 2010. №- 4. - С.43- 50.

388. Федотова, Е.Ю. Транскраниальная сонография при болезни Паркинсона / Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Шадрина М.И., Сломинский П.А., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2011. - №1. - С.49-55.

389. Абрамычева, Н.Ю. Мутации в гене GBA при болезни Паркинсона / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Багыева Г.Х., Ключников С.А., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Медицинская генетика. - 2011. - №5. - С.22-26.

390. Филатова, Е.В. Анализ однонуклеотидного полиморфизма rs415430 в гене WNT3 в российской популяции при болезни Паркинсона / Филатова Е.В., Шадрина М.И., Федотова Е.Ю., Сломинский П.А., Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Лимборская С.А. // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2011. - №2. - С.3-4.

391. Пат. Российская Федерация, Способ дифференциальной диагностики болезни Паркинсона и эссенциального тремора / Алексеева Н.С., Пономарева Т.А., Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии». - №2467697 от 28.07.11.

392. Fedotova, E.Y. Clinical, ultrasound and genetic study of families with both Parkinson's disease and essential tremor / Fedotova E.Y., Chechetkin A.O., Karabanov

A.V., Ivanova-Smolenskaya I.A., Ilarioshkin S.N. // *Mov. Disord.* - 2011. - V.26. - S2. - P.376.

393. Федотова, Е.Ю. Опыт применения транскраниальной сонографии при болезни Паркинсона / Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Иллариошкин С.Н. // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей под ред. С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина.* - М. - 2011. - С 139-142

394. Абрамычева, Н.Ю. Мутации в генах GBA и LRRK2 при спорадической болезни Паркинсона / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Верюгина Н.И., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей под ред. С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина.* - М. - 2011. – С.311

395. Алексеева, Н.С. Нарушения обоняния у больных болезнью Паркинсона по результатам сниффин-стикс теста / Алексеева Н.С., Пономарева Т.А., Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю., Карабанов А.В. // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей под ред. С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина.* - М. - 2011. – С.311

396. Федин, П.А. Новые возможности диагностики нарушений цветовосприятия у пациентов с болезнью Паркинсона / Федин П.А., Федотова Е.Ю., Полещук В.В., Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А. // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей под ред. С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина.* - М. - 2011. – С. 328

397. Иллариошкин, С.Н. Формирование «группы риска» в отношении развития болезни Паркинсона / Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Абрамычева Н.Ю., Чигалейчик Л.А., Базиян Б.Х., Федин П.А., Алексеева Н.С., Пономарева Т.А., Кузнецова Г.Д., Габова А.В., Иванова-Смоленская И.А. // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей под ред. С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина.* - М. - 2011. – С. 330-331

398. Алексеева, Н.С. Нарушение обоняния при болезни Паркинсона / Алексеева Н.С., Иллариошкин С.Н., Пономарева Т.А., Федотова Е.Ю., Иванова-Смоленская И.А. // *Неврол. журн.* - 2012. – Т.1. - С.10-14.

399. Устинова, В.В. Анализ однонуклетидного полиморфизма rs12720708 в гене FGF 20 у больных спорадической формой болезни Паркинсона, проживающих в России / Устинова В.В., Шадрин М.И., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н., Лимборская С.А., Сломинский П.А. // Генетика. - 2012. – Т.12. - С.1437-1439.

400. Чечеткин, А.О. Гиперэхогенность черной субстанции у клинически здоровых лиц с семейным анамнезом болезни Паркинсона и в общей популяции / Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н // В сб.: Всероссийский съезд неврологов с международным участием, 10-й. Н.Новгород. - 2012. - С.353.

401. Алексеева, Н.С. Значение оториноларинго-неврологического обследования в выявлении обонятельных нарушений у пациентов с болезнью Паркинсона / Алексеева Н.С., Пономарева Т.А., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Всероссийский съезд неврологов с международным участием, 10-й. Н.Новгород. - 2012. - С.321-322.

402. Ключников, С.А. Двигательные нарушения при болезни Ниманна-Пика типа С / Ключников С.А., Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю. // В сб.: Расстройства движений в молодом возрасте. Базальные ганглии и токсины. – М. – 2012. С.37-38.

403. Алексеева, Н.С. Нарушения обоняния при болезни Паркинсона / Алексеева Н.С., Иллариошкин С.Н., Пономарева Т.А., Федотова Е.Ю., Иванова-Смоленская И.А. // В сб.: Актуальные вопросы клинической транспортной медицины. - М. - 2012. - С.337-345.

404. Степанова, М.С. Новые генетические факторы риска болезни Паркинсона: тандемные повторы SNCA (REP1) и ATXN2 / Степанова М.С., Мороз А.А., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Иллариошкин С.Н. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2013. – Т.4 (44). - Прил. №2. - С.98.

405. Абрамычева, Н.Ю. Вклад генов LRRK2 и GBA в развитие болезни Паркинсона в российской и украинской популяциях / Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Федотова Е.Ю., Коляда А.К., Карабань И.Н., Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2013. – Т.4 (44). - Прил. №2. - С.35-36

406. Федин, П.А. Паттерн нарушения цветовосприятия на ранних стадиях болезни Паркинсона / Федин П.А., Федотова Е.Ю., Полещук В.В., Иллариошкин С.Н. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2013. – Т.4 (44). – Прил. №2. – С.100-101.

407. Чигалейчик, Л.А. Поиск и изучение предикторов болезни Паркинсона у больных и их родственников / Чигалейчик Л.А., Полещук В.В., Базиян Б.Х., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2013. – Т.4 (44). – Прил. №2. – С.104-105.

408. Чечеткин, А.О. Транскраниальная сонография в популяции: выявление лиц с высоким риском развития болезни Паркинсона / Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Чигалейчик Л.А., Пономарева Т.А., Алексеева Н.С., Федин П.А., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Материалы V Всероссийской конференции «Функциональная диагностика». – М. – 2013. – С.137-138.

409. Иллариошкин, С.Н. Современные возможности идентификации латентной стадии нейродегенеративного процесса / Иллариошкин С.Н., Власенко А.Г., Федотова Е.Ю. // Анналы клинич. экспер. неврологии. - 2013. – Т.2. - С.39-50.

410. Иллариошкин, С.Н. Транскраниальная сонография в диагностике паркинсонизма / Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О. // Современные медицинские технологии. - 2013. – Т.10. - С.49-54.

411. Filatova, E. V. Analysis of known point mutations and SNPs in genes responsible for monogenic Parkinson's disease in Russian patients / Filatova E. V., Shadrina M.I., Fedotova E.Yu., Ivanova-Smolenskaya I.A., Illarioshkin S.N., Limborska S.A., Slominsky P.A. // Advances in Parkinson's Disease. – 2013. – V.2. – N.1. – P.28-30.

412. Alieva, A.Kh. Polymorphisms in the SNCA Gene: Association with the Risk of Development of the Sporadic Form of Parkinson's Disease and the Level of SNCA Gene Expression in Peripheral Blood of Patients from Russia / Alieva A.Kh., Shadrina M.I., Filatova E.V., Ustinova V.V., Fedotova E.Yu., Karabanov A.V., Illarioshkin S.N., Slominsky P.A. // Neuroscience & Medicine. -2013. V.4. – P.208-214.

413. Иллариошкин, С.Н. Транскраниальная сонография при экстрапирамидных заболеваниях / Иллариошкин С.Н., Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю. // М.: ООО «АТМО». - 2014. - 176 с.

414. Шварц, П.Г. Феноменология нарушений мочеиспускания у пациентов с мультисистемной атрофией (МСА) / Шварц П.Г., Иллариошкин С.Н., Федотова Е.Ю., Юдина Е.Н., Дорогов В.Н. // В сб.: Материалы 12-й Российского научно-образовательного форума «Мужское здоровье и долголетие». - М. 2014. - С.52.

415. Абрамычева, Н.Ю. Нейродегенерация и микросателлитные повторы: новые патогенетические формы / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Мороз А.А., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Фундаментальные проблемы нейронаук. Функциональная асимметрия. Нейропластичность. Нейродегенерация. Под ред. С.Н. Иллариошкина, В.Ф. Фокина. - 2014. М.: Научный мир. - С.915-921

416. Иллариошкин, С.Н. Ген GBA при болезни Паркинсона: роль для клеточной нейробиологии и нейрогенетики / Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Коновалова Е.В., Гривенников И.А., Хаспеков Л.Г. // В сб.: Фундаментальные проблемы нейронаук. Функциональная асимметрия. Нейропластичность. Нейродегенерация. Под ред. С.Н. Иллариошкина, В.Ф. Фокина. - 2014. М.: Научный мир. - С.959-965.

417. Филатова, Е.В. Анализ мутаций у пациентов с предполагаемой аутосомно-доминантной формой болезни Паркинсона / Филатова Е.В., Алиева А.Х., Шадрина М.И., Шульская М.В., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н., Лимборская С.А., Сломинский П.А. // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. - 2014. – Т.1. - С.3-4.

418. Abramychева, N.Yu C9orf72 expansion mutation in patients with different neurodegenerative disorders in Russian population / Abramychева N.Yu, Fedotova E.Yu, Stepanova M.S., Lysogorskaya E.V., Illarioshkin S.N. // Am. J. Neurodegener. Dis. - 2014. - V.3. - S1. - P.269.

419. Чигалейчик, Л.А. Роль исследования зрительно-моторной координации у пациентов с болезнью Паркинсона и их родственников при ранней и

доклинической диагностике заболевания / Чигалейчик Л.А., Федотова Е.Ю., Полещук В.В., Базиян Б.Х., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.346-347.

420. Abramychева, N. Extensive screening of GBA gene in Russian patients with Parkinson's disease / Abramychева N., Fedotova E., Stepanova M., Klyushnikov S., Poleshchuk V., Illarioshkin S. // *Mov. Disord.* - 2014. - V.29. - P.S43.

421. Fedotova, E.Y. Identifying Parkinson's at-risk population in Russia: Screening strategy and first results (the PARKINLAR study) / Fedotova E.Y., Chechetkin A.O., Abramychева N.Y., Chigaleychik L.A., Alekseeva N.S., Fedin P.A., Ponomareva T.A., Kravchenko M.A., Illarioshkin S.N. // *Mov. Disord.* - 2014. - V.29. - P.542-543.

422. Мороз, А.А. Ассоциация «промежуточной» полиглутаминовой экспансии гена ATXN2 (атаксин-2) с риском развития нейродегенеративных заболеваний в российской популяции / Мороз А.А., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Ключников С.А., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.31-33.

423. Федотова, Е.Ю. Ген C9ORF72 в развитии нейродегенеративных заболеваний, сопровождающихся расстройствами движений / Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.46-48.

424. Степанова, М.С. Оценка ассоциации полиморфной микросателлитной области SNCA-REP1 с развитием болезни Паркинсона в российской популяции / Степанова М.С., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.29-30.

425. Абрамычева, Н.Ю. Ген FMR1 и двигательные расстройства у пациентов в российской популяции / Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Федотова Е.Ю.,

Тимербаева С.Л., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.323-323.

426. Абрамычева, Н.Ю. Мутационный скрининг гена GBA с анализом клинических фенотипов болезни Паркинсона, ассоциированных с мутациями / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.42-45.

427. Федотова, Е.Ю. Идентификация лиц в латентной стадии болезни Паркинсона: первые результаты российского обсервационного исследования ПАРКИНЛАР / Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Абрамычева Н.Ю., Чигалейчик Л.А., Базиян Б.Х., Алексеева Н.С., Федин П.А., Кравченко М.А., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина - 2014. – М. - С.237-244.

428. Абрамычева, Н.Ю. Экспансия CAG-повторов в гене ATXN2 как универсальный фактор развития различных типов нейродегенеративной патологии / Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Мороз А.А., Федотова Е.Ю., Лысогорская Е.В., Ключников С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Материалы VI Съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) и ассоциированные генетические симпозиумы. – 2014. - Ростов-на-Дону. - С.124–125.

429. Abramychева, N.Y. C9ORF72 expansion in neurodegenerative disorders characterized by Parkinsonism and chorea / Abramychева N.Y., Fedotova E.Y., Stepanova M.S., Klyushnikov S.A., Seliverstov Y.A., Illarioshkin S.N. // Mov. Disord. - 2015. - V.30. - S1. - P.449.

430. Abramychева, N. Intermediate expansions in ataxia genes, ATXN2 and FMR1, associated with Parkinson's disease / Abramychева N., Fedotova E., Stepanova M., Moroz A., Klyushnikov S., Illarioshkin S. // European Journal of Neurology. - 2015. - V.22. - S1. - P.257.

431. Абрамычева, Н.Ю. Особенности мутационного профиля гена GBA при

болезни Паркинсона в российской популяции / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Медицинская генетика. - 2015. - Т.14. - № 2. - С.5.

432. Мороз, А.А. Роль полиморфизма некоторых микросателлитных локусов в патогенезе нейродегенеративных заболеваний / Мороз А.А., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Ключников С.А., Иллариошкин С.Н. // Медицинская генетика. - 2015. - Т.14. - № 2. - С.47.

433. Федотова, Е.Ю. Универсальная роль гена C9ORF72 в развитии нейродегенеративных заболеваний / Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Степанова М.С., Лысогорская Е.В., Иллариошкин С.Н. // Мед. генетика. – 2015. – Т.14. С.60–61.

434. Ключников, С.А. Применение технологий секвенирования нового поколения в диагностике наследственных нейродегенеративных заболеваний / Ключников С.А., Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Актуальные проблемы современной неврологии и психиатрии. – 2015. – СПб. - С.50–53.

435. Абрамычева, Н.Ю. Анализ основных генетических форм болезни Паркинсона с помощью метода MLPA / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Актуальные проблемы современной неврологии и психиатрии. – 2015. – СПб. - С.119.

436. Чечеткин, А.О. Транскраниальная эхография при экстрапирамидной патологии / Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // В сб.: Ультразвуковая и функциональная диагностика. - 2015. - Т.2. - С.190-191.

437. Федотова, Е.Ю. Идентификация лиц в латентной стадии болезни Паркинсона (исследование ПАРКИНЛАР): первые результаты и оптимизация алгоритма / Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Абрамычева Н.Ю., Чигалейчик Л.А., Базиян Б.Х., Пономарева Т.А., Алексеева Н.С., Федин П.А., Кравченко М.А., Варакин Ю.Я., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н. // Журн. неврол. психиатрии им. С.С.Корсакова. - 2015. - Т.115. - № 6. - С.4-11.

438. Чечеткин, А.О. Ультразвуковое исследование структур головного мозга при экстрапирамидной патологии / Чечеткин А.О., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // М.: ООО "АТМО". - 2016. - 80с. (ISBN 978-5-902123-66-8).

439. Fedotova, E.Y. Analysis of MAPT, GRN and C9orf72 genes in progressive supranuclear palsy, corticobasal syndrome and frontotemporal lobar degeneration in Russian population / Fedotova E.Y., Abryamycheva N.Y., Stepanova M.S., Vetchinova A.S., Illarioshkin S.N. // *Mov. Disord.* - 2016. - V.31. - S.2. - P.S196-S196.

440. Emelyanov, A.K. Oligomeric alpha-synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease / Emelyanov A.K., Baydakova G.V., Andoskin P.A., Nikolaev M.A., Senkevich K.A., Milyukhina I.V., Yakimovskii A.F., Timofeeva A.A., Fedotova E.Y., Nuzhnyi E.P., Illarioshkin S.N., Zakharova E.Y., Pchelina S.N. // *Mov. Disord.* - 2016. - V.31. - S.2. - P.S214-S215.

441. Abramycheva, N.Y. Analysis of LINGO1 and LINGO2 genes in essential tremor and Parkinson's disease / Abramycheva N.Y., Stepanova M.S., Fedotova E.Y., Ivanova E.O., Illarioshkin S.N. // *Mov. Disord.* - 2016. - V.31. - S.2. - P.S322.

442. Abramycheva, N.Yu An original target genetic panel to diagnose neurodegenerative diseases on the basis of next-generation sequencing: First experience / Abramycheva N.Yu, Fedotova E.Yu, Klyushnikov S.A., Ustinova V.V., Kunetsky V.E., Stepanova M.S., Timerbaeva S.L., Alekseev Ya I., Illarioshkin S.N. // *Modern technologies in medicine.* - 2016. - Т.8. - № 4. - С.185-190.

443. Abramycheva, N. Next generation sequencing in the diagnosis of neurodegenerative diseases: Russian experience / Abramycheva N., Fedotova E., Klyushnikov S., Illarioshkin S., Seliverstov Y. // *European Journal of Neurology.* - 2016. - V.23. - № S1. – P.22154.

444. Иванова, Е.О. Анализ полиморфизмов в генах LINGO1 и LINGO2 при эссенциальном треморе и болезни Паркинсона / Иванова Е.О., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Иванова-Смоленская И.А., Тимербаева С.Л. // В сб.: *Дегенеративные и сосудистые заболевания нервной системы.* - 2016. - Санкт-Петербург. - С.25-28.

445. Федотова, Е.Ю. Гены ATXN2 и C9ORF72 как универсальные факторы развития различных нейродегенеративных заболеваний / Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Мороз А.А., Ключников С.А., Лысогорская Е.В., Захарова М.Н., Тимербаева С.Л., Иллариошкин С.Н. // Неврол. журн. - 2016. - Т.21. - № 6. - С.323-329.

446. Абрамычева, Н.Ю. Новый подход к молекулярно-генетическому скринингу у пациентов с болезнью Паркинсона / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Степанова М.С., Тимербаева С.Л., Иллариошкин С.Н. // Неврол. журн. - 2016. - Т.21. - № 10. - С.13-16.

447. Ганькина, О.А. Особенности течения болезни Паркинсона при гетерозиготном носительстве мутаций в гене глюкоцереброзидазы А / Ганькина О.А., Васенина Е.Е., Левин О.С., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // Журн. неврол. психиатрии им. С.С.Корсакова. - 2016. - Т.116. - № 6. - С.71-76.

448. Абрамычева, Н.Ю. Опыт разработки и применения таргетной панели на основе NGS для диагностики наследственных нейродегенеративных заболеваний / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Ключников С.А., Кунецкий В.Е., Устинова В.В., Монахова Ю.А., Иллариошкин С.Н. // В сб.: «NGS в медицинской генетике». - 2016. Суздаль. - С.5-6.

449. Абрамычева, Н.Ю. Секвенирование нового поколения в диагностике заболеваний, сопровождающихся расстройствами движений / Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Устинова В.В., Алексеев Я.И. // Бюллетень Национального общества по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений. - 2016. - № 2. - С.16-23.

450. Ветчинова, А.С. NGS-технологии и персонафицированная неврология: новый подход к изучению нейродегенеративной патологии / Ветчинова А.С., Абрамычева Н.Ю., Федотова Е.Ю., Ключников С.А., Кунецкий В.Е., Иллариошкин С.Н. // В сб.: «Биомедицина-2016». - 2016. - Новосибирский государственный университет. - С.18.

451. Пат. Российская Федерация. Способ и набор реагентов для выявления полиморфизмов в генах LINGO1, LINGO2 и SLC1A2,

определяющих генетическую ассоциацию с эссенциальным тремором / Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Алексеев Я.И., Коновалова Н.В., Благодатских К.А., Степанова М.С., Иванова Е.О., Федотова Е.Ю.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии». -№2631615 от 25.09.2017.

452. Пат. Российская Федерация. Способ выявления экспансии тринуклеотидных CGG-повторов в 5'-нетранслируемой, промоторной области гена FMR1 при заболевании синдрома атаксии/тремора, ассоциированного с ломкой X-хромосомой (FXTAS) / Иллариошкин С.Н., Абрамычева Н.Ю., Мороз А.А., Федотова Е.Ю., Иванова Е.О., Алексеев Я.И., Тимербаева С.Л.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр неврологии». №2620944 от 30.05.2017.

453. Шульская, М.В. Полноэкзомное секвенирование в изучении генетических основ болезни Паркинсона / Шульская М.В., Зырин В.В., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Пчелина С.Н., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрин М.И. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.52-55.

454. Сенкевич, К.А. Молекулярные и клинические особенности GBA-ассоциированной болезни Паркинсона / Сенкевич К.А., Милюхина И.В., Емельянов А.К., Николаев М.А., Копытова А.Э., Белецкая М.В., Тимофеева А.А., Якимовский А.Ф., Нужный Е.П., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Иллариошкин С.Н., Пчелина С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.346.

455. Пчелина, С.Н. Молекулярные механизмы болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене глюкоцереброзидазы (GBA) / Пчелина С.Н., Емельянов А.К., Милюхина И.В., Сенкевич К.А., Байдакова Г.В., Николаев М.А., Копытова А.Э., Якимовский А.Ф., Тимофеева А.А., Захарова Е.Ю., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. –

М. - С.46-51.

456. Федотова, Е.Ю. Лобно-височная деменция: новые аспекты молекулярной диагностики у российских пациентов / Федотова Е.Ю., Гришина Д.А., Абрамычева Н.Ю., Ветчинова А.С., Иванова Е.О., Степанова М.С., Яхно Н.Н., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.275-277.

457. Чигалейчик, Л.А. Нейрофизиологические маркеры риска первичного паркинсонизма в ранней и латентной стадии нейродегенеративного процесса / Чигалейчик Л.А., Тесленко Е.Л., Дамянович Е.В., Карабанов А.В., Полещук В.В., Федотова Е.Ю. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.82-84.

458. Ганькина, О.А. Соотношение фенотипов и генотипов болезни Паркинсона на примере носителей мутаций гена GBA / Ганькина О.А., Васенина Е.Е., Левин О.С., Федотова Е.Ю., Абрамычева Н.Ю. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.109.

459. Федотова, Е.Ю. Продромальная стадия болезни Паркинсона: Критерии MDS в российском исследовании ПАРКИНЛАР / Федотова Е.Ю., Чечеткин А.О., Абрамычева Н.Ю., Чигалейчик Л.А., Федин П.А., Полькина Н.В., Кравченко М.А., Нодель М.Р., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.78-81.

460. Абрамычева, Н.Ю. Высокопроизводительные технологии мутационного скрининга при нейродегенеративных заболеваниях: опыт таргетного секвенирования / Абрамычева Н.Ю., Ветчинова А.С., Федотова Е.Ю., Ключников С.А., Алексеев Я.И., Иллариошкин С.Н. // В кн.: Болезнь Паркинсона и расстройства движений. Руководство для врачей. Под редакцией С.Н.Иллариошкина, О.С.Левина. - 2017. – М. - С.105-108.

461. Shulskaaya, M.V. Second mutation in PARK2 is absent in patients with sporadic

Parkinson's disease and heterozygous exonic deletions/duplications in PARKIN gene / Shulskaya M.V., Shadrina M.I., Limborska S.A., Slominsky P.A., Fedotova E.Y., Abramychева N.Y., Illarioshkin S.N. // International Journal of Neuroscience. - 2017. – V.127. – N.9. – P.781-784.

462. Pchelina, S.N. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease / Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G., Andoskin P., Senkevich K., Nikolaev M., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Fedotova E., Abramychева N., Usenko T., Kulabukhova D., Lavrinova A., Kopytova A., Garaeva L., Nuzhnyi E., Illarioshkin S., Zakharova E. // Neuroscience Letters. - 2017. - V.636. - P.70-76.

463. Федотова, Е.Ю. Болезнь Паркинсона и подходы к ее лечению / Федотова Е.Ю., Иванова Е.О. // Лечащий врач. - 2017. - № 5, - С.33-39.

464. Chechetkin, A.O. The second harmonics imaging improves a visualization of substantia nigra hyperechogenicity / Chechetkin A.O., Kravchenko M.A., Fedotova E.Yu, Illarioshkin S.N // International Journal of Stroke. - 2017. - V.12. - P.31.

465. Shulskaya, M.V. Whole-exome sequencing in searching for new variants associated with the development of Parkinson's disease / Shulskaya M.V., Alieva A.Kh., Vlasov I.N., Zyrin V.V., Fedotova E. Yu., Abramychева N. Yu., Usenko T.S., Yakimovsky A.F., Emelyanov A.K., Pchelina S.N., Illarioshkin S.N., Slominsky P.A., Shadrina M.I. // Front. Aging Neurosci. – 2018. – V.10. – e136.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1.

Диагностические критерии болезни Паркинсона

Клинические критерии возможного диагноза болезни Паркинсона «UK Parkinson's Disease Society's Brain Bank's»	
Этап 1	
<ul style="list-style-type: none"> • Брадикинезия • По крайней мере один из следующих критериев: <ul style="list-style-type: none"> Ригидность Тремор покоя с частотой 4-6 Гц Постуральная неустойчивость, не связанная первично с зрительной, вестибулярной, мозжечковой или проприоцептивной дисфункцией 	
Этап 2	
<ul style="list-style-type: none"> • Исключены другие причины развития паркинсонизма 	
Этап 3	
<ul style="list-style-type: none"> • По крайней мере три подтверждающих критерия из следующих: <ul style="list-style-type: none"> Одностороннее начало Тремор покоя Прогрессирующее течение Продолжающаяся асимметрия симптоматики с сохранением сторонности Хороший ответ (70-100%) на леводопа-терапию Выраженные хореiformные дискинезии, обусловленные леводопой Ответ на леводопу в течение 5 лет и более Анамнез заболевания 10 лет и более 	

Приложение 2.

Локусы и гены, ассоциированные с развитием болезнью Паркинсона

Локус	Хромосома	Ген/ Белок	Наследование
PARK1/PARK4	4q22.1	<i>SNCA</i>	АД
PARK2	6q26	<i>PARK2</i>	АР
PARK3	2p13	-	-
PARK5	4p13	<i>UCHL1</i>	-
PARK6	1p36.12	<i>PINK1</i>	АР
PARK7	1p36.23	<i>DJ-1</i>	АР
PARK8	12q12	<i>LRRK2</i>	АД
PARK9 (Kufor-Rakeb)	1p36.13	<i>ATP13A2</i>	АР
PARK10	1p32	-	-
PARK11	2q37.1	<i>GIGYF2</i>	-
PARK12	Xq12-q25	-	-
PARK13	2p13.1	<i>HTRA2 (Omi)</i>	-
PARK14	22q13.1	<i>PLA2G6</i>	АР
PARK15	22q12.3	<i>FBXO7</i>	АР
PARK16	1q32	-	-
PARK17	16q11.2	<i>VPS35</i>	АД
PARK18	3q27.1	<i>EIF4G1</i>	АД
PARK19	1p31.3	<i>DNAJC6</i>	АР
PARK20	22q22.11	<i>SYNJ1</i>	АР
PARK21	3q22	-	АД
PARK22	7p11.2	<i>CHCHD2</i>	АД
PARK23	15q22.2	<i>VPS13C</i>	АР
-	1q22	<i>GBA</i>	-
-	17q21.31	<i>MAPT</i>	-
-	4q23	<i>ADH1C</i>	-
-	6q27	<i>TBP</i>	-
-	12q24.12	<i>ATXN2</i>	-
-	Xq24	<i>GLUD2</i>	-

АД – аутосомно-доминантный, АР – аутосомно-рецессивный

Приложение 3.

Диагностические критерии деменции с тельцами Леви [McKeith I.G. et al., 2005]

Категория	Характеристика признаков	Диагностическая значимость признаков
1. Ключевой (центральный признак)	Деменция, определяемая как прогрессирующее когнитивное снижение, нарушающее социальную или профессиональную деятельность	Необходим для возможного или вероятного диагноза
2. Основные признаки	<ul style="list-style-type: none"> - Когнитивные флуктуации с выраженным колебанием внимания и уровня бодрствования - Повторяющиеся зрительные галлюцинации, обычно четко оформленные и детализированные - Спонтанно возникающие признаки паркинсонизма 	Один основной признак достаточен для возможного диагноза, два – для вероятного диагноза
3. Признаки удостоверяющие диагноз	<ul style="list-style-type: none"> - Расстройство поведения во сне с БДГ - Выраженная гиперчувствительность к нейролептикам - Низкий захват в базальных ганглиях радиофармпрепарата, связывающегося с дофаминовым транспортером (по данным ОФЭКТ или ПЭТ) 	Наличие хотя бы одного признака достаточно для вероятного диагноза при наличии хотя бы одного основного признака; в отсутствие основных признаков – достаточно для возможного диагноза
4. Признаки, поддерживающие диагноз	<ul style="list-style-type: none"> - Повторяющиеся падения или обмороки - Преходящие необъяснимые эпизоды утраты сознания - Тяжелая вегетативная дисфункция (ортостатическая гипотензия, недержание мочи) - Галлюцинации иных модальностей - Систематизированный бред - Депрессия - Относительная сохранность медиальных структур височных долей при КТ/МРТ - Аномальный (низкий) захват МИБГ* при сцинтиграфии сердца 	Часто присутствуют, но не имеют доказанной диагностической специфичности

	- Выраженная медленноволновая активность на ЭЭГ с транзиторными острыми волнами в височных отведениях	
5. Признаки, снижающие вероятность диагноза	- Признаки цереброваскулярного заболевания (очаговые неврологические симптомы или соответствующие данные нейровизуализации) - Любое другое соматическое или церебральное заболевание, способное частично или полностью объяснить клиническую картину - Появление симптомов паркинсонизма на стадии тяжелой деменции	
6. Временная последовательность симптомов	Признаки деменции проявляются до возникновения паркинсонизма или одновременно с ним (если последний присутствует)	

*МИБГ – ^{123}I -метайодобензилгуанидин (маркер симпатических окончаний в сердце)

Приложение 4.

Диагностические критерии мультисистемной атрофии [Gilman S. et al., 2008]

Вероятный диагноз МСА	
Спорадическое, прогрессирующее заболевание с возрастом начала после 30 лет, характеризующееся:	
<ul style="list-style-type: none"> • Вегетативной недостаточностью, включая недержание мочи (эректильную дисфункцию у мужчин) или • Снижением систолического АД как минимум на 30 мм рт.ст. или диастолического АД как минимум на 15 мм рт.ст. при проведении ортостатической пробы (3 минуты) 	
<ul style="list-style-type: none"> • Паркинсонизмом (брадикинезией с ригидностью, тремором или постуральной неустойчивостью), плохо отвечающим на леводопатерапию или • Мозжечковым синдромом (атаксией при ходьбе, мозжечковой дизартрией, атаксией в конечностях, окуломоторными мозжечковыми нарушениями) 	
Возможный диагноз МСА	
Спорадическое, прогрессирующее заболевание с возрастом начала после 30 лет, характеризующееся:	
<ul style="list-style-type: none"> • Паркинсонизмом (брадикинезией с ригидностью, тремором или постуральной неустойчивостью) или • Мозжечковым синдромом (атаксией при ходьбе, мозжечковой дизартрией, атаксией в конечностях, окуломоторными мозжечковыми нарушениями) 	
<ul style="list-style-type: none"> • По крайней мере один из симптомов, предполагающий вегетативную дисфункцию (необъяснимые позывы к мочеиспусканию, частое или неполное опорожнение мочевого пузыря, эректильная дисфункция у мужчин, ортостатическая гипотензия, существенная, но недостаточная для постановки вероятного диагноза МСА) 	
<ul style="list-style-type: none"> • По крайней мере одним из дополнительных симптомов: <ul style="list-style-type: none"> ○ Для МСА с синдромом паркинсонизма (МСА-П, стриатонигральный тип) или МСА с мозжечковым синдромом (МСА-М, оливопонтocerebellарный тип) <ul style="list-style-type: none"> ▪ Рефлекс Бабинского и гиперрефлексия ▪ Стридор ○ Для возможного диагноза МСА-П <ul style="list-style-type: none"> ▪ Быстрое прогрессирование паркинсонизма ▪ Резистентность к препаратам леводопы ▪ Постуральная неустойчивость в первые 3 года от появления двигательных нарушений ▪ Атаксия при ходьбе, мозжечковая дизартрия, атаксия в конечностях, окуломоторные мозжечковые нарушения ▪ Дисфагия в первые 5 лет от появления двигательных нарушений 	

- Атрофия скорлупы, средней ножки мозжечка, моста, самого мозжечка по данным МРТ
- Гипометаболизм в скорлупе, стволе мозга, мозжечка по данным ПЭТ
- Для возможного диагноза МСА-М
 - Паркинсонизм (брадикинезия и ригидность)
 - Атрофия скорлупы, средней ножки мозжечка, моста по данным МРТ
 - Гипометаболизм в скорлупе по данным ПЭТ
 - Пресинаптическая нитростриарная дофаминергическая дисфункция по данным ОФЭКТ или ПЭТ

Приложение 5.

Клинические критерии прогрессирующего надъядерного паралича (NINDS-SPSP) [Litvan I. et al., 1996]

Облигатные признаки	Признаки, свидетельствующие против диагноза	Подтверждающие признаки
1..Прогрессирующее течение 2..Начало после 40 лет 3..Парез вертикального зрения(вверх или вниз) 4..Развитие выраженной постуральной неустойчивости с частыми падениями на первом году заболевания	1..Энцефалит в анамнезе 2..Синдром «чужой» конечности, нарушение сложных видов чувствительности. Фокальная атрофия лобных или теменно-височных отделов при МРТ 3..Галлюцинации и бред, не связанные с дофаминергической терапией 4..Корковая деменция альцгеймеровского типа (с выраженной амнезией, афазией или агнозией) 5..Выраженные мозжечковые симптомы, рано развивающаяся необъяснимая вегетативная недостаточность (ортостатическая гипотензия, импотенция, расстройство мочеиспускания) 6..Выраженная асимметрия симптомов паркинсонизма (особенно брадикинезии) 7..Нейровизуализационные признаки структурных изменений головного мозга (например, инфаркты базальных ганглиев и ствола, фокальная (лобарная атрофия) 8..Болезнь Уиппла, подтвержденная при необходимости полимеразной цепной реакцией	1..Симметричные акинезия или ригидность, более выраженные в проксимальном отделе, чем в дистальном 2..Патологическая установка шеи (ретроколлис) 3..Отсутствующая, минимальная или переходящая реакция паркинсонических симптомов на препараты леводопы 4..Раннее развитие дисфагии и дизартрии 5..Раннее развитие нейропсихологических нарушений, в том числе двух и более из следующих признаков (апатия, нарушение абстрактного мышления, снижение речевой активности, полевое поведение, эхопраксия), или лобных знаков
<p><i>Возможный диагноз</i> ПНП требует либо паралича вертикального зрения (вверх или вниз) либо замедления вертикальных саккад в сочетании с выраженной постуральной неустойчивостью и частыми падениями, развивающимися на первом году заболевания.</p> <p><i>Вероятный диагноз</i> ПНП требует сочетания паралича вертикального зрения (вверх или вниз) и выраженной рано развивающейся постуральной неустойчивости.</p> <p><i>Достоверный диагноз</i> ПНП требует наличия клинически возможного или вероятного ПНП и гистологических изменений, типичных для ПНП</p>		

Приложение 6.**Диагностические критерии кортико-базального синдрома [Armstrong M.J. et al., 2013]**

Для постановки диагноза вероятного кортико-базального синдрома необходимо 2 признака из а), b), c) ПЛЮС 2 признака из d), e), f).

Для постановки диагноза возможного кортико-базального синдрома необходимо 1 признак из а), b), c) ПЛЮС 1 признак из d), e), f).

- a) ригидность или акинезия конечности;
- b) дистония конечности;
- c) миоклонус в конечности;

- d) оробуккальная или конечностная апраксия;
- e) кортикальный сенсорный дефицит;
- f) феномен «чужой» конечности (больше, нежели чем левитация)

Приложение 7.

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена *GVA*

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
1-2 экзоны	ACCCCAAAGTTGGTCTC AGTC	CACCCATACATGCCCTC CAG
	дополнительный внутренний сиквенсовый праймер: 5' - GCAGGTACCTGCATCCTTGT - 3'	
3-4 экзоны	CAGGGATGGGCAGAAG TCAG	CCGTGTTTCAGTCTCTCCT AGC
	дополнительный внутренний сиквенсовый праймер: GGCAGAGTGAGATTCTGCCT	
5-7 экзоны	TCAAGCGACAACCTGTGG GAT	TGGCCCTGACTCAGACA СТА
	дополнительные внутренние сиквенсовые праймеры: 5' - GAGCTGAGGACAGGCAGATC - 3' 5' - TCCCAAAGTGCTGGGATTAC - 3'	
8-11 экзоны	GCACCACCTAGAGGGG AAAG	TTCTTCCCGTCACCCAA CTC
	дополнительные внутренние сиквенсовые праймеры: 5' - AGTCACTTCCTGCCTCCATG - 3' 5' - AGCCTCTGCAGGAGTTATGG - 3'	

Приложение 8.

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена *LINGO1*

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
1 экзон	AACCCGGAATTTGTTGG GGT	CTCCGCTGAAAGGAGAC GA
2 экзон (1я половина)	AAGAGAACGTGTGTAG AAGGGT	CTACGGCCTCAACCTGA CG
2 экзон (2я половина)	GAGCAGCTCATGCAACA TGG	CAGGCAGGGTAAGAGG CAAG

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена *LINGO2*

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
1 экзон (1я половина)	AGTCTCCATTGGAAGTC CTCCT	TGACTCACCTTAACCTC TCCTACA
1 экзон (2я половина)	TGAGGCTCAATGGTGCG AAG	AACTTGACCAAGAACCT GTTACTA

Приложение 9.

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена *MART*

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
0 экзон	GGTTTCGGGACTACGAA GGG	CGCGAATCTGGTGGTGA AGA
1 экзон	ATATGAACTGCTGCGGT GTTG	TGCTTGAGTTATCTTGG CCCAC
2 экзон	TGCCCCGTTGACCAATGG AAG	TATGGAGCGGGGCTTTG TG
3 экзон	ATGAGCCAGAACCACTC AGC	CGCTGACTGAGGCAAGA TGA
4 экзон	CCTGGTCCCAAAGTGGA GAA	CTCAACTCCCAGGCTGG ACA
5 экзон	GCTGTCATTCCAAGCAA GCAA	GTGTTCGATTTAGTGGCG TCCT
5x экзон	AGGGGACAAATAACTG ACTTGACA	TCCCTCTACCCCATGGA CAA
6 экзон	GGTTAGGGAGACTGCAC CTTC	CTTCATGAACCTGCCAA CTGC
7 экзон	GACGGTCACTTTCCTGT TCTTAC	GATTTTCGAAACCAAGGT CCCAC
8 экзон	TGCACTAATGTCCTGCC GAT	AGGGATTCAACATTTGC CTCAGA
9 экзон	AAACAACGTGATGCATT TCCC	CCTGTAATGCCATTGTC CCTGA
10 экзон	AAGACTGTGGAGCCGA GTTG	TGCCCTGACTATGAGAG CCT
11 экзон	AGCAGCCCTCTATCCCT TCA	GGGACACCCCCTCCTAG AAT
12 экзон	GCAGGGTTGGCAGAATT TCG	CCTCACCTTGTCTTGGG CAG
13 экзон	CTTGGAACCACTTGCTT GGC	CGTGCTAAAGCTCCAGG TGA
14 экзон	AGTCCCTGGCACTCTGG G	CCACTCCCCTTCTTGT GCT

Приложение 10.

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена *GRN*

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
0 экзон	CACTCCCTCGCACTGTC AAT	CCCACCCAGTCACTCAC ATC
1, 2, 3 экзоны	CCTAGAATCAAGGGTGG CGT	ATGGGTTGGTATTAGAC CGGC
4, 5, 6 экзоны	ATCTTGCTGAGGGAGGG ACT	CTCAGTAGCACACAGGG AGC
7, 8, 9 экзоны	AGGGTTCATGCTACCCC CTA	GCTGGGTATCACSTATG GGC
10, 11 экзоны	GCCCATAGGTGATACCC AGC	AAACACTTGGTACCCCT GGC
12 экзон	CCTGCGAGAAGGAAGT GGTC	TGTGATACAGCCGATGT GGG

Приложение 11.

Последовательности подобранных праймеров для секвенирования гена
NPC1

Экзон	Прямой праймер 5'→3'	Обратный праймер 5'→3'
1 экзон	ACCACAGGAAAGAGAGC GTG	GAAACCGTTGGCACAAC TCC
2, 3 экзоны	ACACACACGCATGCATA CACA	TGTTAAGTGCCTGTTGCT GTT
4 экзон	GTTAGGGGGGAGTTAAAG CAAGC	AATCGTTCTTGCTGGCCC TAT
5, 6 экзоны	TGTCCTAAGTAACCAAG CTCTC	TGGTGCATATGGAGTTCG TGT
7, 8 экзоны	ACCATGACATTCAGCCCC AA	AGCAAGGGGACTTAGGG GAA
9 экзон	AACAAGCTTTTGCCCATG TACC	ACGCCTCTAAGTAGTTTG CTGTT
10 экзон	CCCAAACCCAAAGCCAA AGG	TCCCAAAGGTGAGTGCT GAG
11 экзон	GCACCTGCTCAAAGGTA AATGG	GAGATACAGTCCATAGC TCCAG
12, 13 экзоны	AGTCAAGACGACCGATG AGC	CGTGGCCTTTGTATCGTG AAAG
14 экзон	GCCAGCTCCTTCTTTCTC CA	TAATGTGGCTGGCTCAGC TT
15, 16, 17 экзоны	AACCCTGGAAACCCTGT CAC	ATGGTCTGGTGCTGAGTG TG
18, 19 экзоны	CTGTCTGAGCCAGGAAC AACAT	TGATCCTCGCCTTGCTTA GTT
20 экзон	GCCCACGCTAAGACAGA ATCA	TGACATGTGGCTGAAGC TTTTA
21, 22 экзоны	ACTCCTCCAGCACTCATC CT	GTGTTCCCTTATCTGGGG GC
23, 24 экзоны	AAGTAGTCTGCACCATC ATGAC	AAGTCCAATGGGATGCT TGG
25 экзон	TAGGGAAGGATCAGGGC TGT C	CACTGCAGCCTGAGGAA GAA

Приложение 12.

**Праймеры и зонды для анализа полиморфизмов
в генах *LINGO1* и *LINGO2***

Название полиморфизма	Функция	Олигонуклеотидная последовательность 5'→3'
rs9652490	зонд	cttctcccCgcctagcttactct
	прямой праймер	cggttacctcagacacatga
	обратный праймер	gggcctctctcccaagg
rs11856808	зонд	ttgtagaacaCgttt
	прямой праймер	gcaggtcaccttgctgcata
	обратный праймер	ggctccc aaatgggacttag
rs10968280	зонд	aaaagtgatggaattgTatttgata
	прямой праймер	tgaagtatttgggccacttt
	обратный праймер	caatccctatggtc atgaagc
rs7033345	зонд	agcaaaCgtacacag
	прямой праймер	tttctctcccacacactcaag
	обратный праймер	tgaattcattggc attgtttaga
rs1412229	зонд	tgcaAatattttagt
	прямой праймер	gcaatgaggc atcagagtga
	обратный праймер	gcaatgctttaaataaactgaga
rs10812774	зонд	ataatTactgactgagttccgttt
	прямой праймер	tgcaataagtc attaggaattg
	обратный праймер	tgtcactaatgcttgagcacct

Приложение 13.**Список 300 генов, вошедших в панель NGS****Атаксия (135):**

ABCB7, ABHD12, ADCK3, AFG3L2, AH11, ALAS2, ALG6, ANO10, APTX, ARL13B, ARSA, ATCAY, ATM, ATP1A2, BFPP (BPPR; GPR56; TM7LN4; TM7XN1; ADGRG1), BTBD, C10orf2, CA8, CACNB4, CAMTA1, CC2D2A, CCDC88C, CEP290, CERS1, CLN3, CLN5, CLN6, CLN8, CLN9, COX9, CP, CRAT, CSTB, CTSD, CTSF, CYP27A1, DARS2, DDB2, DLAT, DNAJC19, DNAJC5, DNMT1, EEF2, EIF2B1, EIF2B2, EIF2B4, EIF2B5, ELOVL4, ELOVL5, EPM2A (MELF), ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, FGF14, FLVCR1, FXN, GALC, GCDH, GCLC, GLB1, GOSR2, GPR56, HEXA, HEXB, HPRT1, INPP5E, ITPR1, KCNC1, KCNC3, KCND3, KCNJ10, KCTD7, KIAA0226, L2HGDH, MARS2, MFSD8, MRE11A, MT-CO2, MTPAP, MTPP, NEU1, NHLRC1, NOL3, NOP56, NPC1, NPC2, NPHP1, OPA1, OPA3, PAX6, PDHX, PDSS1, PDSS2, PDYN, PEX10, PEX7, PHYH, PLEKHG4, PMM2, POLG1, POLH, PPT1, PRICKLE1, PRICKLE2, PRKCG, RARS2, RELN, RPRGIP1L, SACS, SCARB2, SETX, SIL1, SLC17A5, SLC1A3, SLC5A2, SPTBN2, SYNE1, TDP1, TGM6, TMEM216, TMEM240, TMEM67, TPP1, TSEN2, TSEN34, TSEN54, TTBK2, TTPA, VLDLR, VRK1, WFS1, XPA, XPC, ZNF592.

Болезнь Альцгеймера (10):

APP, BLMH, HFE, MPO, NOS3, PACIP1, PLA2, PSEN1, PSEN2, SORL1

Болезнь Вильсона (1):

ATP7B

Болезнь мотонейрона (20):

ALS2 (ALSIN), ANG, DAD, ERBB4, FIG4, FUS, HNRNPA1, MATR3, OPTN, PFN1, PRPH, RBM45, SMN1, SOD1, TAF15, TRPM7, TUBA4A, UBQLN2, VAPB, VRK1

Болезнь Фара (3):

PDGFB, PDGFRB, SLC20A2

Дистония (16):

ANO3, ATP1A3, CIZ1, GCH1, GNAL, MRI, PRKRA, PRRT2, SGCE, SLC2A1, SPR, TAF1, TH, THAP1, TOR1A, TUBB4A

Лейкоэнцефалопатия (22):

ABCD1, ADAR, AIMP1, ASPA, CLCN2, CSF1R, FAM126A, GFAP, IFIH1, LMNB1, NOTCH3, POLR3A, POLR3B, PSAP, RARS, RNASEH2A, RNASEH2B, RNASEH2C, SAMHD1, SLC16A2, SUMF1, TREX1

Лобно-височная деменция (12):

APOE, CHCHD10, CHMP2B, DCTN1, GRN, NEFH, SIGMAR1, SQSTM1, TARDBP, TMEM106B, TREM2, VCP

Нейродегенерация с накоплением железа (6):

C19ORF12, COASY, FTL, PANK2, PLA2G6, WDR45

Параплегия (44):

ACP33, AMPD2, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, AP5Z1, ARL6IP, ATLI, B4FALNT1, BSCL2, C12ORG65, C19ORF12, CPT1C, CYP2U1, CYP7B1, DDHD1, DDHD2, ENTPD1, ERLIN2, FA2H, GBA2, GJC2, HSPD1, KIAA0196, KIF1A, KIF5A, LICAM, NIPA1, NT5C2 (GMP; NT5B; PNT5), SPG45 (SPG65), PGN (CAR; CMAR; SPG5C; SPG7), PLP1, PNPLA6, REEP1, REEP2, RTN2, SLC33A1, SPAST, SPG11, TECPR2, TFG, VPS37A, ZFYVE26, ZFYVE27

Паркинсонизм (21):

ADH1C, ATP13A2, CHCHD2, DJ1, DNAJC6, EIF2B3, EIF4G1, FBXO7, GBA, GIGYF2, HTRA2, LRRK2, MAPT, NPC, PINK1, PARK2, RAB39B, SNCA, SYNJ1, UCHL1, VPS35

Прионное заболевание (1):

PRNP

Тремор (4):

DRD3, LINGO1, LINGO2, SLC1A2

Хорея (5):

ATN1, JPH3, NKX2-1, VPS13A, XK (NA; NAC; X1k; XKR1; KX)

Приложение 14.

Критерии для интерпретации вариантов нуклеотидной последовательности

(P – патогенный, B – доброкачественный)

(VS/A – очень сильный, S – сильный, M – средний, P-вспомогательный)

PVS1: LoF-варианты – варианты, приводящие к прекращению синтеза белка (нонсенс-мутации; мутации со сдвигом рамки считывания; изменения канонических (± 1 или ± 2) нуклеотидов сайта сплайсинга; варианты, приводящие к изменению в иницирующем кодоне; делеции/дупликации одного или нескольких экзонов), если данный тип варианта нуклеотидной последовательности гена является известной причиной заболевания

PS1: вариант, приводящий к замене на аминокислоту, которая была описана ранее как патогенная для этого заболевания, в том же положении.

PS2: de novo вариант, отсутствующий у обоих родителей пациента.

PS3: подтверждение патогенности эффекта варианта функциональными исследованиями (*in vitro* или *in vivo*) гена или продукта гена.

PS4: распространенность варианта у больных индивидуумов значительно выше, чем в контрольной группе. Отношение шансов (OR), полученное при исследовании «случай-контроль» $> 5,0$. Если результаты исследования «случай-контроль» статистически не достоверны, очень редкий вариант нуклеотидной последовательности у нескольких не связанных родством пациентов с одинаковым фенотипом при его отсутствии в контрольной группе, следует отнести к **PM**.

PM1: вариант расположен в «горячей» точке и/или важных и хорошо исследованных функциональных доменах белка (например, активных сайт фермента), в которых не описаны доброкачественные изменения.

PM2: вариант отсутствует в контрольной выборке (или встречается с крайне низкой частотой): для аутосомно-доминантных заболеваний частота аллеля не должна превышать 0,01%, для аутосомно-рецессивных заболеваний – 0,5%, для доминантных X-сцепленных – 0,03%, для рецессивных X-сцепленных – 0,5%.

PM3: вариант, находящийся в транс-положении с описанным патогенным вариантом для рецессивных заболеваний.

PM4: вариант, приводящий к синтезу белка измененной длины (инсерции/делеции в рамках считывания в неповторяющихся регионах или потеря стоп-кодона/замена на аминокислоту).

PM5: новые миссенс-варианты, приводящие к замене аминокислоты в положении, в котором другие миссенс-варианты, выявленные ранее, были описаны, как патогенные.

PP1: вариант в гене, для которого точно установлена связь с болезнью вследствие косегрегации у нескольких пораженных членов семьи. По мере накопления данных о сегрегации может быть отнесен к критерию **PS**.

PP2: миссенс-вариант в гене, в котором редки доброкачественные миссенс-варианты, но они являются обычной причиной возникновения заболевания.

PP3: результаты не менее трех программ предсказания патогенности *in silico* подтверждают патогенное воздействие варианта на ген или генный продукт.

PP4: фенотип пациента или/и семейная история высокоспецифичны для заболевания с данной наследственной этиологией.

PP5: источники с хорошей репутацией указывают на патогенность варианта, но независимая оценка не проводилась.

BA1: частота аллеля $>3\%$ в базах данных ESP, 1KP или ExAC.

BS1: частота аллеля больше, чем ожидаемая для заболевания: для аутосомно-доминантного заболевания частота аллеля не должна превышать $0,01\%$, для аутосомно-рецессивного заболевания – $0,5\%$, для доминантного X-сцепленного – $0,03\%$, для рецессивного X-сцепленного – $0,5\%$.

BS2: если вариант нуклеотидной последовательности в гене, изменения которого приводят к заболеванию с полной пенетрантностью с манифестацией в детстве, встретился у здорового человека: 1) в гомозиготном состоянии при заболеваниях с рецессивным типом наследования; 2) в гетерозиготном состоянии при заболеваниях с доминантным типом наследования или 3) с гемизиготном состоянии при X-сцепленных заболеваниях.

BS3: функциональные исследования (*in vitro* или *in vivo*), подтверждают отсутствие патогенного эффекта варианта на ген или генный продукт.

BS4: вариант нуклеотидной последовательности, для которого точно установлено отсутствие косегрегации с болезнью в семье.

ВР1: миссенс-вариант в гене, о котором известно, что только варианты нуклеотидной последовательности, приводящие к изменению длины белка, являются причиной заболевания.

ВР2: если выявлен один патогенный вариант, соответствующий фенотипу заболевания с полной пенетрантностью, а неописанный вариант находится с ним в транс-положении при доминантном типе наследования или в цис-положении при любом другом типе наследования.

ВР3: делеции/инсерции с сохранением рамки считывания, если не проводилось функциональное исследование.

ВР4: результаты не менее трех программ предсказания патогенности *in silico* подтверждают отсутствие воздействия варианта на ген или генный продукт.

ВР5: источники с хорошей репутацией сообщили об отсутствии патогенности варианта, но независимая оценка не проводилась.

ВР6: синонимичный (*silent*) вариант с отсутствием влияния на консенсусную последовательность сплайс-сайтов по данным алгоритмов предсказания сплайсинга (отсутствуют новые сайты сплайсинга) и нуклеотид не являются эволюционно высоко консервативным.

Приложение 15.

**Правила комбинирования критериев для классификации вариантов
нуклеотидной последовательности**

Патогенный вариант	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1 очень сильный критерий (PVS1) и <ol style="list-style-type: none"> a. 1 сильный (PS1-PS4) или b. 2 и более средний (PM1-PM5) или c. 1 средний (PM1-PM5) 1 вспомогательный (PP1-PP5) или d. 2 и более вспомогательных (PP1-PP5) 2. 2 и более сильных (PS1-PS4) критериев 3. 1 сильный критерий (PS1-PS4) и <ol style="list-style-type: none"> a. 3 и более средних (PM1-PM5) или b. 2 средний (PM1-PM5) и 2 и более вспомогательных (PP1-PP5) или c. 1 средний (PM1-PM5) и 4 и более вспомогательных (PP1-PP5)
Вероятно патогенный вариант	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1 очень сильный (PVS1) и 1 средний (PM1-PM5) 2. 1 сильных (PS1-PS4) и 1-2 средних (PM1-PM5) 3. 1 сильный (PS1-PS4) и 2 и более вспомогательных (PP1-PP5) 4. 3 и более средних (PM1-PM5) 5. 2 средних (PM1-PM5) и 2 и более вспомогательных (PP1-PP5) 6. 1 средний (PM1-PM5) и 4 и более вспомогательных (PP1-PP5)
Вариант неопределенного значения	<ol style="list-style-type: none"> 1. Вариант не описывается ни одним критерием 2. Критерии доброкачественности и патогенности противоречат друг другу
Вероятно доброкачественный вариант	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1 сильный (BS1-BS4) и 1 вспомогательный (BP1-BP6) 2. 2 и более вспомогательных (BP1-BP6)
Доброкачественный вариант	<ol style="list-style-type: none"> 1. 1 очень сильный (BA1) 2. 2 сильных (BS1-BS4)

Приложение 16.**Эквивалентные дозы противопаркинсонических средств**

[Tomlinson C.L. et al., 2010]

Препарат	Доза, мг
Леводопа	
Стандартный препарат	100
Препарат с контролируемым высвобождением	133
Агонисты дофаминовых рецепторов	
Ропинирол	4
Прамипексол	1
Пирибедил	100
Ротиготин	3,3
Бромокриптин	10
Апоморфин	10
Ингибиторы МАО-В	
Селегилин	10
Разагилин	1
Ингибиторы КОМТ	
Энтакапон 200мг	Доза леводопы *0,33
Толкапон 100мг	Доза леводопы*0,5
Амантадин	100

Приложение 17.

Множественный выбор в идентификационном субтесте ольфактометрии (Sniffin' Sticks)

1	
Апельсин	Малина
Земляника	Ананас
2	
Дым	Клей
Обувная кожа	Трава
3	
Мёд	Ваниль
Шоколад	Корица
4	
Шнитт-лук	Мята перечная
Ель	Лук
5	
Кокос	Банан
Грецкий орех	Вишня
6	
Персик	Яблоко
Лимон	Грейпфрут
7	
Солодка	Жевательный мармелад
Жевачка	Печенье
8	
Горчица	Резина
Ментол	Скипидар

9	
Лук	Квашеная капуста
Чеснок	Морковь
10	
Сигарета	Кофе
Вино	Дым свечи
11	
Дыня	Персик
Апельсин	Яблоко
12	
Гвоздика	Перец
Корица	Горчица
13	
Груша	Слива
Персик	Ананас
14	
Ромашка	Малина
Роза	Вишня
15	
Анис	Ром
Мёд	Ель
16	
Хлеб	Рыба
Сыр	Ветчина

Приложение 18.

Опросник для скрининга РПБДГ (REM sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire, RBDSQ)

- 1) У меня иногда бывают очень яркие сны (да/нет)
 - 2) Мне часто снятся проявления агрессии и нападения (да/нет)
 - 3) Мое поведение во сне соответствует содержанию моих снов (да/нет)
 - 4) Я знаю, что двигаю ногами и руками во сне (да/нет)
 - 5) Эти движения могут приводить к травмам у меня или моего партнера (да/нет)
 - 6) Раньше или сейчас во сне я:
 - говорю, кричу, ругаюсь, громко смеюсь (да/нет)
 - внезапно дергаю руками ил ногами, дерусь (да/нет)
 - жестикулирую, совершаю сложные движения (машу, отдаю часть, отмахиваюсь от комаров, падаю с кровати) (да/нет)
 - сбрасываю на пол окружающие предметы (очки, книгу, ночник) (да/нет)
 - 7) Случается, что я просыпаюсь из-за этих движений (да/нет)
 - 8) После пробуждения я хорошо помню содержание сна (да/нет)
 - 9) Мой сон постоянно прерывается (да/нет)
 - 10) У меня есть/было неврологическое заболевания (инсульт, травма головы, паркинсонизм, нарколепсия, депрессия, эпилепсия). (да/нет)
- Указать какое: _____

*за каждый положительный ответ начисляется один балл

Тест из одного вопроса для выявления РПБДГ (RBD Single Question, RBD1Q)

«Вам когда-нибудь говорили или вы замечали сами, что вы совершаете во сне движения, которые вам снятся (например, толкаетесь, машете руками в воздухе, двигаете ногами как при беге)?»

Приложение 19.

Опросник депрессии Бека

Этот опросник состоит из 21 группы утверждений. Прочтите внимательно каждую группу и обведите кружком номер (0, 1, 2, 3) одного утверждения, наилучшим образом отражающего Ваше самочувствие в течение последней недели, включая сегодняшний день. Убедитесь, что Вы прочитали все утверждения в группе, прежде чем сделать выбор.

1. 0. Я не чувствую себя расстроенным, печальным
 1. Я расстроен
 2. Я все время расстроен и не могу от этого отключиться
 3. Я настолько расстроен и несчастлив, что не могу это выдержать

2. 0. Я не тревожусь о своем будущем
 1. Я чувствую, что озадачен будущим
 2. Я чувствую, что меня ничего не ждет в будущем
 3. Мое будущее безнадежно, и ничего не может измениться к лучшему

3. 0. Я не чувствую себя неудачником
 1. Я чувствую, что пережил больше неудач, чем другие люди
 2. Когда я оглядываюсь на мою жизнь, я вижу в ней очень много неудач
 3. Я чувствую, что как личность, я полный неудачник

4. 0. Я получаю столько же удовольствия от жизни, как и раньше
 1. Я не получаю столько же удовольствия от жизни, как и раньше
 2. Я больше не получаю удовлетворения ни от чего
 3. Я полностью не удовлетворен своей жизнью, и мне все надоело

5. 0. Я не чувствую себя в чем-либо виноватым
 1. Достаточно часто я чувствую себя виноватым
 2. Большую часть времени я чувствую себя виноватым
 3. Я постоянно испытываю чувство вины

6. 0. Я не чувствую, что могу быть наказан за что-либо
 1. Я чувствую, что могу быть наказан
 2. Я ожидаю наказания
 3. Я чувствую себя уже наказанным

7. 0. Я не разочаровался в себе
 1. Я разочаровался в себе
 2. Я себе противен
 3. Я ненавижу себя

8. 0. Я знаю, что я не хуже других
 1. Я критикую себя за ошибки и слабости
 2. Я все время обвиняю себя в неверных поступках
 3. Я виню себя во всем плохом, что происходит

9. 0. Я никогда не думал о самоубийстве
 1. Ко мне приходят мысли покончить с собой, но я не буду их осуществлять
 2. Я хотел бы покончить с собой
 3. Я бы убил себя, если бы представился случай

10. 0. Я плачу не больше, чем обычно
 1. Сейчас я плачу чаще, чем раньше
 2. Теперь я все время плачу
 3. Раньше я мог плакать, а теперь не могу, даже если мне хочется

11. 0. Сейчас я раздражителен не более, чем обычно
 1. Я раздражаюсь легче, чем ранее
 2. Теперь я постоянно чувствую раздражение
 3. Я стал равнодушен к вещам, которые раньше меня раздражали

12. 0. Я не утратил интереса к другим людям
 1. Я меньше интересуюсь другими людьми, чем раньше
 2. Я почти потерял интерес к другим людям
 3. Я полностью утратил интерес к другим людям

13. 0. Я также легко принимаю решения, как и раньше
 1. Я чаще, чем раньше, откладываю принятие решения
 2. Мне труднее принимать решения, чем раньше
 3. Я больше не могу принимать решения

14. 0. Я выгляжу не хуже, чем обычно
 1. Меня тревожит, что я выгляжу старым и непривлекательным
 2. Я думаю, что в моей внешности произошли существенные изменения, делающие меня непривлекательным
 3. Я знаю, что выгляжу безобразно

15. 0. Я могу работать так же хорошо, как раньше
 1. Мне необходимо сделать дополнительное усилие, чтобы начать делать что-либо
 2. Я с трудом заставляю себя сделать что-нибудь
 3. Я совсем не могу выполнять никакую работу

16. 0. Я сплю также хорошо, как и раньше
 1. Сейчас я сплю хуже, чем раньше
 2. Я просыпаюсь на 1-2 часа раньше обычного и мне трудно заснуть
 опять
 3. Я просыпаюсь на несколько часов раньше обычного и больше не
 могу уснуть
17. 0. Я устаю не больше, чем обычно
 1. Теперь я устаю быстрее, чем раньше
 2. Я устаю почти от всего, что делаю
 3. Я не могу ничего делать от усталости
18. 0. Мой аппетит не хуже, чем обычно
 1. Мой аппетит стал хуже, чем раньше
 2. Мой аппетит теперь значительно хуже
 3. У меня вообще больше нет аппетита
19. 0. В последнее время я не похудел
 1. Я потерял более трех килограммов (в последнее время)
 2. Я потерял более пяти килограммов
 3. Я потерял более семи килограммов
 Я намеренно стараюсь похудеть и ем меньше (отметить крестиком) Да _____
 Нет _____
20. 0. В последнее время у меня не изменился интерес к сексу
 1. Меня сейчас меньше занимают проблемы секса, чем раньше
 2. Сейчас я значительно меньше интересуюсь сексуальными
 проблемами
 3. Я полностью утратил интерес к сексу
21. 0. Я беспокоюсь о своем здоровье не больше, чем обычно
 1. Меня тревожат проблемы моего соматического здоровья, такие как
 боли, нарушения дыхания, сердцебиения, расстройства желудка и др.
 2. Я очень обеспокоен своим физическим состоянием, и мне трудно
 думать о другом
 3. Я настолько обеспокоен своим физическим состоянием, что больше
 ни о чем не могу думать

Приложение 20. Опросник немоторных симптомов NMSQ

Возникали ли у Вас следующие симптомы за последний месяц?

1. Слюнотечение в течение дня (да/нет)
2. Утрата или изменение способности воспринимать вкус и запах (да/нет)
3. Затруднения при проглатывании пищи и жидкости или поперхивание (да/нет)
4. Рвота или тошнота (да/нет)
- 5*. Запор (стул менее 3 раз в неделю) (да/нет)
6. Недержание кала (да/нет)
- 7*. Ощущение неполного опорожнения кишечника после дефекации (да/нет)
8. Императивные позывы к мочеиспусканию (да/нет)
9. Регулярные мочеиспускания в ночное время (да/нет)
10. Необъяснимые боли (не связанные с известными заболеваниями, такими как артрит) (да/нет)
11. Необъяснимое изменение веса (не вызванное изменением диеты) (да/нет)
12. Затруднения при запоминании недавних событий или забывании того, что необходимо сделать (да/нет)
13. Утрата интереса к происходящему вокруг и собственной деятельности (да/нет)
14. Зрительное и слуховое восприятие людей и предметов, которых на самом деле в тот момент нет (да/нет)
15. Затруднения при концентрации и удержании внимания (да/нет)
16. Чувство печали, подавленности или мрачное настроение (да/нет)
17. Чувство тревоги, страха или паники (да/нет)
18. Уменьшение или увеличение интереса к сексу (да/нет)
19. Затруднения при осуществлении полового акта (да/нет)
20. Головокружение или слабость при вставании из положения сидя или лежа (да/нет)
21. Падения (да/нет)
22. Непреодолимая сонливость во время активных действий, например, при работе, вождении машины или приеме пищи (да/нет)
23. Затруднение при засыпании или прерывистый сон (да/нет)
24. Яркие или тревожные сновидения (да/нет)
25. Сногворение или двигательное возбуждение во время сна в результате «участия» в сновидениях (да/нет)
26. Неприятные ощущения в ногах ночью или в покое или желание совершать движения ногами (да/нет)
27. Отек ног (да/нет)
28. Повышенная потливость (да/нет)
29. Двоение в глазах (да/нет)
30. Убежденность в том, что другие люди вас оговаривают (да/нет)

* - вопросы, оценивающие констипацию

Приложение 21.

Продромальные маркеры в группе носителей гиперэхогенности черной субстанции

Возраст и пол	Гипосмия	РПБД Г	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм
62, м	+	+	+	+	+
52, м	+	+	+	0	+
36, м	+	0	+	+	0
50, м	0	0 (п)	+	+	+
63, м	0	+	+	0	+
61, ж	0	+	+	0	0
60, м	0	0	+	0	+
44, м	+	0 (п)	0	0	+
64, ж	0	0	+	+	0
46, ж	0	0	0	+	0
56, ж	0	0	0	+	0
47, ж	0	0	0	+	0
59, м	+	0	0	0	0
58, ж	+	0	0	0	0
66, ж	+	0	0	0	0
50, м	+	0	0	0	0
37, м	0	0	0	0	0
64, м	0	0	0	0	0
41, м	0	0	0	0	0
63, м	0	0	0	0	0
52, м	0	0	0	0	0
40, ж	0	0	0	0	0

РПБДГ – расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз.

(п) – по данным полисомнографии.

Приложение 22.

Продромальные маркеры в группе риска носителей паркинсонических мутаций

Возраст и пол	Ген	Гипосмия	РПБДГ	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм
59, ж	<i>GBA</i>	+	+	+	0	+
43, м	<i>LRRK2</i>	+	+(п)	+	0	0
70, м	<i>PARK2</i>	+	0	+	0	+
64, м	<i>LRRK2</i>	+	0	+	0	+
54, ж	<i>GBA</i>	0	0	+	+	0
44, м	<i>GBA</i>	+	+	0	0	0
43, ж	<i>GBA</i>	0	0	0	0	+
31, м	<i>PARK2</i>	0	0	0	0	+
30, ж	<i>GBA</i>	0	0	+	0	0
39, м	<i>GBA</i>	+	0	0	0	0
32, м	<i>LRRK2</i>	0	0	0	0	0
50, ж	<i>PARK2</i>	0	0	0	0	0
25, м	<i>GBA</i>	0	0	0	0	0
34, ж	<i>GBA</i>	0	0	0	0	0
30, м	<i>GBA</i>	0	0	0	0	0

РПБДГ – расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз.

(п) – по данным полисомнографии.

Приложение 23.

Продромальные маркеры в контрольной группе

Возраст Т и пол	Гипосмия	РПБД Г	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм
70, ж	0	0	+	0	+
49, ж	0	0	+	+	0
60, ж	+	0	0	+	0
48, ж	0	+	0	+	0
51, ж	0	0	+	+	0
42, м	0	0	0	0	+
26, м	0	0	+	0	0
64, м	+	0	0	0	0
49, м	0	+	0	0	0
57, м	0	0	0	0	0
29, ж	0	0	0	0	0
35, ж	0	0	0	0	0
43, ж	0	0	0	0	0
33, м	0	0	0	0	0
61, м	0	0	0	0	0
58, м	0	0	0	0	0
42, м	0	0	0	0	0
44, ж	0	0	0	0	0
50, м	0	0	0	0	0
48, ж	0	0	0	0	0
63, ж	0	0	0	0	0

РПБДГ – расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз.

Приложение 24.

Динамика продромальных маркеров в группе риска

Возраст и пол	Маркер	Гипосмия	РПБДГ	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм
51-56, ж	ГЧС	0	0	0	+	0
45-50, м	ГЧС	0	0 (п)	+	0/+	0/+
32-37, м	ГЧС	0	0	0	0	0
52-58, ж	ГЧС	+	0	0	0	0
41-46, ж	ГЧС	0	0	0	0/+	0
53-61, ж	ГЧС	0	0/+	0/+	0	0
55-63, м	ГЧС	0	0	0	0	0
56-63, м	ГЧС	0	+	0/+	0	0/+
53-59, м	ГЧС	0/+	0	0	0	0
28-34, ж	<i>GBA</i>	0	0	0	0	0
35-43, м	<i>LRRK2</i>	0/+	+	+	0	0
47-54, ж	<i>GBA</i>	0	0	+	+	0

РПБДГ – расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз.

ГЧС – гиперэхогенность черной субстанции. (п) – по данным полисомнографии.

Динамика продромальных маркеров в контрольной группе

Возраст и пол	Маркер	Гипосмия	РПБДГ	Депрессия	Констипация	Паркинсонизм
50-55, м	К	0	0	0	0	0
48-54, ж	К	0	+/0	0/+	+	0
43-48, ж	К	0	0	0/+	0	0
49-55, м	К	0	+/0	0	0	0
57-63, м	К	0	0	0	0/+	0
60-65, ж	К	+/0	0	0	+	0
35-43, ж	К	0	0	0	0	0
42-47, м	К	0	0	0	0	+/0

БЛАГОДАРНОСТЬ

Автор выражает особую благодарность и признательность:
научному консультанту чл.-корр. РАН С.Н. Иллариошкину,

сотрудникам ФГБНУ НЦН: к.б.н. Н.Ю. Абрамычевой, д.м.н. А.О. Чечеткину, д.м.н. Н.С. Алексеевой, д.б.н. Б.Х. Базияну, д.м.н., проф. Ю.Я. Варакину, к.б.н. А.С. Ветчиновой, к.м.н. Е.О. Ивановой, к.м.н. А.В. Карабанову, к.м.н. М.А. Кравченко, А.А. Мороз, Н.В. Полькиной, к.б.н. М.С. Степановой, к.м.н. П.А. Федину, к.м.н. Л.А. Чигалейчик,

сотрудникам других организаций: д.м.н., проф. М.Р. Нодель, д.м.н., проф. Г.В. Коврову (ПМГМУ им. И.М. Сеченова), д.б.н., проф. П.А. Сломинскому, д.б.н. М.И. Шадринной (ИМГ РАН), к.м.н. Т.А. Пономаревой (НКЦ ОАО «РЖД»), к.б.н. Я.И. Алексееву, В.В. Устиновой (компания «Синтол»).