

НАО «Казахский национальный медицинский университет  
им. С.Ж. Асфендиярова»

УДК 616.858-071-036.22:575.113.

На правах рукописи

**АРАЛБАЕВА АСЕЛЬ ДОСЫМХАНОВНА**

**Клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в  
Республике Казахстан**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научный руководитель  
доктор медицинских наук,  
профессор Каменова С.У.  
Зарубежные консультанты:  
Associated Prof.Dr, PhD  
Тю Кристина

M.D, Ph.D., Professor Овидию Баженвру
--

Республика Казахстан  
Алматы, 2022

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ</b> .....	4
<b>ОПРЕДЕЛЕНИЯ</b> .....	5
<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ</b> .....	6
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	7
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	15
1.1 Современные взгляды на эпидемиологические, этиопатогенетические, патофизиологические механизмы развития болезни Паркинсона.....	15
1.2 Нейропатологическая основа моторных проявлений болезни Паркинсона.....	17
1.3 Генетические причины болезни Паркинсона.....	19
1.4 Современное состояние проблемы немоторных проявлений болезни Паркинсона.....	21
1.4.1 Нарушение сна.....	25
1.4.2 Депрессия.....	27
1.4.3 Когнитивные нарушения и деменция.....	28
1.4.4 Вегетативные дисфункции.....	29
1.5 Зрительная дисфункция при болезни Паркинсона.....	30
1.5.1 Сухость глаз.....	33
1.5.2 Глазодвигательные нарушения.....	34
1.5.3 Зрительные галлюцинации.....	34
1.5.4 Уменьшение контрастного и цветового зрения.....	35
1.5.5 Зрительно-пространственные функции при болезни Паркинсона...	36
1.6 Диагностика и лечение немоторных симптомов.....	37
1.7 Характеристики взаимодействия miRNA и мРНК генов-кандидатов болезни Паркинсона.....	38
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	42
2.1 Общий дизайн исследования.....	42
2.2 Общая характеристика клинического материала.....	43
2.3 Клинические и лабораторные методы исследования.....	44
2.4 Молекулярно-генетические исследования. Анализ взаимодействия miRNA с мРНК кандидатных генов.....	46
2.6 Статистические методы.....	49
2.7 Соответствие этическим требованиям клинического исследования...	50
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	51
3.1 Результаты клинического исследования и обсуждение.....	51
3.2 Результаты молекулярно-генетического исследования.....	78
3.2.1 Характеристики взаимодействий между miRNA и 5'UTR мРНК генов-кандидатов БП.....	79
3.2.2 Характеристики взаимодействий между miRNA и CDS мРНК генов-кандидатов БП.....	86
3.2.3 Характеристики взаимодействия miRNA с 3'UTR mRNA генов-	

кандидатов БП.....	91
<b>4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>98</b>
4.1 Обсуждение результатов клинического исследования.....	98
4.2 Обсуждение результатов молекулярно-генетического исследования	102
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>103</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>110</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ А – Акты внедрения.....</b>	<b>128</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Патент.....</b>	<b>130</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ В – Скрининговая анкета - Visual Impairment in Parkinson's Disease .....</b>	<b>131</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Тест Поппельрейтера</b>	<b>132</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Д – Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS)</b>	<b>133</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Е – Тест рисование часов</b>	<b>135</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Ж – Проба Руппа .....</b>	<b>136</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ И – Проба Йеркса .....</b>	<b>137</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ К – Монреальская шкала оценки когнитивных функций</b>	<b>138</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Л – Опросник немотонных симптомов</b>	<b>139</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ М – Выписка из протокола (ЛЭК)</b>	<b>140</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Н – Договор о прохождении практики</b>	<b>144</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ П – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA кандидатных генов БП .....</b>	<b>147</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ Р – Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA кандидатных генов БП .....</b>	<b>149</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ С-Договор о проведении научно-исследовательских работ.....</b>	<b>152</b>

## **НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ**

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001. (Межгосударственный стандарт) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления. ГОСТ 15.101-98 (Межгосударственный стандарт) Система разработки и постановки продукции на производство. Порядок выполнения научно-исследовательских работ.

ГОСТ 7.1-84. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.12-93. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.54-88. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Представление численных данных о свойствах веществ и материалов в научно-технических документах. Общие требования.

Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан» на 2011-2015 гг.: утв. Указом Президента Республики Казахстан от 29 ноября 2010 года, №1113.

Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Денсаулық» на 2016-2019 гг.: утв. Указом Президента Республики Казахстан от 15 января 2016 года, №176.

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан. Стандарт организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан: утв. 19 октября 2015 года, №809.

Приказ Министерства Здравоохранения Республики Казахстан. Об утверждении Перечня лекарственных средств и изделий медицинского назначения для бесплатного обеспечения населения в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи на амбулаторном уровне с определенными заболеваниями (состояниями) и специализированными лечебными продуктами: утв. 4 ноября 2011 года, №786.

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

**Болезнь Паркинсона** – медленно прогрессирующее хроническое неврологическое заболевание, характерное для лиц старшей возрастной группы.

**Международная классификация болезней 10-го пересмотра** – данная система на январь 2007 года является общепринятой классификацией для кодирования медицинских диагнозов, разработана ВОЗ. МКБ-10 состоит из 21 раздела, каждый из которых содержит подразделы с кодами заболеваний и состояний.

**Экстрапирамидная система** – совокупность структур (образований) головного мозга, участвующих в управлении движениями, поддержании мышечного тонуса и позы, минуя кортикоспинальную систему. Структура расположена в больших полушариях и стволе головного мозга.

**Чёрная субстанция** – составная часть экстрапирамидной системы, находящаяся в области четверохолмия. Играет важную роль в регуляции моторной функции, тонуса мышц, осуществлении статокинетической функции участием во многих вегетативных функциях.

**Дофамин** – нейромедиатор, вбрасываемый в мозг. По химической структуре дофамин относят к катехоламинам. Дофамин является биохимическим предшественником норадреналина (и адреналина).

**Гиперкинезы или дискинезии** – патологические внезапно возникающие произвольные движения в различных группах мышц.

**Гипокинезия** – состояние недостаточной двигательной активности организма с ограничением темпа и объёма движения.

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

БП	– Болезнь Паркинсона
НДФ	– Недофаминергические)
НМС	– Немоторные симптомы
ЗНС	– Зрительные немоторные симптомы
МС	– Моторные симптомы
SNpc	– S. nigra pars compacta
ВОЗ	– Всемирной организации здравоохранения
ПЭТ	– Позитронно-эмиссионная томография
АКР	– Акинетико-ригидная форма
ДФ	– Дрожательная форма
СФ	– Смешанная форма
REM	– Фаза быстрого сна
БЛТ	– Батарея лобных тестов
ГСГСМ	– Глубинная стимуляция глубинных структур мозга
ДЗТ	– Дофамин заместительная терапия
ЗПН	– Зрительно-пространственные нарушения
MMSE	– Краткая Шкала Оценки Психического Статуса
MoCa	– Montreal Cognitive Assessment
L-ДОФА	– Левовращающийся изомер дигидроксифенилаланина
ТРЧ	– Тест Рисования Часов
UPDRS	– Шкала Унифицированной рейтинговой оценки БП
DSM	– Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders
ТЛ	– Тельца Леви
ППТ	– Противопаркинсонической терапия
DBS (англ.)	– Глубокая стимуляция мозга
EBM (англ.)	– Комитет доказательной медицины
MDS (англ.)	– Международного общества паркинсона и двигательных расстройств
АДР	– Агонисты дофаминовых рецепторов
ИМАО	– Ингибиторы моноаминоксидазы
miRNA	– мРНК ингибирующая РНК
mRNA	– Матричная РНК
$\Delta G$ , кДж/моль	– Свободная энергия взаимодействия miRNA с mRNA
нт	– Нуклеотид
5'UTR	– 5'-нетранслируемая область mRNA
CDS	– Кодированная последовательность mRNA
3'UTR	– 3'-нетранслируемая область mRNA

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой актуальную медицинскую и социально-значимую проблему во всем мире. Это связано с тем, что БП наиболее распространенное нейродегенеративное идиопатическое неврологическое заболевание, которое занимает второе место, уступающее только болезни Альцгеймера [1, 2].

Согласно последним данным ВОЗ (2016), глобальная заболеваемость по количеству колебался от 9,7 до 13,8 на 100 000 населения в год, а распространенность составляет от 65,6 до 187 на 100 000 населения [1, р.313; 2, р.385].

В США экономические затраты на БП в 2010г. оценивалось в 14,4 млрд. долларов при этом к 2030 г. прогнозируется увеличение только медицинских расходов в 1,7 раза [1, р.311; 2, р.384].

Dorsey E.R. et al. (2007), прогнозируют, что к 2030 году число людей с БП в мире составит около 9 миллионов человек [2, р.384], и предполагают, что различия распространенности будут зависеть не только от генетической предрасположенности, но и факторов внешней среды, этнических различий.

Невзирая на социальное, экономическое и эмоциональное бремя, налагаемое этим заболеванием, еще нет методов лечения, которые либо предупреждали его прогрессирование, либо обеспечивали восстановление поврежденных нервных систем. Недостаток знаний, несомненно, способствовал тому, что до сих пор в мире не добились успеха в усилиях по разработке более эффективных методов лечения [3].

Развитие и прогрессирование БП связано с дегенерацией дофаминергических (ДА) нейронов головного мозга. Прогрессирующая дегенерация дофамин-содержащих пигментных нейронов черной субстанции приводит к развитию моторных симптомов брадикинезии, мышечной ригидности и тремора в сочетании с постуральными нарушениями, присоединяющимися в процессе неуклонного прогрессирования болезни [4].

В литературе приводятся различные оценки потери дофаминергических нейронов (в среднем около 40%) в черной субстанции к моменту появления первых моторных признаков заболевания, продолжительность которых зависит от множества факторов [5, 6].

По мнению Hirsch E.C. et al. (2013) гибель клеток при болезни Паркинсона вызывается многофакторным каскадом патогенных событий, они предполагают, что аксоны и их терминалии берут на себя первичный удар по повреждению при БП, именно продолжающаяся дегенерация аксонов, является определяющим фактором клинического прогрессирования заболевания [7].

Tagliaferro P., Burke R. (2016) предполагают, что аксоны вовлекаются на ранней стадии и патогенез БП объясняется преимущественно этим механизмом, а не только потерей нейронов. Формирование патофизиологической модели БП, а именно раннего вовлечения аксонов основано преимущественно в экспериментальных работах [8].

Доказано, что существует доклиническая немоторная фаза, до первых клинических моторных экстрапирамидных симптомов, которая длится в среднем до 20 лет, что указывает на существование компенсаторных механизмов на ранних стадиях БП. С ростом осведомленности о наличии немоторных симптомов (НМС) при БП пришло осознание того, что эти немоторные особенности играют чрезвычайно важную, а иногда и доминирующую роль в лечении и диагностике расстройства. Несмотря на это, сохраняется нежелание официально рассматривать и лечить немоторные симптомы БП, что ведет к ухудшению качества жизни пациентов [6, p.120; 7, p.25; 8, p.11]. НМС при БП имеют важную роль в развитии этого нейродегенеративного двигательного расстройства. По мнению некоторых авторов, выявление немоторных симптомов позволит разработать более эффективные стратегии для замедления или остановки прогрессирования заболевания [9]. НМС иногда присутствуют до постановки диагноза и почти неизбежно появляются по мере прогрессирования заболевания. По данным литературы у пациентов с БП диагностируются от одного до нескольких немоторных симптомов в течение заболевания [9, p.303]. Многие из этих симптомов, возникают за несколько месяцев или даже лет до постановки диагноза БП. Несмотря на высокую распространенность и влияние на бремя болезни, они часто остаются не диагностированными из-за таких факторов, как отсутствие жалоб со стороны пациентов или недостаточного опроса врача.

Ряд исследователей пришли к выводу, что недофаминергические (НДФ) и немоторные симптомы часто доминируют в клинической картине прогрессирующей БП и способствуют тяжелой инвалидности, приводят к ухудшению качества жизни и сокращению продолжительности жизни [10, 11]. В отличие от дофаминергических симптомов заболевания, лечение которых доступно, немоторные симптомы часто плохо распознаются и неадекватно лечатся.

Мы провели обзор литературы с помощью PubMed. Несмотря на многочисленные исследования НМС при БП проблема зрительных нарушений недостаточно изучены. Частые симптомы, которые были оценены в этих исследованиях касались в основном: усталости, внимания, настроения, апатии, нарушения сна, запора, ухудшения памяти и никтурии. Некоторые авторы предполагают, что фенотипическая гетерогенность, обусловленная НМС, присутствует у азиатских пациентов, по сравнению с западными популяциями БП и могут быть различия в оцененной НМС [12].

Поиск статей и доступных в настоящее время публикаций, которые ссылаются и оценивают НМС у пациентов с БП, живущих в азиатских странах с



использованием утвержденных опросников и оценочных шкал невелик, в Казахстане таких работ нет.

По мере продвижения поиска успешного лечения, модифицирующего болезнь, логично рассмотреть, как это можно применить к больным с точки зрения управления моторикой, действительно до развития нарушений двигательных функций, с очевидной целью отсрочить и даже предотвратить начало дисфункций [11, р.9; 12, р.2].

Доступные в настоящее время методы лечения болезни Паркинсона не устраняют многие изнурительные немоторные проявления болезни, включая снижение когнитивных функций и вегетативную недостаточность [12, р.3].

Таким образом, для БП, как и для многих других нейродегенеративных расстройств, начинающих у взрослых, существует острая необходимость в терапии, которая предотвратит прогрессирующий дегенеративный процесс.

Поэтому в последние годы значительно возрос интерес к НМС, в том числе к зрительным нарушениям как раннему премоторному маркеру БП.

При обследовании часто упускаются из виду связанные с БП немоторные визуальные симптомы и признаки, которые могут негативно повлиять на повседневную функцию и качество жизни. Зрительные расстройства распространены у пациентов с БП, но им уделяется мало внимания как в исследованиях, так и в клинической практике, что приводит к снижению качества жизни и инвалидности. Широкий спектр зрительных нарушений угрожает способности пациентов получать оптимальную пользу от визуальной обратной связи. Особенно важно то обстоятельство, что пациенты с БП часто компенсируют свой двигательный дефицит, визуально ориентируя свои движения. Повышение осведомленности и раннее распознавание зрительных проблем при БП может позволить своевременно назначать индивидуальные методы лечения, что приведет к повышению безопасности пациентов, большей независимости и лучшему качеству жизни. Зрительная дисфункция, которая является одним из немоторных проявлений, неблагоприятных для качества жизни пациента с БП, на сегодняшний день изучена недостаточно [12, р.4].

Во многих странах, оценка НМС при БП теперь является частью стандартов надлежащей клинической практики. Но эти вопросы отсутствуют в актуальном клиническом протоколе диагностики и лечения болезни Паркинсона Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «29» ноября 2016 года Протокол №16, одобренном Объединенной комиссией по качеству медицинских услуг. Нет алгоритмов диагностики визуальных немоторных проявлений, зрительного и пространственного восприятия, когнитивных расстройств для возможной ранней коррекции и улучшения качества жизни пациентов с БП. Осведомленность врачей о НМС остается низкой, и БП все еще в значительной степени рассматривается только как моторный синдром.

Таким образом, выявление НМС на ранних стадиях БП представляет собой важнейшую цель, которую необходимо достичь для разработки будущих нейропротективных методов лечения для групп риска, направленных на

задержку или ограничение продолжающегося процесса дегенерации. Совершенствование методов визуальной пространственной оценки - многообещающий путь повышения точности ранней диагностики и мониторинга лечения.

Кроме того, необходимо отметить, что в настоящее время ведется активный поиск биомаркеров БП, способных прогнозировать развитие заболевания, определить темп прогрессирования заболевания, оценить эффективность проводимой терапии.

Современные знания об основополагающей генетике БП, собранные за последние два десятилетия, предоставили исследователям невероятное количество информации о различных биологических путях, участвующих в патогенезе БП [13].

Выявлено более 500 различных вариантов ДНК в пяти генах болезней, связанных с БП;  $\alpha$ -синуклеин (SNCA), паркин (PARK2), предполагаемая PTEN-индуцированная киназа 1 (PINK1), DJ-1 (PARK7) и киназа 2 с богатыми лейцином повтора (LRRK2). Эти генетические варианты включают около 82% простых мутаций и около 18% вариаций числа копий. Очевидна биологическая значимость предполагаемых патогенных мутаций. Существует необходимость всестороннего генетического скрининга пациентов с болезнью Паркинсона с последующим изучением функциональной значимости наблюдаемых генетических вариантов [13, p.765].

Проводится активное исследование роли класса малых РНК, miRNA (RNA inhibiting RNA) длиной 19-25 нуклеотидов и размером 6-9 нанометров, в функционировании как отдельной клетки, так и всего организма в целом [14]. В настоящее время фармакологические методы лечения нейродегенеративных заболеваний ограничены, но ученые находятся на пороге разработки многообещающих новых методов лечения, включая молекулярно-специфические методы лечения [15]. Методы, разработанные в рамках когнитивной нейробиологии, которые могут выявить целостность нейронных систем, могут быть адаптированы для клинического использования. Выявлен целый ряд miRNA, которые могут принимать прямое или опосредованное участие в развитии БП. Было показано, что экспрессия этих генов может регулироваться различными miRNA и влиять на развитие патологии [15, p.352]. В этой связи особый интерес в исследованиях болезни Паркинсона является определение маркеров стадий заболевания. Такие исследования не выполнялись в Центральной Азии и в Казахстане.

**Цель исследования:** изучить клиничко-генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан

**Задачи исследования:**

1. Изучить характеристики немоторных симптомов, в том числе зрительных и когнитивных у пациентов с БП, с помощью применения нейропсихологических тестов и методов визуальной пространственной оценки.

2. Выявить влияние немоторных симптомов, в том числе зрительных и когнитивных у пациентов на течение БП, а также определить корреляцию с

возрастом, полом, временем начала, стадией и длительностью заболевания, а также моторными нарушениями в исследуемых группах.

3. Выявить существование взаимосвязи между частотой встречаемости сайтов связывания miRNA с mRNA генов мишеней при БП.

4. Создать базы генов-кандидатов, участвующих в развитии БП, и базы miRNA, для определения влияния miRNA на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии заболевания.

#### **Научная новизна:**

1. Впервые изучена характеристика немоторных симптомов, в том числе зрительных и когнитивных у казахстанских пациентов с БП, с помощью применения нейропсихологических тестов и методов визуальной пространственной оценки.

2. Выявлены наиболее точные ранние и поздние немоторные зрительные нарушения у больных БП, определена взаимосвязь зрительных и когнитивных немоторных симптомов у больных с болезнью Паркинсона с возрастом, временем дебюта, стадией и длительностью заболевания, а также моторными и другими не моторными нарушениями.

3. Создана база генов-кандидатов, участвующих в развитии БП, и базы miRNA для определения влияния их на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии заболевания.

4. Впервые определены ассоциации miRNA и генов мишеней, которые рекомендуются в качестве маркеров для диагностики болезни Паркинсона.

5. Впервые выявлены особенности miRNA которые могут влиять на экспрессию кандидатных генов БП, что необходимо учитывать при разработке биомаркеров, адекватно отражающих взаимодействие miRNA с mRNA при БП.

#### **Практическая значимость:**

1. Проспективное когортное исследование позволило выявить немоторные симптомы, в том числе зрительные и когнитивные у пациентов, как прогностические факторы, определяющие исход заболевания, которые могут быть использованы в целях оптимизации диагностики и лечения БП.

2. Определены наиболее точные ранние и поздние немоторные зрительные нарушения у больных БП.

3. Разработанный нами «Способ ранней диагностики болезни Паркинсона» (Патент на полезную модель №5656 от 11.12.2020 г.) рекомендуется для применения в клинической практике. Он позволяет улучшить диагностику моторных и не моторных нарушений на ранних этапах БП.

4. Созданы базы генов-кандидатов, участвующих в развитии БП, и базы miRNA для определения влияния их на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии БП, которые в перспективе можно использовать для разработки молекулярно-лабораторных методов диагностики и лечения БП.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Среди пациентов БП выявляется высокая распространенность немоторных дисфункций( 96,2%), при этом у 87,8% обнаружен хотя бы один

из немоторных зрительных симптомов, у 18,3% из них симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП.

2. Зрительные и когнитивные немоторные симптомы выявляются на любой стадии заболевания, темпы их прогрессирования, отличаются от моторных симптомов самостоятельностью. Такие симптомы как затруднения при чтении, слабость и усталость глаз, расплывчатость изображения можно рассматривать как клинический маркер на ранних стадиях и даже на до моторной стадии болезни.

3. При прогрессировании болезни чаще немоторные зрительные симптомы, сочетаются с когнитивными расстройствами, важными факторами, определяющими тяжесть состояния пациентов. Статистически значимые корреляции длительности заболевания (5 лет и более) наблюдались у пациентов со зрительными галлюцинациями ( $p < 0,01$ ), нарушениями цветового восприятия ( $p < 0,05$ ), активностью по шкале Шваба Ингланда. Выявленные зрительные немоторные симптомы преобладают у больных с акинетико-ригидной формой заболевания БП, с тревожными нарушениями.

4. miRNA из разных баз miRNA могут связываться с mRNA кандидатных генов БП. Определены ассоциации miRNA и генов мишеней, которые могут служить маркерами для диагностики болезни Паркинсона.

5. Выявлены количественные характеристики взаимодействия miRNA и генов мишеней, которые конкурентно могут влиять на экспрессию кандидатных генов БП, что необходимо учитывать при разработке биомаркеров, адекватно отражающих взаимодействие miRNA с mRNA при БП.

### **Апробация работы**

Результаты проведенного исследования доложены на:

– научно-практической конференции с международным участием «Весенняя Школа Казахстанской Национальной Ассоциации Неврологов «Neuroscience» (Алматы, 2018 – 27-28 апреля);

– 3-м международном образовательном форуме «Neurology Update in Kazakhstan» (Алматы, 2019 – 4-5 апреля);

– международном образовательном форуме «Neurology Update in Kazakhstan 2021» (Алматы, 2021 – 23-34 апреля);

– на международной конференции Parkinson and Movement Disorders Society: Therapeutic Milestones in Parkinson's Disease (Venice, 2020 – 18-20 March);

– 2-й международной научно-практической интернет-конференции «Наука и образование В XXI ВЕКЕ» посвященной 20 летию Астаны (30-31 октября, 2018);

– на всемирном онлайн-конгрессе Международной ассоциации паркинсонизма и родственных заболеваний (IAPRD XXV World Congress on PRD 7–10 июня 2020 г.).

### **Опубликованные работы по теме диссертации:**

1 статья - в издании, индексированном в информационной базе Scopus:

Evolutionary changes in the interaction of miRNA with mRNA of candidate genes for Parkinson's disease. *Frontiers in Genetics*. March 2021. Vol.12 Article 647288. Scopus Cite Score 2020 – 2,7. IF – 3,258.

3 статьи - в изданиях, рекомендованных Комитетом обеспечения контроля в сфере образования и науки РК:

1. Моторные и немоторные проявления у пациентов с болезнью Паркинсона. *Вестник КазНМУ*. -2019.- №1- С. 201-204. ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2019 г. – 403.

2. Болезнь Паркинсона. *Вестник КазНМУ*. -2019.- №1- С. 199-201. ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2019 г. – 403.

3. Определение тяжести моторных симптомов при Болезни Паркинсона. *Вестник КазНМУ*. -2019.- №4- С. 138-140. ISSN 2524-0684 (Print). ISSN 2524-0692 (Online). Индекс цитирования РИНЦ 2019 г. – 403.

7 тезисов – в сборниках зарубежных международных конференций (в том числе зарубежных – 5):

1. Association of miRNA and target genes of Parkinson's disease. *Biological Markers in fundamental and clinical medicine. collection of abstracts*. 2018.- VOL. 2. -№ 2. - P. 9 -11. ISSN 2570-5911 (print), ISSN 2570-5903 (on-line). DOI: 10.29156

2. The role of microRNA in Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related disorders, Volume79|supplement 1|e79, IAPRD XXV World Congress on PRD october 2020*. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2020.06.287>.

3. Determination of non-motor symptoms in Parkinson's disease. 26th Annual Meeting of the European Charcot Foundation. The role of long-term clinical studies in defining DMTs' profile. (15 - 17 November, 2018). - Baveno, Italy. (26th Annual Meeting Mobile Application).

4. Dementia in Parkinson's disease. 34 World Congress of Internal Medicine. (18-21 October, 2018) - Cape Town, South Africa. Abstract book. - 2018.-P.119.

5. Determining the stage of Parkinson's disease on the scale of Hoehn and Yahr. 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Charcot Foundation. The role of B-lymphocytes in Multiple Sclerosis (21/11/2019-23/11/2019). - Baveno, Italy. (27th Annual Meeting Mobile Application).

6. Determining cognitive function in Parkinson's disease using a Mini Mental Examination (MMSE). 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Charcot Foundation. The role of B-lymphocytes in Multiple Sclerosis (21/11/2019-23/11/2019). - Baveno, Italy. (27th Annual Meeting Mobile Application).

7. Деменция при болезни Паркинсона. II Международная научно-практическая интернет-конференция «Наука и образование В XXI ВЕКЕ» посвященная 20 летию Астаны (30-31 октября, 2018): Материалы II Международной научно-практической интернет-конференций «Наука и образование в XXI ВЕКЕ» -2018.-С.-37-39.

8. Non-Motor Visual Disorders In Kazakhtan Patients With Parkinson's Disease. *Journal of Interdisciplinary Approaches to Medicine, Volume2|issue 1|ISSN 2709-2968 eISSN 2709-2976 December 2021*.

**Материалы исследования внедрены в практическое здравоохранение:**

1. Использование унифицированной шкалы оценки болезни Паркинсона международного общества расстройств движений для оценки моторных и не моторных симптомов у пациентов с болезнью Паркинсона (MDS-UPDRS) внедрено в работу ГП №4 г. Алматы (Приложение А).

2. Использование шкалы оценки состояния когнитивных функций и психического статуса (краткая шкала оценки психического статуса) Mini-Mental State Examination у пациентов с болезнью Паркинсона в клинической практике внедрено в работу ГП №4 г. Алматы (Приложение А).

3. Получено свидетельство государственной регистрации на полезную модель, «Способ ранней диагностики болезни Паркинсона», зарегистрированный в Государственном реестре промышленных образцов Республики Казахстан 11.12.2020 г., патент №5656 (Приложение Б).

4. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе ВМШ КазНУ им. Аль-Фараби

**Личный вклад диссертанта**

Диссертант, непосредственно участвовала в диагностике и определении тактики ведения и лечения пациентов с БП. В рамках диссертационной работы все исследования с интерпретацией данных и наблюдением в динамике были проведены непосредственно при участии автора. Помимо этого, автор проводила оценку неврологического статуса с применением соответствующих шкал. Автор самостоятельно провела литературный поиск по данной проблеме, сбор базы данных, первичную обработку материала, интерпретацию полученных результатов. Диссертант участвовала в проведении молекулярно-генетических исследований, статистического анализа. Диссертация написана автором самостоятельно, с формулированием основных положений, научной новизны, выводов и рекомендаций.

**Структура и объем диссертации.** Объем диссертации 127 страниц машинописного текста, включая титульный лист, содержание, нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, основная часть, заключение, выводы, практические рекомендации и список использованных источников. В конце диссертации приложения на 27 страницах.

Научная работа иллюстрируется 42 рисунками, 13 таблицами, 14 приложениями. Сведения об использованной литературе при написании диссертации содержат 273 источников, на русском и английском языках.

## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Современные взгляды на эпидемиологические, этиопатогенетические, патофизиологические механизмы развития болезни Паркинсона

По данным GBD 2016 г. 6,1 миллиона человек во всем мире страдали болезнью Паркинсона, из которых 2,9 миллиона (47,5%) составляли женщины и 3,2 миллиона (52,5%) были мужчины [16]. Число новых случаев в год БП составляет от 8 до 18 на 100 000 человеко-лет. Эпидемиологические исследования разных стран показали, что БП распространен по всему миру и поражает 1-2% людей старше 65 лет и 4-5% людей старше 85 лет [16, p-940].

Прогнозируемое увеличение числа пациентов в течение следующих 30 лет приведет к более чем 12 миллионам пациентов во всем мире примерно к 2050 году [16, p.941]. БП является наиболее частым нейродегенеративным заболеванием, занимает второе место по распространенности уступая болезни Альцгеймера [1, p-311; 2, p-385]. Более пяти миллионов человек во всем мире, в том числе, по крайней мере, один миллион в Соединенных Штатах, представляющих приблизительно один из ста человек старше 60 лет, страдают от БП [16, p-941].

БП может быть менее распространенным у лиц азиатского происхождения, хотя этот факт оспаривается [12, p-2].

Некоторые авторы отмечают, что развитых странах отмечается более высокая частота БП, что связано с увеличением численности пожилого населения [2, p-2].

По данным Международного общества БП и двигательных расстройств, распространенность диагностированных пациентов с этой болезнью, вероятно, удвоится с 2010 по 2030 год из-за увеличения продолжительности жизни, что приведет к прямым и косвенным издержкам как для общества, так и для экономики в целом [1, p-313].

По результатам эпидемиологического исследования Акановой А.А. (2016) распространенность БП в Казахстане на примере г. Алматы составила 62 случая на 100 тысяч населения. Причем город Алматы является самым крупным мегаполисом с высокой распространенностью БП. 17]. В этом исследовании показано, что чаще БП встречается у женщин, чем у мужчин (в соотношении 1:1,6), заболевание реже встречается у людей моложе 40 лет и более распространено в возрасте 70-80 лет [17, p-134].

В настоящее время охарактеризован ряд генетических факторов риска, а также десятки генов, которые вызывают редкие семейные формы БП. Влияние факторов окружающей среды, таких как курение, потребление кофеина и воздействие пестицидов, предположительно увеличивает риск развития БП, хотя их роль остается неясной. Замечено, что члены семьи с одним или несколькими близкими родственниками с БП, имеют повышенный риск

развития заболевания, и общий риск составляет 2-5%, в сравнении с семьями, где нет известной генной мутации по заболеванию [18].

Причина болезни неизвестна, но считают, что старение является наиболее доминирующим фактором риска развития. Хотя средняя продолжительность жизни пациентов с БП, как правило, такая же, как и у всей популяции [19].

Актуальность проблемы состоит не только в распространенности заболевания, но и ухудшении качества жизни. Большинство ученых сходятся во мнении, что БП сам по себе не является смертельным заболеванием, а скорее ухудшает нормальную деятельность и приводит к прогрессирующей инвалидизации со временем [19, p-1305; 20]. Прогрессирование симптомов при БП может занять от 15 до 20 лет и более, но может по-разному варьироваться у больных [19, p-1306]. Ранние симптомы незаметны и прогрессируют медленно, что затрудняет длительное время их обнаружение, к которым относятся изменение почерка, замедленные движения конечностей, невозможность сосредоточенности, усталость и раздражительность без провокации или причины [19, p-1306; 20, p-739]. Основными проявлениями болезни Паркинсона являются нарушения движения, в том числе медлительность, нарушение походки, трудности с равновесием, а также тремор, которые подробно описаны в многочисленной литературе [1, p-312; 2, p-384].

Двигательные расстройства снижают качество жизни пациентов, страдающих этим заболеванием, обременяя общество тяжелым экономическим бременем [21].

Нарушения движения являются распространенными и самыми ранними симптомами. Брадикинезия, акинезия и гипокинезия являются почти универсальными симптомами, поскольку в конечном итоге они появляются почти у каждого пациента. Хроническое и прогрессирующее течение заболевания может быть замедлено, но не остановлено лечением [21, p-2129; 22]. В настоящее время диагностика основана на клинических симптомах и критериями для диагностики, являются наличие двух клинических признаков: тремор в покое, брадикинезия, ригидность и постуральная неустойчивость [22, p-1021; 23].

На современном этапе определение болезни Паркинсона меняется с расширением клинической феноменологии и улучшением понимания экологических и генетических изменений, которые влияют на патогенез заболевания.

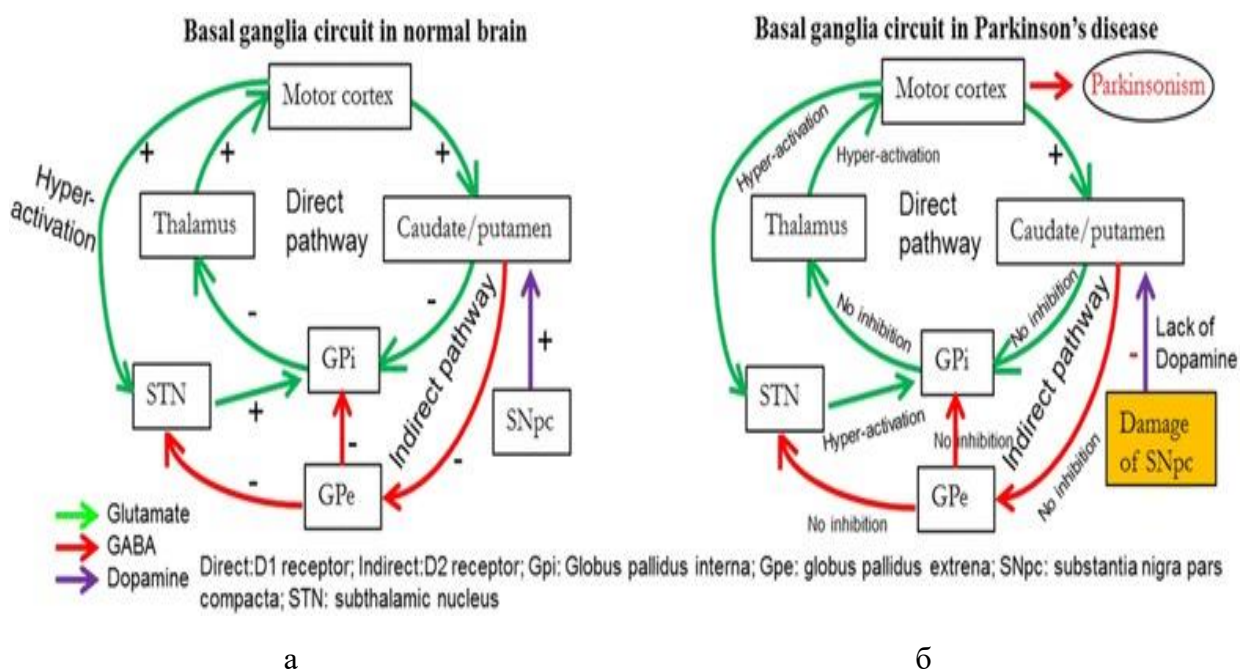
Так, Romenets S.R., Wolfson C., Galatas C., et al. (2017) считают, что БП не единая нозологическая форма, а совокупность самостоятельных (хотя и сходных) нейродегенеративных синдромов, причем эта гетерогенность проявляется на всех уровнях молекулярном, биологическом, морфологическом, клиническом [24]. Немаловажное значение имеют и вторичные моторные симптомы, которые включают согбенную позу, дистонию, усталость, нарушение тонкой и грубой координации движений, снижение размаха рук, неусидчивость (акатизию), судороги, слюнотечение, трудности с глотанием и жеванием, а также сексуальную дисфункцию [24,p-55]. По мере



прогрессирования заболевания симптомы становятся более серьезными, что приводит к истощающим периодам снижения двигательных функций, которые также называют синдром отключения «off», что также серьезно влияет на качество жизни пациента [24,р-55]. Эти авторы показывают, что НМС наблюдаются почти у каждого пациента с БП. При этом у большей части пациентов с БП выявляют более десяти НМС. Высокая частота немоторных проявлений в клинической картине позволила пересмотреть существующие представления о БП [24, р-56].

## 1.2 Нейропатологическая основа моторных проявлений болезни Паркинсона

Нейропатологическая основа моторных проявлений БП обусловлена потерей nigrostriарной дофаминергической иннервации. Нарастание моторных симптомов (МС) болезни зависят от прогрессирующей дегенерации дофаминсодержащих нейронов. Нейродегенерация не ограничивается только дофаминергическими нейронами черной субстанции (s.nigra), но также включает клетки, расположенные в других областях нейронной сети (рисунок 1) [25]. Такая распространенная патология делает БП очень неоднородным расстройством.



а – нейронные цепи в базальных ганглиях в нормальном мозге; б – дегенерация субстанции s.nigra pars compacta (SNpc) нарушает кортикостриарную цепь в головном мозге БП

Рисунок 1 – Нейронные цепи и нейротрансмитерные механизмы контроля в мозге нормальных людей и людей с болезнью Паркинсона

Примечание – Составлено по источнику [25, р-5.]

Снижение уровня дофамина в SNpc и стриатуме приводит к потере контроля над нейронами, что приводит к отмене ингибирующего воздействия на бледный шар и таламус, поэтому таламус становится чрезмерно возбудимым, который чрезмерно активирует моторную кору. В конечном итоге все это приводит к нарушению координации движений и вызывает паркинсонизм [25, p-5.]. Экспериментальные данные указывают на то, что префронтальная кора, передняя поясная извилина и фронтостриарные пути также подвержены влиянию БП [26]. Нигростриарное дофаминергическое повреждение можно контролировать с помощью функциональных методов нейровизуализации, таких как ПЭТ или однофотонная эмиссионная томография (СПЕКТ) [27]. Такие методы позволили установить, что приблизительно 50% снижение дофаминергических нигростриарных клеток требуется до клинической экспрессии моторных симптомов [27, p-1504].

Точный механизм дофаминергической потери нейронов *s. nigra* не совсем понятен. По данным авторов [27, p-1505] повреждение митохондрий, энергетическая недостаточность, окислительный стресс, эксайтотоксичность, неправильное сворачивание белков и их агрегация, нарушение путей очистки белка, клеточно-автономные механизмы и «прионоподобная белковая инфекция» могут быть вовлечены в возникновение и прогрессирование БП.

Одним из патологических признаков БП является наличие тельцов Леви, внутриклеточных включений агрегированного  $\alpha$ -синуклеина. Хотя причина и патогенез избирательной потери дофаминовых нейронов и накопления  $\alpha$ -синуклеина при БП остаются неуловимыми, растущее число свидетельств факторов риска окружающей среды и ранней генетики указывает на конвергенцию между энергетическим метаболизмом и удалением поврежденных белков в организме развитие [27, p-1505].

Braak H. et al. (2002) предложили схему стадирования патологии БП с иницированием патологии  $\alpha$ -синуклеина в каудальном стволе мозга и обонятельной луковице и последующим распространением на средний мозг и, в конечном итоге, на лимбическую систему и неокортекс [12, p-3]. Эта гипотеза была расширена многочисленными исследованиями, предполагающими раннее вовлечение периферической вегетативной нервной системы при БП. Распространение патологии  $\alpha$ -синуклеина при БП, как во многих областях мозга за пределами базальных ганглиев, так и на периферии, была связана с концепцией прогрессирующего и, возможно, распространяющегося патологического процесса с длительной пресимптомной фазы и важность немоторных симптомов. Поэтому аномальное накопление белка во внутриклеточных пространствах стало ведущей гипотезой для БП [27, p-1506].

Основным включением амилоидного белка, наблюдаемым во внутриклеточных пространствах нейронов, являются тельца Леви, которые содержат несколько аномальных амилоидных белков, включая альфа-синуклеин (SNCA), фосфорилированный тау (p-tau) и амилоидный бета-белок (A $\beta$ ). [27, p-1507].

Первоначальный взгляд на БП как заболевание, характеризующееся избирательным повреждением дофаминергических нейронов в среднем мозге, обновлен до концепции тяжелого мультисистемного нейродегенеративного расстройства [28]. Невропатологические изменения вне черной субстанции обоснованно коррелируют с так называемыми немоторными симптомами БП. В результате этой концепции растет интерес к выявлению продромальных немоторных симптомов БП [28, p-485].

Данные из литературы предполагают, что вегетативные нарушения, обонятельные дисфункции, депрессия и расстройства сна (в частности, расстройство поведения во время сна) могут представлять продромальные немоторные симптомы БП [24, p-55; 28, p-486; 29].

### **1.3 Генетические причины болезни Паркинсона**

Множество исследований, посвященные обнаружению мутаций генов в семейных или наследственных формах БП, показывают, что 5-10% поздних форм БП связаны с генетическими факторами [30-32].

Наиболее распространенными генами, связанными с БП, являются SNCA, parkin, DJ-1, PINK1 [32, p-302]. Эти экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что существует пять различных хромосом (5, 6, 8, 9 и 17), которые связаны с увеличением восприимчивости к развитию БП. Например, ген Parkin находится на хромосоме 6, которая содержит гены, которые связаны с ранним началом БП [33].

Кроме того, у некоторых пациентов с БП, которые не отвечают на лечение L-ДОФА, есть специфические гены, расположенные на хромосоме 9 [33, p-5.]. Точно так же БП с поздним началом связан с хромосомой 17 (FTDP-17), смежной с геном для tau [34]. Ген, кодирующий убиквитин-карбоксильную концевую гидроксилазу (UCH-L1) и гены на хромосомах X, 1, 2 и 4, также играют важную роль в этиологии БП в некоторых семьях [35].

Таким образом, БП - многофакторная болезнь, в которой участвуют как генетические, так и не генетические факторы, например факторы окружающей среды [33, p-9.]. Наиболее важные механизмы, участвующие в развитии БП, включают накопление неправильно свернутых белковых агрегатов, нарушение путей очистки белка, повреждение митохондрий, окислительный стресс, эксайтотоксичность, нейровоспаление и генетические мутации [35, p-135; 33, p-7; 36] (таблица 1).

Таблица 1 – Генетические причины болезни Паркинсона

Ген	PARK loci	Хромосома	Форма БП	Мутации и их происхождение Refs.
SNCA	PARK 1	4q21	Аутосомно-доминантный	A30P (Германия), E46K (Испания), A53T (Греция, Италия, Швеция, Австралия, Корея), A18T (Польша), A29S (Польша), E46K (Испания) H50Q (Великобритания), G51D (Франция)
Parkin.	PARK 2	6q25.2-Q27	Аутосомно-рецессивный, ювенильный	Различные мутации, экзонические делеции, дупли / трипликации (Япония)
Неизвестный	PARK 3	2p13	Аутосомно-доминантный	Европа
SNCA	PARK 4	4q21	Аутосомно-доминантный	Дублирование и тройное копирование в США
UCHL1	PARK 5	4p14	Аутосомно-доминантный, идиопатический	I93M и S18Y (Германия)
PINK1	PARK 6	1p35-p36	Аутосомно-рецессивный	G309D, экзонические делеции (Италия)
DJ-1	PARK 7	1p36	Аутосомно-рецессивный, раннее начало	Гомозиготный экзон, делеция L166P (Европа)
LRRK2	PARK 8	12q12	Аутосомно-доминантный, идиопатический	R1441 C/G/HY1699C,G2019S, I2020T, G2385R (Япония)
ATP13A2	PARK 9	1p36	Синдром Куфора – Ракеба, раннее начало	Мутации с потерей функции (Иордания, Италия, Бразилия)
Неизвестный	PARK 10	1p32	Идиопатический	(Исландия)
Неизвестный	PARK 11	2q36-Q37	Аутосомно-доминантный, идиопатический	США
Неизвестный	PARK 12	Икс	семейный	США
HtrA2	PARK 13	2p13	Идиопатический	A141S, G399S (Германия).
МАРТ	МАРТ	17q21.31	семейный	79 Ser / Thr тау (тауопатии) (Азиат, США).
Глюкоце-реброзид-азы-1	GBA-1	1q21	Рецессивный	Лизосомные нарушения памяти (США)
Другие гены	TMEM, IF4G1E, GRIN2A, GSTP1, ФНО-альфа, COX-2, SLC6A3, ADH1C rs356219, SREBF1 и SREBF2, COMT HLA-DRB5, BST1, ГАК, ACMSD, STK39, MCCC1, SYT1, CCDC62 / HIP1R			
Примечание – Составлено по источнику [37]				

#### 1.4 Современное состояние проблемы немоторных проявлений болезни Паркинсона

В настоящее время БП признана моторным заболеванием с широким спектром НМС на различных стадиях моторной фазы заболевания, вплоть до последней паллиативной стадии. Как было указано выше, мы провели обзор литературы с помощью PubMed. Провели поиск статей и доступных в настоящее время публикаций, которые ссылаются и оценивают НМС у пациентов с БП, живущих в том числе и в азиатских странах с использованием утвержденных опросников и оценочных шкал. Частые НМС, которые были оценены в этих исследованиях касались в основном: усталости, внимания, настроения, апатии, нарушения сна, запора, ухудшения памяти и никтурии и т.д. В то же время некоторые авторы предполагают, что фенотипическая гетерогенность, обусловленная НМС, присутствует у азиатских пациентов, по сравнению с западными популяциями БП, но могут быть и различия связанные с методами оценки. Kim et al. (2013) [37] исследовали и оценили НМС у 131 южнокорейского пациента с БП по сравнению со 129 здоровыми пациентами из контрольной группы того же возраста и пола. Авторы сообщили, что все пациенты их южнокорейской когорты сообщили по крайней мере об одном НМС; выявили симптомы нарушений сна/усталости (89,3%), сексуальной дисфункции (84,7%) и внимания/памяти (81,7%), которые были наиболее частыми. Однако настроение/апатия, желудочно-кишечные, мочевые и прочие симптомы также были здесь очень распространены. Самым низким показателем NMS было восприятие домена – 32,1%.

Krishnan S. et al. (2011) оценили профили НМС в Индии с помощью NMSS. Их результаты показали, что по сравнению с соответствующей возрастной группой здоровых людей из контрольной группы практически все индийские пациенты с БП сообщили по крайней мере об одном НМС. Наиболее распространенными НМС были сон/усталость (89,7%), за которыми следовали настроение/когнитивные способности (88,5%) и прочие (80,5%). Наименее распространенными областями NMS были сердечно-сосудистые (44,8%) и проблемы с восприятием /галлюцинации (44,8%) [38].

Li D.W. et al. (2015) проанализировали 1225 китайских пациентов, из которых 13,3% (n=163) имели мутацию LRRK2. При этом почти все (97,6%) сообщали по крайней мере об одной НМС. Чаще всего сообщалось о проблемах с памятью (56,1%), запорах (55,3%) и дневной сонливости (46,0%). Наименее частыми были недержание кишечника (3,3%) и бред (6,4%) [39].

Заслуживает особого внимания работа Дынина П.С. (2016), где выявлены зрительно-пространственные нарушения у 57% больных БП на развернутых стадиях. Установлены дегенеративные изменения ряда структур затылочной доли головного мозга. Определены специфические области сетчатки глаза, с изолированным снижением толщины слоя, которые коррелируют с прогрессированием зрительно-пространственного дефицита [40].

Martinez-Martin P. et al. (2011) обращают внимание, на наиболее частые ранние жалобы от выборки такие как: никтурия (68,4%), утомляемость (65,9%)

и слюноотечение (56,7%) [41]. При этом авторы обращают внимание, что на качество жизни пациентов и степень их инвалидизации в значительной степени влияет наличие немоторных симптомов, и, что более важно, их появление может опережать двигательные симптомы на несколько лет [41, p-73].

Доказано существование стадии БП, когда пораженные субъекты могут быть бессимптомными (доклиническая БП), когда у них могут быть различные немоторные симптомы [42]. Поэтому немаловажной задачей в практике врача является выявление доклинической и продромальной стадий заболевания.

В настоящее время, несколько немоторных симптомов были связаны с повышенным риском развития БП у здоровых людей. Так в популяционных исследованиях было показано, что гипосмия, запор, депрессия и идиопатическое расстройство поведения во время фазы быстрого сна (REM) сопровождается значительно повышенным риском развития болезни Паркинсона у здоровых субъектов [43, 44].

Стало известно, что немоторные симптомы вносят значительный вклад в показатели заболеваемости и смертности и часто являются основной причиной госпитализации пациентов. [9,45]. Немоторные симптомы могут присутствовать на любой стадии заболевания, включая раннюю и предмоторную фазы БП [45, p-224].

Rana et al. (2012) провели ретроспективный анализ карт пациентов с болезнью Паркинсона, где в общей сложности 314 пациентов с БП из шести этнических категорий были обследованы на предмет возникновения тревоги, зрительных галлюцинаций, никтурии, слюноотечения и деменции. Результаты исследования показывают, что немоторные симптомы болезни Паркинсона распространены среди всех этнических групп, и, за исключением тревоги, этническая принадлежность может не оказывать никакого влияния на деменцию, никтурию, слюноотечение и зрительные галлюцинации [46].

Немоторные симптомы как депрессия, усталость или боль получили достаточно данных, чтобы их можно было считать определяющими факторами качества жизни [9, p-305; 45, p-225; 46, p-282].

К сожалению, эти симптомы почти игнорировались в течение многих лет, и только недавно исследователи начали оценивать, как они влияют на качество жизни у пациентов с БП. Поскольку немоторные симптомы значительно увеличивают общую инвалидность, вызванную БП, их раннее выявление и лечение могут иметь большое значение для улучшения качества жизни пациентов с БП, и для лиц, осуществляющих уход. Идентификация немоторных симптомов может быть улучшена путем применения количественных и проверенных инструментов и шкал для их оценки [47]. Выявлена тенденция, что некоторые немоторные симптомы, такие как обонятельная дисфункция, запор, расстройство в REM фазу сна, депрессия, могут предшествовать двигательным признакам, симптомам и диагностике БП на несколько лет [48, 34].

Идентификация немоторных симптомов может быть улучшена путем применения количественных и проверенных инструментов и шкал для их

оценки [34, p-25]. Немоторные симптомы болезни Паркинсона часто плохо распознаются и неадекватно лечатся в отличие от моторных симптомов, поэтому современный целостный подход к лечению БП должен включать распознавание и их оценку [48, p-236; 34, p-27].

Определенные аспекты комплекса немоторных симптомов с БП можно улучшить с помощью доступных в настоящее время методов лечения, как дофаминергических, так и недофаминергических, но другие признаки могут быть более устойчивыми, что свидетельствует о важности исследований в отношении более эффективных лекарственных препаратов для будущего [34, p-28].

NMS распространены в ранней стадии PD и отражают мультисистемную природу расстройства. Даже на самых ранних стадиях БП НМС может отрицательно влиять на функциональное состояние пациентов и чувство благополучия.

Пациенты с установленной болезнью Паркинсона испытывают в той или иной степени выраженности разнообразные немоторные симптомы [49]. Многие из них имеют дофаминергическую основу, а другие нет, отражая мультисистемную природу расстройства. При прогрессировании заболевания именно эти немоторные симптомы, а не двигательные нарушения, становятся важными факторами, определяющими качество жизни пациентов [50,51].

Немоторные симптомы часто поддаются терапии; однако многие симптомы не регистрируются и не распознаются как пациентами, так и врачами [52]. В большом ретроспективном обзоре жалоб пациентов с БП, 21% первоначально имели немоторные признаки. Кроме того, пациенты с НМС чаще испытывали задержку в постановке диагноза и более высокий уровень ошибочного диагноза [53]. Наблюдаемые первичные немоторные симптомы у пациентов с БП включают депрессию, бессонницу и когнитивную дисфункцию в дебюте БП [54-56]. Распространенность и тяжесть вегетативных и сенсорных нарушений при ранних стадиях заболевания менее подробно описаны, и о них сообщалось только в большой группе пациентов, не получавших лекарства [57, 58].

Некоторые авторы выявили связь между фенотипическими вариантами моторных и немоторных проявлений. Burn D.J, et al. (2006,2008) при рассмотрении двигательных подтипов у 513 пациентов БП, отметили тенденцию нарастания депрессии и тревоги у больных с тремором, а снижение когнитивных функций у пациентов с постуральной неустойчивостью [59, 60]. Из-за широкого спектра немоторных симптомов в исследованиях использовались различные инструменты скрининга и вопросники для выявления частоты и степени выраженности этих симптомов. Наиболее часто необъявленными симптомами были бред, дневная сонливость, интенсивные и яркие сны и головокружение. Во многих случаях подходящее лечение, незадекларированных немоторных, симптомов было начато только после того, как оно было распознано после неоднократных анкетирований [61].

Wolters E.Ch. (2009) в своих исследованиях заключает, что при БП синуклеинопатическая дисфункция базальных ганглиев, связанная с дефицитом допамина *s. nigra*, считается ответственной за характерные для леводопы моторные признаки и симптомы (брадикинезия, гипокинезия, ригидность). Известные как паркинсонизм и необходимые для клинической диагностики при БП, а также тонкие мотивационные и когнитивные дисфункции [62]. Однако некоторые моторные симптомы, такие как тремор и постуральная нестабильность, а также большинство немоторных симптомов, не являются полностью чувствительными к леводопе, и предполагается, что они проявляются экстраингральной патологией.

Huot P, et al. (2017) предполагают, что помимо болезни Альцгеймера (БА) серотонин (5-НТ) также играет важную роль в развитии БП, особенно при некоторых моторных и немоторных симптомах, включая тремор, когнитивные способности, депрессию и психоз, а также дискинезию, вызванную L-DOPA [63]. В исследованиях доказана роль ацетилхолина, который играет важную роль в познавательной функции, и подавляется при некоторых неврологических заболеваниях, включая БП и БА [63, p-975; 64].

В пределах субвентрикулярной области базального переднего мозга имеется широкая полоса кластеров клеток, обычно известных как базальное ядро Мейнерта (nbM), которые по своей природе являются преимущественно холинергическими [64, p-389; 65]. У базального ядра Мейнерта пациентов с БП, деменции Леви, болезни Альцгеймера или другими формами деменции наблюдаются различные паттерны нейрональной потери, что решительно подтверждает идею участия холинергической системы в БП [66].

Кроме того, отмечено, что наличие тельца Леви и потеря нейронов были обнаружены в базальном ядре Мейнерта ткани головного мозга у пациентов с БП с когнитивным снижением, что позволило предположить, что холинергическая система также участвует в когнитивной дисфункции, наблюдаемой при БП [67].

НМС включают вегетативные, связанные со сном, сенсорные и нервно-психические симптомы, которые в некоторых случаях могут предшествовать первым признакам моторного паркинсонизма, тесно коррелирует с прогрессированием патологии тела Леви при БП. Недостаточное распознавание и недостаточно леченных симптомов имеет важное значение, поскольку эти симптомы могут оказывать большее влияние на качество жизни пациентов с БП по сравнению с моторным паркинсонизмом [68].

Экстраингральные немоторные симптомы при БП также могут иметь ятрогенное происхождение, прямо или косвенно [69]. Из-за разнообразия симптомов у пациентов с БП, распространенность НМС трудно точно определить. Они часто встречаются у пациентов с установленной болезнью, но их частота на ранней стадии БП широко не изучалась. Около 16-70% пациентов страдают психоневрологическими проблемами, включая депрессию, тревогу, апатию или психоз [68, p-1266; 69, p-1011]. Установлено, что 20-40% пациентов с БП имеют когнитивный дефицит [70, 71].



Нарушения сна возникают более чем в трети случаев БП пациентов [72, 73]. Согласно анкетным исследованиям у более, чем половины пациентов с БП, выявлены вероятные вегетативные расстройства, в том числе запор, ортостатическая гипотензия, нарушения мочеиспускания и половая дисфункция [74, 75]. Европейские исследования (2003-2004) также предполагают, что вегетативные нарушения, включая ортостатическое головокружение, дисфункции мочевого пузыря, эректильная дисфункция и гипергидроз, чаще встречается у пациентов с БП, чем в контрольной группе пациентов без БП. Эти симптомы оказали огромное влияние на качество их жизни [76, 77].

Siddiqui et al. (2002) [78] сообщили о значительном более высоком распространении повышенного слюноотделения, дисфагии, снижения перистальтики кишечника и ортостатического головокружения у пациентов с БП по сравнению с контрольной группой. Поскольку немоторные симптомы включают в себя множество симптомов в разных аспектах, их участие связано с диффузной или множественной мозговой дисфункцией. Психоз признан одним из наиболее частых и инвалидизирующих немоторных симптомов при БП с распространенностью от 20% до 70% на поздних стадиях заболевания. Возможные механизмы галлюцинации и психозов связаны с дофаминергической системой в префронтальной области [79-81]. Известно, что БП характеризуется дофаминергическим дегенеративным процессом, затрагивающим нейроны черной субстанции. Это приводит к нарушению системы базальных ганглиев. Как дегенеративные процессы повреждают нигростриарную систему и другие области мозга не совершенно ясно [82].

Braak H. et al. (2002) предположили, что дегенеративный процесс начинается с основания мозга [12, 83]. Это позволяет думать, что обонятельные луковицы при БП могут быть вовлечены первыми, затем нижний ствол мозга, который влияет на вегетативные функции, и сон. Впоследствии, поражение черной субстанции и других ядер в среднем мозге, проявляются типичными моторными симптомами БП. В поздних стадиях БП обычно вовлекаются лимбическая система и лобный неокортекс, в результате чего когнитивные и психиатрические симптомы могут прогрессировать. Эта гипотеза Braak H. et al. (2004) наглядно иллюстрирует эволюцию симптомов при БП, включая как дебют моторных, так и немоторных симптомов [84].

#### 1.4.1 Нарушение сна

Нарушения сна очень распространены, и почти 80% людей с БП испытывают трудности с засыпанием ночью или страдают от какой-либо формы беспокойного сна, ночных кошмаров, эмоциональных снов, сонливости или внезапного наступления сна в течение дня [85, 86]. Мышечная ригидность, тремор или скованность по ночам, частые позывы к мочеиспусканию, яркие сны или галлюцинации, включая сильные ночные кошмары, могут лежать в основе нарушения нормального сна для пациентов с БП [87]. К наиболее распространенным нарушениям сна относятся бессонница, синдром быстрого сна, апноэ, «приступы сна и синдром беспокойных ног» [88, 89].

Симптомы депрессии и галлюцинаций, которые испытывают пациенты могут привести к беспокойству в ночное время и трудностям засыпания [90]. Во многих исследованиях показана связь более высокого риска патологического сна, – с пациентами мужского пола с прогрессирующим течением БП, когнитивными нарушениями, медикаментозным психозом и ортостатической гипотензией [91].

После засыпания пациенты могут часто просыпаться из-за скованности тела или срочности мочеиспускания по ночам. В результате им трудно достичь спокойного сна. Скорее всего может возникнуть расстройство REM фазы сна с быстрым движением глаз. Он характеризуется потерей тонуса во время быстрого сна, что приводит к избыточной двигательной активности во время сна. Это сильно связано с нейродегенеративными нарушениями, в том числе БП [91, p-846; 92]. Исследования показали, что инсомния может возникать задолго до появления симптомов БП. Приблизительно у половины пациентов с инсомнией в конечном итоге разовьется БП, и поэтому инсомния может быть индикатором бессимптомного БП [93].

Результаты некоторых исследований показывают, что движения во время REM фазы сна объясняют небольшие признаки паркинсонизма. Это может быть связано с моторными сигналами от коры во время быстрого сна в обход экстрапирамидной системы [94, 95]. Чрезмерная дневная сонливость является также распространенным явлением. В дополнение к усталости, которую испытывают многие пациенты с БП, недостаток сна ночью также создает порочный круг для качества жизни [96]. Сонливость может приводить к инвалидности, часто приближаясь к уровням, наблюдаемым при расстройствах внезапного сна, а именно нарколепсии/катаплексии. Полисомнографические исследования показали переход от бодрствования ко сну II стадии в течение секунд [97, 98].

Кроме того, дофаминергические препараты, особенно агонисты дофамина, могут вызывать седативный эффект и внезапное наступление сна [98,p-289]. Значительная часть пациентов может страдать от синдрома беспокойных ног, что приводит к нарушению сна [98, p-1288]. Он характеризуется неприятным ощущением нижних конечностей, которое побуждает пациентов двигаться. Это происходит в основном, когда пациенты в состоянии покоя или ночью. Движение или ходьба помогут пациентам чувствовать себя лучше субъективно. Это часто происходит в сочетании с симптомами периодического движения конечностей в время сна, повторяющееся, миоклоническое отрывистое движение конечностей в основном, когда пациенты спят. Оба условия сильно влияют на качество сна пациентов. Сообщалось, что распространенность синдрома беспокойных ног у пациентов с БП выше, чем у других пациентов без БП [99]. Одно исследование даже сообщило, что глубокая стимуляция мозга субталамического ядра также улучшил синдром беспокойных ног [100].

#### 1.4.2 Депрессия

Депрессия является распространенной проблемой и ранним показателем БП, который может проявиться до появления других симптомов. Пациенты с БП часто испытывают эпизоды грусти и депрессии, что приводит к неприятному отношению без какой-либо видимой причины, которое может снизить качество жизни. Уровень депрессии может быть достаточно серьезным, чтобы у некоторых пациентов с БП возникали мысли о самоубийстве и мысли [101]. По данным различных исследований депрессия является очень распространенной особенностью и встречается от 16 до 70% пациентов с БП [102,103]. Такие различия обусловлены разными диагностическими критериями, используемыми в разных исследованиях [104].

Предполагают, что депрессия развивается, из-за уменьшения количества серотонина. Нейроны 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-НТ) в *nucleus superior centralis* (верхнее центральное ядро шва среднего мозга) и восстановленные дофаминовые нейроны в вентральной сегментарной зоне [105]. Основное депрессивное расстройство, определяемое *Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders – IV (DSM-IV)*, не может быть очень распространенным у пациентов с БП, но депрессивные симптомы, имеют высокую распространенность при БП [106].

Диагноз депрессии при БП может быть сложным, так как замедленность психической деятельности, усталость, снижение активности часто можно принять за моторные симптомы БП. Депрессия при БП характеризуется снижением энергии и мотивации, потерей интереса, чувством грусти, беспомощностью и безнадежностью, изменением веса, сна и аппетита, раздражительностью и мыслями о самоубийстве [107,108]. Примерно 7-32% пациентов с БП диагностированы с большой депрессией, в соответствии с диагностическими критериями *DSM-IV* [109]. Депрессия с БП качественно отличается более высоким уровнем тревоги, пессимизма, иррациональности и меньшего количества чувства вины и самообвинения, по сравнению с пациентами депрессией без БП [110, 111]. Могут быть колебания между нормальным аффектом и депрессивным состоянием в своих эмоциях. Эпизоды депрессии могут быть более частыми на стадии отмены приема лекарств и могут улучшаться, когда моторные симптомы поддаются лечению [112]. Было обнаружено, что депрессия более распространена у пациентов с акинетико-ригидным типом БП, по сравнению с гиперкинетической формой, и у пациентов с правосторонними моторными симптомами [113].

По мнению Schrag A., et al. (2001) выраженная депрессия, может быть связана с тяжелой моторной симптоматикой БП [114].

Dewey R.V Jr. (2004) описал реактивную депрессию, которая является еще одной формой диагностированной у пациентов БП с более прогрессирующим заболеванием, которые теряют независимость и контроль из-за изменений в двигательной функции и чувства беспомощности [115].

Многие социальные факторы, в том числе потеря работы с последующими экономическими проблемами могут способствовать депрессии.

Одновременное нарушение памяти и коммуникативных функций, нарушения сна, утрату возможности самообслуживания все определяют серьезность проблемы депрессии и тревоги. Лечение пациентов с БП с депрессией не отличается от лечения пациентов с другими формами депрессивных расстройств. Наиболее часто используются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина [116].

У депрессивных больных с БП могут быть периодические тревоги и приступы панических атак. Тревожные расстройства недостаточно диагностируются, хотя расстройства более распространены у пациентов с БП, чем в группе контроля по возрасту и полу [117]. По данным некоторых авторов уровень распространенности составляет не менее 40% [118]. Приступы панических атак и беспокойство легко возникают у пациентов с моторными колебаниями у пациентов с БП в периоды «выключения», и обычно улучшается после достижения пациентом состояния «включено». Бензодиазепин и СИОЗС может помочь уменьшить такую тревогу, тем не менее, лучший контроль моторных симптомов БП может быть более полезным в снижении тревоги и страха [118, p-359].

#### 1.4.3 Когнитивные нарушения и деменция

Около половины пациентов с БП имеют когнитивную дисфункцию, медлительность обработки мысли [119]. Во время разговора пациенты с БП испытывают трудности с поиском правильных слов и пониманием сложных предложений [120]. Из-за этой проблемы у пациентов с БП часто бывает много пауз во время разговора. Все это может повлиять на память, суждения, речь, и другие умственные способности [121]. Когнитивная функция может быть связанна с истощением дофамина в головке хвостатого ядра, которое участвует в ганглиозно-таламокортикальной путях с участием различных областей префронтальной коры, обычно эти области связывают с формированием в изобилии телец Леви [122]. Деменция при БП может не проявляться до более поздних стадий [123]. Хотя снижение когнитивных способностей, о котором сообщается при БП, является незначительным и не часто мешает повседневному функционированию, было показано, что у пациентов с БП на более ранних стадиях наблюдаются проблемы с когнитивным замедлением и нарушениями исполнительной функции [124].

Aarsland D, et al. (2003) в исследовании описали связанные с БП когнитивные и речевые нарушения, расстройства зрительно-пространственного гнозиса, долговременной памяти и исполнительного функционирования, которые встречались чаще чем при нормальном старении [125]. Некоторые исследования показывают, что число пациентов с когнитивным дефицитом встречается примерно в 20% случаев [126]. Calabresi P., et al. (2006) предполагают, что потеря холинергических клеток в базальных ядрах Мейнерта при БП, приводят к нарушениям допамин-ацетилхолин зависимых изменений в синаптической щели, которые могут также нести ответственность за деменцию при БП [127]. Когнитивная дисфункция при БП может быть следствием срыва

не только в самой экстрапирамидной системе, но и нарушений связей кортикостриарных, орбитофронтальных с префронтальной корой, из-за возможного истощения дофамина [128].

Некоторые исследования показывают, что повышенный риск развития деменции у пациентов с БП включают: возраст старше 70 лет; оценка моторной функции более 25 баллов по единой шкале оценки болезни Паркинсона (от умеренной до прогрессирующей степени); наличие депрессии; развитие мании, агитации, дезориентации или психоз при лечении леводопой; лицо без эмоциональной экспрессии; воздействие стресса; наличие сердечно-сосудистых нарушений; низкий социально-экономический статус и образовательный уровень; преобладающая брадикинезия и постуральные и нарушения походки [14, p-985; 129-131].

Когнитивные нарушения при БП обычно отличаются от таких же расстройств при болезни Альцгеймера, которые показывают в большей степени амнестические особенности потери памяти. Напротив, пациенты с БП охватывают клинические симптомы когнитивного замедления, нарушения памяти и восстановления памяти, а также дефицита исполнительной функции [132,133]. Однако у 15-30% дементных пациентов с БП могут также сопутствовать болезнь Альцгеймера и проявляются симптомами нарушения речи, памяти и оптико-пространственного гнозиса в течение заболевания, в том числе наличие афазии, агнозии и апраксии [134-136].

Деменция с тельцами Леви (ТЛ), при котором также наблюдается деменция, вегетативная недостаточность и симптомы паркинсонизма. В отличие БП у пациентов с деменцией ТЛ наблюдаются колебания психических симптомов, визуальные галлюцинации и более заметные двигательные расстройства (паркинсонизм) в нижней части тела. Моторные симптомы паркинсонизма обычно возникают вместе с ухудшением когнитивных функций [136, p.]. Клинические признаки часто не надежны в проведении четкой дифференциации, окончательный диагноз подтверждается обычно результатами аутопсии. Типичная для деменции ТЛ патологическая картина показывает широко распространенные тела Леви, расположенные в неокортексе и базальных ганглиях [136,p-137; 137]. Ривастигмин, ингибитор ацетилхолинэстеразы, которые используются при симптоматическом лечении пациентов с болезнью Альцгеймера от легкой до умеренной степени показали свою эффективность и при лечении деменции с БП [137, p-38].

#### 1.4.4 Вегетативные дисфункции

Вегетативные дисфункции у пациентов с БП проявляются в нескольких различных системных симптомах. Они обычно включают сердечно-сосудистые (ортостатическая гипотензия, сердечная аритмия), желудочно-кишечный тракт (расстройство желудка, запор и отрыжка), мочеиспускание (частота, срочность или недержание мочи), сексуальные и терморегуляторные дисфункции [138]. Считается, что патофизиология дисавтономии при БП обусловлена дегенерацией и дисфункцией ядер, которые опосредуют вегетативные функции,

такие как дорсальное блуждающее ядро, *ambiguus*, ядро и другие медуллярные центры (ростральное вентролатеральное мозговое вещество, вентромедиальное продолговатый мозг (ядра каудального отдела), которые осуществляют дифференциальное управление симпатическими преганглионарными нейронами по нисходящим путям [139]. Нарушение функции мочевого пузыря может быть связано с дегенерацией лобной коры или дисфункцией вегетативной нервной системы, кроме того может сочетаться с гиперплазией простаты.

Goldstein D.S., et al. (2002) подтвердили возможность ортостатической гипотензии из-за симпатической денервации и нарушения центрального контроля. Которые расположены в дорсальном блуждающем ядре, ядро добавочного нерва *ambiguus* и другие медуллярные центры. Эти ядра в основном контролируют симпатические преганглионарные нейроны по нисходящим путям [140] Ортостатическая гипотензия вызывает особую озабоченность. Симптомы включают головокружение, связанное с положением, усталость или даже обморок. Головокружение, связанное с положением, часто приводит к падению у пациентов с БП. Это может быть слабым признаком на ранней стадии БП и может не проявляться как основная проблема до более поздних стадий [141, 142]

Желудочно-кишечные симптомы являются распространенной проблемой при БП. Дисфагия, изжога, тошнота, связанная с приемом лекарств, и запор являются преобладающими симптомами [143]. ТЛ были обнаружены в сплетениях вегетативных волокон в пациентов с БП. Это объясняет причину запора из-за потери дофаминергических клеток во всем желудочно-кишечном тракте [144]. Запор является наиболее часто встречающейся проблемой. Это может быть одним из ранних признаков еще до появления моторных симптомов БП [144, p-1255]. Медленная перистальтика кишечника и снижение подвижности усугубляют тяжесть запора. Это может быть особенно серьезной проблемой для пожилых пациентов, поскольку они недостаточно тренируются и могут не принимать достаточного количества жидкости. По меньшей мере 59% пациентов с БП страдают от запоров по сравнению с 21% у пациентов соответствующего возраста, не имеющих БП. Дисфагия может стать более проблематичной по мере прогрессирования БП и может привести к удушью и аспирационной пневмонии [144, p-1256].

### **1.5 Зрительная дисфункция при болезни Паркинсона**

В разных исследованиях при БП были выявлены различные окулозрительные проблемы, включая дефекты первичного зрения, такие как острота зрения, цветовое зрение и движение глаз, а также дефицит в более сложных зрительных задачах, включающих способность определять расстояние или форму объекта [145]. Нарушения зрения при БП важны для влияния на общую двигательную функцию, являются фактором риска развития зрительных галлюцинаций, которые могут существенно влиять на качество жизни больных [146]. Потому как зрительные нарушения влияют на общую моторную

функцию. Нарушения зрения обычно возникают при БП в сочетании с потерей продуцирующих дофамин амакриновых клеток сетчатки во внутренних слоях ядерных и ганглиозных клеток и вторичным истощением сплетения дофаминергических волокон внутреннего плексиформного слоя [147]. К наиболее частым визуальным и глазным симптомам, связанным с БП, относятся также сухость глаз и раздражение глазной поверхности, которая может наблюдаться у 60% пациентов. Считается, что это связано не только с плохим производством и ненормальным составом слезы, но также с пониженной частотой моргания, что приводит к субнормальному распределению слезы [148].

Проблема остается вне внимания специалистов офтальмологов и неврологов. Эти специалисты зрительную дисфункцию упускают из вида, несмотря на предположительную распространенность этих расстройств при БП [149].

Поэтому проблема остается малознакомой и менее изученной. Поскольку считается, что дофамин участвует в процессе адаптации к темноте. При болезни Паркинсона видимый контраст средних и высоких пространственных частот уменьшается [150]. Нарушения зрения при болезни Паркинсона опосредованы нарушением дофаминергических процессов в сетчатке и даже задней кортикальной нейродегенерацией, которая затрагивает зрительные пути [151, 152]. Широкий спектр расстройств включают: снижение остроты зрения, ухудшение цветового зрения, глазодвигательные нарушения, а также более сложные зрительные дисфункции, визуально-пространственную ориентацию, проблемы с распознаванием лиц и хронические зрительные галлюцинации [153].

Многие авторы отмечают, что лучшая осведомленность и своевременное распознавание визуальных симптомов при БП важно. Это связано с тем, что зрительные расстройства могут оказывать негативное влияние на повседневную деятельность, ухудшают адаптацию пациента к имеющимся двигательным расстройствам [154], ухудшая их социальную и физическую активность, что приводит к снижению качества жизни [155].

Распознавание визуальных симптомов позволяет более точно определить прогноз заболевания. Зрительно-пространственные нарушения являются важным предиктором деменции при БП и зрительных галлюцинаций [155, p-1286]. Wood, В.Н. et al. (2002) выявили нарушения зрения у более 80% пациентов с БП, наблюдавших в течение одного года, по сравнению с 66% лиц, из группы сравнения без БП [156]. Влияние зрительных расстройств особенно неприятно для пациентов с БП, потому что они обычно имеют проблемы с моторикой и контролем позы, которые они могут компенсировать, контролируя эти функции визуально [157]. Примером является застывание, распространенный на поздних стадиях БП. Эти эпизоды обычно происходят во время инициации или поворота походки. Зрительные стимулы, например в форме неподвижных полосок, наклеенных на пол, являются научно

обоснованной техникой нейрореабилитации для облегчения походки [158], но ее трудно применять при наличии визуальных расстройств.

Своевременное распознавание зрительных расстройств имеет важное значение, для предотвращения таких осложнений, как падения или травмы, для восстановления подвижности, для повышения эффективного визуального контроля и различных других нефармакологических вмешательств, чтобы установить большую независимость, и улучшить качество жизни пациента [159]. Оценка специфических зрительных нарушений имеет значение для дифференциальной диагностики гипокинетически-гипертонического синдрома, помогая отделить пациентов с БП от пациентов с формой атипичного паркинсонизма, такой как прогрессирующий надядерный паралич и множественная системная атрофия [160]. Некоторые из этих изменений могут отражать дегенерацию центральной и периферической дофаминовых нейротрансмиттерных систем на ранних стадиях заболевания; задержка между началом денервации дофамина и появлением двигательных симптомов составляет 5-20 лет [161, 162].

А. Sauerbier, К. Ray (2013) в обзоре подробно описали, что в основе зрительного анализатора человека лежит сложная система, представленная органом зрения (глазом) и многочисленными структурами ЦНС (Рисунок 2) [163].

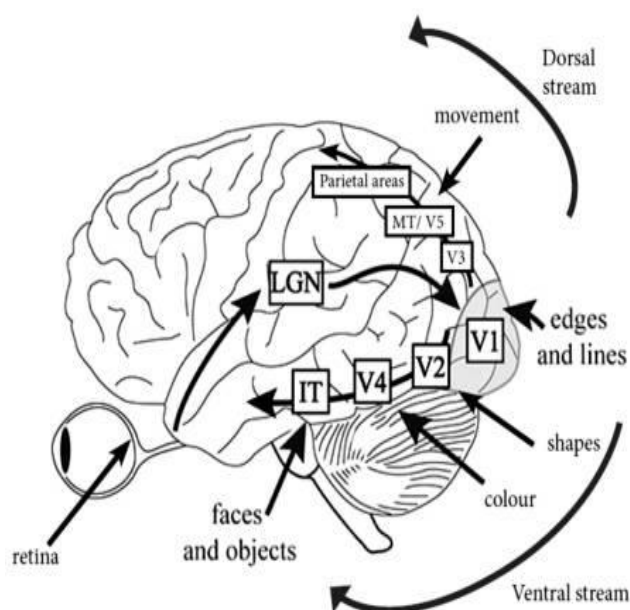


Рисунок 2 – Функциональная анатомия зрения здорового человека

Примечание – Информация передается от сетчатки через зрительный нерв и зрительный тракт к латеральному ядру колленчатого тела в таламусе. Оттуда сигналы проецируются через оптическое излучение в первичную зрительную кору (V1). Ячейки в V1 обрабатывают простые локальные атрибуты, такие как ориентация линий и ребер

Из первичной зрительной коры информация организована в виде двух параллельных потоков иерархической обработки: вентральный поток



идентифицирует особенности объектов и проходит от V1 через области V2 и V4 к нижней временной височной коре [163].

В ходе эволюции сформировалось множество сложных структур на корковом, подкорковом и стволовом уровнях, функцией которых стала интегративная деятельность с сенсорными и моторными компонентами зрения [163]. К сенсорному компоненту зрения относится непосредственно восприятие зрительной информации палочками и колбочками на сетчатке. С моторным компонентом связаны различные типы движения глаз и зрачковые реакции, обеспечивающие оптимальные условия для восприятия зрительной информации в различных ситуациях повседневной активности человека [163].

Ранее, другие авторы Z. Almer et al. (2012) акцентировали свое внимание также на незрительные функции глаза, которые реализуются через ретино-гипоталамический тракт. При БП в патологическом процессе задействованы все уровни зрительной системы [164]. Первичным звеном, воспринимающим зрительную информацию, является сетчатка, представляющая собой часть нервной системы, вынесенной на периферию. Информация передается от сетчатки через зрительный нерв и зрительный тракт к латеральному коленчатому телу в таламусе. Оттуда сигналы проецируются через оптические пути в первичную зрительную кору, где и происходит обработка информации [164, p-179.]. Еще в 1972 г. авторами M.S. Corin et al. доказано, что в осуществлении нормального функционирования сетчатки, как и в ЦНС, вовлечены многие медиаторы и нейротрансмиттерные системы [165]. E.H. Pinkhardt et al. (2021) указывают, что надежность и максимальная полнота восприятия внешнего мира, зрительная информация к корковым центрам поступает по параллельным каналам, которые «специализируются» на передаче определенных свойств окружающих объектов. Некоторые из визуальных расстройств обусловлены нейродегенеративным процессом анатомических структур зрительного анализатора, лежащих в основе БП, которые положительно реагируют на дофаминергические препараты [166]. С другой стороны, зрительные расстройства могут быть побочными эффектами дофаминергических, холинергических или норадренергических препаратов, а также хирургических вмешательств, таких как глубокая стимуляция головного мозга (DBS) и паллидотомия [167]. Заболевание сухих глаз «keratoconjunctivitis sicca» часто встречается при БП, с предполагаемой распространенностью 53-60%, что выше, чем распространенность 5-35% среди популяции в возрасте 50 лет и старше [168].

#### 1.5.1 Сухость глаз

Считается, что сухость глаз при БП обусловлена снижением частоты морганий, что является классической особенностью БП. Снижение частоты моргания приводит к уменьшенному распределению липидных компонентов слезной пленки по роговице, что приводит к более быстрому испарению водного компонента. Кроме того, сухость глаз при БП может быть результатом снижения образования слез, вызванного вегетативной дисфункцией, на основе

частичной парасимпатической вегетативной иннервации слезной железы [168-170].

### 1.5.2 Глазодвигательные нарушения

Различные глазодвигательные нарушения связаны с БП, включая недостаточность конвергенции [171, 172], аномальные саккады и плавное преследование [173], а также ограничение взгляда вверх [174]. Недостаточная конвергенция предположительно широко распространена при БП и может вызывать помутнение зрения (и, следовательно, нарушение чтения) и диплопию [175].

Распространенность диплопии при БП изучалась только в небольших группах, которые сообщили, что распространенность варьирует от 10 до 30% у пациентов с БП, по сравнению с 1-19% в контрольной группе [174, p-144]. Частота возникновения диплопии при БП увеличивается с прогрессированием заболевания [174, p-144]. Диплопия чаще встречается у пациентов с ранее существовавшим смещением глаз и дневной сонливостью, что позволяет предположить, что пациенты без сонливости могут в некоторой степени компенсировать смещение глаз [174, p-144]. Патофизиология, лежащая в основе диплопии при БП, остается неясной. Диплопия из-за недостаточности конвергенции может улучшиться с допаминергической терапией [174, p-145], предполагая, что дефицит дофамина в базальных ганглиях принимает участие в его патофизиологии. Тем не менее, также было высказано предположение, что недостаточность конвергенции обусловлена экстраинтравитальной патологией [174, p-146].

### 1.5.3 Зрительные галлюцинации

Зрительные галлюцинации могут быть связаны с нарушением зрительного пути, который включает дисфункцию зрительного нерва, включая цветовое восприятие, изменения остроты зрения, дисфункцию сетчатки, диплопию и слепоту (монокулярную или бинокулярную) [175, p-750]. Сопутствующие или перекрывающиеся механизмы, вероятно, активны во время зрительных галлюцинаций, и они включают прежде всего центральную допаминергическую гиперактивность и дисбаланс холинергической нейротрансмиссии. Дисфункция зрительных путей, включает специфическую БП-ассоциированную ретинопатию и функциональные изменения в экстрастриатных зрительных путях, а также изменения стволовых механизмов сон-бодрствование; и ослабление внимания [176]. Пациенты со зрительными галлюцинациями могут также иметь структурные аномалии кортикальной системы зрительного анализатора, такие как атрофия серого вещества в некоторых областях мозга и мозжечка [176, p-850].

Другим заметным патологическим маркером зрительных галлюцинаций при БП является наличие тельца Леви в височной доле. Хорошо сформированные зрительные галлюцинации связаны с наличием тельца Леви в стволе мозга, особенно в миндалинах и парагиппокампальной области. Многие

пациенты с БП с зрительными галлюцинациями продемонстрировали функциональные различия изображений по сравнению с контролем [177].

Stebbins et al. обнаружил сдвиг в обработке стимулов от задней (зрительной кортикальной, включая затылочную, височную, теменную заднюю кору) к передней (связанной с вниманием, верхней лобной) области мозга у 12 пациентов с БП с зрительными галлюцинациями по сравнению с сопоставимыми пациентами без галлюцинаций, обнаружив изменение проводимости зрительных путей [178]. Зрительные галлюцинации при этом были связаны с уменьшением содержания серого вещества в зрительных ассоциативных областях и с аномальными паттернами активации мозга в задних и лобных областях.

Ramirez-Ruiz B, et al (2008) в исследовании продемонстрировали гиперактивацию нижней лобной извилины у пациентов с БП с зрительными галлюцинациями во время выполнения задания на зрительные стимулы [179].

Kiferle L, et al. (2014) показали увеличение поглощения контраста хвостатым телом у 18 пациентов с визуальными галлюцинациями в исследовании однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (SPECT) [180]. Результаты этих исследований свидетельствуют о нарушении сетей внимания и зрения. Дефицит обработки снизу вверх и аномалии в лобно-полосатых сетях у пациентов с БП могут быть основой для галлюцинаций [180, p-761]. Галлюцинация возникает при БП, чаще на поздних стадиях. Психозы и зрительные галлюцинации являются распространенными, дозозависимыми побочными эффектами препаратов против БП в сочетании с прогрессированием заболевания и медицинскими заболеваниями [180, p-762].

В других исследованиях выявлено, что когнитивные нарушения, депрессия и лечение антихолинергическими препаратами связаны с повышенным риском развития психоза у больных БП в возрасте старше 70 лет [181]. Эти исследования подтверждают, что пациенты, которые испытывают галлюцинации, как правило, имеют определенную степень когнитивного снижения, а также худший прогноз с более высокими показателями смертности [180, p-762; 181, p-2262]. Кроме того бред, параноидальные мысли и делирий, которые могут также стать более частыми по мере прогрессирования заболевания симптомами [181, p-2262].

Пациенты могут испытывать тревожные сновидения или ночные страхи, которые могут привести к автоматизмам или вскрикиваниям во сне. Другим распространенным тревожным заблуждением является супружеская неверность для пациентов и мужского и женского пола [182]. Некоторые авторы отмечают, что эти симптомы могут усугубляться дофаминергическими и другими психоактивными препаратами [183].

#### 1.5.4 Уменьшение контрастного и цветового зрения

У пациентов с болезнью Паркинсона часто нарушается способность отличать объект от фона т.е. наблюдается уменьшение контрастного и цветового зрения, который связывают с поражением глаз (включая сетчатку), а также таламус или кортикальные поражения [184]. Изменения цветового зрения

и контрастной чувствительности, как правило, незначительны на ранних стадиях заболевания и обычно поддаются лечению леводопой, но в конечном итоге имеют тенденцию к прогрессу. Muller T. et al. (1999) в тестах с использованием карт зрения с буквами одинакового размера, но с уменьшением контраста, заметили, что пациенты с БП имеют нормальную остроту, но нарушение контрастности [185].

При количественных измерениях у пациентов с БП наблюдается потеря контрастной чувствительности в диапазоне пространственных частот, а также в фовеальной (центральной) и периферической локализации [186]. Потеря контрастной чувствительности частично обратима при лечении препаратами L-дофа, как на ранней и средней стадиях БП, но со временем по мере развития болезни эффективность уменьшается [186, p-42].

В здоровом мозге цвет обрабатывается колбочками в сетчатке и на более высоких уровнях зрительной корой (V1) и подкорковыми ядрами (V4) (рисунок 2).

Нарушение цветового зрения выявляется при болезни Паркинсона даже на ранних стадиях заболевания, у нелеченых пациентов [183]. Нарушения цветового зрения также коррелировали с моторными симптомами, с нарастанием моторных нарушений (у нелеченых пациентов) с продолжительностью заболевания [183, p-387]. В дальнейшем дефицит цветового зрения прогрессирует как у пациентов, получавших лечение, так и без лечения [208]. В некоторых исследованиях цветовая дискриминация может быть нарушена из-за когнитивного или моторного дефицита [187]. Неясно, отражают ли отклонения цветового зрения при болезни Паркинсона сетчатку или корковые нарушения, но учитывая, что различия можно наблюдать по нескольким осям, вполне вероятно, что изменения цветовой чувствительности являются многофакторными [187, p-888].

#### 1.5.5 Зрительно-пространственные функции при болезни Паркинсона

БП характеризуется нарушениями зрительно-пространственной функции, которые могут влиять на повседневную деятельность. Визуально-пространственные трудности более выражены у тех, у кого моторные симптомы начинаются с левой стороны тела [188], чем с правой стороны тела и в основном связаны с дисфункцией теменной области. Механизм зрительно-пространственной дисфункции до конца неясен, так как в дополнение к подкорково-кортикальным изменениям имеются нарушения визуального сканирования и, возможно на уровне сетчатки при БП [189]. Наличие дофамина в сетчатке взрослого человека было исследовано с использованием высокоаффинного поглощения, локализации, синтеза и высвобождения в качестве нейротрансмиттер-специфических физиологических зондов. Frederick J.M. et al. (1982) в результате гистохимических исследований показали, что дофамин-накапливающие и дофамин-содержащие клетки сетчатки человека принадлежат к популяции амакриновых интернейронов [190]. Пациенты с болезнью Паркинсона допускают больше ошибок при копировании и напоминании сложных цифр, чем здоровые контроли [191]. Копирование

пересекающихся пятиугольников часто используется в качестве простой прикроватной меры визуально-пространственной функции при болезни Паркинсона. Это быстрое выполнение и является частью теста Mini-Mental State [192, 193]. Долгосрочные исследования показывают, что расстройство зрительно-пространственной функции имеют значение в прогнозировании развития деменции при болезни Паркинсона.

В одном крупном перекрестном исследовании пациенты с болезнью Паркинсона показали несколько более низкие баллы при копировании пересекающихся пятиугольников, чем у здоровых контролей (Garcia-Diaz et al., 2014), выявлена корреляция между показателями при копировании пентады и снижением толщины коры в теменной и височных областях [194].

В тестах рисования часов пациенты с БП (без деменции) допускают больше ошибок, чем здоровые группы контроля [195, 196]. Хотя, во всех этих тестах отсутствует специфичность для визуально-пространственной функции, поскольку они включают еще несколько когнитивных компонентов, включая практику, память и исполнительную функцию [197]. В другом исследовании при БП выявлена нарушение способности распознавать лица, которая коррелировала с плотностью серого вещества в веретенообразной области теменной области, ответственной в головном мозге за функцию в распознавании лиц [198]. Особые трудности возникают при интерпретации выражений лица с негативными эмоциями, включая отвращение, грусть и страх [199]. Дефицит эмоциональной обработки лица при болезни Паркинсона может быть объяснен наличием двух различных путей обработки лица, которые чувствительны к различным пространственным частотным диапазонам. Выявлено, что эффективность эмоциональной обработки лица улучшается у пациентов, получавших L-DOPA, и согласуется с вовлечением дофаминергических нейронов в этот путь [200].

## **1.6 Диагностика и лечение**

Значительным прогрессом стала разработка и проверка скрининговой анкеты для БП. Анкета выявления немоторных симптомах (NMSQuest), анкеты из 30 пунктов с вопросами скрининга психоневрологических симптомов, сна, мочеполовых, желудочно-кишечных, сенсорных и когнитивных нарушений [201]. Он был применен к когортам с установленным БП в крупных международных исследованиях, но до настоящего времени не использовался у пациентов с ранним или недавно диагностированным БП. Клинические критерии, могут привести только к диагностике вероятного БП, в то время как для точного диагноза требуется гистопатологическая оценка с идентификацией  $\alpha$ -синуклеин-содержащих тельцов Леви (ТЛ). Диагноз БП может быть поставлен и классифицирован на разных стадиях, согласно критериям Hoehn and Yahr (1967), которые впоследствии модифицированы с дополнениями [202]. Большинство клиницистов сталкиваются с трудностями в точной диагностике БП, поскольку некоторые симптомы могут появиться при нормальном старении. Кроме того, доступно всего несколько тестов, которые могут помочь

диагностировать БП. Таким образом, большинство пациентов с БП диагностируются на основании их истории болезни и определенных неврологических исследований [203, 204].

Colosimo С. (2003) отмечают, что присутствие ТЛ является одним из наиболее точных способов диагностики БП, который может быть выполнен при микроскопическом исследовании посмертных тканей головного мозга. Хотя, ТЛ также можно обнаружить в мозге пациентов, у которых отсутствуют симптомы паркинсонизма. Например, более 8% людей старше 50 лет, 13% людей старше 70 лет и 16% старше 80 лет имеют ТЛ в мозге в отсутствие симптомов БП [205]. Следовательно, наличие ТЛ в ткани головного мозга не является единственным показателем БП, но точный диагноз требует наличия как минимум двух из трех основных двигательных признаков, таких как тремор в покое, ригидность и брадикинезия [205, р-853].

В основе синдромальной природы БП лежат немоторные подтипы, которые, вероятно, связаны со специфической дисфункцией холинергических, норадренергических, серотонинергических путей в головном мозге, а не только дофаминергических путей. НМС можно лечить с помощью дофаминергических и недофаминергических стратегий, но требуются дальнейшие надежные исследования, подтвержденные данными на животных моделях. Будущее современного лечения БП должно поддерживаться предоставлением персонализированной медицины [206]. Комитет доказательной медицины (EBM) Международного общества паркинсона и двигательных расстройств (MDS) регулярно публикует рекомендации по диагностике БП симптоматическому лечению НМС [207, 208]. Е.Моро, М. Schüpbach, Т. Wächter et al. (2016) при изучении вклада глубокой стимуляции мозга (DBS) для немоторных побочных эффектов противопаркинсонических препаратов, эффект был скромным [209].

### **1.7 Характеристики взаимодействия miRNA и mRNA генов-кандидатов болезни Паркинсона**

Развитие БП происходит в течение нескольких лет, что дает возможность для разработки методов диагностики и последующей терапии. К сожалению, в настоящее время отсутствуют эффективные методы ранней диагностики заболевания, что значительно снижает эффекты лечения. Трудность диагностики связана со многими генами, которые участвуют в развитии БП (генов-кандидатов), экспрессия которых изменяется с развитием нескольких типов нейродегенеративных заболеваний [210].

В настоящее время ведется активный поиск биомаркеров БП, способных прогнозировать развитие заболевания, определить темп прогрессирования заболевания, оценить эффективность проводимой терапии. Современные знания об основополагающей генетике БП, собранные за последние два десятилетия, предоставили исследователям большое количество информации о различных биологических путях, участвующих в патогенезе БП [13, р-764].

Выявлено более 500 различных вариантов ДНК в пяти генах болезней, связанных с БП;  $\alpha$ -синуклеин (SNCA), паркин (PARK2), предполагаемая PTEN-индуцированная киназа 1 (PINK1), DJ-1 (PARK7) и киназа 2 с богатыми лейцином повтора (LRRK2). Эти генетические варианты включают около 82% простых мутаций и около 18% вариаций числа копий. Очевидна биологическая значимость предполагаемых патогенных мутаций. Существует необходимость всестороннего генетического скрининга пациентов с болезнью Паркинсона с последующим глубоким изучением функциональной значимости наблюдаемых генетических вариантов [13, p-776].

miRNA регулируют экспрессию различных генов, и могут быть вовлечены в патогенез различных заболеваний. Проводится активное исследование роли недавно открытого класса РНК, miRNA, в функционировании как отдельной клетки, так и всего организма в целом [14, p-983]. В настоящее время фармакологические методы лечения нейродегенеративных заболеваний ограничены, но ученые находятся на пороге разработки многообещающих новых методов лечения, включая молекулярно-специфические методы лечения. [211]. Методы, разработанные в рамках когнитивной нейробиологии, которые могут выявить целостность нейронных систем, могут быть адаптированы для клинического использования. Выявлен целый ряд miRNA, которые могут принимать прямое или опосредованное участие в развитии БП [211, p-2]. Было показано, что экспрессия этих генов может регулироваться различными miRNA и влиять на развитие патологии [211, p.-2].

Несколько десятков генов кодируют белки, содержащие полиглутамин, количество которых варьируется от 30 до 100 и более [212]. Считается, что как тип нейродегенеративного заболевания, так и его тяжесть зависят от количества остатков глутамина [213]. На сегодняшний день идентифицировано несколько десятков генов кандидатов, и их роль в БП должна быть исследована. Некоторые из этих генов являются генами-кандидатами для болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, деменции, болезни Гентингтона, лобно-височной деменции и других нейродегенеративных заболеваний [214]. Есть попытки связать однонуклеотидные полиморфизмы с вероятностью БП и других нейродегенеративных заболеваний [215].

Экспрессия генов-кандидатов зависит от нескольких факторов, включая miRNAs, которые регулируют экспрессию генов на стадии трансляции [216, 217]. Было установлено, что некоторые miRNA могут взаимодействовать с несколькими или даже сотнями генов, и наоборот, один ген может быть мишенью для многих miRNA [15, p-352]. Это значительно усложняет выявление ассоциаций и генов miRNA, которые могут служить маркерами заболеваний. Некоторые исследователи изучали изменения в концентрации нескольких miRNA или манипуляции с экспрессией нескольких генов, связанных с БП, и на основании этих исследований были установлены корреляции между экспрессией miRNA и генов [218, 219].

Однако выявление таких корреляций не позволяет установить специфические отношения между miRNA и генами-мишенями. Поэтому после более чем двух десятилетий изучения miRNA не было разработано ни одного метода диагностики различных заболеваний с использованием miRNA. Учитывая вышеизложенные обстоятельства, используя программу MirTarget, мы провели поиск ассоциаций известных человеческих miRNAs с генами-кандидатами БП. Необходимо учитывать экспрессию генов-кандидатов в тканях с изученными патологиями. Уровень экспрессии miRNA в тканях с генами-мишенями и возможность доставки miRNA через кровь в такие ткани должны быть определены. Многие исследования показали, что miRNA могут циркулировать в крови в составе экзосом и проникать практически в любую клетку [218, p-198; 219, p-203]. Даже в одной ткани перенос miRNA путем диффузии был менее эффективным, чем перенос miRNA с кровью в ткани органов. Биоинформационные подходы были использованы для выявления связей между miRNA и генами-кандидатами [220]. Такие подходы позволяют изучать значительное количество вариантов взаимодействия известных человеческих miRNA со всеми генами, кодирующими белок человека.

В последние годы возрос интерес к miRNA, которые могут избирательно изменять экспрессию генов и в той или иной степени регулировать ее в различных тканях [221-225].

Учитывая возможность того, что miRNA могут синтезироваться в одной ткани и впоследствии переноситься через кровоток в другие ткани, вопрос их регуляции экспрессии генов-кандидатов болезни является сложным. Геном человека кодирует более шести тысяч miRNA, некоторые из которых могут взаимодействовать с mRNA нескольких генов [226-232], а некоторые гены являются мишенями многих miRNA [233-242], что тоже затрудняет определение mRNA и выявление селективных маркеров заболевания. Использование известных биоинформационных подходов не привело к выявлению достоверных miRNA-маркеров заболеваний. В данной работе мы изучили количественные характеристики взаимодействий mRNA генов-кандидатов наряду с известными miRNA другие miP взятые из публикаций (Londin E., et al. 2015), которые в два раза расширили общее количество miP и позволили выявить новые свойства miP. Количественные характеристики являются необходимым и важным параметром для оценки эффективности взаимодействий между miRNA и mRNA. Ранее была продемонстрирована конкуренция между miRNA за подавление экспрессии одного гена путем позиционирования их СС с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями в областях mRNA, называемых кластерами [243,244]. Кроме того, следует отметить, что примерно половина miRNA происходит из интронов генов хозяина, в то время как остальные miRNA кодируются в межгенных областях [245]. Следовательно, ген-хозяин может быть источником miRNA и, в то же время, мишенью miRNA. Поскольку miRNA может быстро переноситься между тканями через кровоток, эта характеристика значительно



затрудняет установление происхождения циркулирующей в крови miRNA [246-248].

Поэтому необходимо выявить количественные характеристики взаимодействий всех известных miRNA с генами-кандидатами и впоследствии исследовать наиболее эффективные ассоциации miRNA и генов-мишеней. Такой подход устраняет многие артефакты и позволяет повысить надежность установления эффективных ассоциаций miRNA и генов-кандидатов. Экспрессия генов-кандидатов зависит от нескольких факторов, включая miRNA, которые регулируют экспрессию генов на стадии трансляции [219, p-205; 10, p-2699; 218, p-200; 249-253]. Установлено, что некоторые miRNA могут взаимодействовать с несколькими или даже сотнями генов [243, p-e8049], причем наблюдается и обратная ситуация: один ген может быть мишенью многих miRNA [242, p-801; 248, p-85].

Эти свойства значительно затрудняют идентификацию ассоциаций miRNA и генов, которые могут служить маркерами заболеваний. Многие исследователи изучали изменения концентраций нескольких miRNA или манипуляции с уровнями экспрессии нескольких генов, связанных с БП, и на основе этих исследований были установлены корреляции между уровнями экспрессии miRNA и генов [254, 255]. Однако выявление таких корреляций не позволяет установить конкретные связи между miRNA и генами-мишенями. Поэтому после более чем двух десятилетий изучения miRNA не было разработано ни одного метода диагностики различных заболеваний с использованием miRNA. Учитывая вышеизложенные обстоятельства, с помощью программы MirTarget выявлялись ассоциации известных человеческих miRNA с генами-кандидатами БП. Для подтверждения достоверности этих ассоциаций необходимо показать их наличие в ортологичных генах. Многие исследования показали, что miRNA могут циркулировать в крови в составе экзосом и могут проникать практически в любую клетку [256-260]. Даже в одной ткани перенос miRNA путем диффузии был менее эффективен, чем перенос miRNA через кровоток в ткани органов. Биоинформатические подходы были использованы для выявления ассоциаций между miRNA и генами-кандидатами [261-262, 217 p-8].

Такие подходы позволяют изучить значительное число вариантов взаимодействия известных человеческих miRNA со всеми генами, кодирующими белки человека. В этой работе мы искали miRNA, которые связываются с генами-кандидатами БП, чтобы установить эффективные ассоциации между miRNA и генами, которые могут быть использованы для диагностики БП.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общий дизайн исследования

Нами был разработан дизайн исследования. Проведен обзор международной и отечественной литературы по БП и немоторным проявлениям. Был проведен анализ официальных статистических данных Республики Казахстан по неврологическим заболеваниям и БП. Проведен анализ существующих клинических протоколов диагностики и лечения БП и других двигательных расстройств, а также материально-технической базы доступной для отечественных докторов, рекомендованных Республиканским Центром Развития Здоровья (РЦРЗ).

Амбулаторные пациенты, из 11 поликлиник (№4, №3, №33, №29, №12, №16, №1, №5, №10, №6, №15 и дом ветеранов) одного из крупных городов Казахстана г. Алматы (с населением более 2 миллионов человек). поэтапно с 01.11.2018 г. по 31.01.2020 г. направлялись в городскую поликлинику №4 для обследования.

Первый этап работы: проспективное, когортное, наблюдательное клиническое обследование включает 161 человек, из которых 106 больных с диагнозом болезнь Паркинсона, 55 человек группа сравнения. Диагноз БП устанавливался на основании общепринятых критериев в соответствии с международной классификацией болезней (МКБ-10, ВОЗ 1992 г.).

Второй этап работы: молекулярно генетическое исследование, выполнялся в Научно-исследовательском институте проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби. Результаты получены *in silico* с помощью программы Mir Target на суперкомпьютере. Проведена оценка взаимодействия miRNA с mRNA генов мишеней при болезни Паркинсона и создана база данных. Исследование *in vitro* проведено у десяти пациентов с ранней формой развития БП. Достоверность полученных данных подтверждена методами математической статистики.

Таким образом, в нашей работе, мы использовали информационно-аналитический, клинический и современные методы молекулярно-генетического и статистического исследования. Собранный материал позволяет получить достоверные данные.

Параметры, методы, объем исследования представлены в таблице 2

Таблица 2 – Параметры, методы, объем исследования

Параметры исследования	Методы	Область исследования
Информационно-аналитический	Сбор и анализ литературных данных. Анализ международного и отечественного опыта по изучению проблемы болезни Паркинсона.	273 литературных источников
Проспективное когортное, наблюдательное исследование	Обследование проводилось на базе городской поликлиники №4 г. Алматы. За период с 01 ноября 2018 г. по 31 января 2020 г.	Истории болезни, анамнез.

Клиническое исследование.	Исследование 595 амбулаторных пациентов из 11 поликлиник г.Алматы. Были изучены социально-демографические и клинические характеристики. Пациентам было проведено анкетирование, в котором задавались вопросы о различных МС и НМС, с применением унифицированной шкалы оценки тяжести БП (UPDRS)*, шкала двигательных расстройств Хен – Яра**. Нейропсихологические методы для оценки когнитивного статуса и зрительно-пространственных нарушений. (Приложение В,Г,Д,Е,Ж,И,К,Л).	Отобраны 106 больных с диагнозом болезнь Паркинсона-основная группа Группа сравнения состояла из 55 человек
Молекулярно – генетическое исследование	Исследование взаимодействия miRNA с mRNA кандидатных генов БП. Выявление ассоциаций miRNA и их генов мишеней с помощью программы MirTarget на суперкомпьютере КазНУ им. Аль-Фараби.	Изучено взаимодействие кандидатных генов БП с miRNA человека.
Статистический метод	Обработка данных проводилась с помощью пакета анализа данных табличного процессора «Excel 2016» Microsoft® Office, «IBM SPSS Statistics version 27» для Windows	Сбор и ввод данных, трансформация и кодировка переменных, анализ и интерпретация данных.
* – Составлено по источнику [207, p-42] ** – Составлено по источнику [202, p-428]		

## 2.2 Общая характеристика клинического материала

Работа выполнялась на кафедре неврологии с курсом нейрохирургии КазНМУ им. Асфендиярова (руководитель: профессор Каменова С.У.), обследование проводилось на базе городской поликлиники №4 г., куда направлялись больные из различных поликлиник г.Алматы с предварительным диагнозом БП (договор от 03.09.2018 г.), (Приложение М).

На первом этапе исследования методом сплошной выборки проведен анализ 595 амбулаторных пациентов, направляемых из 11 поликлиник одного из крупных городов Казахстана г. Алматы поэтапно с 01.11.2018 г. по 31.01.2020 г.

Все пациенты или их законные представители, предоставили письменное информированное согласие на участие в нашем исследовании. Исследование было одобрено этическим комитетом АО “Национальный Медицинский Университет” Протокол №9 (73) от 28.09.2018. Приложение М.

Диагноз БП устанавливался на основании общепринятых критериев в соответствии с международной классификацией болезней (МКБ-10, ВОЗ 1992 г.) на результатах клинического осмотра и данных дополнительных методов исследования. В работе за руководство были взяты диагностические критерия международного неврологического сообщества - Parkinson’s Disease Society Brain Bank (таблица 2).

Все пациенты консультированы офтальмологами поликлиник и при необходимости врачами КазНИИ глазных болезней. Для получения

достоверных результатов пациенты со значимыми офтальмологическими заболеваниями из исследования были исключены. В дальнейшем методом исключения отобраны 106 пациентов для исследования.

*Критерии включения в исследование:*

Пациенты с идиопатической БП в соответствии с международными критериями Британского банка мозга, наличие как минимум одного из следующих признаков: мышечной ригидности, тремора в состоянии покоя, брадикинезии или акинезии; постуральной неустойчивости.

*Критерии исключения из исследования:*

Синдром паркинсонизма.

Повторные травмы головы в анамнезе.

Определенный энцефалит в анамнезе.

Окулогирные кризы.

Лекарственный паркинсонизм.

Надъядерный паралич взора.

Симптомы со стороны мозжечка.

Наличие опухоли мозга или выраженная гидроцефалия по данным МРТ.

Наличие других неврологических или психиатрических состояний.

Пациенты с краткой оценкой психического состояния (MMSE) менее 21 баллов.

Пациенты с офтальмологическими заболеваниями (зрелая катаракта, возрастная макулярная дегенерация, деструкция стекловидного тела, сенильный и вторичный ретиношизис и.т.д.).

Пациенты с сахарным диабетом, и другими болезнями, которые могут вызвать проблемы со зрением или другими вегетативными симптомами.

### **2.3 Клинические и лабораторные методы исследования**

Для решения вышеизложенных задач, нами сформирована группа из 106 пациентов, которым был поставлен диагноз по критериям Банка мозга Великобритании по болезни Паркинсона. Обследование и лечение осуществлялось согласно клиническому протоколу диагностики и лечения болезни Паркинсона Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «29» ноября 2016 года Протокол №16, одобренному Объединенной комиссией по качеству медицинских услуг.

В работе определяли основные демографические и клинические характеристики, включая возраст в период исследования, возраст начала, продолжительность заболевания, семейная история болезни Паркинсона, реакция на леводопа. Для объективизации степени двигательной тяжести и стадию заболевания были применены: унифицированная шкала оценок БП (UPDRS), модифицированная шкала Hoehn and Yahr

Шкала Унифицированной рейтинговой оценки БП – Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) [207, p-45].

Моторный фенотип определяли в соответствии с новой версией MDS-UPDRS метода, описанного Jankovic et al. (2008) [203, p-370]. Двигательная

инвалидность оценивалась с помощью, пересмотренной Обществом двигательных расстройств Единой рейтинговой шкалы болезни Паркинсона (MDS-UPDRS), части II и III [207, p-43].

Шкала Хен–Яра (1967) [202, p-429].

Тяжесть заболевания и стадии оценивались по Hoehn M.M, Yahr M.D. (1967) [202, p-429]. Шкала Хен-Яра является международным критерием для оценки степени выраженности функциональных расстройств движения при БП. По этой шкале выделяют пять стадий болезни – от I стадии с односторонней симптоматикой (гемипаркинсонизмом) до V стадии, при которой больной прикован к постели (инвалидной коляске).

Шкала Schwab and England

Шкала активности повседневной жизни Schwab и England оценивает уровень инвалидности пациентов от 0 до 100%:

– оценка 0 относится к прикованному к постели пациенту и нарушенным вегетативным функциям (таким как глотание, функция мочевого пузыря и кишечника);

– оценка 100% относится к полностью независимому пациенту, способному управлять своей повседневной деятельностью без замедления, затруднений и нарушений.

Немоторные симптомы (НМС) являются настоящим бременем при болезни Паркинсона (БП). Они могут появляться как на ранней досимптомной стадии, так и на протяжении всего течения болезни.

Мы провели данное исследование, в котором 106 пациентов (55 группа сравнения) все были подвергнуты структурированному клиническому опросу и обследованию двигательных и НМС на основе общепринятых и общепринятых шкал. Как мы отметили ранее моторные симптомы оценивались по шкале UPDRS I–VI, а НМС оценивали по общепринятым шкалам.

В самом начале исследования пациенты отвечали на **Анкету, которая продемонстрировала наличие:**

- Наличие двигательных симптомов,
- Количество немоторных симптомов
- Наличие визуальных и пространственных нарушений при БП

Анкета включала четыре раздела, разработанных для оценки характера и выраженности моторных, зрительных и пространственных симптомов, которые испытывают пациенты с БП.

Первый раздел анкеты касался фоновых переменных, включая возраст, пол, назначение лекарств и диагнозы хронических заболеваний.

Во втором разделе, посвященном двигательным симптомам, участников просили ответить на вопросы, касающиеся вида и степени двигательных симптомов, которые они испытывали, и степени, в которой лекарства облегчали эти симптомы.

Третий раздел касался зрительного и пространственного восприятия. Участников попросили указать визуальные и пространственные проблемы, в том числе были ли у них трудности с оценкой пространственных отношений

или восприятием движения, или если они испытывали зрительные галлюцинации.

В случае подтверждения галлюцинаторных переживаний выясняли детали, в том числе частоту зрительных галлюцинаций, форму, продолжительность и время суток, когда они появлялись. Кроме того, были вопросы, касающиеся оценки взаимосвязей объектов, расстояний между объектами, восприятия цвета и двоения в глазах.

Далее для детального изучения зрительных и когнитивных расстройств мы использовали общепринятые нейропсихологические тесты.

Краткая шкала оценки психического статуса. (Mini-Mental State Examination, MMSE).

Все пациенты были протестированы с использованием MMSE.

Оценка результатов:

- 29-30 баллов Нет нарушений;
- 28 баллов Легкие когнитивные нарушения;
- 25-27 баллов Умеренные когнитивные нарушения;
- 20-24 балла Легкая деменция;
- 10-19 баллов Умеренная деменция;
- < 10 баллов Тяжелая деменция.

Учитывая, что пациенты имели выраженные моторные и немоторные симптомы пациенты с оценкой MMSE психического состояния менее 21 баллов были исключены из исследования. Такая коррекция была проведена для того, чтобы пациенты могли самостоятельно ответить на анкеты и выполнить тестирование (согласно рекомендациям ЛЭК).

Комплекс тестов для определения нарушения зрительного восприятия Для выявления зрительно-пространственных нарушений (ЗПН) использовали ряд тестов различной степени сложности. Учитывая имеющиеся на сегодняшний день многочисленные модификации комплексных методик оценки, ставилась задача выявить наиболее чувствительные тесты для определения ЗПН у пациентов с БП.

Скрининговая анкета - Visual Impairment in Parkinson's Disease Questionnaire (VIPD-Q). Приложение В.

Пациенты БП (n=106) и пациенты группы сравнения (n=55) заполнили анкету нарушения зрения при болезни Паркинсона VIPD-Q (анкета имеется в открытом доступе). VIPD-Q поделен на 4 группы вопросов в соответствии со структурами зрительного органа: глазная поверхность; внутриглазый; глазодвигательный; и зрительный нерв. Эксперты Ekker M.S., et al. (2017) предполагают, что анкета также оценивает влияние офтальмологических симптомов на повседневную деятельность [147, p-5].

Тест Поппельрейтера (зашумленные рисунки) Приложение Г.

Poppelreuter Test, чаще всего включаются в нейропсихологические батареи для выявления зрительной агнозии. Зрительный гнозис включает в себя способность больного к узнаванию предметов, людей или животных, изображенных обычным способом, схемой и в специальных усложненных

пробах (“зашумленные”, “наложенные”, “конфликтные”, химеры), а также возможность оценки и интерпретации сюжетных рисунков.

Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) Приложение Д.

Шкала составлена из 14 утверждений, обслуживающих две подшкалы:

– подшкала А – «тревога» (anxiety): нечетные пункты 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13;

– подшкала D – «депрессия» (depression): четные пункты 2, 4, 6; 8, 10, 12,

14.

Каждому утверждению соответствуют 4 варианта ответа, отражающие степень нарастания симптоматики – градации выраженности признака и кодирующиеся по нарастанию тяжести симптома от 0 баллов (отсутствие) до 4 (максимальная выраженность).

Тест с оценкой положения стрелок на часах. Приложение Е.

Проба Руппа Приложение Ж.

Больному предлагают копировать рисунок, напоминающий «соты». Скопировать эту структуру, отказавшись от непосредственного изолированного воспроизведения составляющих его элементов и сохраняя нужную систему пространственных соотношений, является задачей, трудновыполнимой для больных с нарушением сложных форм пространственного мышления.

Проба Йеркса Приложение И.

Больному предлагают схему, изображающую сложную фигуру, составленную из отдельных кубиков. Требуется подсчитать количество кубиков, входящих в ее состав. Тот факт, что не все кубики, составляющие фигуру, наглядно видны на рисунке, составляет трудность этой задачи. Обследуемому предлагается назвать число кубиков, входящих в фигуру.

Монреальская шкала когнитивной оценки – Montreal Cognitive Assessment (МОСА) Приложение К.

Шкала разработана для быстрого скрининга мягких когнитивных нарушений. По ней оценивают различные когнитивные функции: внимание и концентрацию, исполнительные функции, память, речь, оптико-пространственную деятельность, концептуальное мышление, счет и ориентировку. Обследование пациента занимает приблизительно 10 минут. Максимальное количество баллов - 30 (норма от 26).

Опросник немоторных симптомов Приложение Л.

Опросники заполняли сами пациенты, или их родственники; или врач когда пациенты не до конца понимали суть вопроса либо имели выраженные двигательные нарушения.

## **2.4 Молекулярно-генетические исследования. Анализ взаимодействия miRNA с mRNA кандидатных генов**

Второй этап работы - молекулярно генетическое исследование, который выполнялся в Научно-исследовательском институте проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби (Приложение С)

Нуклеотидные (n.) последовательности генов-кандидатов БП были загружены из NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и преобразованы в формат для программы MirTarget. Эти специфические гены-кандидаты показаны в таблице 3.

Таблица 3 – База 61 кандидатных генов ответственных за развитие БП

Ген	ID	PMID	Ген	ID	PMID
1	2	3	4	5	6
APOE	348	31505070	MANF	7873	29959908
APP	351	30745444	MAPT	4137	32961270
ASH2L	9070	32814053	MYL4	4635	29936662
ATN1	1822	24534762	PDP2	57546	29936662
ATP13A2	23400	31588715	PINK1	65018	31540955
AXIN1	8312	30537735	PLA2G6	8398	31496990
BCL2	596	30508559	PPARGC1A	10891	30236862
BOLA2	552900	28586827	PRKN	5071	31409571
CASK	8573	29852216	PSEN1	5663	29692703
CCNY	219771	26253177	PSEN2	5664	29692703
CD5	921	30871733	PSMD6	9861	29852216
CDK5R1	8851	21130530	RAB5A	5868	31138985
CRHR1	1394	28586827	RBBP5	5929	25187168
CTNNB1	1499	27692691	RTN1	6252	28623007
DIRAS1	148252	29936662	SETD1A	9739	28586827

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
DYRK1A	1859	29698690	SLC14A1	6563	28623007
EEF1A1	1915	29852216	SMOX	54498	22761592
EIF4G1	1981	30598256	SNAP25	6616	30334187
ERBB2	2064	15857400	SNCA	6622	31686421
FOXO1	2308	22761592	SRMS	6725	29936662
GAK	2580	28586827	STIP1	10963	30335591
GBA1	2629	31729779	STK32B	55351	29899728
GCH1	2643	30245141	SYMPK	8189	28586827
GRN	2896	29692703	SMOX	54498	22761592
GSK3B	2932	25829335	TH	7054	32977678
HSP90AA1	3320	30584159	TPO	7173	31891753
KANSL1	284058	32829096	VPS35	55737	32853677
LAG3	3902	31847878	VSNL1	7447	28623007
LRCH1	23143	29936662	UBL4B	164153	29936662
LRP6	4040	28341812	WNT3	7473	31504236
LRP10	26020	32409252	ZFAND4	93550	29936662

Нуклеотидные последовательности 2565 miRNA были получены из miRBase, а 3707 miRNA были получены из работы Londin et al. (2015) [263, p-1108]. В работе использованы ортологичные гены следующих объектов: *Bos taurus* (bta), *Bubalus bubalis* (bbu), *Callithrix jacchus* (cja), *Capra hircus* (chi), *Delphinapterus leucas* (dle), *Felis catus* (fca), *Gorilla gorilla* (ggo), *Homo sapiens*



(hsa), *Macaca fascicularis* (mfa.), *Macaca mulatta* (mml), *Macaca nemestrina* (mne), *Mus musculus* (mmu), *Nomascus leucogenys* (nle), *Odobenus rosmarus divergens* (ord), *Orcinus orca* (oor), *Ovis aries* (oar), *Pongo abelii* (pab), *Papio anubis* (pan), *Pan paniscus* (ppa), *Panthera pardus* (ppr), *Pan troglodytes* (ptr), *Saimiri boliviensis* (sbo), *Sus scrofa* (ssc) [263].

Сайты связывания (СС) miRNA в 5'-нетранслируемой области (5'UTR), кодирующей последовательности (CDS) и 3'-нетранслируемой области (3'UTR) кандидатных генов были предсказаны с помощью программы MirTarget [258, p-53]. Эта программа определяет следующие характеристики связывания miRNA с mRNA: начало инициации связывания miRNA с mRNA; локализацию miRNA СС в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA; свободную энергию взаимодействия между miRNA и mRNA ( $\Delta G$ , кДж/моль); и схемы нуклеотидных взаимодействий между miRNA и mRNA. Для каждого сайта определяли отношение  $\Delta G/\Delta G_m$  (%), где  $\Delta G_m$  равно свободной энергии связывания miRNA с ее полностью комплементарной нуклеотидной последовательностью. СС miRNA, расположенные в mRNA, имели отношение  $\Delta G/\Delta G_m$  90% и более. Отношения  $\Delta G/\Delta G_m$  определялись исходя из предположения, что члены одного семейства miRNA обычно различаются не более чем на один – три нуклеотида, и наряду с длиной miRNA 22 нт величина  $\Delta G/\Delta G_m$  определялась равной 90% (20 нт/22 нт = 90%) - 96% (21 нт./22 нт = 96%). При большей разнице в количестве несовпадающих нуклеотидов вероятность связывания двух или более miRNA с одним сайтом возрастает, несмотря на естественную способность miRNA избирательно взаимодействовать с mRNA целевого гена.

Программа MirTarget идентифицирует позиции СС на mRNA, начиная с первого нуклеотида 5'UTR mRNA. Программа MirTarget идентифицирует водородные связи между аденином (А) и урацилом (U), гуанином (G) и цитозином (С), G и U, А и С. Расстояние между А и С составляло 1,04 нанометра; расстояние между G и С и между А и U составляло 1,03 нанометра; а расстояние между G и U составляло 1,02 нанометра [271]. Числа водородных связей в взаимодействиях G-С, А-U, G-U и А-С составляли 3, 2, 1 и 1 соответственно [264,268,269,270,272].

Программа MirTarget определяет одиночные miRNA СС в mRNA и СС miRNA в кластерах (сайтах связывания расположенных последовательно с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями одной и той же или нескольких miRNA).

В этом исследовании мы предполагаем, что СС miRNA в mRNA были организованы в кластеры, которые можно использовать в качестве эффективных маркеров БП.

## 2.5 Статистические методы

Для всех результатов рассчитаны 95% доверительные интервалы, средние значения, стандартные отклонения и частотные распределения.

Непараметрические переменные (возраст, продолжительность заболевания, терапевтические вмешательства, общий балл количественных

оценочных шкал) выражены как медиана, межквартильный размах, минимум и максимум. Для сравнения групп использовали t-критерий Стьюдента для параметрических непрерывных переменных и U-критерий Манна-Уитни для непараметрических непрерывных переменных. Использовали сравнительный анализ дисперсий в исследуемых группах, в большинстве случаев совокупности подчинялись нормальному закону распределения.

Для описания количественных данных использовался показатель среднего значения (M)  $\pm$  стандартное отклонение (SD), а также медиана (Me) и нижний, верхний квартили (LQ; UQ); номинальные показатели описывались абсолютными и относительными частотами (%). Категориальные переменные в некоторых диаграммах были представлены в процентах и сравнивались с использованием точного критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера, где это уместно. Непрерывные переменные были представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение и по сравнению с использованием Student t тест. Сравнение количественных данных производилось с использованием непараметрического критерия Манни-Уитни для независимых совокупностей и критерий Фрэнка Вилкоксона для зависимых групп, при  $p < 0,05$  нулевая гипотеза об отсутствии различий групп отклонялась. Достоверность различий номинальных показателей выполнялось с помощью теста  $X^2$  Пирсона и точного критерия Фишера. Для сравнения нескольких независимых групп использовали непараметрический однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, а для нескольких, зависимых анализ Фридмана-Кендала.

Для определения линейных связей в парах показателей проводился корреляционный анализ. Анализ корреляций в парах выполнялся с помощью критерия Спирмена, при  $p < 0,05$  нулевая гипотеза об отсутствии связи между показателями отклонялась.

Категориальные данные были представлены в процентах, а сравнение между группами проводилось с помощью критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. Числовые данные были представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение или медиана (межквартильный диапазон), а сравнения проводились с помощью t-критерия с 2 выборками.

При этом для всех типов данных, значения P-value меньше чем 0.05, было обозначено как статистически значимое.

Обработка данных проводилась с помощью пакета анализа данных табличного процессора «Excel 2016» Microsoft® Office, «IBMSPSS Statistics version 23» для Windows.

## **2.6 Соответствие этическим требованиям клинического исследования**

Данное диссертационное исследование «Клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан (на примере города Алматы)» было одобрено локальной этической комиссией (ЛЭК), в соответствии с процедурами в Казахском национальном медицинском университете имени С.Д. Асфендиярова, протокол заседания №9 (73) от 26

сентября 2018 г. (Приложение М). Все пациенты принимали участие на добровольной основе и подписали информированное согласие.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1 Результаты клинического исследования и обсуждение

Как было отмечено ранее дизайн нашего исследования состоит из двух этапов: клинического и молекулярно-генетического. Первый этап исследования был обусловлен отсутствием работ в нашей стране, связанных с выявлением зрительных неоторных нарушений у больных с БП. Особенно актуальным является выявление и разработка доклинических биомаркеров БП, которая необходима для будущих нейропротективных методов лечения для групп риска, направленных на задержку или ограничение продолжающегося процесса дегенерации до появления первых клинических симптомов.

Для решения вышеизложенных задач нами проведено данное проспективное исследование, амбулаторных пациентов, наблюдаемых в различных поликлиниках одного из крупных городов Казахстана г. Алматы.

Для изучения характеристики неоторных зрительных нарушений у казахстанских пациентов с БП методом исключения из общего числа больных мы отобрали группу больных из 106 человек. В дальнейшем эта основная группа больных наблюдалась в течении всего времени амбулаторно. Вторая группа сравнения состояла из 54 обследуемых соответствующего возраста и пола, из базы данных поликлиник г. Алматы независимо от национальности. Таким образом, при формировании подгрупп мы учитывали все вышеуказанные показатели. Общее число обследованных с учетом группы сравнения, составило 160 человек.

Личная информация закодирована уникальными идентификаторами, которая вносилась в базу данных.

Общая характеристика пациентов с болезнью Паркинсона, которые находились на обследовании представлена в таблице 4. В этой таблице 4 представлены основные демографические и клинические характеристики, включая возраст в период исследования, возраст начала и продолжительность заболевания, клинический подтип болезни Паркинсона, тяжесть заболевания и стадия болезни.

Средний возраст на момент заболевания  $58,2 \pm 0,65$ , у мужчин  $61,3 \pm 1,5$  и женщин  $56,1 \pm 2,6$  лет (таблица 4).

Таблица 4 – Общая характеристика пациентов с болезнью Паркинсона и группы сравнения

Параметры	1-я группа (основная)		2-я группа (сравнения)	
	1	2	3	
Общее число обследованных	(n =106)	%	(n =54)	%
мужчин	42	37,7%	16	29.6%

женщин	64	62,2%	38	70,3%
Уровень образования				
высшее образование	65	61,3%	32	59,2%
средне специальное	10	9,4%	9	16,6%
среднее	17	16,0%	8	14,8%
8 и менее классов	14	13,2%	5	9,2%
Средний возраст на момент обследов.	69,7±0,4		67,5±0,6	
Средн. возраст на момент дебюта болезни	58,2±0,6			
женщин	56,1±2,6			
мужчин	61,2±1,5			
Средняя длительн. болезни	15,0±0,7			
ДИ длительность БП				
До 5 лет	32(30,1%)			
Более 5 лет	63(59,4%)			
неизвестно	11(10,%)			

Продолжение таблицы 4

1		2		3	
Форма течения					
дрожательная		25	23,5%		
акинетико-ригидная		59	55,6%		
смешанная		22	20,7%		
Стадия заболевания по Хен-Яру					
1 группа	Стадия 1	10	9,4 %		
	Стадия 1.5	3	2,8%		
	Стадия 2	25	23,6%		
	Стадия 2.5	8	7,5%		
2 группа	Стадия 3	44	41,5%		
	Стадия 4	14	13,2%		
	Стадия 5	2	1,8%		

Из 106 пациентов 62,3% (n=64) составляли женщины и 37,7%(n=42) пациенты мужского пола (соотношение ж/м 2:1), группа сравнения состояла из 54 без неврологических заболеваний, обследуемых соответствующего возраста и пола. На рисунке 3 отражено соотношение количества больных с БП по сравнению с группой сравнения, относительно здоровых. Можно заметить значительное преобладание лиц в группе больных лиц старше 70 лет в сравнении с другими возрастными группами.

Возраст пациентов основной группы составил от 40 до 90 лет, средний возраст пациентов с БП (женщин - 64, мужчин - 42) составил 69,7±0,73 в группе сравнения 67,5±0,56 (женщин - 38, мужчин - 16).

В группе сравнения было 38 женщин и 16 мужчин. В этой группе лиц от 18 до 59 лет было 21,8%. Лица старше 60 лет составили 78,1% (рисунок 3).

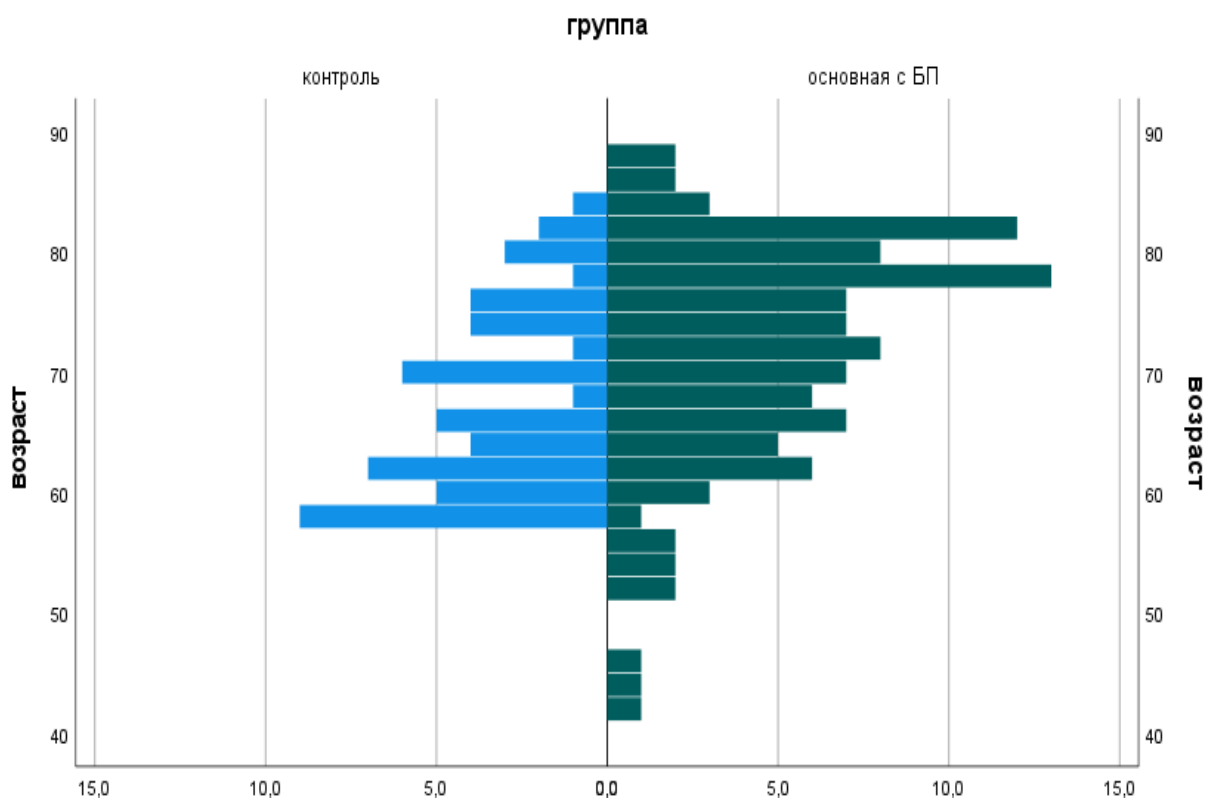


Рисунок 3 – Сравнительная характеристика пациентов основной группы и группы контроля по возрасту

Примечание – Диаграмма Парето

Пациентов основной группы в возрасте от 18 до 59 лет было 11,3%, причем женщин 41,6% мужчин 58,3%. Возрастная группа старше 60 лет составила 88,6% из них женщин 59, мужчин 35 соответственно (рисунок 4).

Продолжительность БП составила в среднем  $15,0 \pm 0,7$  лет: у женщин  $14,5 \pm 0,6$ ; у мужчин  $16,2 \pm 0,4$  достоверной разницы не выявлено ( $p > 0,05$ )

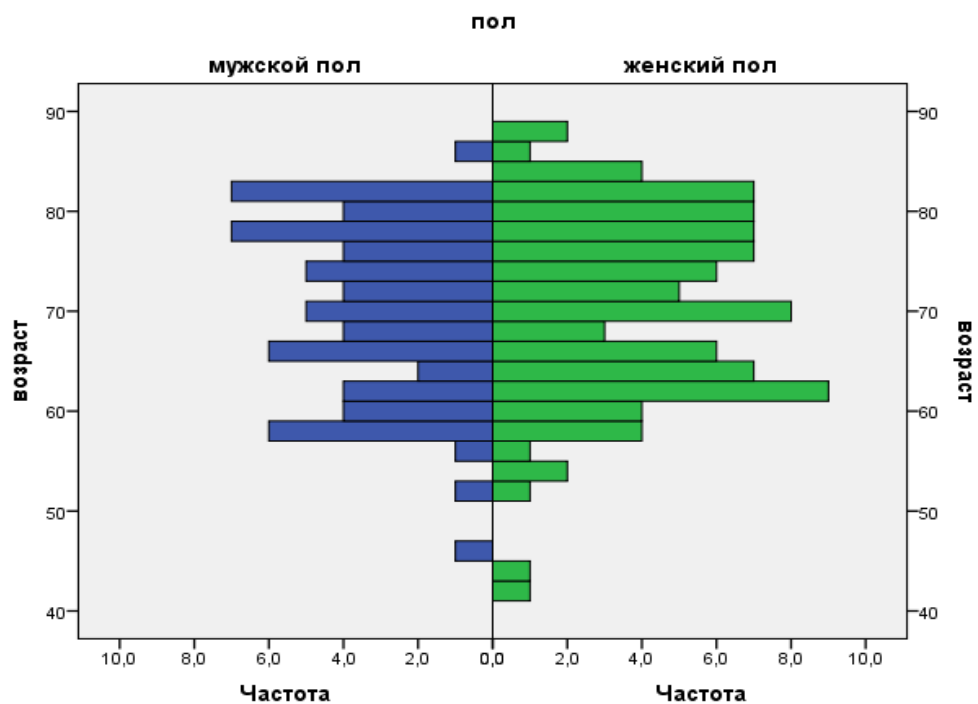


Рисунок 4 – Характеристика больных по возрасту и полу в основной группе БП

Примечание – Диаграмма Парето

Обследование и лечение осуществлялось согласно утвержденному клиническому протоколу одобренный Объединенной комиссией по качеству медицинских услуг Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «29» ноября 2016 года Протокол №16, а также стандарту организации оказания неврологической помощи в Республике Казахстан (Приказ МЗ и СР РК №809 от 19 октября 2015 года).

Никто из пациентов не получал глубокую стимуляцию мозга (DBS). Около 68,8% (73) пациентов получают препараты бесплатно по государственной программе. Наиболее часто используемые лекарственные средства: леводопа + карбидопа и леводопа + бенсеразид; агонисты дофаминовых рецепторов (АДР) – пирибедил, прамипексол и ропинирол; ингибиторы моноаминоксидазы (МАО) – разагилин и селегилин; тригексифенидил – холинолитик (ХЛ) и амантадин (таблица 5).

Таблица 5 – Лечение пациентов основной группы (n=106)

Противопаркинсонические препараты	N (абс)	(%)
Препараты, содержащие леводопу	87	82
Агонисты дофаминовых рецепторов	2	1.8
Холинолитики (антихолинэргические средства)	12	11.3
Препараты амантадина	5	4.7
Ингибиторы моноамин оксидазы типа В	-	-
Ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы	-	-

Наиболее частыми двигательными симптомами группы пациентов БП были тремор и брадикинезия. Среди всех пациентов с БП большая часть пациентов представлена акинетико-ригидной формой 55,6% (59); пациенты с дрожательной формой составили 23,2% (25); и 20,7% (22) больных были со смешанной формой (рисунок 5).

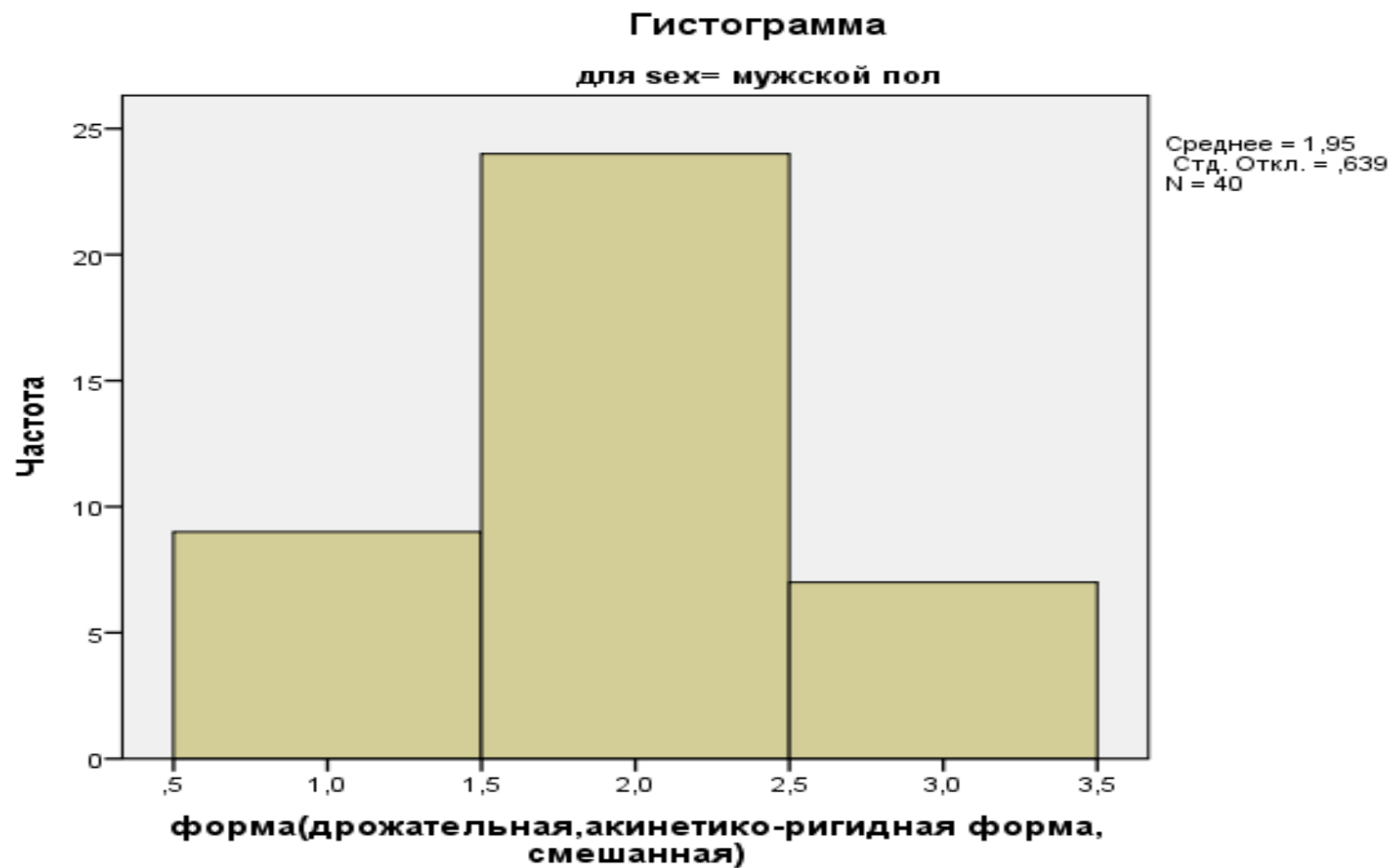


Рисунок 5 – Характеристика пациентов БП с фенотипическими вариантами течения

Примечание – Диаграмма. IBM SPSS Statistics 27,0



Ранее было указано, что некоторые авторы отмечают важность патофизиологических различий между этими моторными симптомами, хотя обе формы обычно связаны с изменениями в моторной коре и базальных ганглиях. Так по данным литературы акинетико-ригидный синдром в большей степени связывают с анатомо-функциональными изменениями моторных петель базальных ганглиев, особенно в проекциях скорлупы на бледный шар, таламуса и в конечном итоге моторной коры [27, p-1511]. Симптомы тремора Vove J, et al. (2005) обусловлены с патологическим взаимодействиями между бледным шаром и церебеллоталамическими путями [28, p-487]. Многие авторы указывают на то, что моторный акинетико-ригидный синдром коррелирует с худшим прогнозом и повышенным риском деменции по сравнению с дрожательным подтипом БП [29, p-679; 30, p-535; 31, p-265].

Как было указано выше, всех пациентов с БП, а именно их двигательную тяжесть и стадию заболевания оценивали с помощью унифицированной шкалы оценок БП (UPDRS), модифицированной шкалы Хен - Яра и Шваба-Ингланда.

Наши результаты также демонстрируют, что более тяжелые случаи встречались статистически значимо чаще ( $p < 0,001$ ) в группе с акинетико-ригидным синдромом с корреляцией возрастными характеристиками (рисунок 6).

Степень тяжести болезни у обследованных нами пациентов соответствовал по шкале Хен и Яра в основном 1-2-3-4 стадиям; в среднем  $2,75 \pm 0,14$ . Полученные результаты показывают, что среди пациентов с БП преобладают пациенты с легкими или умеренными двухсторонними симптомами 41,5% (44) (рисунок 7), уже имеющие зрительные и когнитивные нарушения они сохраняют независимость в быту, но не могут преодолевать вызванную в pull-тесте ретропульсию. Пациенты с четвертой стадией БП составили 14 человек, прогрессирование до пятой стадии было только 2 человека.

Учитывая, что пациенты имели выраженные моторные и немоторные симптомы (как было отмечено ранее, пациенты с оценкой MMSE психического состояния менее 21 баллов были исключены из исследования. Такая коррекция была проведена для того, чтобы пациенты могли самостоятельно ответить на анкеты и выполнить тестирование (согласно рекомендациям ЛЭК).

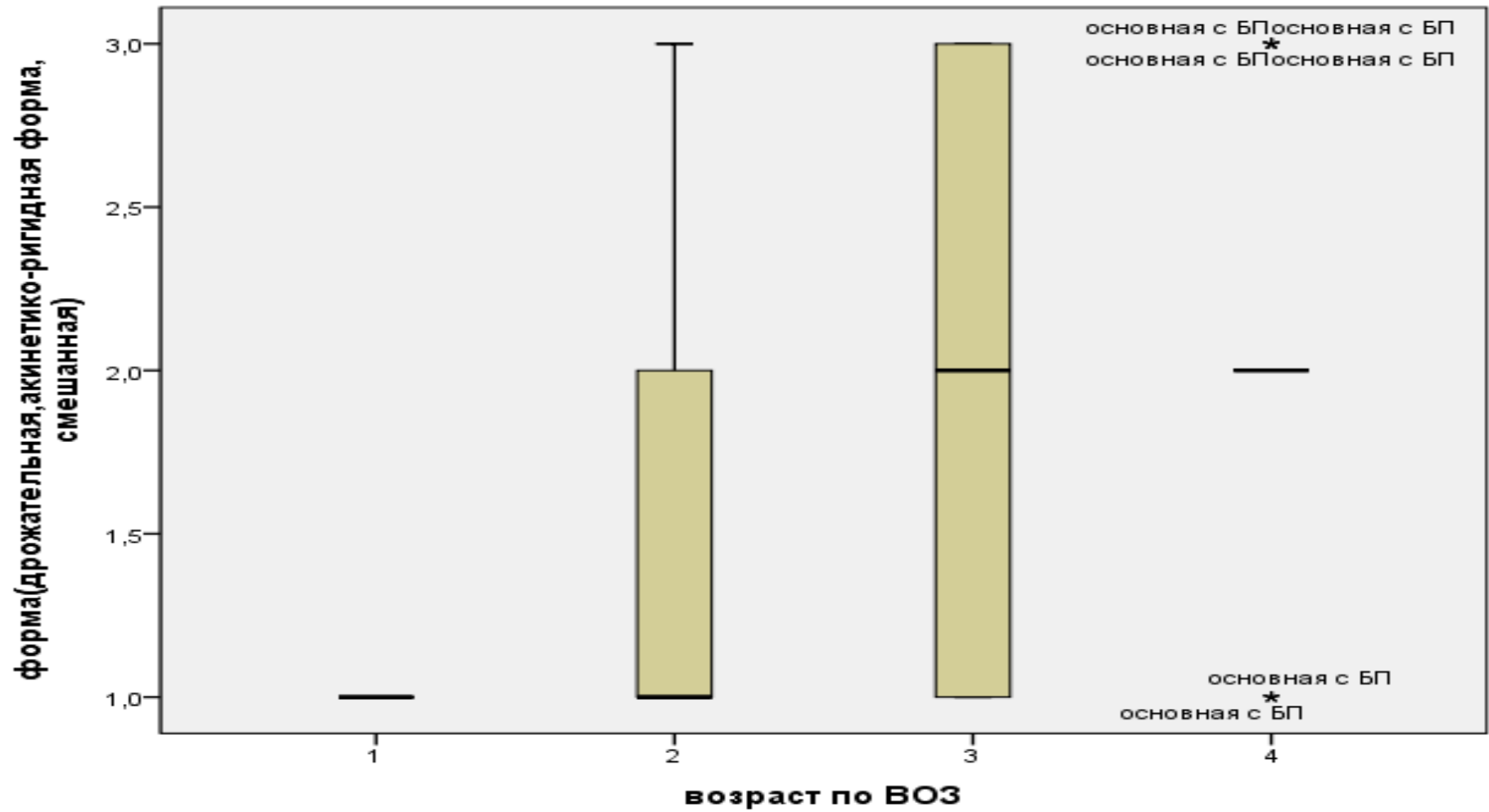
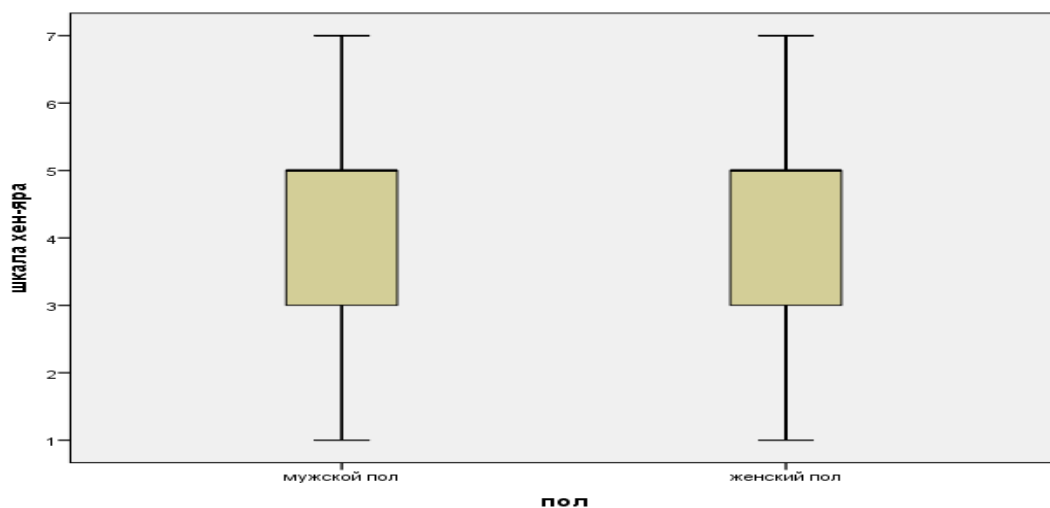
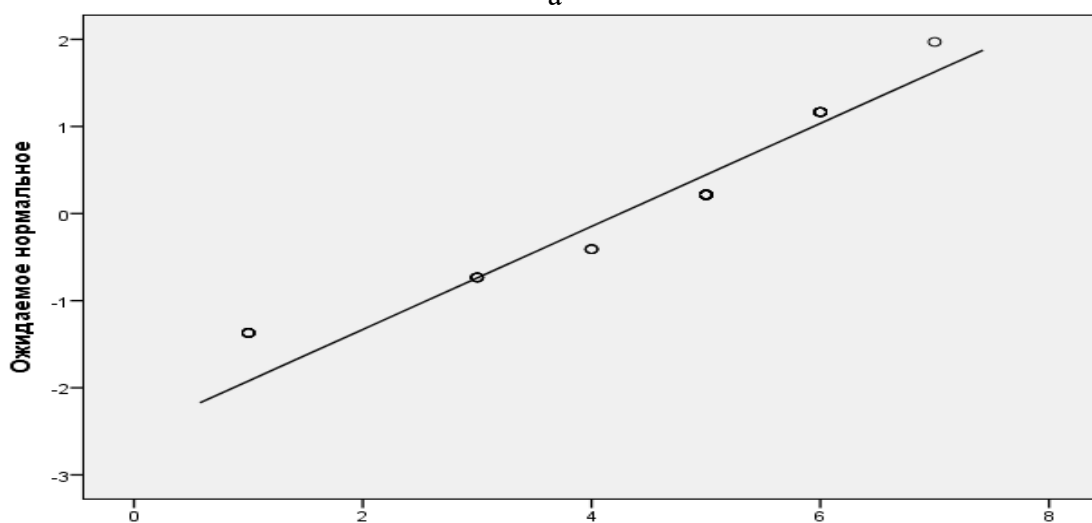


Рисунок 6 – Сравнительная характеристика пациентов с различными вариантами течения болезни по возрасту

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics 27,0

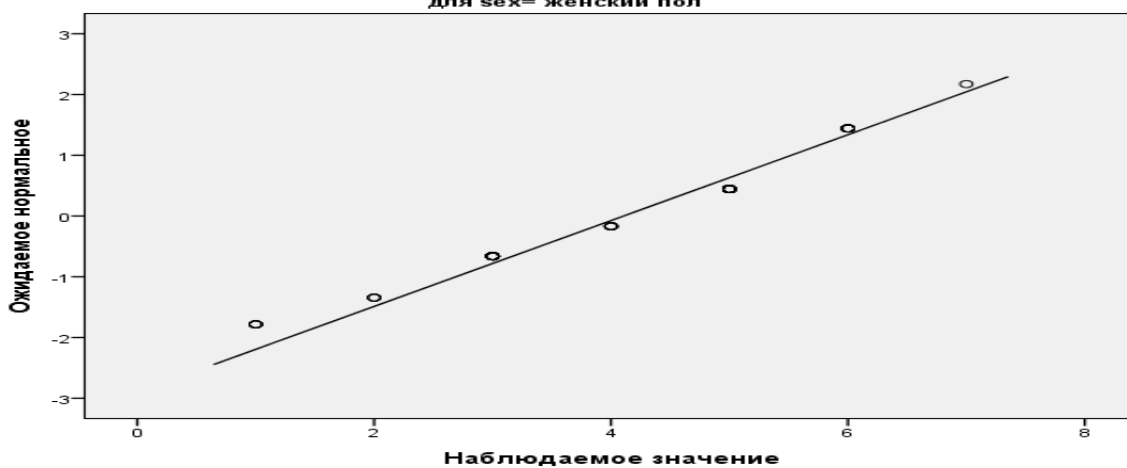


а



б

Нормальный график Q-Q шкала хен-яра  
для sex= женский пол



в

а – шкала хен-яра по полу ; б – ожидаемое нормальное; в – нормальный график шкала Хен-Яра

Рисунок 7 (а, б, в) Корреляционная связь между стадиями по шкале Ноеhn - Yahr и полом у пациентов основной группы БП

Примечание – IBM SPSS Statistics 27,0

Пациенты с двусторонними проявлениями без постуральной неустойчивости составили 23,6% (25). На третьем месте пациенты с тяжелой инвалидизацией, с наличием ряда моторных симптомов, но они могли вставать и ходить без посторонней помощи в “хорошие” дни или часы 13,2% (14) (рисунок 8).

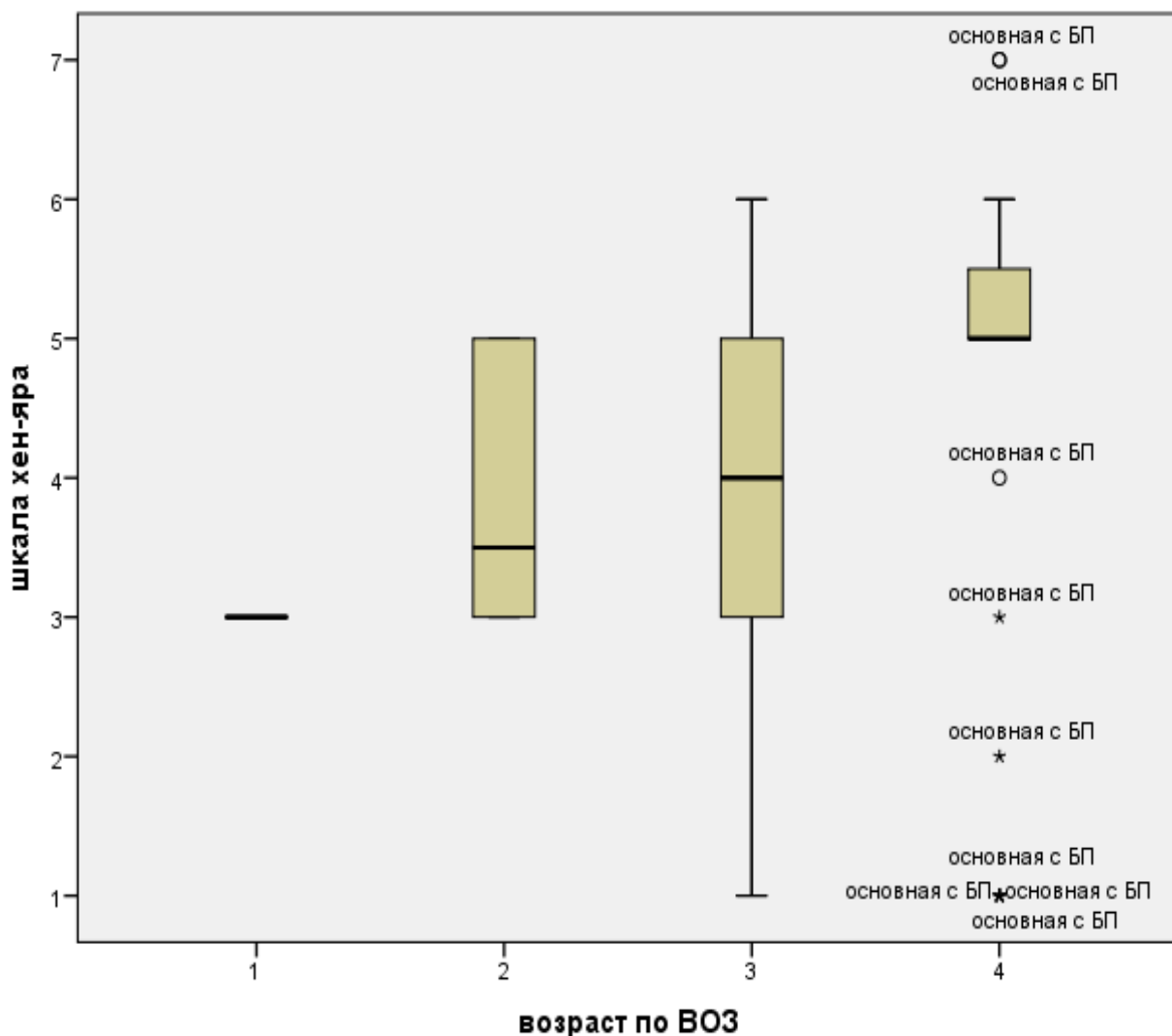


Рисунок 8 – Сравнительная характеристика пациентов БП по возрасту и стадиям по шкале Hoehn – Yahr

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics 27,0

Мы оценивали прогрессирование БП по шкале Хен и Яра, которая также применялась при опросе пациентов. Нами выявлено, что почти у 51,8% (55) пациентов наблюдалось медленное прогрессирование, которое характеризовалось сменой стадии в течение 5 и более лет (рисунок 9).

У 33,9% (36) участников исследования основной группы была отмечена умеренная скорость прогрессирования, характеризующаяся сменой стадий в

течение 2-5 лет. У 14,1% (15) пациентов произошло быстрое прогрессирование заболевания, при котором наблюдалось смена стадий в течение 2 и менее лет.

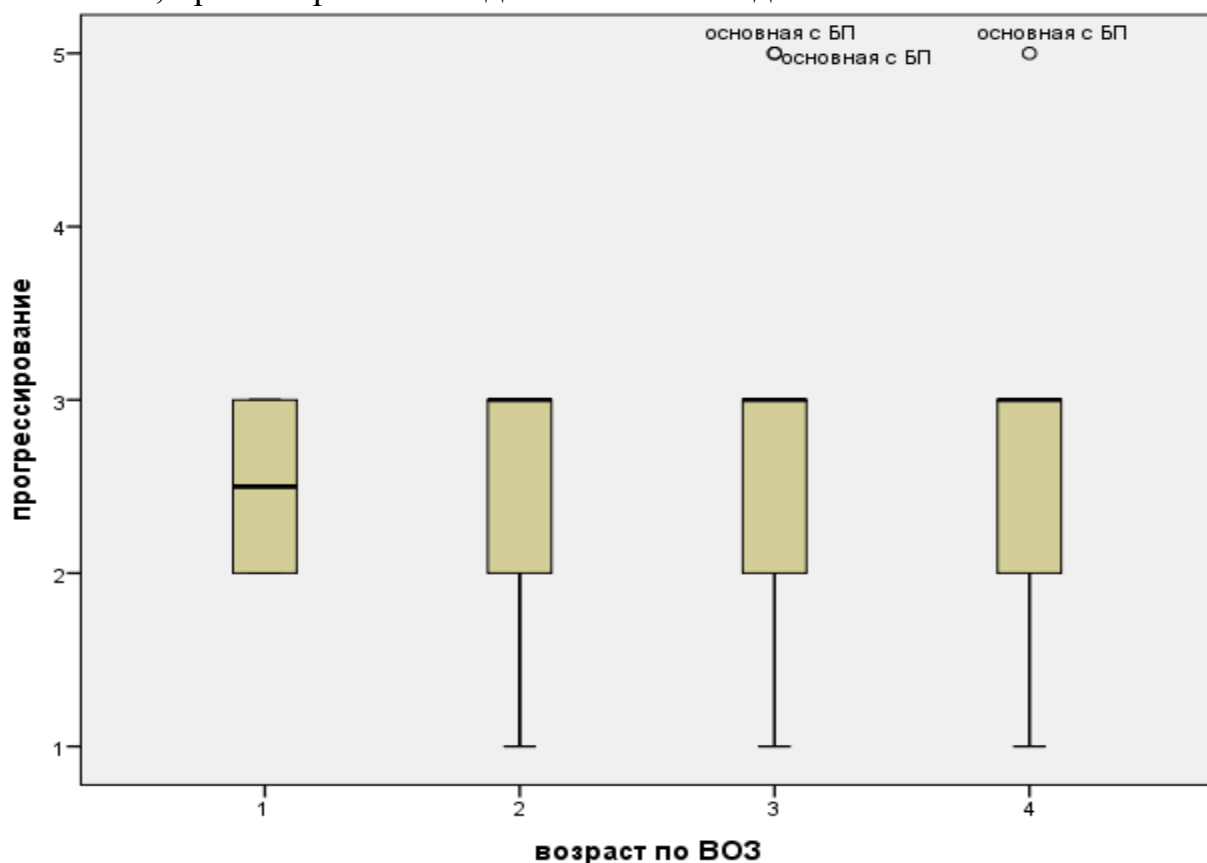


Рисунок 9 – Характеристика пациентов с БП по скорости прогрессирования заболевания

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics 27,0

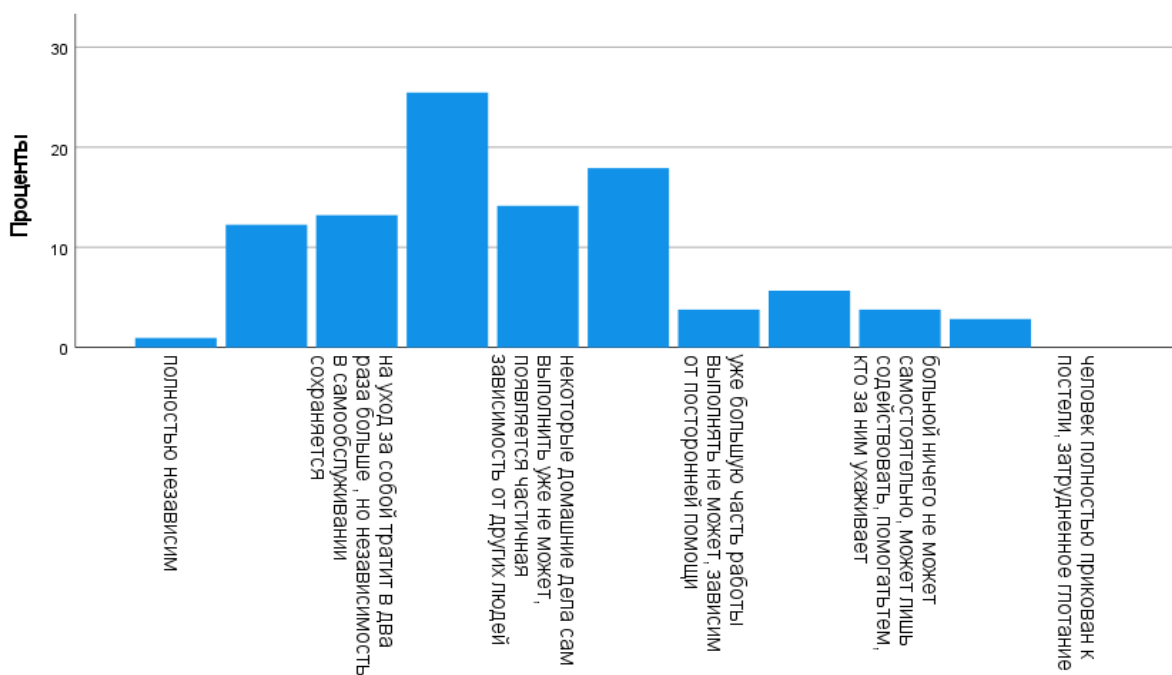


Рисунок 10 – Гистограмма пациентов с БП по шкале Шваба-Ингланда в %  
 В 35% чаще пациенты все свои повседневные обязанности выполняли в 3-4  
 раза медленнее, большую часть дня они вынуждены тратить на то, чтобы себя  
 обслужить. Около 3% пациентов полностью зависели от помощи  
 ухаживающих за ним, самостоятельно ничего делать не может (рисунок 10,11).

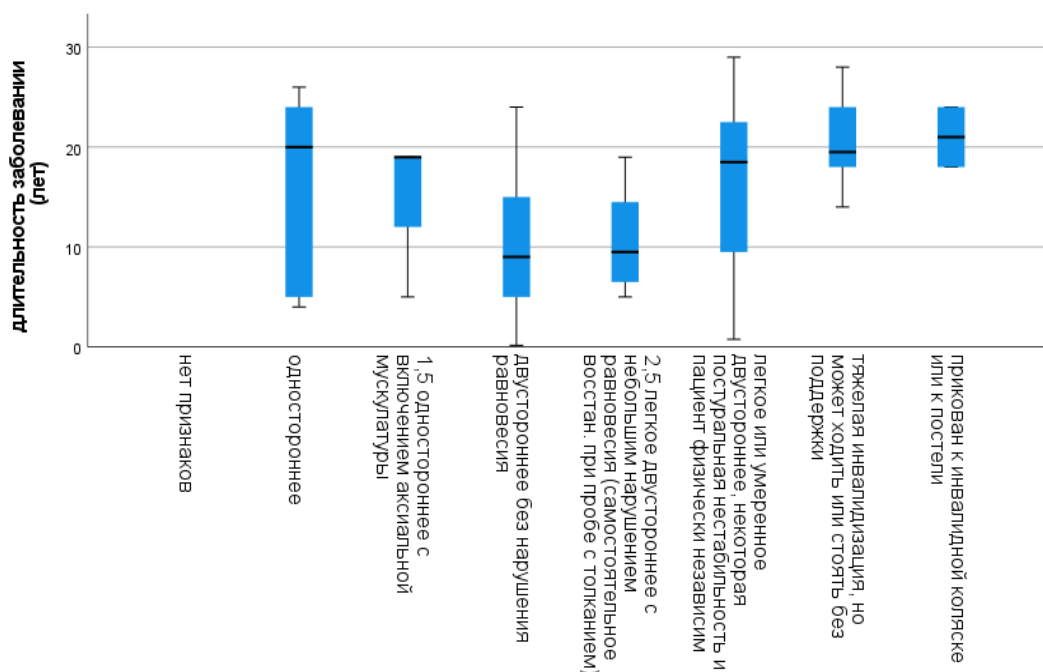


Рисунок 11 – Корреляционная характеристика пациентов основной группы с БП по длительности заболевания и активностью в повседневной жизни по Шваба-Ингланда

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics 27,0

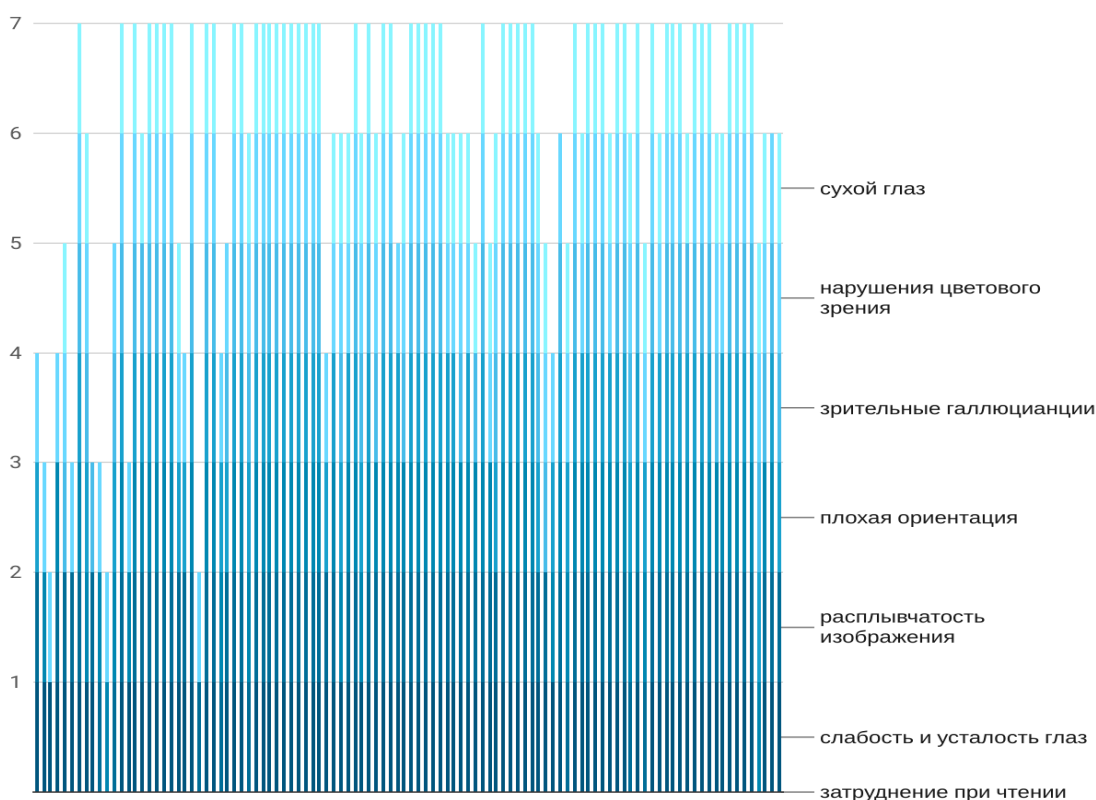


Рисунок 12 – Характеристика пациентов с накоплением зрительных нарушений в зависимости от длительности заболевания БП

Примечание – Столбчатая диаграмма IBM SPSS Statistics 27,0. Data wrapper

Многие пациенты имели несколько зрительных нарушений. На столбчатой диаграмме (рисунке 12) наглядно показано накопление немоторных зрительных нарушений в зависимости от длительности заболевания БП.

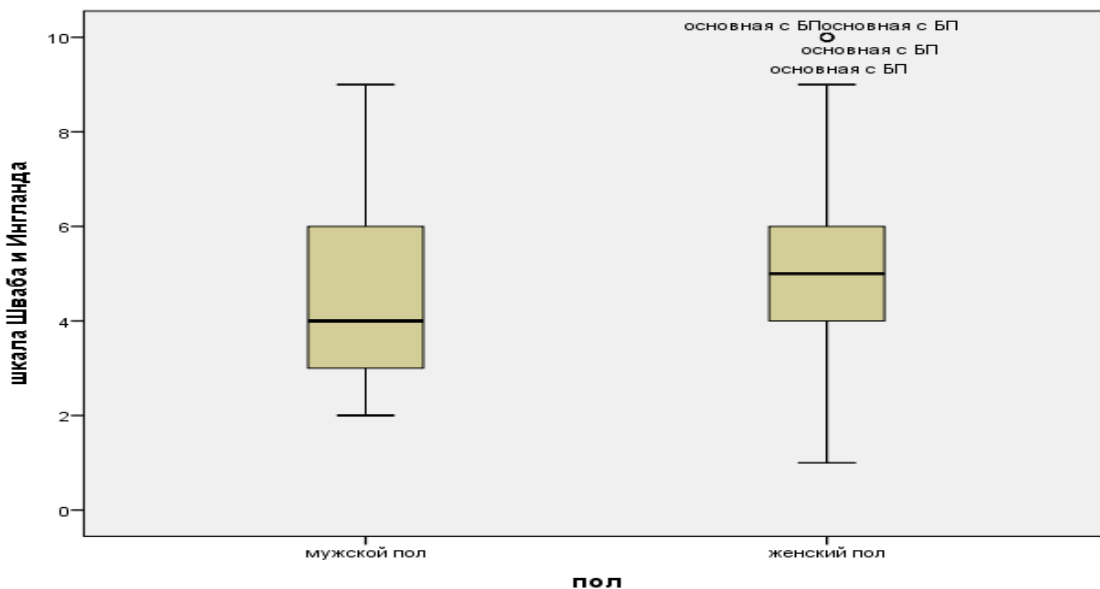
В порядке убывания первые годы частыми симптомами 79 (74,5%) больных называют: затруднение при чтении, слабость и усталость глаз, расплывчатость изображения из-за чего зачастую испытывали ухудшение качества жизни. Из них у 16 больных эти симптомы наблюдались до начала болезни.

Практически все пациенты обеспокоены зрительными дисфункциями, они отмечают учащение падений и нарастание скованности движений без визуального контроля. По данным литературы хорошее зрительное функционирование имеет решающее значение для пациентов с БП, поскольку им необходимо компенсировать потерю автоматического контроля над моторикой и нестабильность позы, заставляя пациентов направлять свои движения визуально [34, p-27.].

Осведомленность и раннее распознавание глазных и зрительных проблем при БП может позволить своевременно установить индивидуализированные методы лечения, ведущие к повышению безопасности пациентов, большей независимости и лучшему качеству жизни. Немоторные зрительные нарушения при БП могут быть обнаружены на ранней стадии [35, p-136]. Среди наших пациентов БП выявлено высокая частота 87.74% (93) встречаемости немоторных зрительных нарушений различной степени выраженности, в

сравнении с контрольной группой того же возраста 7,4% эта разница была статистически значимой ( $P < 0,001$ ).

Мы были особенно заинтересованы в изучении влияния зрительных немоторных симптомов на повседневную активность по шкале Шваба-Ингланда и полом пациентов (рисунок 13).

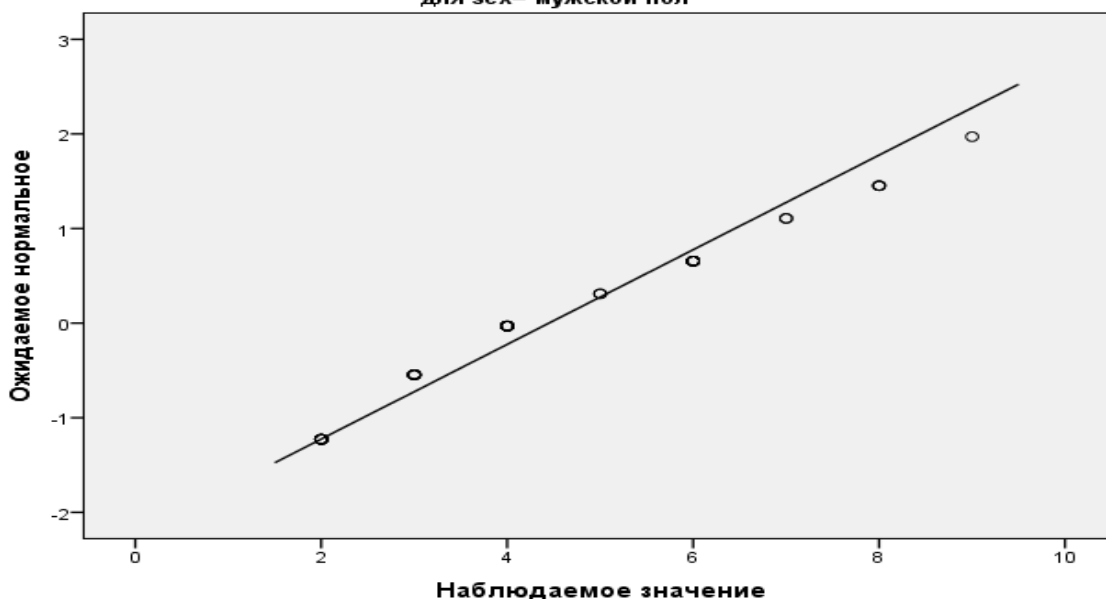


а

а – Корреляционная связь между активностью в повседневной жизни по Шваба-Ингланда у пациентов БП и ЗНС

Рисунок 13 (а, б) Корреляционная связь между активностью в повседневной жизни по Шваба-Ингланда и полом у пациентов БП и ЗНС, лист 1

Нормальный график Q-Q шкала Шваба и Ингланда для sex= мужской пол



б – Корреляционная связь между активностью в повседневной жизни по полом у пациентов БП и ЗНС



По результатам анкетирования больных и их родственников у 18,28% (17) пациентов симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП. К таким ранним симптомам относились: затруднение при чтении, слабость и усталость глаз, расплывчатость изображения из-за чего они часто вынуждены были отказаться от выполнения некоторых видов деятельности в профессиональном и бытовом плане. Плохая ориентация и зрительные галлюцинации, нарушение цветового зрения, сухость глаз в нашем исследовании относятся к более поздним симптомам. В то же время на ранних стадиях заболевания у 3 больных имелось нарушение цветового зрения, у одного из них мы предположили, как доклинический симптом. По данным литературы фактор, вызывающий сухость глаз связывают со снижением частоты моргания глаз. Кроме того, сухость глаз при БП может быть результатом снижения выработки слез, вызванного вегетативной, дисфункцией, связанной с частичной парасимпатической вегетативной, иннервация слезной железы [34, р-28]. Конечно же, у пациентов с БП могут развиваться офтальмологические заболевания, не связанные с БП, такие как катаракта или дегенерация желтого пятна. Но практически все наши пациенты отмечают, что консультация офтальмолога, проверка остроты зрения не выявила серьезных нарушений, влияющих на нее. Кроме того, пациенты с офтальмологическими заболеваниями были исключены из исследования на начальном этапе.

Такие зрительные расстройства, часто не распознаются при БП, они не расписаны и в клинических протоколах МЗ РК. Некоторые нарушения зрения при БП связаны с истощением дофамина в сетчатке, другие - со снижением дофаминергической иннервации зрительной коры. Дофамин играет важную роль в нескольких процессах, связанных со зрением, таких как адаптация к свету, глазодвигательный контроль, контрастная чувствительность, цветовое зрение, зрительно-пространственное построение и пространственная рабочая память. Недостаток дофамина может привести к ряду нарушений зрения у пациентов с БП. Зрительные нарушения могут возникать в любое время в ходе заболевания, однако если затруднение при чтении, слабость и усталость глаз, расплывчатость изображения появляются на ранних стадиях, то такие симптомы как зрительные галлюцинации, нарушение цветового зрения, в нашем исследовании относятся к более поздним симптомам.

Третья группа симптомов не имела четкой связи со стадиями заболевания, включая плохую ориентацию и сухость глаз. Одним из частых проявлений зрительных пространственных нарушений в повседневной жизни пациентов, на который они жаловались – затруднения в ориентировании среди предметов домашнего обихода и трудности при прохождении между ними.

Среди всех пациентов со зрительной дисфункцией большая часть пациентов представлена акинетико-ригидной формой 54,84% (51) в сравнении с пациентами с дрожательной формой 24,73% (23) ( $p<0,05$ ); и 20,43% (19) больными со смешанной формой ( $p<0,05$ ).

Среди факторов риска зрительных не моторных симптомов при БП когнитивные расстройства являются наиболее важным, потому что в исследовании была выявлена взаимосвязь зрительных нарушений с развитием когнитивного дефицита (рисунок14).

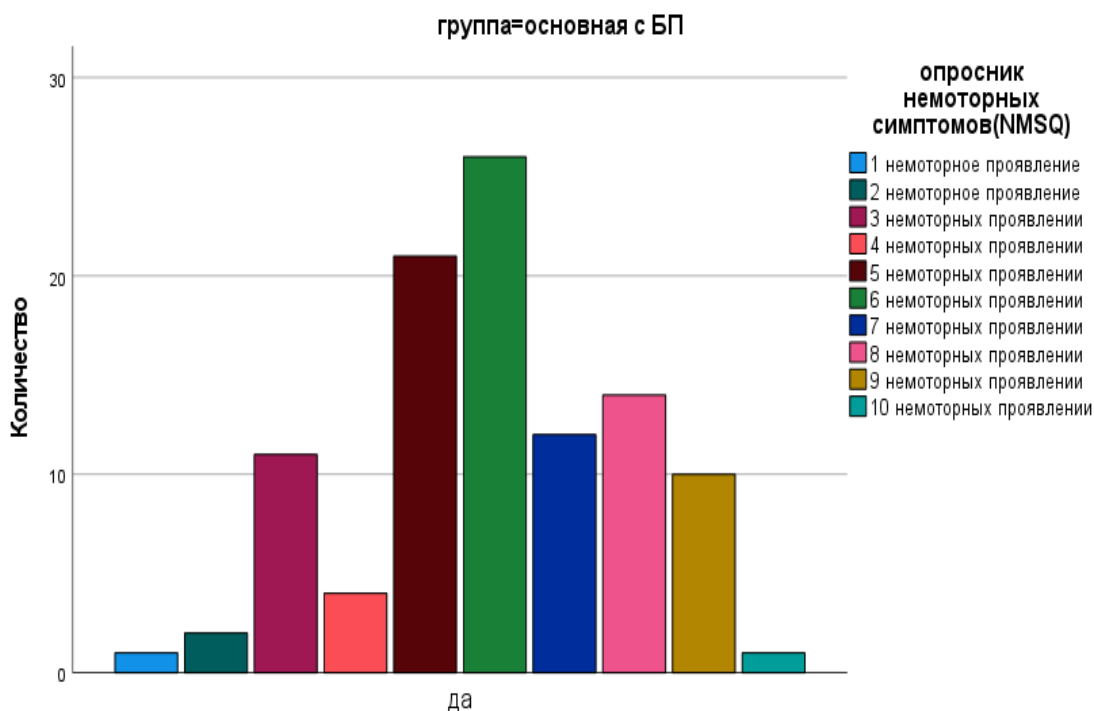


Рисунок 14 – Результаты опросника немоторных симптомов (NMSQ) в группе больных с БП и зрительными нарушениями

Примечание – IBM SPSS Statistics 27,0

Такие симптомы: как гиперсаливация, гипосмия, дисфагия, сложность сконцентрировать и удерживать внимание, проблемы со сном, тревожные и панические состояния, никтурия, запоры, гипергидроз, в основной группе встречались чаще чем в группе сравнения ( $p<0,001$ ).

Результаты анкетирования показали, что такие НМС как гипосмия, гиперсаливация, проблемы со сном, никтурия, запоры и гипергидроз на ранних стадиях болезни, а у 11,3% (12) больных предшествовали моторным проявлениям. Диагностика НМС при БП осложнялась тем фактом, что пациенты с БП часто не понимают те или иные проявления данных симптомов.

У 39,6% (42) на поздних стадиях БП в подгруппах с 2.5-4 стадиями заболевания по Хен-Яру немоторные проявления доминировали как более важные и инвалидизирующие, чем моторные колебания, представляя определенные трудности для пациентов и обслуживающего.

Следуя поставленным задачам исследования: изучить характеристики немоторных зрительных нарушений у пациентов с БП мы провели тщательное обследование пациентов.

Во втором разделе мы привели методологию клинико-нейропсихологического тестирования для выявления НМС, при этом осуществлялся тщательный учет анамнестических данных и жалоб, предъявляемых пациентами.

По результатам опроса больных и их родственников, а также с помощью проведенного анкетирования, результатов оценочных шкал и объективного осмотра мы выявили, что большинство пациентов с БП 87.7% (93 человека) имели зрительные нарушения. Наиболее часто пациентов беспокоили слабость и усталость глаз (32), симптом сухого глаза (13), расплывчатость изображений при чтении или работе с компьютером некоторое время (26), многие из них испытывали трудности при чтении (39), более трети пациентов беспокоила «плохая ориентация» в сумерках или слабом освещении, говорили, что часто сталкиваются с предметами или людьми (38), зрительные галлюцинации (19), нарушение цветового зрения, больные жалуются, что цвета кажутся бледнее, чем раньше (16).

У 67,0% (71) пациентов основной группы на одного пациента приходилось 10 и более симптомов, а менее 10 у 33,0% (35) пациентов (рисунок 14).

С помощью опросника NMSQ проведено тестирование обеих групп лиц. У большинства пациентов с БП диагностирован один или несколько НМС в течение болезни. Хотя немоторные признаки БП являются обычными, в клинической практике эти симптомы нечасто выявляются. Среди пациентов, которые участвовали в нашем исследовании НМС не распознаны даже неврологами, что привело к недостаточному лечению и ведению пациентов.

Почти у 96,2% пациентов в основной группе выявлены НМС, достоверно значимой разницей против 14,5% в группе сравнения ( $p < 0,001$ ).

Для выявления корреляции зрительных расстройств и когнитивных нарушений пациентам выполнялись нейропсихологические тесты, все эти методики обследования подробно представлены во втором разделе. Несмотря на свою клиническую важность, правильная идентификация когнитивной дисфункции все еще остается сложной задачей в условиях поликлиники. Оценка пациентов с умеренными когнитивными нарушениями обычно включает комплексную нейропсихологическую оценку, в том числе доказана полезность MoCA при БП в качестве инструмента скрининга ранних когнитивных нарушений (рисунок 15)[55, p-1123].

Как было сказано ранее в нашей работе пациенты с MMSE менее 21 баллов были исключены из исследования, по рекомендации ЛЭК.

Между тем, как показывают результаты исследований деменция при БП, может проявиться как на поздних, так и на ранних этапах заболевания. Существуют публикации, где показано, что снижение когнитивных функций при БП является незаметным длительное время и не часто мешает

повседневному функционированию. С другой стороны, многие пациенты с БП демонстрируют когнитивное замедление и проблемы с исполнительной дисфункцией на ранних стадиях. При этом когнитивная дисфункция БП может быть следствием нарушения не только основной двигательной функции цепи, но также и в ряде взаимосвязанных путей от базальных ганглиев до коры. [59, p-587; 66, p-530].

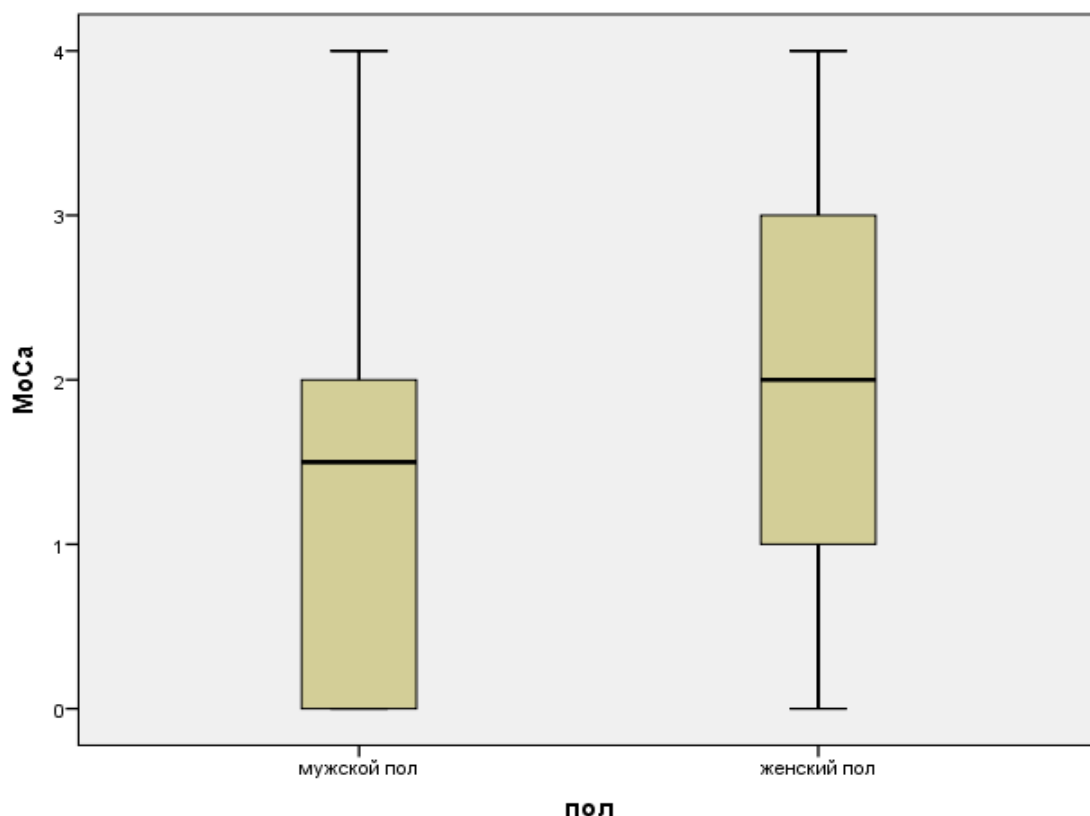


Рисунок 15 – Сравнительная характеристика распределения пациентов с БП по полу и оценочной шкале MoCa

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics version 27.0

В нашем исследовании пациенты с даже незначительными зрительными галлюцинациями имели более высокий балл MoCa, чем пациенты без них. Основными предикторами зрительных галлюцинаций были тяжелые когнитивные дефекты, более длительная продолжительность болезни.

Когнитивное снижение среди наших пациентов имели в основной группе 61,3% (65) с учетом критериев исключения пациентов с тяжелой деменцией из исследования с оценкой MMSE менее 21 баллов (Рисунок 16).

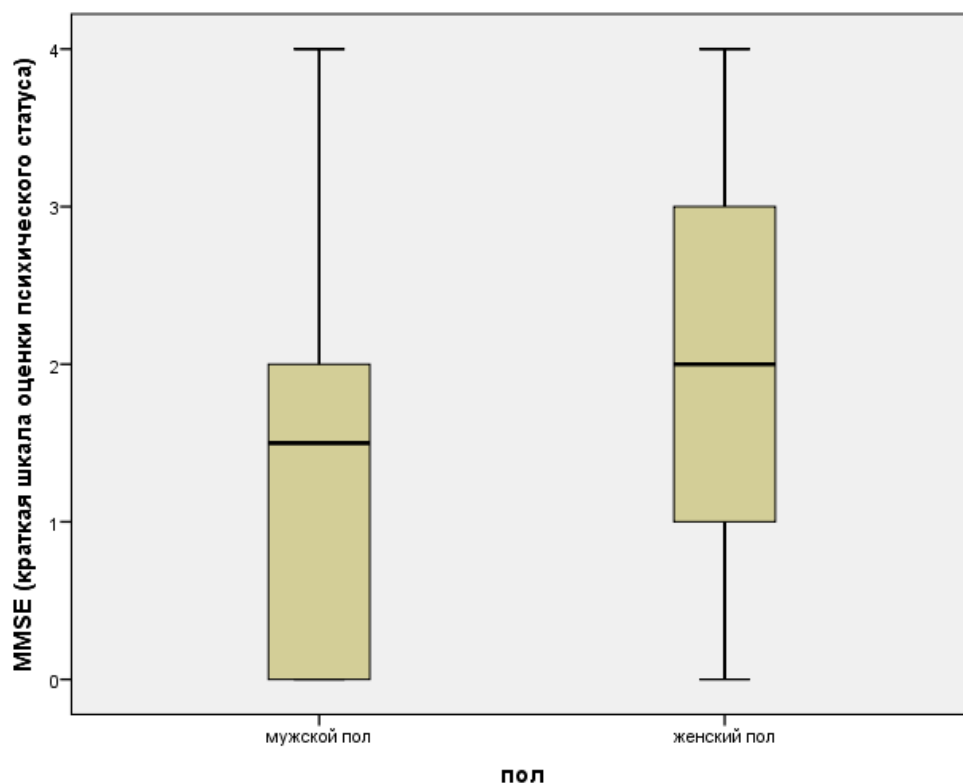


Рисунок 16 – Сравнительная характеристика пациентов с БП по полу и оценочной шкале MMSE

Примечание – Ящичная диаграмма. IBM SPSS Statistics version 27.0

Были предположения, что возможные механизмы когнитивных нарушений при БП, связаны с истощением допамина в латеральных орбитофронтальных и дорсолатеральных префронтальных структурах [265].

Кроме того, отводится роль холинергическому пути потери клеток в базальном ядре Мейнрета при БП. Нарушения допамин-ацетилхолина зависимые изменения синаптической пластичности также могут нести ответственность за деменцию при БП [127 P-977].

По данным литературы зрительные галлюцинации возникают при БП, чаще в поздней стадии. Психоз и зрительные галлюцинации являются распространенными дозозависимыми побочными эффектами противопаркинсонической терапии (ППТ), по мере прогрессирования заболевания. Факторы риска включают возраст, наличие деменции и полипрагмазии [266,267].

В нашем исследовании часто пациенты жаловались на элементарные и предметные галлюцинации, ощущения присутствия постороннего в квартире, фотопсии и пятна перед глазами. У некоторых пациентов зрительные галлюцинации беспокоили при засыпании или при пробуждении. Трое пациентов описывали галлюцинации при движении, которые развились на ранних стадиях заболевания до назначения противопаркинсонической терапии. Все эти пациенты сохраняли понимание того, что галлюцинации не настоящие.

Анализ полученных данных показал, что зрительные галлюцинации чаще сочетались с когнитивным дефицитом, и более длительной продолжительностью болезни (рисунок 17).

Наиболее сложно поддавались лечению пациенты с большой длительностью как БП, так и со зрительной галлюцинацией. Все пациенты, со зрительными галлюцинациями, так и пациенты с когнитивными нарушениями были консультированы психиатром с целью исключения острой психопатической патологии.

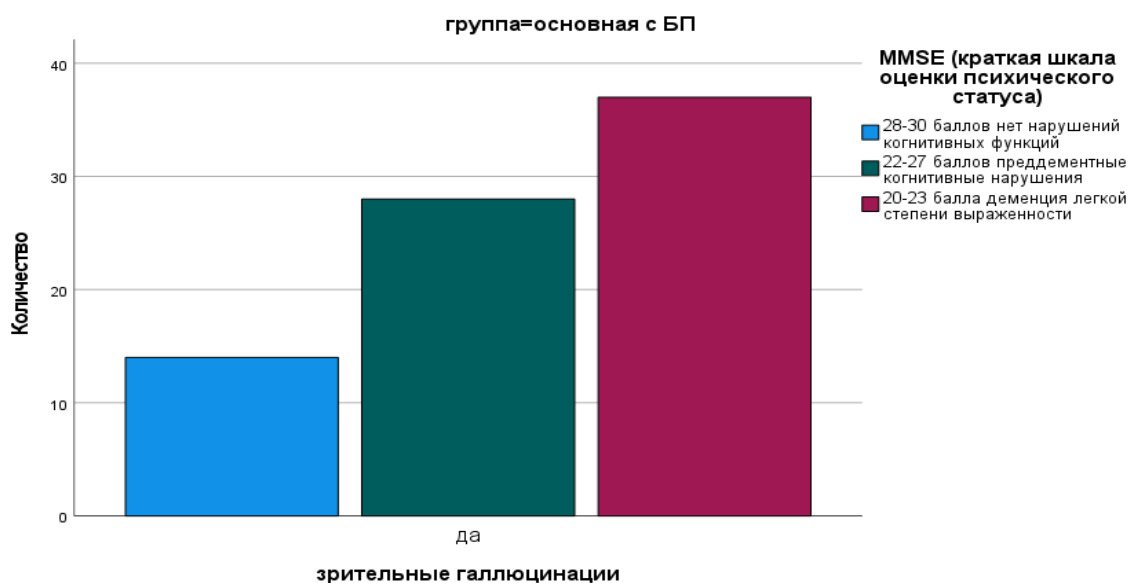


Рисунок 17 – Диаграмма сопряженности зрительных галлюцинаций у пациентов с БП согласно MMSE

Примечание – IBM SPSS Statistics version 27.0

У 84,2% (19) пациентов зрительные галлюцинации сочетались с когнитивным дефицитом. Из них только 15,7% пациентов не имели нарушений когнитивных функций. Чаще галлюцинации носили характер присутствия посторонних или прохождения, или зрительные иллюзии, в некоторых случаях наблюдались сложные зрительные галлюцинации. Нами было ранее указано, что по рекомендации ЛЭК мы исключили из исследования пациентов с тяжелыми когнитивными расстройствами. Мы можем предполагать, что общая распространенность зрительных галлюцинаций у пациентов с БП возможно выше.

Таблица 6 – Корреляция Пирсона зрительных нарушений и шкал MMSE, MoCa тест, тревоги, когнитивного теста, теста часов (n=159)

Симптомы	MMSE	MoCa	Шкала тревоги	Когнитивный тест	Тест часов
Сухой глаз	-,508**	-,508**	-,535**	-,542**	-,617**
Слабость и усталость глаз	-,397**	-,397**	-,464**	-,438**	-,543**
Расплывчатость (есть ли у вас размытое зрение, например, при чтении или работе с компьютером некоторое время?)	-,462**	-,462**	-,484**	-,508**	-,543**
Затруднение при чтении	-,452**	-,452**	-,544**	-,528**	-,528**
Плохая ориентация в сумерках или слабом освещении (Вы сталкиваетесь с предметами или людьми?)	-,476**	-,476**	-,497**	-,536**	-,557**
Зрительные галлюцинации	-,386**	-,386**	-,401**	-,421**	-,487**
Нарушение цветового зрения (цвета кажутся бледнее, чем раньше?)	-,415**	-,415**	-,544**	-,471**	-,523**
** – корреляция					

Нами был использован коэффициент корреляции Пирсона и множественный линейный регрессионный анализ. При этом выявлены различные прямые и обратные связи между параметрами зрительных нарушений и MMSE, MoCa, тревогой, когнитивным тестом, тестом часов в группе больных БП и группой сравнения. Результаты статистических расчётов отражены в (таблице 6). Мы обнаружили статистически значимую корреляцию зрительных нарушений с оценкой когнитивных функций как в MMSE, так и в MoCA, а также тестом тревоги ( $p < 0,05$ ). Обращает внимание, что симптом сухого глаза практически с высокой степенью достоверности отрицательно коррелировал со всеми параметрами MMSE и MoCa (-,508\*\*), когнитивного теста (-,542\*\*), теста часов (-,617\*\*) ( $p < 0,01$ ). Пациенты БП с симптомами «сухого глаза» (-,535\*\*), затруднением при чтении (-,544\*\*), нарушениями цветового зрения (-,544\*\*) испытывали значительно более тревожное настроение ( $p < 0,01$ ).

Степень когнитивных расстройств у больных БП варьировал от отсутствия когнитивных нарушений (28 баллов) до умеренных когнитивных нарушений (20-24 балла), MMSE и, кроме того, является одним из основных предикторов БП и риска развития деменции. Статистически значимые различия в зрительно-пространственных функциях, функциях внимания и отсроченного припоминания были очевидны между группами.

На основании наших наблюдений, при проведении корреляционного анализа выявлены достоверные различия у пациентов, принимающих дофаминергические препараты, в зависимости от возраста пациентов со зрительными дисфункциями. Выявлена слабая степень взаимосвязи в виде нарушение восприятия цвета (471\*\*), симптома сухого глаза (472\*\*) ( $p < 0,05$ ), и при выполнении MMSE (482\*\*), MoCa (469\*\*).

Средняя степень взаимосвязи выявлена у пациентов с акинетико-ригидной формой (683\*\*), со зрительными галлюцинациями (579\*\*) и нарушениями, связанными при выполнении теста Поппельрейтера (500\*\*), пробы Йеркса (566\*\*) ( $p < 0,01$ ), а также когнитивных функций, связанных с выполнением теста рисования часов (573\*\*), батареи лобных функций (569\*\*) (таблица 7).



Таблица 7 – Непараметрические корреляции возраста пациентов, зрительных дисфункций и теста FAB, теста часов (n=159)

		Группа	Форма АКР	MMSE	MoCa	(NMSQ)	Нарушение цвет зрения	Сухой глаз	Зрит. галлюцинации	Батарея ЛФ (FAB)	Тест часов	Тест Попель-рейтера	Тест Йеркса
Ро Спир-мена	группа	Коэффициент корреляции			-,236**	-,749**	-,609**	-,412**	-,535**	-,247**	-,655**	-,271**	-,342**
		Знач. (двухсторонняя)			,003	,000	,000	,000	,000	,002	,000	,001	,000
		N	106	106	159	159	159	159	159	159	159	159	159
	возраст по ВОЗ	Коэффициент корреляции	,683**	,482**	,469**	,486**	,471**	,472**	,579**	,569**	,573**	,500**	,566**
		Знач. (двухсторонняя)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
		N	106	106	159	159	159	159	159	159	159	159	159
** – корреляция													

На основании наших наблюдений, при проведении корреляционного анализа выявлены достоверные различия у пациентов, принимающих дофаминергические препараты, в зависимости от возраста пациентов со зрительными дисфункциями.

Выявлена слабая степень взаимосвязи в виде нарушение восприятия цвета (471\*\*), симптома сухого глаза (472\*\*) ( $p < 0,05$ ), и при выполнении MMSE (482\*\*), MoCa (469\*\*).

Средняя степень взаимосвязи выявлена у пациентов с акинетико-ригидной формой (683\*\*), со зрительными галлюцинациями (579\*\*) и нарушениями, связанными при выполнении теста Поппельрейтера (500\*\*), пробы Йеркса (566\*\*) ( $p < 0,01$ ), а также когнитивных функций, связанных с выполнением теста рисования часов (573\*\*), батареи лобных функций (569\*\*) (таблица 7).

Статистически значимые корреляции стадии заболевания по Хен-Яру у пациентов, принимающих дофаминергические препараты были отмечены по показателям шкале MMSE (511\*\*) ( $p < 0,01$ ). Зрительные немоторные симптомы выявлялись на любой стадии заболевания, даже до постановки диагноза, значимой корреляции с темпами прогрессирования не было выявлено. ЗНС при болезни БП имели различные темпы прогрессирования, отличающиеся от моторных симптомов самостоятельностью.

Выявлены достоверные корреляции тяжести повседневной активности по шкале Schwab and England при выполнении MMSE (590\*\*), MoCa (590\*\*) у пациентов со зрительными нарушениями, тест часов (518\*\*) теста Поппельрейтера (512\*\*), пробы Йеркса (508\*\*), опроснику NMSQ (514\*\*) ( $p < 0,01$ ) (таблица 8.)

В нашем исследовании не было значительных различий между мужчинами и женщинами в оценке зрительных немоторных расстройств и при выполнении тестов для выявления когнитивных расстройств (MMSE MoCa NMSQ пробы Йеркса, тест часов, теста Поппельрейтера).

При проведении корреляционного анализа (таблица 9) выявлены достоверные различия у пациентов по наличию других НМС, выявленных по опроснику NMSQ и течением АКР и смешанной формой (622\*\*), MMSE (514\*\*) MoCa (504\*\*), нарушение цветового зрения (668\*\*), симптом сухого глаза (504\*\*), зрительной галлюцинации (694\*\*), батарея ЛФ (FAB) (520\*\*), тест часов (787\*\*), тест Поппельрейтера (538\*\*), тест Йеркса (587\*\*) ( $p < 0,01$ ).

Статистически значимые достоверные корреляции длительности заболевания (таблица 10) (5 лет и более) наблюдались у пациентов со зрительными галлюцинациями (685\*\*), при выполнении когнитивных тестов батареи ЛФ (FAB) (627\*\*), теста часов (596\*\*), теста Поппельрейтера (541\*\*), теста Йеркса (525\*\*), MoCa (572\*\*) ( $p < 0,01$ ), кроме того, у пациентов БП определялась корреляция MMSE (379\*\*), нарушение восприятия цветового зрения (343\*\*) ( $p < 0,05$ ).

Таблица 8 – Корреляции зрительной дисфункции, тяжести БП, и шкал MMSE, MoCa теста, теста часов (n=159)

Ро Спирмена	Группа	Форма ДР АКР СМЕШ	Прогрессирование	MMSE	MoCa	NMSQ	Нарушение цвет зрения	Сухой глаз	Препараты	Зритгаллюцинации	Тест часов	Тест Попельрей-тера	Тест Йеркса
шкала хен-яра	Коэффициент корреляции	,157	-,020	,511**	,459**	,216*	,162	,254**	,101	,266**	,403**	,211*	,349**
	Знач. (двухсторонняя)	,107	,840	,000	,000	,026	,097	,009	,316	,006	,000	,030	,000
	N=106	106	106	106	106	106	106	106	101	106	106	106	106
шкала Schwab and England	Коэффициент корреляции	,379**	,082	,590**	,590**	,514**	,376**	,354**	,176	,408**	,518**	,512**	,508**
	Знач. (двухсторонняя)	,000	,403	,000	,000	,000	,000	,000	,079	,000	,000	,000	,000
	N=106	106	106	106	106	106	106	106	101	106	106	106	106

Таблица 9 – Корреляции NMSQ, зрительной дисфункции и когнитивных нарушений (n=159)

Ро Спирмена	группа	Форма АКР смеш	MMSE	MoCa	Нарушение цвет зрения	Сухой глаз	Зрит галлюцинации	Батарея ЛФ (FAB)	Тест часов	Тест Попельрейтера	Тест Йеркса
опросник немоторных симптомов (NMSQ)	Коэффициент корреляции	,622**	,514**	,504**	,668**	,504**	,694**	,520**	,787*	,538**	,587**
	Знач. (двухсторонняя)	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N=106	106	106	160	160	160	160	160	160	160	160
Препараты	Коэффициент корреляции	-,065	,176	,135	,120	,139	,076	,074	,058	,025	,033
	Знач. (двухсторонняя)	,516	,079	,180	,234	,166	,452	,463	,563	,806	,740
	N=106	101	101	101	101	101	101	101	101	101	101
	Знач. (двухсторонняя)	,000	,000	,000	,000	,000	.	,000	,000	,000	,000
	N=106	106	106	160	160	160	160	160	160	160	160

Таблица 10 – Корреляции зрительной дисфункции, длительности БП, и шкал MMSE, MoCa теста, теста часов (n=159)

Po Спирмена	Группа	Пол	Возраст по ВОЗ	Хен-Яра	Длит болезни	Форма ДР АКР СМЕШ	Прогрес сирование	Шкала Шваба Ингланда	MMSE	MoCa	NMSQ	Нарушение цвет зрения	Сухой глаз	Препараты	Зрит галлюцинации	Багаря ЛФ (FAB)	Тест часов	Тест Попельрейтера	Тест Йеркса	Длительность заболевания	N=106	Знач. (двухсторонняя)	Коэффициент корреляции
106																							
106			,285	,070	,107		,020	,165	,000	,000	,000	,000	,017	,516	,000	,000	,000	,000	,000				-,105
106																							,177
106																							,157
106																							1,000
106																							,225*
106																							,511**
106																							,379**
106																							,572**
106																							,622**
106																							,343**
106																							,231*
101																							-,065
106																							,685**
106																							,627**
106																							,596**
106																							,541**
106																							,525**

Это доказывает, что зрительные галлюцинации и в меньшей степени нарушение цветового зрения, а также выраженные когнитивные нарушения взаимосвязаны с поздним периодом заболевания.

Достоверная корреляция наблюдалась между длительностью БП и накоплением других немоторных симптомов по опроснику NMSQ (622\*\*).

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить немоторные зрительные нарушения у пациентов с БП, изучить характеристики и взаимосвязь зрительных немоторных нарушений у больных в зависимости от возраста, пола, времени дебюта, стадии и длительности заболевания, моторными нарушениями.

Среди пациентов БП выявляется высокая частота немоторных зрительных нарушений 87,7% с различными проявлениями, при этом у 18,3% из них симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП. ЗНС выявляются на любой стадии заболевания, темпы их прогрессирования, отличаются от моторных симптомов самостоятельностью. Ранние ЗНС у больных с БП характеризуются затруднениями при чтении, слабостью и усталостью глаз, расплывчатостью изображения. Проведенный анализ выявил факторы, независимо предсказывающие формирование ЗНС у пациентов с БП: акинетико-ригидная форма, тяжелые когнитивные расстройства, тревожный синдром и продолжительность болезни.

### **3.2 Результаты молекулярно-генетического исследования**

Одной из задач нашего исследования явилось выявление существования взаимосвязи между связыванием miRNA с mRNA генов мишеней при БП. Для этого были созданы базы генов-кандидатов, участвующих в развитии БП, и базы miRNA, для определения влияния miRNA на экспрессию генов-кандидатов, участвующих в развитии заболевания.

Анализ взаимодействий между miRNA и mRNA проводили с генами-кандидатами БП учитывая расположение CC miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR. Этот подход позволил нам определить, какие miRNA связываются с различными участками mRNA и как взаимодействия между miRNA и mRNA зависят от соотношения концентраций miRNA и mRNA. Например, сильное взаимодействие miRNA с mRNA незначительно ингибирует трансляцию при концентрациях miRNA, которые в десятки раз ниже концентраций mRNA. И наоборот, среднее взаимодействие miRNA с mRNA при существенно более высоких концентрациях miRNA по сравнению с mRNA приводит к значительному подавлению трансляции. Важно количественно оценить взаимодействие между miRNA и mRNA для сравнительной оценки конкуренции между miRNA при их связывании с mRNA.

### 3.2.1 Характеристики взаимодействий между miRNA и 5'UTR mRNA генов-кандидатов БП

В таблице 11 приведены данные по характеристикам взаимодействий между miRNA и mRNA генов GSK3B, PPARGC1A, ZFAND4 и CCNY, отражающие кластерную организацию CC многих miRNA. Ген GSK3B служит мишенью для 22 miRNA, что отличает его от других генов-кандидатов БП. Кластер из 22 CC miRNA располагался между третьим и тридцать девятым нуклеотидами. Общая длина 22 CC mRNA GSK3B с учетом множественных CC составила 624 нт, что в 16 раз больше длины кластера. Ген GSK3B имеет сайты связывания ID00296. 3p-miR, ID00756. 3p-miR, ID01804. 3p-miR, ID02064. 5p-miR с величиной  $\Delta G$  более -130 кДж/моль. ID01804.3p-miR, ID00457.3p-miR, ID00061.3p-miR, ID03151.3p-miR, ID02064.5p-miR, miR-3960 имеют по два сайта связывания, что значительно увеличивали влияние этих miRNA на экспрессию гена GSK3B.

Таблица 11 – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA генов-кандидатов БП

Ген	miRNA	Начало сайта, нт	$\Delta G$ , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$ , %	Длина, нт
1	2	3	4	5	6
GSK3B	ID02187.5p-miR	3	-123	89	23
	ID03229.5p-miR	4	-123	92	22
	ID01804.3p-miR	5, 12	-134	91	23
	ID00756.3p-miR	8	-123	89	23
	ID01041.5p-miR	8	-132	90	24
	ID02294.5p-miR	8	-127	87	24
	ID00457.3p-miR	8, 11	-123, -129	91, 95	22
	ID03367.5p-miR	11	-119	95	20
	ID00061.3p-miR	8,11	-125 ÷ -136	91 ÷ 98	22
	ID00296.3p-miR	9	-138	88	25
	ID01641.3p-miR	9	-127	86	24
	ID03151.3p-miR	9, 12	-115	93	20
	ID03229.5p-miR	10	-123	92	22
	ID01702.3p-miR	13	-140	93	24
	ID02064.5p-miR	10, 13	-129, -136	90, 94	23
	ID01873.3p-miR	11	-123	94	21
	miR-3960	11, 14	-115	92	20
	ID02522.3p-miR	12	-127	91	23
	ID02499.3p-miR	13	-119	92	21
	ID02429.3p-miR	14	-125	92	23
	ID01652.3p-miR	15	-125	89	23
	ID02538.3p-miR	15	-121	90	22
PPARGC1A	ID00470.5p-miR	18 ÷ 47(5)	-108 ÷ -110	89 ÷ 91	23
	miR-574-5p	20 ÷ 31(5)	-108 ÷ -113	89 ÷ 93	23
	ID02299.5p-miR	30	-98	92	21
	ID02732.3p-miR	36, 42	-121	89	23

Продолжение таблицы 11

1	2	3	4	5	6
	ID03332.3p-miR	71	-134	90	24
	ID01310.3p-miR	135÷144(4)	-121÷-123	92÷94	22
	ID03332.3p-miR	143, 146	-134 -140	90, 94	24
	ID02761.3p-miR	149	-132	89	24
ZFAND4	ID03418.3p-miR	109	-123	87	23
	ID00296.3p-miR	112	-134	85	25
	ID03206.5p-miR	114	-115	92	20
	ID01190.5p-miR	114	-136	89	24
	ID00030.3p-miR	114	-125	94	22
	ID02294.5p-miR	114	-125	86	24
	ID01574.5p-miR	116	-121	86	23
	ID01804.3p-miR	118	-125	86	23
	ID01702.3p-miR	118	-129	86	24
	ID03367.5p-miR	118	-113	90	20
	ID03073.3p-miR	128	-129	94	23
CCNY	ID01041.5p-miR	1	-136	93	24
	ID01873.3p-miR	1	-123	94	21
	ID00296.3p-miR	4	-140	89	25
	ID01702.3p-miR	4	-134	89	24
	ID01641.3p-miR	4	-132	89	24
	ID01106.5p-miR	7	-132	89	24
	ID01879.5p-miR	8	-129	95	22
	ID02229.3p-miR	9	-121	92	21
	ID02499.3p-miR	9	-123	95	21
	ID03027.3p-miR	11	-121	85	24
Примечание – В таблице 11 и других таблицах в скобках указано количество сайтов связывания miRNA					

Большая часть кандидатных генов БП не имели кластеров сайтов связывания miRNA в 5'UTR mRNA (Приложение II). Только mRNA гена содержала сайты связывания в кластере для шести miRNA. Однако, свободная энергия взаимодействия этих miRNA была менее -123 кДж/моль. Ассоциации гена CTNNA1 и ID03064.3p-miR, гена LRCH1 и ID03047.3p-miR, гена LRP10 и ID03064.3p-miR, ID01106.5p-miR, гена ZFAND4 и ID01190.5p-miR характеризовались величиной свободной энергии взаимодействия более -130 кДж/моль, что дает основание рекомендовать эти ассоциации в качестве маркеров БП.

В качестве доказательства реальности сайтов связывания miRNA с mRNA гена мишени можно использовать ортологичные гены. На рисунке 18 приведены нуклеотидные последовательности сайтов связывания нескольких miRNA входящих в кластер mRNA ортологов гена GSK3B CUUGUGCCGCGCCGCGCCGCGCCGCGCCGCGCCGCGG.



Полученные результаты показывают, что нуклеотидные последовательности кластеров уменьшаются начиная от 33 нт в hsa-mRNA гена GSK3B до 22 нт у ptr-mRNA. Следовательно, начиная с ptr-mRNA в кластере имеются участки связывания miRNA длиной 21 нт и более, которые могут связывать miRNA ортологичных генов.

Отметим, что изменения в нуклеотидном составе сайтов связывания происходят по принципу замены пуринов на пурины (A ↔ G), либо пиримидина на пиримидин (U ↔ C). При таких заменах образуются неканонические пары G-U и A-C, или образуются канонические пары G-C и A-U (рисунок 18). Кластеры сайтов связывания miRNA в mRNA всех объектов расположены между консервативными олигонуклеотидами UGCGGG и CCGAG. Все участки кластеров в ортологичных генах GSK3B включают одинаковый пентануклеотид CGGGC. Приведенные на рисунке 18 данные показывают, что не все miR человека связывающиеся с кластером могут связываться с кластером сайтов связывания у обезьян. Следовательно, эти животные не могут служить адекватными моделями для изучения болезни Паркинсона.

```

UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCGGGCCGAG hsa
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG ggo
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCGUGCCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG pab
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCGUGCCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG mml
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCGUGCCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG rbi
UGCGGGCUUGUGCUGCCGCGUGCCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG csa
UGCGGGCUUGUGUCGCCGCCGUCGCCGCCGCC---CGGGCCGAG mmu
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGUCGCCGCC-----CGGGCCGAG cpo
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGCC-----CGGGCCGAG rro
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGCC-----CGGGCCGAG ppa
UGCGGGCUUGUGCCGCCGCCGCC-----CGGGCCGAG ptr

```

Рисунок 18 – Нуклеотидные последовательности участков 5'UTR mRNA ортологичных генов GSK3B содержащих кластеры сайтов связывания miRNA

Примечание – Замены выделены желтым цветом

На рисунке 19 представлено расположение сайтов связывания miRNA входящих в кластер, которые демонстрируют конкуренцию между miRNA при связывании их в кластере mRNA гена GSK3B. Связывание любой из miRNA в кластере препятствует связыванию других miRNA.

CUUGUGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCCCGGG	cluster hsa-mRNA
CUUGUGCCGCCGCCGCCGCCG	ID02187.5p-miR
CUUGUGCCGCCGCCGCCGCCG	ID03229.5p-miR
UUGUGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01804.3p-miR
GUGCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID02294.5p-miR
GUGCCGCCGCCGCCGCCG	ID03367.5p-miR
GUGCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01041.5p-miR
UGCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID00296.3p-miR
UGCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01641.3p-miR
UGCCGCCGCCGCCGCCG	ID03151.3p-miR
UGCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID00756.3p-miR
CCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID00061.3p-miR
CCGCCGCCGCCGCCGCCG	miR-3960
CGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01873.3p-miR
CGCCGCCGCCGCCGCCG	ID02522.3p-miR
GCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID02064.5p-miR
GCCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01702.3p-miR
GCCGCCGCCGCCGCCG	ID02499.3p-miR
CCGCCGCCGCCGCCGCCG	ID00457.3p-miR
CGCCGCCGCCGCCGCCG	ID02538.3p-miR
CGCCGCCGCCGCCGCCG	ID01652.3p-miR

Рисунок 19. Схемы расположения сайтов связывания miRNA в кластере расположенном в 5'UTR mRNA кандидатного гена hsa-GSK3B болезни Паркинсона

Эффективность связывания miRNA в кластере представлена на схемах на Рисунок 20. Благодаря образованию неканонических пар А-С и G-U структура комплекса miRNA с mRNA имеет двухцепочечную спираль без образования «пузырей», что увеличивает свободную энергию связывания нитей РНК за счет стэкинг взаимодействий [268].

mRNA гена PPARGC1A содержит два кластера CC miRNA: от 18 нт до 70 нт и от 135 нт до 172 нт (таблица 11). Оба кластера содержат CC нескольких miRNA с несколькими CC, то есть несколько их CC для одной miRNA расположены последовательно через два - три нуклеотида. Например, начало miR-574-5p и ID00470.5p-miR имеют соответственно по пять и восемь CC расположены над двумя нуклеотидами. Во втором кластере для ID01310. 3p-miR и ID03332.3p-miR соответственно имеют 4 и 5 сайтов связывания( рисунок 20). Ген PPARGC1A имеет два сайта связывания ID03332.3p-miR и один для ID02761. 3p-miR с величиной  $\Delta G$  более -130 кДж/моль. Ассоциацию гена PPARGC1A с этими miRNA можно использовать в качестве маркера для диагностики БП.

При слабой экспрессии генов весьма вероятно, что несколько miRNA могут сильно подавлять синтез соответствующих белков и оказывать решающее влияние на проявление их функции. Кроме того, наличие

множественных СС для miRNA ID00470.5p-miR, miR-574-5p и ID01310.3p-miR в mRNA определенных генов, таких как PPARGC1A, значительно увеличивает вероятность того, что их экспрессия будет подавлена.

miRNA, позиция сайта связывания miRNA	miRNA, позиция сайта связывания miRNA
ID02187.5p-miR, 4 5'-GCCG <b>CCG</b> CCGCCCGCCGCCGCG-3'         3'-CCU <b>CAU</b> UGGCGGCGGCGGCGGCG-5'	ID03229.5p-miR, 4 5'-GCUUGUGCCGCCCGCCGCCGCG-3'       3'-CUACCACGGCGGCGGCGGCGGCG-5'
ID01804.3p-miR, 5 5'- <b>UG</b> CCGCCCGCCGCCCGCCGCCG-3'      3'- <b>GCCCC</b> GGCGGCGGCGGCGGCGGCG-5'	ID02294.5p-miR, 8 5'- <b>UG</b> CCGCCCG <b>CCG</b> CCGCCCGCCGCCG-3'         3'- <b>CGCC</b> GAGGCG <b>AC</b> GGCG <b>AC</b> GGCGGCG-5'
ID00756.3p-miR, 8 5'-UGCCGCCCGCCGCCCGCCGCCG-3'           3'-CAGGCAUCAGCGGCGGCGGCGGCG-5'	ID01641.3p-miR, 9 5'- <b>UG</b> CCGCCCGCCGCCCGCCGCCGCG-3'             3'- <b>G</b> GGGUGGGGGCGGCGGCGGCGG <b>UG</b> -5'
ID00296.3p-miR, 9 5'- <b>UG</b> CCGCCCGCCGCCCGCCGCCGCC-3'             3'- <b>G</b> GGGUGGGGGCGGCGGCGGCGGCGG-5'	ID03151.3p-miR, 9 5'-UGCCGCCCGCCGCCCGCCGCCG-3'             3'- <b>AUG</b> GGGGCGGCGGCGGCGGCGGCG-5'
ID01702.3p-miR, 12 5'-CGCCGCCCGCCGCCCGCCGCCCG-3'                                 3'-GGGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGGA-5'	ID01873.3p-miR, 12 5'-CG <b>CC</b> CGCCGCCCGCCGCCCGCG-3'                                 3'-GCC <b>AG</b> GGGCGGCGGCGGCGGCGGCG-5'-5'
ID02064.5p-miR, 13 5'-GCCGCCCGCCCGCCGCCCGCCCG-3'                                 3'-CGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGGAGGC-5'	ID00457.3p-miR, 14 5'-CCGCCCGCCCGCCGCCCGCCCG-3'                                 3'-CUCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGGA-5'
ID02499.3p-miR, 14 5'-CCGCCCGCCCGCCCG <b>CCG</b> CCC-3'                                 3'-GGCGGCGGCGGCGG <b>UGCUG</b> GG-5'	ID02538.3p-miR, 15 5'-CGCCGCCCG <b>CCG</b> CCGCCCG <b>CCCG</b> -3'                                 3'-GCGGCGGCG <b>AC</b> GGCGGG <b>AG</b> GGCU-5'

Рисунок 20 – Схемы взаимодействия miRNA в 5'UTR mRNA кандидатного гена GSK3B болезни Паркинсона

Примечание – Жирным шрифтом выделены неканонические пары

В mRNA ортологичных генов обезьян имеются кластеры сайтов связывания miRNA (рисунок 21). Первый кластер длиной 53 нт высоко консервативен (рисунок 21а), а второй кластер отличается у разных видов (рисунок 21б). У первого и второго кластеров фланкирующие олигонуклеотиды с 5-конец (GCUCUGC и UUGAGAA) и 3-конец (GGCACAG и GCAUCC) консервативны.



5'UTR без перекрытия нуклеотидов. Поэтому необходимо уплотнение CC miRNA. Однако уплотнение CC приводит к конкуренции между miRNA за связывание с 30 нт областью, в которой может связываться только одна miRNA. В этом случае miRNA преимущественно связывает mRNA с наибольшей свободной энергией взаимодействия. Например, ID01041.5p-miR, ID00296.3p-miR, ID01702.3p-miR, ID01641.3p-miR и ID01106.5p-miR предпочтительно связываются с mRNA гена CCNY. Кроме того, необходимо учитывать, что концентрация каждой miRNA может отличаться в несколько десятков раз, и в результате количественные характеристики взаимодействий mRNA с различными miRNA в сочетании с их концентрациями определяют длительность комплекса miRNA с mRNA. По этой причине необходимо контролировать концентрацию всех miRNA и mRNA, что приводит к тому, что miRNA определяет первичное ингибирование трансляции. Второй кластер CC для ID02971.3p-miR, ID02128.5p-miR и ID01976.5p-miR в mRNA гена CCNY имел меньшее уплотнение в 1,4 раза. Однако в этом случае также наблюдалась конкуренция между тремя miRNA за связывание с mRNA.

Приведенные на рисунке 23 нуклеотидные последовательности кластеров сайтов связывания в mRNA ортологичных генов CCNY фланкируются консервативными олигонуклеотидами UGGCG и CCGGC.

```

UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG hsa
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG ptr
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG ggo
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG ppa
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG mml
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG mne
UGGCGAGGCCCGCCGCCGCCGCCGCGUGCUGACCCGGCGGCCG lne

```

Рисунок 23 – Нуклеотидные последовательности участков 5'UTR mRNA ортологичных генов CCNY содержащие кластеры сайтов связывания miRNA

Из 15 генов-кандидатов со значениями RPKM менее 10 каждый из одиннадцати генов имел CC miRNA в 5'UTR. Ген KANSL1 был мишенью двух miRNA, а гены CRHR1 и ERBB2 были мишенями трех miRNA. В mRNA гена LRP10 CC ID03064.3p-miR и ID01106.5p-miR образовали кластер. В мР гена LRP10 расположен кластер с 406 нт по 434 нт длиной 28 нт (рисунок 24). Фланкирующие кластер пентануклеотиды GCGCC и CCGGC одинаковы у всех объектах.

```

GCGCCCCAGUGCCGAGACCCGGGGCUUCAGGAGCCG hsa
GCGCCCCAGUGCCGAGACCCGGGGCUUCGGGAGCCG ptr
GCGCCCCAGUGCCGAGACCCGGGGCUUCGGGAGCCG ppa
GCGCCCCAGUGCCGAGACCUGGGGCUUCGGGAGCCG sbo
GCGCCCCAGUGCCAGACCUGGGGCUUCGGGAGCCG cja

```

Рисунок 24 – Нуклеотидные последовательности участков 5'UTR mRNA ортологичных генов LRP10 содержащие кластеры сайтов связывания miRNA

Примечание – Замены выделены желтым цветом

В mRNA гена MANF две miRNA имели участки в кластере от 56 нт до 97 нт. Общая длина СС двух miRNA составила 69 нт, что в 1,7 раза больше длины кластера. Поэтому при организации СС в кластеры участки уплотнялись, чтобы уменьшить длину 5'UTR. Другим следствием такого уплотнения является возникновение конкуренции между miRNA за связывание с mRNA, поскольку только одна miRNA может взаимодействовать с кластером длиной 41 нт.

Ген RAB5A является мишенью шести miRNA, СС которых образуют три кластера. ID03445.3p-miR имеет два СС с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями, что повышает вероятность его взаимодействия с mRNA гена RAB5A. По сравнению с другими miRNA ассоциация ID02930.3p-miR обладает большой свободной энергией взаимодействия с mRNA гена RAB5A и может быть рекомендована в качестве маркера для диагностики БП. В 20 генах с низким уровнем экспрессии было идентифицировано 14 ассоциаций miRNA и mRNA. Шесть ассоциаций miRNA и mRNA были идентифицированы в 15 генах в 5'UTR mRNA. Четырнадцать ассоциаций между miRNA (ID00061.3p-miR, ID00296.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID01106.5p-miR, ID01190.5p-miR, ID01702.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID02064.5p-miR, ID02761.3p-miR, ID03047.3p-miR, ID03064.3p-miR (два сайта), ID03332.3p-miR) и 5'UTR mRNA генов-мишеней кандидатов на БП (ERBB2, GSK3B, LRCH1, LRP10, PPARGC1A, ZFAND4 и CCNY) имеют свободную энергию взаимодействия более -130 кДж/моль (таблица 11) и рекомендуются в качестве маркеров БП.

Из 15 генов-кандидатов семь имели по одному СС для различных miRNA (таблица 1 и Приложение П). Каждый из генов CTNNB1, MANF, MART, RTN1 и VSNL1 был мишенью для двух miRNA.

Небольшое количество СС с образованием кластеров характерно для большинства генов в дополнение к показанным в таблице 12. Только в mRNA генов CDK5R1, MART и VSNL1 были идентифицированы кластеры двух СС miRNA. Свободная энергия взаимодействий этих miRNA с mRNA генов-кандидатов БП составляла величину  $\Delta G$  ниже -130 кДж/моль. В 13 генах таких ассоциаций не было.

### 3.2.2 Характеристики взаимодействий между miRNA и CDS mRNA генов-кандидатов БП

В CDS mRNA шести генов было по одному СС, а в mRNA девяти генов - два СС. Только в mRNA генов AXIN1, CD5 и ERBB2 были обнаружены кластеры СС для двух miRNA. Ген FOXO1 был мишенью семи miRNA, СС которых были распределены по двум кластерам (таблица 12). От 655 до 695 нт существовало пять СС общей длиной 137 нт, что в 3,3 раза превышало длину этого кластера. Значение свободной энергии взаимодействий между miRNA и mRNA для трех ассоциаций miRNA и mRNA FOXO1 было выше -130 кДж/моль. В CDS mRNA 33 кандидатных генов БП не наблюдалось связывания miRNA с величиной более -130 кДж/моль (Приложение 12).

Таблица 12 – Характеристики взаимодействий между miRNA и CDS mRNA генов кандидатов БП

Ген	miRNA	Начало сайта, нт	$\Delta G$ , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$ , %	Длина, нт
APOE	ID03402.5p-miR	758	-121	95	22
	ID03398.5p-miR	881	-115	93	20
	ID03261.5p-miR	883	-115	93	20
FOXO1	ID03332.3p-miR	655, 658	-136, -140	91, 94	24
	ID02761.3p-miR	661	-132	89	24
	ID02611.3p-miR	660	-125	91	22
	ID00171.3p-miR	666	-117	93	20
	ID01804.3p-miR	672	-136	93	23
	ID01057.5p-miR	745	-123	91	23
	ID02429.3p-miR	749	-123	91	23
SETD1A	miR-6824-5p	2062	-113	90	22
	miR-1207-5p	2064	-115	93	21
	ID00850.3p-miR	2495	-117	90	22
	ID01321.5p-miR	2498	-113	91	21
	miR-762	4098	-125	92	22
	miR-6891-3p	4759	-106	93	21
	ID03324.3p-miR	4764, 4788	-115	90	22
	ID03238.3p-miR	4769	-117	90	23
	ID01545.3p-miR	4776	-113	93	21
	ID02538.3p-miR	4877	-121	90	22
	ID01641.3p-miR	4894, 4900	-132, -140	89, 94	24
	ID01323.3p-miR	4898	-123	91	22
	miR-3960	4899	-115	92	20
	ID00296.3p-miR	4900	-140	89	25
	ID01702.3p-miR	4900	-134	89	24
	ID01959.3p-miR	4905	-117	92	21
	ID00962.3p-miR	4905	-117	89	23

Нуклеотидные последовательности кластеров сайтов связывания mRNA ортологичных генов FOXO1 высоко консервативны у приматов и обезьян (рисунок 25). Высокое GC-содержание участков связывания miRNA обуславливает высокую свободную энергию связывания miRNA с mRNA гена FOXO1. Олигонуклеотиды, фланкирующие кластеры, консервативны.

Кластеры CC miRNA были идентифицированы только в mRNA APOE (таблица 12). Каждая mRNA генов ATN1 и ATR13A2 имела CC для семи miRNA. Только в mRNA гена ATR13A2 был идентифицирован кластер из двух CC для ID01157.5p-miR и ID01377.3p-miR. Таким образом, в CDS mRNA генов-кандидатов БП не было кластеров CC более чем из двух miRNA.

AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** hsa  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** ggo  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** ppa  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** ptr  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** pab  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** nle  
 AGGCCU**GGGGCGAGCGGCUGCGCGCGCGGATGGAG** rro

Рисунок 25 – Нуклеотидные последовательности участков CDS mRNA ортологичных генов APOE содержащие сайты связывания ID01030.3p-miR и ID03261.3p-miR

Поскольку нуклеотидные последовательности участков CDS mRNA ортологичных генов APOE содержащие сайты связывания ID01030.3p-miR и ID03261.3p-miR были идентичны, то кодируемые ими аминокислотные последовательности тоже были идентичны (рисунок 26). Следовательно, изучение роли гена APOE в БП на этих животных будет адекватным.

ERAQA**WGERLRARMEEMGS** hsa  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** ggo  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** ppa  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** ptr  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** pab  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** nle  
 ERAQA**WGERLRARMEEMGS** rro

Рисунок 26 – Участки белков, кодируемых сайтами связывания ID01030.3p-miR и ID03261.3p-miR в mRNA ортологичных генов APOE некоторых млекопитающих

Примечание – Красным шрифтом обозначены аминокислотные последовательности кодируемые кластером CC в мР гена APOE

Кластер сайтов связывания пяти miRNA состоял из 41 нт (рисунок 27) Ортологичные гены FOXO1 содержали идентичные последовательности нуклеотидов у шести животных, что подтверждает их важность в регуляции экспрессии гена FOXO1 у этих животных.

CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** hsa  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** ptr  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** ggo  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** pab  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** csa  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** mml  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCCGCGGGCCGCCACCGGGG** rro  
 CUCCGU**GGCGGCGGCGGUGGCGGCGGCGGCC**-----**ACCGGGG** nle

Рисунок 27 – Нуклеотидные последовательности участков CDS mRNA ортологичных генов FOXO1 содержащие кластеры сайты связывания miRNA



Кластеры сайтов связывания miRNA в mRNA гена FOXO1 кодировали одинаковые олигопептиды AAAVAAAAAAAAA за исключением в nle-mRNAs гена FOXO1 (рисунок 28). Аминокислотные последовательности, фланкирующие олигопептиды, кодируемые кластером сайтов связывания, были полностью консервативны.

```
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG hsa
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG ptr
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG ggo
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG pab
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG csa
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG mml
DFPQAPGSVAAAVAAAAAAAAATGGLCGDFQG rro
DFPQAPGSVAAAVAAAAA---TGGLCGDFQG nle
```

Рисунок 28 – Участки белков кодируемых кластерами сайтов связывания miRNA в mRNA ортологичных генов FOXO1 некоторых приматов и обезьян

Сайты связывания miRNA в mRNA 11 ортологичных генов FOXO1 некоторых млекопитающих составляли кластеры кодирующие более длинные олигопептиды (рисунок 29). Однако фланкирующие последовательности аминокислот с N-конца и C-конца были идентичны.

```
DFQQAPGSVAAAAAAAAAAVAAAAAAAAAAATGGLCGDFQG chi
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAAATGGLCGDFQG oar
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA-TGGLCGDFQG bbu
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG ord
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG ppr
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG uah
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG fca
DFQQAPGSVAAAAAAAAA--VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG oor
DFQQAPGSVAAAAAAAAA--VAAAAAAAAAA--TGGLCGDFQG dle
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA---TGGLCGDFQG bta
DFQQAPGSVAAAAAAAAA-VAAAAAAAAAA---TGGLCGDFQG ssc
```

Рисунок 29 – Участки белков кодируемых кластерами сайтов связывания miRNA в mRNA ортологичных генов FOXO1 некоторых млекопитающих

Среди ассоциаций miRNAs и mRNA FOXO1 выделяются ID02761.3p-miR ID03332.3p-miR, ID01804.3p-miR, которые рекомендуются в качестве маркеров болезни Паркинсона, как взаимодействующие с величиной  $\Delta G$  более -130 kJ/mole (таблица 12). mRNA гена SETD1A содержала 17 CC miRNA (таблица 12). ID03324.3p-miR и ID01641.3p-miR имели по два CC в разных кластерах. Кластер CC от 4877 нт до 4928 нт был в четыре раза меньше общей длины miRNA CC, которая составляла 205 нт. Шесть ассоциаций между miRNA (ID00296.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR) генов-мишеней SETD1A имеют свободную энергию взаимодействия miRNA с CDS более -130 кДж/моль (таблица 12) и рекомендуются в качестве маркеров БП. Из 34 генов только два

гена с кластерами СС имели шесть ассоциаций со значением  $\Delta G$  выше -130 кДж/моль(рисунок 30,31,32,33) .

```
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCACGCGCCUACG hsa
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG ggo
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG ppa
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG ptr
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG pab
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG nle
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG rro
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG mml
GCCGCCCUCCGCCCCACCCCGCCGCCACCGCCCGCGCCUACG mfa
```

Рисунок 30 – Нуклеотидные последовательности участков CDS mRNA ортологичных генов SETD1A содержащие кластеры сайтов связывания miRNA

```
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS hsa
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS ggo
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS ppa
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS ptr
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS pab
HARRRRPPPPPPPPPRAYEPRS nle
HARRRRPPPPPPRPPRAYEPRS rro
HARRRRPPPPPPRPPRAYEPRS mml
HARRRRPPPPPPRPPRAYEPRS mfa
```

Рисунок 31 – Участки белков кодируемых кластерами сайтов связывания miRNA в mRNA ортологичных генов SETD1A некоторых млекопитающих

```
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU hsa
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU ptr
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU ppa
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU ggo
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU mfa
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU mml
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU mne
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU nle
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU rro
CGACAUGGGGGCCUGGCUCUGCAGCCUGGCCACCU csa
```

Рисунок 32 – Нуклеотидные последовательности участков CDS mRNA ортологичных генов

DPFPRHGGLALQPGPPGLHP hsa  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP ptr  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP ppa  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP ggo  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP mfa  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP mml  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP mne  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP rro  
 DPFPRHGGLALQPGPPGLHP csa

Рисунок 33 – Участки белков кодируемых сайтом связывания ID01047.3p-miR в mRNA ортологичных генов ATN1 некоторых млекопитающих

### 3.2.3 Характеристики взаимодействия miRNA с 3'UTR mRNA генов-кандидатов БП

Каждая из mRNA десяти генов-кандидатов связана только с одной miRNA mRNA генов LRP10, PRKN, RBBP5 и SLC4A1 были мишенями для двух или трех miRNA, содержащих кластер CC miR-5095 и miR-619-5p, расположенных на расстоянии шести нуклеотидов друг от друга (таблица 13). mRNA гена GSK3B, в дополнение к CC miRNA в 5'UTR, содержала CC miRNA в 3'UTR, которые составляли кластер CC для miR-466, ID01030.3p-miR и ID00436.3p-miR, и вместе с ID01727.5p-miR эти miRNA могли связываться с mRNA гена PPARGC1A (таблица 13).

Таблица 13 – Характеристики взаимодействий между miRNA и 3'UTR mRNA генов-кандидатов БП

Ген	miRNA	Начало сайта, нт	$\Delta G$ , кДж/моль	$\Delta G/\Delta G_m$ , %	Длина, нт
1	2	3	4	5	6
GSK3B	ID01030.3p-miR	4705÷4719(4)	-108÷-113	89÷93	23
	miR-466	4709÷4721(6)	-104÷-106	89÷91	23
	ID00436.3p-miR	4713÷4723(3)	-104	89	23
	ID01727.5p-miR	4722	-106	91	23
LRP10	miR-5096	3237	-104	92	21
	ID02175.3p-miR	3353	-110	91	22
	miR-5585-3p	3305	-115	98	22
	miR-1285-5p	3404	-102	91	21
	miR-619-5p	3497	-110	91	22
	miR-4452	3544	-108	94	23
	miR-5095	3788	-106	91	21
	miR-619-5p	3794	-115	95	22
ID00913.5p-miR	3814	-117	92	23	
PDP2	ID00047.3p-miR	3220	-110	93	21
	miR-5096	3920	-108	96	21
	miR-619-5p	3980	-113	93	22
	miR-5585-3p	3987	-106	91	22
	miR-1285-5p	4086	-102	91	21
	ID01200.3p-miR	4511	-102	91	21





CGUUCAGGGACUGGGCUCACACCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG hsa  
 CGUUCAGAGACUGGGCUCACACCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ggo  
 CGUUCAGAGACUGGGCUCACACCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ppa  
 GCUGAGGGUGGGCUCACACCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG nle  
 GCUGAGUGGGUGGGCUCACACCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG pan

Рисунок 36 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов SLC14A1 содержащие кластеры сайты связывания miR-5095 and miR-619-5p

Кластер сайтов связывания miR-5095 и miR-619-5p в mRNA гена SLC14A1 консервативен в CC miR-619-5p (GGCUCACACCUGUAAUCCCAGC) и варьирующ в шести нуклеотидном сегменте, связывающемся с miR-5095 (рисунок 36). Фланкирующие нуклеотиды с 3-конца кластера у всех объектов одинаковы (ACUUUGGG) и совпадают с фланкирующими нуклеотидами 3-конца кластера в mRNA гена PRKN, большинства объектов (рисунок 37).

GCUGGGCAGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG pan  
 GCUGGGCGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ptr  
 GCUGGGCAGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG mne  
 GCUGGGCGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG mfa  
 GCUGGGCGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ppa  
 GGUGGGCGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ggo  
 GCUGGGCGUGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUCCUG hsa  
 GCUGGGCGUGGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUCCUG mml

Рисунок 37 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов PRKN содержащие кластеры сайты связывания miR-5095 and miR-619-5p

В mRNA гена человека и макаки имеется замена пяти нуклеотидов UCAUG на AGGCA в участке связывания miR-619-5p, которая приводит к существенному снижению свободной энергии взаимодействия miR-619-5p с mRNA генов hsa-PRKN и mml-PRKN(рисунок 37).

Диаграммы нуклеотидных взаимодействий miRNA и mRNA являются наглядной иллюстрацией эффективности программы MirTarget в установлении miRNA BSs в mRNA генов-кандидатов PD. Эти схемы демонстрируют важную роль неканонических пар U и G, A и C в поддержании двухцепочечной структуры комплекса miRNA-mRNA при сохранении стэкинг взаимодействия между нуклеотидами miRNA и mRNA, что придает их комплексу повышенную стабильность (рисунок 38).

Gene; miRNA; start of binding site, nt; the miRNA region; the free energy, $\Delta G$ , kJ/mole; the $\Delta G/\Delta G_m$ , %; length of miRNA, nt.	Gene; miRNA; start of binding site, nt; the miRNA region; the free energy, $\Delta G$ , kJ/mole; the $\Delta G/\Delta G_m$ , %; length of miRNA, nt.
<i>PLA2G6</i> ,ID02217.5p-miR,107,5'UTR,-134,100,23 5'-CCGACUCCCAAGUCUCCGCCGG-3'       3'-GGCCUGAGGGUUCAGAGGCCGCC-5'	<i>PPARGC1A</i> ,ID00436.3p-miR,3325,3'UTR,-106,91,23 5'-GUGUGUGCAUGUAUGUGUGUG-3'       3'-CACACACGCAUUAUACACACAU-5'
<i>PPARGC1A</i> ,ID00436.3p-miR,3339,3'UTR,-108,93,23 5'-GUGUGUGUGUAUGUAUGUGUGUG-3'       3'-CACACACGCAUUAUACACACAU-5'	<i>PPARGC1A</i> ,ID00470.5p-miR,29,5'UTR,-110,91,23 5'-ACACACACGCACACGCACACACA-3'       3'-UGUGUGUGCGUAUGUGUCAUGU-5'
<i>PPARGC1A</i> ,ID00470.5p-miR,35,5'UTR,-110,91,23 5'-ACGCACACGCACACACACGCGCG-3'       3'-UGUGUGUGCGUAUGUGUCAUGU-5'	<i>PPARGC1A</i> ,ID03332.3p-miR,143,5'UTR,-134,90,24 5'-GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGC-3'       3'-CCGCCUCCGCCUCCGCCGCCCGCGG-5'
<i>PRKN</i> ,ID00470.5p-miR,1620,3'UTR,-108,89,23 5'-ACACACACGCGCGCGCGCACACA-3'       3'-UGUGUGUGCGUAUGUGUCAUGU-5'	<i>SRMS</i> ,ID00879.3p-miR,486,CDS,-123,89,23 5'-AGCGAGAGCAGCCUCGGGGGCUA-3'       3'-UCGCUCCCGUCGGCGCCCCCGGU-5'
<i>SRMS</i> ,ID01989.5p-miR,980,CDS,-121,88,23 5'-CCUGGGCACCCCGAGGGCCGGG-3'       3'-GGACCCGACAGUACCCCGGCC-5'	<i>ATP13A2</i> ,ID00182.5p-miR,2321,CDS,-115,89,23 5'-CCACUGUGCCCAGCCUGGAGGCA-3'       3'-UGUGACUCGGGUCAGACCCCGU-5'
<i>GRHL3</i> ,ID00920.5p-miR,666,CDS,-123,87,24 5'-GCUCCCCUCCUGCAGGCCCCAGC-3'       3'-CGAAGGGGAGGACGCCCGGGACCG-5'	<i>MANF</i> ,ID02047.5p-miR,68,5'UTR,-119,89,22 5'-CGGCAGCGGAGGAGGAGGAGGA-3'       3'-GCCGGCGCCUCCUCCUCCCU-5'

Рисунок 38 – Схемы и характеристики взаимодействия miRNA с mRNA кандидатных генов БП

Только девять генов-кандидатов были мишенями для СС miRNA, которые были расположены в 3'UTR mRNA. В 21 гене с высокой и низкой экспрессией не было обнаружено ассоциаций miRNA-miRNA со значением  $\Delta G$  более -130 кДж/моль. Однако ассоциации miRNA с множественными СС в mRNA генов-кандидатов-мишеней могут быть предложены в качестве ассоциаций для диагностики. Эти miRNA и целевой ген могут включать miR-574-5p, ID00470.5p-miR и VSNL1 (рисунок 39).

```

GCUAUU CACACACACACCCACACACACACCCACACACACACACACACACACACACACACAAAUUUU csa
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU ptr
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU hsa
GCUAUU CACACAUACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU cja
GCUAUU CAUACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU rro
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU ggo
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU pan
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU pab
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU mfa
GCUAUU CACACACCCACACACCACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU mne
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU nle
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU mml
GCUAUU CACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACACAC-----AAAUUUU ppa

```

Рисунок 39 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов VSNL1 содержащие кластеры сайты связывания miRNA

```

UUUUUGUUGUUUUUU GAGACAAGGUCUUGCUUUGUCGCCCAUGCUGGAGUGCAGUGGC AUCAUUAUUAACUCAC hsa
UUUUUGUUGUUUUUU GAAACAAGGUCUUGCUUUGUCGCCCAUGCUGGAGUGCAGUGGC AUCAUUAUUAACUCAC ggo
UUUUUGUUGUUUUUU GAGACAAGGUCUUGCUUUGUCGCCCAUGCUGGAGUGCAGUGGC AUCAUUAUUAACUCAC ppa
UUUUUGUUGUUUUUU GAGACAAGGUCUUGCUUUGUCGCCCAUGCUGGAGUGCAGUGGC AUCAUUAUUAACUCAC ptr

```

Рисунок 40 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов PDP2 содержащие кластеры сайты связывания miRNA

Из большого семейства miR-1273a,c,d,e,f,g-5p от -3p только несколько кандидатных генов были мишенью некоторых miR-1273 (таблица 3). Кластер из сайтов связывания miR-1273a, miR-1273c, miR-1273g-3p с эффективностью их связывания  $\Delta G/\Delta G_m$  более 90% выявлен в mRNA гена hsa-PDP2. Для mRNA ортологичных генов ptr-PDP2, ppa-PDP2 и ggo-PDP2 величина  $\Delta G/\Delta G_m$  равнялась 85% и более. mRNA ортологичных генов pab-PDP2, mfa-PDP2, mml-PDP2, mne-PDP2, mmu-PDP2, rno-PDP2 взаимодействовали с miR-1273a, miR-1273c, miR-1273g-3p с величиной  $\Delta G/\Delta G_m$  менее 90%, что свидетельствует о слабом взаимодействии этих miRNA и mRNA. Схемы соответствующих ассоциаций для hsa, ggo, ppa, ptr приведены на рисунке 40 и демонстрируют взаимодействие miRNA и mRNA без «пузырей». Отметим, что в кластерах сайтов связывания происходят замены пуринов на пурины и пиримидина на пиримидин, что незначительно сказывается на свободной энергии взаимодействия между miRNA и mRNA. Олигонуклеотиды до и после кластера сайтов связывания miR-1273a, miR-1273c, miR-1273g-3p были консервативны, что отражает необходимость их для сохранения положения кластера сайтов связывания этих miRNA. На основании приведенных результатов ассоциацию miR-1273a, miR-1273c, miR-1273g-3p и гена PDP2 можно предложить в качестве маркера для диагностики БП.

```

CGUUCAGGGACUGGCUCACACCUGUAUCCAGCACUUUGGG hsa
CGUUCAGAGACUGGCUCACACCUGUAUCCAGCACUUUGGG ggo
CGUUCAGAGACUGGCUCACACCUGUAUCCAGCACUUUGGG ppa
GCUGAGGGUGGUGGCUCACACCUGUAUCCAGCACUUUGGG nle
GCUGAGUGUGGUGGCUCACACCUGUAUCCAGCACUUUGGG pan

```

Рисунок 41 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов SLC14A1 содержащие кластеры сайты связывания miR-5095 and miR-619-5p



Кластер сайтов связывания miR-5095 и miR-619-5p в mRNA гена SLC14A1 консервативен (GGCUCACACCUGUAAUCCCAGC) в связывании miR-619-5p и вариабелен в шести нуклеотидном сегменте, связывающемся с miR-5095 (рисунок 41). Фланкирующие нуклеотиды с 3-конца кластера у всех объектов одинаковы (ACUUUGGG) и совпадают с фланкирующими нуклеотидами 3-конца кластера в mRNA гена PRKN, большинства объектов (рисунок 42)

```

GCUGGGCACGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG pan
GCUGGGCGCGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ptr
GCUGGGCACGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG mne
GCUGGGCGCGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG mfa
GCCGGGCGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ppa
GGUGGGCGCGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUUUGGG ggo
GCUGGGCGUGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUCCUG hsa
GCUGGGCGUGGUGGCUCAUGCCUGUAAUCCCAGCACUCCUG mml

```

Рисунок 42 – Нуклеотидные последовательности участков 3'UTR mRNA ортологичных генов PRKN содержащие кластеры сайты связывания miR-5095 and miR-619-5p

mRNA гена CCNY, в дополнение к CC 5'UTR, имела CC для шести miRNA в 3'UTR (таблица 11). miR-1273a, ID03224.5p-miR и miR-1273g-3p CC образовали кластер длиной 45 нт с общей длиной 69 нт. mRNA гена DIRAS1 имела два кластера CC miRNA, которые начинались с 929 нт и 3443 нт. Такое размещение кластеров приводило к конкуренции miRNA в каждом из кластеров за связывание с mRNA гена DIRAS1. ID00470.5p-miR и miR-574-5p имеют 12 и 13 множественных CC соответственно в mRNA гена VSNL1. Следовательно, высоко экспрессируемые гены CCNY, DIRAS1 и VSNL1 имеют кластеры CC miRNA в своих mRNA. В mRNA гена WDR82 был обнаружен кластер CC miR-5095 и miR-619-5p с разницей в шесть нуклеотидов в стартовых участках CC.

Однако при патологии концентрация miRNA может увеличиться в десятки раз, или экспрессия гена может снизиться во много раз, и тогда произойдет их значительное взаимодействие. Этот анализ следует учитывать при интерпретации экспериментальных результатов определения концентраций miRNA и mRNA генов-мишеней, составляющих ассоциацию для диагностики заболевания.

Большинство miRNA, действующих на гены-кандидаты болезни Паркинсона, являются новыми miRNA. К сожалению, у нас нет информации о том, какие из них имеют интронное происхождение. Однако значительное сходство свойств старых и новых miRNA [242, p-800; 243, p-e8049; 244, p-605054] позволяет надеяться, что выявленные в данной работе взаимосвязи между экспрессией старых miRNA и их генами-мишенями характерны и для новых miRNA.

## 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 4.1 Обсуждение результатов клинического исследования

На современном этапе определение болезни Паркинсона меняется с расширением клинической феноменологии и улучшением понимания экологических и генетических влияний, которые влияют на патогенез заболевания. Многие авторы считают, что БП не единая нозологическая форма, а совокупность самостоятельных (хотя и сходных) нейродегенеративных синдромов, причем эта гетерогенность проявляется на всех уровнях молекулярном, биологическом, морфологическом, клиническом [24, p-56]. Немаловажное значение имеют и вторичные моторные симптомы, которые включают согбенную позу, дистонию, усталость, нарушение тонкой и грубой координации движений, снижение размаха рук, неусидчивость (акатизию), судороги, слюнотечение, трудности с глотанием и жеванием, а также сексуальную дисфункцию [24, p-57]. По мере прогрессирования заболевания симптомы становятся более серьезными, что приводит к истощающим периодам снижения двигательных функций, которые также называют синдром отключения «off», что также серьезно влияет на качество жизни пациента [24, p-58].

Многочисленные исследования показывают, что НМС наблюдаются почти у каждого пациента с БП. При этом у большей части пациентов с БП выявляют более десяти НМС. Высокая частота немоторных проявлений в клинической картине позволила пересмотреть существующие представления о БП.

Определенные аспекты комплекса немоторных симптомов с БП можно улучшить с помощью доступных в настоящее время методов лечения, как дофаминергических, так и недофаминергических, но другие признаки могут быть более устойчивыми, что свидетельствует о важности исследований в отношении более эффективных лекарственных препаратов для будущего [34, p-28]. NMS распространены в ранней стадии PD и отражают мультисистемную природу расстройства. Даже на самых ранних стадиях БП НМС может отрицательно влиять на функциональное состояние пациентов и чувство благополучия.

Многие НМС имеют дофаминергическую основу, а другие нет, отражая мультисистемную природу расстройства. При прогрессировании заболевания именно эти немоторные симптомы, а не двигательные нарушения, становятся важными факторами, определяющими качество жизни пациентов [50, p-300; 51, p-310]. Немоторные симптомы часто поддаются терапии; однако многие симптомы не распознаются как пациентами, так и врачами [52, p-706].

Wolters E.Ch. (2009) в своих исследованиях отмечает, что при БП синуклеинопатическая дисфункция базальных ганглиев, связанная с дефицитом допамина *s. nigra*, считается ответственной не только за характерные моторные

признаки и симптомы (брадикинезия, гипокинезия, ригидность), но и за тонкие мотивационные и когнитивные дисфункции [62, p-7].

Huot P. et al. (2017) предполагают, что серотонин (5-НТ) играет важную роль в развитии моторных и немоторных симптомах БП, включая тремор, когнитивные способности, депрессию и психоз [63, p-975]. В ряде исследований доказана роль ацетилхолина, который играет важную роль в познавательной функции, и подавляется при некоторых неврологических заболеваниях, включая БП [63, p-976.; 64, p-388].

ЗНС могут возникнуть в любое время в течение БП или предшествовать проявлению двигательных симптомов на несколько лет. ЗНС могут появиться на ранней стадии, когда тельца Леви откладываются в дорсальном ядре шва и голубом пятне, и, таким образом, могут предшествовать двигательным симптомам. Обычно это связывают с дефицитом норадреналина и серотонина, однако эти симптомы определенно усиливаются по мере прогрессирования болезни.

Кроме того, отмечено, что наличие тельца Леви и потеря нейронов были обнаружены в базальном ядре Мейнерта ткани головного мозга у пациентов с БП с когнитивным снижением, что позволило предположить, что холинергическая система также участвует в когнитивной дисфункции, наблюдаемой при БП [67, p-167].

НМС, связанные с сенсорными и нервно-психическими проявлениями, которые в некоторых случаях могут предшествовать первым признакам моторного паркинсонизма, тесно коррелирует с прогрессированием патологии тела Леви при БП. Недостаточное распознавание и недостаточно леченных симптомов имеет важное значение, поскольку эти симптомы могут оказывать большее влияние на качество жизни пациентов с БП по сравнению с моторными проявлениями [68, p-1266].

Экстранигральные немоторные симптомы при БП также могут иметь ятрогенное происхождение, прямо или косвенно [69, p-1012]. Из-за разнообразия симптомов у пациентов с БП, распространенность НМС трудно точно определить. Они часто встречаются у пациентов с установленной болезнью, но их частота на ранней стадии БП широко не изучалась. Около 16-70% пациентов страдают психоневрологическими проблемами, включая депрессию, тревогу, апатию или психоз [68, p-1266; 69, p-1012]. Установлено, что 20-40% пациентов с БП имеют когнитивный дефицит [70, p-435; 71, p-43].

Поскольку немоторные симптомы включают в себя множество симптомов в разных аспектах, их участие связано с диффузной или множественной мозговой дисфункцией. Психоз и галлюцинации признан одним из наиболее частых и инвалидизирующих немоторных симптомов при БП с распространенностью от 20 до 70% на поздних стадиях заболевания. Возможные механизмы галлюцинации и психозов связаны с дофаминергической системой в префронтальной области [79, p-569; 80, p-284; 81, p-48]. Известно, что БП характеризуется дофаминергическим дегенеративным процессом, затрагивающим нейроны черной субстанции. Это

приводит к нарушению системы базальных ганглиев. Как дегенеративные процессы повреждают нигростриарную систему и другие области мозга не совершенно ясно [82, p-1065].

Braak H. et al. (2002) предположили, что дегенеративный процесс начинается с основания мозга [12, p-3; 83, p-200]. Это позволяет думать, что обонятельные луковицы при БП могут быть вовлечены первыми, затем нижний ствол мозга, который влияет на вегетативные функции, и сон. Впоследствии, поражение черной субстанции и других ядер в среднем мозге, проявляются типичными моторными симптомами БП. В поздних стадиях БП обычно вовлекаются лимбическая система и лобный неокортекс, в результате чего когнитивные и психиатрические симптомы могут прогрессировать. Эта гипотеза Braak H. et al. (2004) наглядно иллюстрирует эволюцию симптомов при БП, включая как дебют моторных, так и немоторных симптомов [84, p-125].

Как было указано ранее, несмотря на многочисленные исследования НМС при БП проблема зрительных нарушений недостаточно изучены.

Во многих странах, оценка НМС при БП теперь является частью стандартов надлежащей клинической практики. Но эти вопросы отсутствуют в актуальном клиническом протоколе диагностики и лечения болезни Паркинсона Министерства здравоохранения Республики Казахстан от «29» ноября 2016 года Протокол №16, одобренном Объединенной комиссией по качеству медицинских услуг.

Нет алгоритмов диагностики визуальных немоторных проявлений, зрительного и пространственного восприятия, когнитивных расстройств для возможной ранней коррекции и улучшения качества жизни пациентов с БП. Осведомленность врачей о НМС остается низкой, и БП все еще в значительной степени рассматривается только как моторный синдром.

Таким образом, выявление НМС на ранних стадиях БП представляет собой важнейшую цель, которую необходимо достичь для разработки будущих нейропротективных методов лечения для групп риска, направленных на задержку или ограничение продолжающегося процесса дегенерации.

Кроме того, необходимо отметить, что в настоящее время ведется активный поиск биомаркеров БП, способных прогнозировать развитие заболевания, определить темп прогрессирования заболевания, оценить эффективность проводимой терапии.

Частые симптомы, которые были оценены в этих исследованиях касались в основном: усталости, внимания, настроения, апатии, нарушения сна, запора, ухудшения памяти и никтурии и т.д. В то же время некоторые авторы предполагают, что фенотипическая гетерогенность, обусловленная НМС, присутствует у азиатских пациентов, по сравнению с западными популяциями БП и могут быть различия в оцененной НМС.

Результаты нашего исследования в значительной степени соответствуют ранее опубликованным исследованиям, которые ссылаются и оценивают НМС у пациентов с БП, живущих в азиатских странах с использованием утвержденных опросников и оценочных шкал.

Так, например Kim et al. [37] исследовали и оценили ЗНС у 131 южнокорейского пациента с БП по сравнению со 129 здоровыми пациентами из контрольной группы того же возраста и пола. Авторы сообщили, что все пациенты их южнокорейской когорты имели по крайней мере более одного НМС. Они выявили симптомы нарушений сна и усталости (89,3%), сексуальной дисфункции (84,7%), внимания и памяти (81,7%), которые были наиболее частыми. Однако настроение и апатия, желудочно-кишечные, мочевые и прочие симптомы также были здесь очень распространены. Самым низким показателями НМС были когнитивные расстройства и зрительные галлюцинации, составившие около – 32,1%. В этом исследовании другие зрительные дисфункции не входили в дизайн исследования.

Krishnan S. et al. (2011) оценили профили НМС в Индии с помощью NMSS. Их результаты показали, что по сравнению с соответствующей возрастной группой здоровых людей из контрольной группы практически все индийские пациенты с БП сообщили по крайней мере об одном НМС. Наиболее распространенными НМС были сон и усталость (89,7%), за которыми следовали когнитивные способности (88,5%) и прочие (80,5%). Наименее распространенными областями НМС были зрительные галлюцинации (44,8%) [284].

Заслуживает внимание работа Дынина П.С. (2016), где изучены зрительно-пространственные нарушения при болезни Паркинсона, которые встречаются до 57% на развернутых стадиях и имеют различные причины формирования и прогрессирования.

Li D.W. et al. (2015) проанализировали 1225 китайских пациентов, из которых 13,3% (n=163) имели мутацию LRRK2. При этом почти все (97,6%) сообщали по крайней мере об одной НМС. Чаще всего сообщалось о проблемах с памятью (56,1%), запорах (55,3%) и дневной сонливости (46,0%). Наименее частыми были недержание кишечника (3,3%) и бред (6,4%) [266, p-137].

В нашем исследовании среди пациентов БП выявляется высокая частота немоторных зрительных нарушений 87,7% различной степени выраженности, при этом у 18,3% из них симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП. Причем зрительные немоторные симптомы выявляются на любой стадии заболевания, темпы их прогрессирования, отличаются от моторных симптомов. Ранние ЗНС у больных с БП характеризуются затруднениями при чтении, слабостью и усталостью глаз, расплывчатостью изображения. Статистически значимые корреляции длительности заболевания (5 лет и более) наблюдались у пациентов со зрительными галлюцинациями ( $p < 0,01$ ), нарушениями цветового восприятия ( $p < 0,05$ ), активностью по шкале Шваба Ингланда. Обнаруженные зрительные не моторные симптомы преобладают у больных с акинетико-ригидной формой заболевания БП.

Несмотря на то, что в нашем исследовании мы исключили пациентов с тяжелой деменцией (согласно требованиям ЛЭК), когнитивное снижение в основной группе пациентов имели 61,3%. Кроме того, необходимо отметить,

что чаще всего НС в том числе ЗНС являются важным компонентом акинетико-ригидной формы БП.

При планировании терапевтических стратегий при болезни Паркинсона в клинической практике врачи должны сосредотачиваются не только на двигательные симптомы, а также на немоторные симптомы, которые часто не распознаются и недооцениваются.

Специальные мероприятия, для улучшения зрительных немоторных нарушений приведут к повышению безопасности пациента, его большей самостоятельности, улучшению качества жизни и качества медицинской помощи.

Несмотря на то, что результаты нашего исследования не выявило этнических различий, но данная работа является первой, в которой проводилась оценка

НМС у БП, они все же дают представление о влиянии на немоторное бремя региональной принадлежности и других факторов, которые различаются в зависимости от географического местоположения.

#### **4.2 Обсуждение результатов молекулярно-генетического исследования**

Наши исследования показали, что для многих известных генов-кандидатов БП их mRNA эффективно нацелены на miRNA. *In silico* характеристики взаимодействий между miRNA и mRNA могут быть использованы при расчете эффективности ингибирования процесса трансляции при различных соотношениях концентраций miRNA и mRNA. Таким образом, используя кинетические уравнения анализа взаимодействия ингибитора и фермента, мы можем интерпретировать действие miRNA путем изменения соотношения концентраций mRNA и miRNA. Корреляции, установленные во многих опубликованных сообщениях между изменениями концентрации одной или нескольких miRNA и изменениями экспрессии предполагаемых генов-мишеней, участвующих в развитии БП, не очень надежны. Этот недостаток надежности наблюдается потому, что в большинстве исследований БП и других заболеваний концентрация miRNA не контролировалась одновременно с экспрессией предполагаемых генов-мишеней. Результаты их взаимодействия сильно зависят от соотношения концентраций miRNA и mRNA генов-мишеней. Например, даже при сильном связывании miRNA с mRNA подавление экспрессии генов незначительно, если концентрация miRNA значительно ниже концентрации mRNA. И наоборот, при среднем взаимодействии miRNA с mRNA и превышении концентрации miRNA над концентрацией mRNA наблюдается сильное ингибирование трансляции. Поэтому в таблицах (36,37) мы приводим и невысокие характеристики связывания miRNA с mRNA кандидатных генов. Эти ассоциации miRNA и генов могут быть маркерами при увеличении концентраций miRNA относительно mRNA.

Учитывая конкуренцию между miRNA при связывании с mRNA, проблема установления эффективной miRNA для конкретного гена становится

еще более сложной, поскольку экспрессию нескольких или даже десятков miRNA и генов необходимо контролировать. Биоинформатические подходы позволяют выделить из нескольких тысяч miRNA те, которые могут взаимодействовать с генами-кандидатами БП, что значительно снижает материальные затраты на поиск ассоциаций miRNA и генов-мишеней. На основе результатов, полученных в данном исследовании, можно сделать следующие обобщения. Не все из более чем 200 генов-кандидатов БП были мишенями miRNA. Из 6756 miRNA было идентифицировано только 150 miRNA, которые эффективно связывались с mRNA 61 гена-кандидата БП. CC miRNA были расположены в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA генов-кандидатов БП. Каждый, из более чем половины генов-кандидатов, был мишенью одной miRNA. mRNA остальных генов могут связывать две или более miRNA. CC большинства miRNA располагались по всей длине mRNA без перекрытия нуклеотидных последовательностей. В mRNA некоторых генов были обнаружены CC miRNA, расположенные в перекрывающихся нуклеотидных последовательностях (кластерах). Такие кластеры в несколько раз уменьшали долю нуклеотидных последовательностей CC miRNA в 5'UTR, CDS и 3'UTR.

miRNA с CC в кластере конкурируют друг с другом, и только одна из этих miRNA может связываться с mRNA. miRNA с большой свободной энергией взаимодействия с mRNA и присутствующая в более высокой концентрации по сравнению с другими miRNA имеет преимущество в связывании. Например, начало CC miR-619-5p и miR-5095 расположены через шесть нуклеотидов, образуя тем самым кластер. Свободная энергия взаимодействия mRNA с miR-619-5p больше, чем с miR-5095. Однако если концентрация miR-5095 в два-три раза превышает концентрацию miR-619, то она с большей вероятностью подавляет трансляцию. Если кластер содержит CC многих miRNA, то для установления miRNA, оказывающих наибольшее влияние на процесс трансляции, требуются более сложные вычисления.

В CDS mRNA почти всех генов имелись CC miRNA, которые не повторялись в других генах. Другими словами, эти ассоциации miRNA и генов-кандидатов мишеней БП специфичны, что дает им предпочтение для использования в диагностике. Особенностью некоторых генов-кандидатов БП является наличие в их mRNA кластеров, содержащих CC для одного и того же набора miRNA. Установлены различия в характеристиках связывания miRNA с mRNA генов, экспрессирующихся с разной скоростью. Множественные CC miR-466, ID01030.3p-miR, ID00436.3p-miR и ID01727.5p-miR были локализованы в 3'UTR mRNA генов PPARGC1A и GSK3B с низкой экспрессией.

CC miR-5095 и miR-619-5p образовали кластер, и начало их CC отличалось шестью нуклеотидами. Эта связь CC miR-5095 и miR-619-5p не является случайной, так как она наблюдается в mRNA генов LRP10, PDP2, PRKN, RBBP5, SLC14A1 и WDR82. Кроме того, разница между CC (74 н.) miR-5096 и miR-619-5p была одинаковой в mRNA генов PDP2, RBBP5 и SLC14A1. Начало CC miR-5585-3p и miR-1285-5p отличалось на 99 нт в mRNA генов

LRP10 и PDP2. miR-619-5p связывается с mRNA гена PRKN полностью комплементарно среди 201 гена, являющихся мишенью этой miRNA [241, p-430]. Гены-кандидаты БП, являющиеся мишенями miRNA, связывающихся в 3'UTRs mRNA, достоверно отличались от других генов-кандидатов количеством CC miR-619-5p, miR-5095, miR-5096, miR-5585-3p и miR-1285-5p [236, p-3].

В 5'UTR mRNA генов CC miRNA чаще были организованы в кластеры. Выявленные особенности взаимодействия miRNA с mRNA генов-кандидатов БП следует учитывать при выборе ассоциаций miRNA и генов-мишеней для диагностики заболевания. На основании количественных характеристик взаимодействий между miRNA и mRNA были выявлены ассоциации miRNA и генов-кандидатов с высокой свободной энергией взаимодействия, которые рекомендуются в качестве маркеров для диагностики БП. Для диагностики заболеваний предпочтительно использовать miRNA-ассоциации с сайтами связывания в 5'UTR генов-кандидатов, так как свободная энергия взаимодействия между miRNA и mRNA имеет более высокое значение, чем в CDS и 3'UTR (таблицы 11, 12, 13). Рассмотрим примеры ассоциации miRNA и генов, от которых в большей степени может зависеть развитие БП. Кластеры CC ID00296.3p-miR и ID01702.3p-miR были обнаружены в mRNA генов GSK3B, SETD1A и CCNY. Поэтому необходимо контролировать экспрессию как miRNA, так и трех генов, чтобы оценить роль этих ассоциаций в развитии заболевания. Такой подход необходим для выяснения роли других ассоциаций miRNA и генов в развитии БП. Например, ассоциация нескольких miRNA (ID01041.5p-miR, ID00457.3p-miR, ID03367.5p-miR, ID02770.5p-miR) и гена GSK3B показывает необходимость контроля связывания этих miRNA в двух кластерах в mRNA гена GSK3B.

В дополнение к двум рассмотренным примерам miRNA и ассоциаций генов ниже будут рассмотрены другие ассоциации, которые в целом демонстрируют необходимость контроля большого числа miRNA и уровней экспрессии генов-кандидатов. Нет другого подхода к определению того, какие miRNA из известных в настоящее время 6266 miRNA могут регулировать развитие БП. Биоинформатический подход позволяет выбрать десятки эффективных ассоциаций из миллионов ассоциаций между miRNA и mRNA.

В 5'UTR mRNA гена PPARGC1A имелся кластер CC ID00470.5p-miR и miR-574-5p, каждый из которых имел по пять последовательно расположенных CC В 3'UTR mRNA гена VSNL1 эти miRNA имели более десяти множественных CC. Поэтому эти miRNA могут оказывать большее влияние на экспрессию этих генов, чем miRNA с одним CC. При точечных мутациях нуклеотидов (например, однонуклеотидных полиморфизмов) в кластере с множественными CC эффективность этих miRNA существенно не меняется. Предполагается, что для регуляции высоко экспрессируемых генов требуются сравнительно высокие концентрации miRNA, в противном случае, если miRNA присутствуют в более низких концентрациях, чем mRNA, они не будут существенно регулировать процесс трансляции. Исходя из вышеизложенных



соображений, концентрации miRNA и mRNA должны быть сопоставимы. Таким образом, существует консервативная связь между нуклеотидными последовательностями 5' miRNA и mRNA [241,p-431]. Рекомендую ассоциацию miRNA и генов-мишеней для диагностики заболеваний, мы подчеркиваем, что концентрации miRNA и mRNA должны регистрироваться одновременно.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цель нашего исследования состояла в том, чтобы изучить клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан. Для этого нами проведено данное проспективное исследование, амбулаторных пациентов, наблюдаемых в различных поликлиниках одного из крупных городов Казахстана г. Алматы.

Для изучения характеристики немоторных зрительных нарушений у казахстанских пациентов с БП методом исключения из общего числа больных мы отобрали группу больных из 106 человек. В дальнейшем эта основная группа больных наблюдалась в течении всего времени амбулаторно. Вторая группа сравнения состояла из 54 обследуемых соответствующего возраста и пола, из базы данных поликлиник г Алматы независимо от национальности. Общее число обследованных с учетом группы сравнения, составило 161 человек. Статистическая обработка полученных результатов, с использованием современных методик позволил провести расчет и получить достоверные данные.

В нашем исследовании среди пациентов БП выявляется высокая частота немоторных зрительных нарушений 87.7% с разными проявлениями, при этом у 18,2% из них симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП. Причем зрительные немоторные симптомы выявляются на любой стадии заболевания, темпы их прогрессирования, отличаются от моторных симптомов. Ранние ЗНС у больных с БП характеризуются затруднениями при чтении, слабостью и усталостью глаз, расплывчатостью изображения. Статистически значимые корреляции длительности заболевания (5 лет и более) наблюдались у пациентов со зрительными галлюцинациями ( $p < 0,01$ ), нарушениями цветового восприятия ( $p < 0,05$ ), активностью по шкале Шваба Ингланда. Обнаруженные зрительные не моторные симптомы преобладают у больных с акинетико-ригидной формой заболевания БП.

Несмотря на то, что в нашем исследовании мы исключили пациентов с тяжелой деменцией (согласно требованиям ЛЭК), когнитивное снижение в основной группе пациентов имели 61,3% (65). Кроме того, необходимо отметить, что чаще всего НС в том числе ЗНС являются важным компонентом акинетико ригидной формы БП.

При планировании терапевтических стратегий при болезни Паркинсона в клинической практике врачи должны сосредотачиваются не только на двигательные симптомы, а также на немоторные симптомы, которые часто не распознаются и недооцениваются.

Специальные мероприятия, для улучшения зрительных немоторных нарушений приведут к повышению безопасности пациента, его большей

самостоятельности, улучшению качества жизни и качества медицинской помощи.

Результаты нашего исследования не выявили этнических различий, но данная работа является первой, в которой проводилась оценка НМС у БП, они все же дают представление о влиянии на немоторное бремя региональной принадлежности и других факторов, которые различаются в зависимости от географического местоположения.

Для рекомендации ассоциаций miRNA и mRNA в качестве маркеров БП взяты: ассоциации одного гена и одной или нескольких miRNA связывающихся с mRNA этого гена; ассоциации одной miRNA связывающейся с mRNA нескольких генов; ассоциации нескольких miRNA связывающихся с mRNA нескольких генов. Преимущество для отбора имеют: ассоциации miRNA и mRNA взаимодействующие с величиной свободной энергии более -130 кДж/моль; ассоциации miRNA имеющие множественные сайты связывания в mRNA гена-мишени.

В качестве ассоциаций для диагностики рекомендуется ген GSK3B в 5'UTR mRNA которого связываются ID00061.3p-miR, ID00296.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID01702.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID02064.5p-miR с величиной свободной энергии от -134 кДж/моль до -140 кДж/моль. В 5'UTR mRNA гена CCNY связываются ID00296.3p-miR, ID01041.5p-miR, ID01106.5p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR с величиной свободной энергии -136 кДж/моль. Для диагностики в качестве ассоциаций рекомендуется ген PPARGC1A и ID02761.3p-miR, ID03332.3p-miR взаимодействующие с величиной свободной энергии -140 кДж/моль. Ассоциации гена ZFAND4 и ID00296.3p-miR ID01190.5p-miR с  $\Delta G$  равной -136 кДж/моль и -134 кДж/моль тоже рекомендуются в качестве маркеров. mRNA гена FOXO1 связывала в CDS ID02761.3p-miR, ID01804.3p-miR, ID03332.3p-miR с  $\Delta G$  равной -132 кДж/моль, -136 кДж/моль и -140 кДж/моль соответственно, и эти ассоциации рекомендуются для разработки диагностических маркеров. Ген SETD1A являющийся мишенью для ID00296.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR ( $\Delta G$  равна от -134 кДж/моль до -140 кДж/моль) тоже могут быть маркерами для диагностики. Перспективны для диагностики ген APOE, который является мишенью для ID01030.3p-miR и ID03261.3p-miR. Ассоциации между ID00296.3p-miR, ID01641.3p-miR, ID01702.3p-miR и гена-мишени SETD1A имеют свободную энергию взаимодействия miRNA с CDS более -130 кДж/моль и рекомендуются в качестве маркеров БП. Ген GSK3B в 3'UTR имел множественные сайты связывания для miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR, что является основанием считать их ассоциациями пригодными для диагностических маркеров. Гены VSNL1 и DIRAS1 имели в 3'UTR множественные сайты связывания для miR-574-5p и ID00470.5p-miR, что позволяет рекомендовать эти ассоциации в качестве маркеров БП[273].

Важно отметить, что при патологии концентрация miRNA может увеличиться в десятки раз, и соответственно экспрессия гена-мишени может снизиться во много раз. Это обстоятельство следует учитывать при

определении ассоциаций и интерпретации экспериментальных результатов определения концентраций miRNA и mRNA генов-мишеней, составляющих ассоциации для диагностики заболевания.

На основании проведенного исследования сделаны следующие **выводы**:

1. Среди пациентов БП выявляется высокая распространенность немоторных зрительных дисфункций (96,2%), при этом у 87,7% обнаружен хотя бы один из немоторных зрительных симптомов, у 18,3% из них симптомы проявлялись в раннем периоде за несколько месяцев и лет до уточненного диагноза БП. Зрительные и когнитивные немоторные симптомы выявляются на любой стадии заболевания, темпы их прогрессирования, отличаются от моторных симптомов самостоятельностью. Ранние ЗНС у больных с БП характеризуются затруднениями при чтении, слабостью и усталостью глаз, расплывчатостью изображения.
2. Результаты исследования показали, что такие НМС как гипосмия, гиперсаливация, проблемы со сном, никтурия, запоры и гипергидроз на ранних стадиях болезни, а у 11,3% больных предшествовали моторным проявлениям. Диагностика НМС при БП осложнялась тем фактом, что пациенты с БП часто не понимают те или иные проявления данных симптомов.
3. У 39,6% на поздних стадиях БП в подгруппах с 2.5-4 стадиями заболевания по Хен-Яру немоторные проявления доминировали как более важные и инвалидизирующие, чем моторные колебания, представляя определенные трудности для пациентов и обслуживающего.
4. Статистически значимые корреляции длительности заболевания (5 лет и более) наблюдались у пациентов со зрительными галлюцинациями ( $p < 0,01$ ), нарушениями цветового восприятия ( $p < 0,05$ ), которые отрицательно влияют на активность пациентов по шкале Шваба Ингланда, и определяют исход заболевания. Зрительная дисфункция сочетается с когнитивными нарушениями. Обнаруженные зрительные не моторные симптомы преобладают у больных с акинетико-ригидной формой заболевания БП, в равной степени у мужчин и женщин.
5. В нашем исследовании не было значительных различий между мужчинами и женщинами в оценке зрительных немоторных расстройств и при выполнении тестов для выявления когнитивных расстройств (MMSE MoCa NMSQ пробы Йеркса, тест часов, теста Поппельрейтера). Обнаруженные зрительные и когнитивные немоторные симптомы преобладают у больных с акинетико-ригидной формой заболевания БП.
6. Выявлены гены-кандидаты БП, являющиеся мишенью miRNA. Определены количественные характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов-кандидатов БП. Установлена организация сайтов связывания miRNA в кластеры с перекрывающимися нуклеотидными последовательностями. Такая организация сайтов связывания уменьшает длину mRNA и приводит к конкуренции между miRNA при взаимодействии с кластерами в 5'UTR, CDS

и 3'UTR. Идентифицированы полисайты связывания для одной miRNA и множественные сайты для двух или более miRNA в одной mRNA.

7. Помимо одиночных ассоциаций miRNA и генов, были найдены ассоциации одного гена и нескольких miRNA связывающихся с mRNA этого гена; ассоциации одной miRNA связывающейся с mRNA нескольких генов; ассоциации нескольких miRNA связывающихся с mRNA нескольких генов. Ассоциации miRNA с генами-кандидатами БП с взаимодействиями свободной энергии более -130 кДж/моль рекомендуются для разработки маркеров диагностики БП.

#### *Практические рекомендации*

1. Пациентам, с БП необходимо проводить тщательный мониторинг по опроснику NMSQ, а также Visual Impairment in Parkinson's Disease для раннего выявления зрительных дисфункций, связанных с немоторными проявлениями БП.

2. Для организации полноценной помощи больным с БП необходимы специализированные кабинеты при городских областных поликлиниках (по примеру специализированных кабинетов для рассеянного склероза, демиелинизирующих и аутоиммунных заболеваний нервной системы)

3. Проводить обязательный мониторинг когнитивных нарушений по шкалам MMSE, MoCa тест, а также выявлять тревожные расстройства.

4. Целесообразно использование ассоциаций между miRNA и их генами-мишенями как биомаркеров диагностики БП.

5. Проверенные биомаркеры диагностики БП могут стать основой для разработки терапевтических средств при болезни Паркинсон

6. Рекомендовать вопрос пересмотра клинического протокола диагностики и лечения болезни Паркинсона с учетом немоторных симптомов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Kowal S.L., Dall T.M., Chakrabarti R. et al. The current and projected economic burden of Parkinson's disease in the United States // *Mov Disord.* – 2013. – Vol. 28. – P. 311-318.
- 2 Dorsey E.R., Constantinescu R., Thompson J.P. et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030 // *Neurology.* – 2007. – Vol. 68. – P. 384-386.
- 3 Cheng H.C., Ulane C.M., Burke R.E. Clinical Progression in Parkinson's Disease and the Neurobiology of Axons // *Annals of Neurology.* – 2010. – Vol. 67(6). – P. 715-725.
- 4 Tagliaferro P., Kareva T., Oo T.F. et al. An early axonopathy in a hLRRK2(R1441G) transgenic model of Parkinson disease // *Neurobiol Dis.* – 2015. – Vol. 82. – P. 359-371.
- 5 Burke R.E. O'Malley K. Axon Degeneration in Parkinson's Disease // *Exp Neurol.* – 2013. – Vol. 246. – P. 72-83.
- 6 Pfeiffer R.F. Non-motor symptoms in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2016. – Vol. 22, Suppl 1. – P. S119-S122.
- 7 Hirsch E.C., Jenner P., Przedborski S. Pathogenesis of Parkinson's disease // *Mov. Disord.* – 2013. – Vol. 28. – P. 24-30.
- 8 Tagliaferro P., Burke R. Retrograde Axonal Degeneration in Parkinson Disease // *Journal of Parkinson's Disease.* – 2016. – Vol. 6, Issue 1. – P. 1-15.
- 9 Mehndiratta M., Garg R.K., Pandey S.J. Nonmotor symptom complex of Parkinson's disease - an under-recognized entity // *Assoc Physicians India.* – 2011. – Vol. 59, Issue 313. – P. 302-308.
- 10 Leggio L., Vivarelli S. et al. microRNAs in Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Novel Diagnostic and Therapeutic Approaches // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2017. – Vol. 18(12). – P. 2698-12698-30.
- 11 Sauerbier A., Jitkriksadakul O., Titova N. et al. Non-Motor Symptoms Assessed by Non-Motor Symptoms Questionnaire and Non-Motor Symptoms Scale in Parkinson's Disease in Selected Asian Populations // *Neuroepidemiology.* – 2017. – Vo. 49. – P. 1-17.
- 12 Braak H., Del Tredici K., Bratzke H et al. Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages) // *J Neurol.* – 2002. – Vol. 249, Suppl 3. – P. 1-5.
- 13 Nuytemans K., Theuns J., Cruts M. et al. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update // *Human Mutation.* – 2010. – Vol. 31, №7. – P. 763-780.
- 14 Филатова Е.В., Алиева А.Х., Шадрина М.И. и др. Микро-РНК: возможная роль в патогенезе болезни Паркинсона // *Биохимия.* – 2012. – Т. 77, №8. – С. 981-988.

15 Arshad A.R., Sulaiman S.A., Saperi A.A. et al. MicroRNAs and Target Genes As Biomarkers for the Diagnosis of Early Onset of Parkinson Disease // *Front. Mol. Neurosci.* – 2017. – Vol. 10. – P. 352-1-352-20.

16 Dorsey R., Elbaz A., Nichols E. et al. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016 // *The Lancet Neurology.* – 2018. – Vol. 17, Issue 11. – P. 939-953.

17 Аканова А.А. Эпидемиологические и клинико-генетические особенности болезни Паркинсона у пациентов Казахстана на примере города Алматы: дис. ... док. PhD: Шифр. – Алматы, 2016. – 134 с.

18 Hughes A.J. et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease. A clinico-pathological study of 100 cases // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 1992. – Vol. 55. – P. 181-184.

19 Ishihara L.S, Cheesbrough A., Brayne C. et al. Estimated life expectancy of Parkinson's patients compared with the UK population // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2007. – Vol. 78(12). – P. 1304-1309.

20 Goetz C.G. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): Status and Recommendations // *Mov. Disord.* – 2003. – Vol. 7. – P. 738-750.

21 Christopher G. Goetz, Barbara C. Tilley. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale Presentation and Clinimetric Testing Results // *Movement Disorders.* – 2008. – Vol. 23, Issue 15. – P. 2129-2170.

22 Goetz C.G., Poewe W., Rascol O. et al. Movement Disorder Society task force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations // *Mov. Disord.* – 2004. – Vol. 19(9). – P. 1020-1028.

23 Chaudhuri K.R., Martinez-Martin P., Schapira A.H. et al. International multicenter pilot study of the first comprehensive self-completed nonmotor symptoms questionnaire for Parkinson's disease: the NMSQuest study // *Mov Disord.* – 2006. – Vol. 21. – P. 916-923.

24 Romenets S.R., Wolfson C., Galatas C. et al. Validation of the non-motor symptoms questionnaire (NMS-Quest) // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2012. – Vol. 18. – P. 54-58.

25 Panchanan M., Jayeeta M., Dunbar G.L. Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinson's disease: Targets for potential treatments. *Transl Neurodegener.* 2017; 6: 28. Published online 2017 Oct 25. doi: 10.1186/s40035-017-0099-z P-5-10.

26 Schwarz J., Linke R., Kerner M. et al. Striatal dopamine transporter binding assessed by [I-123]IPT and single photon emission computed tomography in patients with early Parkinson's disease: implications for a preclinical diagnosis // *Arch Neurol.* – 2000. – Vol. 57(2). – P. 205-208.

27 Schneider S.A., Alcalay R.N. Neuropathology of genetic synucleinopathies with parkinsonism: review of the literature // *Mov Disord.* – 2017. – Vol. 32. – P. 1504-1523.

- 28 Bove J., Prou D., Perier C. et al. Toxin-induced models of Parkinson's disease // *Neuro Rx*. – 2005. – Vol. 2(3). – P. 484-494.
- 29 Michel P.P., Hirsch E.C., Hunot S. Understanding dopaminergic cell death pathways in Parkinson disease // *Neuron*. – 2016. – Vol. 90(4). – P. 675-691.
- 30 Ross G.W., Petrovitch H., Abbott R.D. et al. Parkinsonian signs and substantia nigra neuron density in decedents elders without PD // *Ann Neurol*. – 2004. – Vol. 56. – P. 532-539.
- 31 Alexander G.E. Biology of Parkinson's disease: pathogenesis and pathophysiology of a multisystem neurodegenerative disorder // *Dialogues Clin Neurosci*. – 2004. – Vol. 6(3). – P. 259-280.
- 32 Martin I., Dawson V.L., Dawson T.M. Recent advances in the genetics of Parkinson's disease // *Annu Rev Genomics Hum Genet*. – 2011. – Vol. 12. – P. 301-325.
- 33 Klein C., Westenberger A. Genetics of Parkinson's disease // *Cold Spring Harb Perspect Med*. – 2012. – Vol. 2(1). – P. 5-9.
- 34 Adler C.H. Nonmotor complications in Parkinson's disease // *Mov Disord*. – 2005. – Vol. 20, Suppl 11. – P. S23-29.
- 35 Berg D. Biomarkers for the early detection of Parkinson's and Alzheimer's disease // *Neurodegener Dis*. – 2008. – Vol. 5(3-4). – P. 133-136.
- 36 Hicks A.A., Petursson H., Jonsson T. et al. A susceptibility gene for late-onset idiopathic Parkinson's disease // *Ann Neurol*. – 2002. – Vol. 52(5). – P. 549-555.
- 37 Kim H.S., Cheon S.M., Seo J.W. et al. Nonmotor symptoms more closely related to Parkinson's disease: comparison with normal elderly // *J Neurol Sci*. – 2013. – Vol. 324. – P. 70-73.
- 38 Krishnan S., Sarma G., Sarma S. et al. Do nonmotor symptoms in Parkinson's disease differ from normal aging? // *Mov Disord*. – 2011. – Vol. 26. – P. 2110-2113.
- 39 Li D.W., Gu Z., Wang C. et al. Non-motor symptoms in Chinese Parkinson's disease patients with and without LRRK2 G2385R and R1628P variants // *J Neural Transm*. – 2015. – Vol. 122. – P. 661-667
- 40 Дынин П.С. Особенности нарушения зрительно-пространственного восприятия при болезни Паркинсона: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11. – СПб., 2016. – 149 с.
- 41 Martinez-Martin P., Rodriguez-Blazquez C., Kurtis M.M. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease // *Mov Disord*. – 2011. – Vol. 26(3). – P. 399-406.
- 42 Kim W.S., Kagedal K., Halliday G.M. Alpha-synuclein biology in Lewy body diseases // *Alzheimers Res Ther*. – 2014. – Vol. 6(5). – P. 73-81.
- 43 Ishihara L., Brayne C. A systematic review of depression and mental illness preceding Parkinson's disease // *Acta Neurol Scand*. – 2006. – Vol. 113. – P. 211-222.



- 44 Berg D., Godau J., Seppi K. et al. The PRIPS study: Screening battery for subjects at risk for Parkinson's disease // *Eur J Neurol.* – 2013. – Vol. 20. – P. 102-108.
- 45 Parkinson J. An essay on the shaking palsy // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 2002. – Vol. 14. – P. 223-236.
- 46 Rana A.Q., Athar A., Owlia A. et al. Impact of ethnicity on non-motor symptoms of Parkinson's disease // *J Parkinsons Dis.* – 2012. – Vol. 2. – P. 281-285.
- 47 Tanner C.M., Aston D.A. Epidemiology of Parkinson's disease and akinetic syndromes // *Curr Opin Neurol.* – 2000. – Vol. 13. – P. 427-430.
- 48 Chaudhuri K.R., Healy D.G., Schapira A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *Lancet Neurol* 2006; 5: 235–245.
- 49 Barone P., Antonini A., Colosimo C. et al. The PRIAMO study: a multicenter assessment of nonmotor symptoms and their impact on quality of life in Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2009. – Vol. 24. – P. 1641-1649.
- 50 Sjodahl Hammarlund C., Hagell P., Nilsson M.H. Motor and non-motor predictors of illness-related distress in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2012. – Vol. 18. – P. 299-302.
- 51 Schrag A., Jahanshahi M., Quinn N. What contributes to quality of life in patients with Parkinson's disease? // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2000. – Vol. 69. – P. 308-312.
- 52 Chaudhuri K.R., Prieto-Jurcynska C., Naidu Y. et al. The nondeclaration of nonmotor symptoms of Parkinson's disease to health care professionals: an international study using the nonmotor symptoms questionnaire // *Mov Disord.* – 2010. – Vol. 25. – P. 704-709.
- 53 O'Sullivan S.S., Williams D.R., Gallagher D.A. et al. Nonmotor symptoms as presenting complaints in Parkinson's disease: a clinic pathological study // *Mov Disord.* – 2008. – Vol. 23. – P. 101-110.
- 54 Aarsland D., Bronnick K., Alves G. et al. The spectrum of neuropsychiatric symptoms in patients with early untreated Parkinson's disease // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2009. – Vol. 80. – P. 928-930.
- 55 Aarsland D., Bronnick K., Larsen J.P. et al. Cognitive impairment in incident, untreated Parkinson disease: the Norwegian ParkWest study // *Neurology.* – 2009. – Vol. 72. – P. 1121-1126.
- 56 Muslimovic D., Post B., Speelman J.D. et al. Cognitive profile of patients with newly diagnosed Parkinson disease // *Neurology.* – 2005. – Vol. 65. – P. 1239-1245.
- 57 Muller B., Larsen J.P., Wentzel-Larsen T. et al. Autonomic and sensory symptoms and signs in incident, untreated Parkinson's disease: frequent but mild // *Mov Disord.* – 2011. – Vol. 26. – P. 65-72.
- 58 Stern M.B., Lang A., Poewe W. Toward a redefinition of Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2012. – Vol. 27. – P. 54-60.
- 59 Burn D.J., Rowan E.N., Allan L.M. et al. Motor subtype and cognitive decline in Parkinson's disease, Parkinson's disease with dementia, and dementia with Lewy bodies // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2006. – Vol. 77. – P. 585-589.

- 60 Burn D.J., Landau S., Hindle J.V. et al. Parkinson's disease motor subtypes and mood // *Mov Disord.* – 2012. – Vol. 27. – P. 379-386.
- 61 Gallagher D.A., Lees A.J., Schrag A. What are the most important nonmotor symptoms in patients with Parkinson's disease and are we missing them? // *Mov Disord.* – 2010. – Vol. 25(15). – P. 2493-2500.
- 62 Wolters E.Ch. Non-motor extranigral signs and symptoms in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2009. – Vol. 15, Suppl 3. – P. S6-12.
- 63 Huot P., Sgambato-Faure V., Fox S.H. et al. Serotonergic approaches in Parkinson's disease: translational perspectives, an update // *ACS Chem Neurosci.* – 2017. – Vol. 8(5). – P. 973-986.
- 64 Tan S.K., Hartung H., Sharp T. et al. Serotonin-dependent depression in Parkinson's disease: a role for the subthalamic nucleus? // *Neuropharmacology.* – 2011. – Vol. 61(3). – P. 387-399.
- 65 Tagliavini F., Pilleri G. Basal nucleus of Meynert. a neuropathological study in Alzheimer's disease, simple senile dementia, Pick's disease and Huntington's chorea // *J Neurol Sci.* – 1983. – Vol. 62(1-3). – P. 243-260.
- 66 Liu A.K., Chang R.C., Pearce R.K. et al. Nucleus basalis of Meynert revisited: anatomy, history and differential involvement in Alzheimer's and Parkinson's disease // *Acta Neuropathol.* – 2015. – Vol. 129(4). – P. 527-540.
- 67 Habermann-Little B. An analysis of the prevalence and etiology of depression in Parkinson's disease // *J Neurosci Nurs.* – 1991. – Vol. 23. – P. 165-169.
- 68 Kostic V.S., Filipovic S.R., Lecic D. et al. Effect of age at onset on frequency of depression in Parkinson's disease // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 1994. – Vol. 57. – P. 1265-1267.
- 69 Hantz P., Caradoc-Davies G., Caradoc-Davies T. et al. Depression in Parkinson's disease // *Am J Psychiatry.* – 1994. – Vol. 151. – P. 1010-1014.
- 70 Pollock M., Hornabrook R.W. The prevalence, natural history and dementia of Parkinson's disease // *Brain.* – 1966. – Vol. 89. – P. 429-448.
- 71 Emre M. Dementia associated with Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2003; 2: 229–37.
- 72 Rippon G.A., Marder K/S. Dementia in Parkinson's disease // *Adv Neurol.* – 2005. – Vol. 96. – P. 95-113.
- 73 Schenck C.H., Bundlie S.R., Mahowald M.W. Delayed emergence of a parkinsonian disorder in 38% of 29 older men initially diagnosed with idiopathic rapid eye movement sleep behaviour disorder // *Neurology.* – 1996. – Vol. 46. – P. 388-393.
- 74 Olson E.J., Boeve B.F., Silber M.H. Rapid eye movement sleep behaviour disorder: demographic, clinical and laboratory findings in 93 cases // *Brain.* – 2000. – Vol. 123. – P. 331-339.
- 75 Magerkurth C., Schnitzer R., Braune S. Symptoms of autonomic failure in Parkinson's disease: prevalence and impact on daily life // *Clin Auton Res.* – 2005. – Vol. 15. – P. 76-82.

- 76 Hobson P., Islam W., Roberts S. et al. The risk of bladder and autonomic dysfunction in a community cohort of Parkinson's disease patients and normal controls // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2003. – Vol. 10. – P. 67-71.
- 77 Visser M., Marinus J., Stiggelbout A.M. et al. Assessment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease: the SCOPA-AUT // *Mov Disord.* – 2004. – Vol. 19. – P. 1306-1312.
- 78 Siddiqui M.F., Rast S., Lynn M.J. et al. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease: a comprehensive symptom survey // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2002. – Vol. 8. – P. 277-284.
- 79 Taki J., Nakajima K., Hwang E-H. et al. Peripheral sympathetic dysfunction in patients with Parkinson's disease without autonomic failure is heart selective and disease specific // *Eur J Nucl Med.* – 2000. – Vol. 27. – P. 566-573.
- 80 Goldman J.G., Holden S. Treatment of psychosis and dementia in Parkinson's disease // *Current Treatment Options in Neurology.* – 2014. – Vol. 16, №3. – P. 281-288.
- 81 Levin J., Hasan A., Höglinger G.U. Psychosis in Parkinson's disease: identification, prevention and treatment // *Journal of Neural Transmission.* – 2016. – Vol. 123, №1. – P. 45-50.
- 82 Ravina B., Marder K., Fernandez H.H. et al. Diagnostic criteria for psychosis in Parkinson's disease: report of an NINDS, NIMH Work Group // *Movement Disorders.* – 2007. – Vol. 22, №8. – P. 1061-1068.
- 83 Braak H., Del Tredici K., Rub U. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease // *Neurobiol Aging.* – 2003. – Vol. 24. – P. 197-210.
- 84 Braak H., Ghebremedhin E., Rub U. et al. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology // *Cell Tissue Res.* – 2004. – Vol. 318. – P. 121-134.
- 85 Comella C.L. Sleep disorders in Parkinson's disease // *Curr Treat Options Neurol.* – 2008. – Vol. 10(3). – P. 215-221.
- 86 Larsen J.P., Tandberg E. Sleep disorders in patients with Parkinson's disease: epidemiology and management // *CNS Drugs.* – 2001. – Vol. 15(4). – P. 267-275.
- 87 Santens P., Boon P., Van Roost D. et al. The pathophysiology of motor symptoms in Parkinson's disease // *Acta Neurol Belg.* – 2003. – Vol. 103(3). – P. 129-134.
- 88 Stacy M. Sleep disorders in Parkinson's disease: epidemiology and management // *Drugs Aging.* – 2002. – Vol. 19. – P. 733-739.
- 89 Onofri M., Thomas A., D'Andreanmatteo G. et al. Incidence of RBD and hallucination in patients affected by Parkinson's disease: 8-year follow-up // *Neurol Sci.* – 2002. – Vol. 23, Suppl 2. – P. S91-94.
- 90 Lauterbach E.C. The neuropsychiatry of Parkinson's disease and related disorders // *Psychiatr Clin North Am.* – 2004. – Vol. 27. – P. 801-825.
- 91 Postuma R.B., Lang A.E., Massicotte-Marquez J. et al. Potential early markers of Parkinson disease in idiopathic REM sleep behavior disorder // *Neurology.* – 2006. – Vol. 66. – P. 845-851.

92 De Cock V.C., Vidailhet M., Leu S. et al. Restoration of normal motor control in Parkinson's disease during REM sleep // *Brain*. – 2007. – Vol. 130. – P. 450-456.

93 Barone P., Amboni M., Vitale C. et al. Treatment of nocturnal disturbances and excessive daytime sleepiness in Parkinson's disease // *Neurology*. – 2004. – Vol. 63(8), Suppl 3. – P. S35-38.

94 Poryazova R.G., Zachariev Z.I. REM sleep behavior disorder in patients with Parkinson's disease // *Folia Med (Plovdiv)*. – 2005. – Vol. 47. – P. 5-10.

95 Rye D.B. Excessive daytime sleepiness and unintended sleep in Parkinson's disease // *Curr Neurol Neurosci Rep*. – 2006. – Vol. 6. – P. 169-176.

96 Hogl B., Saletu M., Brandauer E. et al. Modafinil for the treatment of daytime sleepiness in Parkinson's disease: a double-blind, randomized, crossover, placebo-controlled polygraphic trial // *Sleep*. – 2002. – Vol. 25. – P. 905-909.

97 Adler C.H., Caviness J.N., Hentz J.G. et al. Randomized trial of modafinil for treating subjective daytime sleepiness in patients with Parkinson's disease // *Mov Disord*. – 2003. – Vol. 18. – P. 287-293.

98 Driver-Dunckley E., Evidente V.G., Adler C.H. et al. Restless legs syndrome in Parkinson's disease patients may improve with subthalamic stimulation // *Mov Disord*. – 2006. – Vol. 21. – P. 1287-1289.

99 Kano O., Ikeda K., Cridebring D. et al. Neurobiology of depression and anxiety in Parkinson's disease // *Park Dis*. – 2011. – Vol. 2011. – P.1-5

100 Aarsland D., Pahlhagen S., Ballard C.G. et al. Depression in Parkinson disease--epidemiology, mechanisms and management // *Nat Rev Neurol*. – 2012. – Vol. 8(1). – P. 35-47.

101 Habermann-Little B. An analysis of the prevalence and etiology of depression in Parkinson's disease // *J Neurosci Nurs*. – 1991. – Vol. 23. – P. 165-169.

102 Hantz P., Caradoc-Davies G., Caradoc-Davies T. et al. Depression in Parkinson's disease // *Am J Psychiatry*. – 1994. – Vol. 151. – P. 1010-1014.

103 Paulus W., Jellinger K. The neuropathologic basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease // *J Neuropathol Exp Neurol*. – 1991. – Vol. 50. – P. 743-755.

104 Brown A.S., Gershon S. Dopamine and depression // *J Neural Transm Gen Sect*. – 1993. – Vol. 91. – P. 75-109.

105 Doder M., Rabiner E.A., Turjanski N. et al. Brain serotonin 5HT1A receptors in Parkinson's disease with and without depression measured by positron emission tomography with 11C-WAY 10635 // *Mov Disord*. – 2000. – Vol. 15. – P. 213-220.

106 Mossner R., Henneberg A., Schmitt A. et al. Allelic variation of serotonin transporter expression is associated with depression in Parkinson's disease // *Mol Psychiatry*. – 2001. – Vol. 6. – P. 350-352.

107 Giladi N., Treves T.A., Paleacu D. et al. Risk factors for dementia, depression and psychosis in long-standing Parkinson's disease // *J Neural Transm*. – 2000. – Vol. 107(1). – P. 59-71.

108 Veazey C., Aki S.O., Cook K.F. et al. Prevalence and treatment of depression in Parkinson's disease // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 2005. – Vol. 17. – P. 310-323.

109 Henderson R., Kurlan R., Kersun J.M. et al. Preliminary examination of the comorbidity of anxiety and depression in Parkinson's disease // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 1992. – Vol. 4. – P. 257-264.

110 Slaughter J.R., Slaughter K.A., Nichols D. et al. Prevalence, clinical manifestations, etiology, and treatment of depression in Parkinson's disease // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 2001. – Vol. 13. – P. 187-196.

111 Cummings J.L. Depression and Parkinson's disease: a review // *Am J Psychiatry.* – 1992. – Vol. 149. – P. 443-454.

112 Cole S.A., Woodard J.L., Juncos J.L. et al. Depression and disability in Parkinson's disease // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 1996. – Vol. 8. – P. 20-25.

113 Hou J.G., Lai E.C. Akinetic-rigid Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 1998. – Vol. 13. – P. 29-33.

114 Schrag A., Jahanshahi M., Quinn N.P. What contributes to depression in Parkinson's disease? // *Psychol Med.* – 2001. – Vol. 31. – P. 65-73.

115 Dewey R.B.Jr. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease // *Neurol Clin.* – 2004. – Vol. 22, Suppl 3. – P. S127-139.

116 Weintraub D., Morales K.H., Moberg P.J. et al. Antidepressant studies in Parkinson's disease: a review and meta-analysis // *Mov Disord.* – 2005. – Vol. 20. – P. 1161-1169.

117 Menza M., Marin H., Kaufman K. et al. Citalopram treatment of depression in Parkinson's disease: the impact on anxiety, disability, and cognition // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 2004. – Vol. 16. – P. 315-319.

118 Caballol N., Marti M.J., Tolosa E. Cognitive dysfunction and dementia in Parkinson disease // *Mov Disord.* – 2007. – Vol. 22, Suppl 17. – P. S358-S366.

119 Meireles J., Massano J. Cognitive impairment and dementia in Parkinson's disease: clinical features, diagnosis, and management // *Front Neurol.* – 2012. – Vol. 3 – P. 88-93

120 Middleton F.A., Strick P.L. Basal ganglia output and cognition: evidence from anatomical, behavioral, and clinical studies // *Brain Cogn.* – 2000. – Vol. 42. – P. 183-200.

121 Иллариошкин С.Н. Когнитивные расстройства. Ранние (додементные) формы когнитивных расстройств // *Consilium Medicum.* – 2007. – Т. 9, №7. – С. 9- 15.

122 Clower D.M., Dum R.P., Strick P.L. Basal ganglia and cerebellar inputs to 'AIP' // *Cereb Cortex.* – 2005. – Vol. 15. – P. 913-920.

123 Aarsland D., Creese B., Politis M. et al. Cognitive decline in Parkinson disease // *Nature Reviews Neurology.* – 2017. – Vol. 13. – P. 217-231

124 Fritz N.E., Kegelmeier D.A., Kloos A.D. et al. Motor performance differentiates individuals with Lewy body dementia, Parkinson's and Alzheimer's disease // *Gait and Posture.* – 2016. – Vol. 50. – P. 1-7.

- 125 Aarsland D., Andersen K., Larsen J.P. et al. Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson disease: an 8-year prospective study // *Arch Neurol.* – 2003. – Vol. 60. – P. 387-392.
- 126 Pollock M., Hornabrook R.W. The prevalence, natural history and dementia of Parkinson's disease // *Brain.* – 1966. – Vol. 89. – P. 429-448.
- 127 Calabresi P., Picconi B., Parnetti L. et al. A convergent model for cognitive dysfunctions in Parkinson's disease: the critical dopamine-acetylcholine synaptic balance // *Lancet Neurol.* – 2006. – Vol. 5. – P. 974-983.
- 128 Haugarvoll K., Aarsland D., Wentzel-Larsen T. et al. The influence of cerebrovascular risk factors on incident dementia in patients with Parkinson's disease // *Acta Neurol Scand.* – 2005. – Vol. 112. – P. 386-390.
- 129 Pillon B., Boller F., Levy R. et al. Cognitive deficits and dementia in Parkinson's disease // In book: *Aging and Dementia.* – Amsterdam: Elsevier, 2001. – P. 311-372.
- 130 Bertrand E., Lechowicz W., Szpak G.M. et al. Limbic neuropathology in idiopathic Parkinson's disease with concomitant dementia // *Folia Neuropathol.* – 2004. – Vol. 42. – P. 141-150.
- 131 Iseki E. Dementia with Lewy bodies: reclassification of pathological subtypes and boundary with Parkinson's disease or Alzheimer's disease // *Neuropathology.* – 2004. – Vol. 24. – P. 72-88.
- 132 McKeith I.G., Dickson D.W., Lowe J. et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium // *Neurology.* – 2005. – Vol. 65. – P. 1863-1872.
- 133 McKeith I.G., Ballard C.G., Perry R.H. et al. Prospective validation of consensus criteria for the diagnosis of dementia with Lewy bodies // *Neurology.* – 2000. – Vol. 54. – P. 1050-1058.
- 134 Emre M., Aarsland D., Albanese A. et al. Rivastigmine for dementia associated with Parkinson's disease // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 2509-2518.
- 135 Siddiqui M.A., Wagstaff A.J. Rivastigmine: in Parkinson's disease dementia // *CNS Drugs.* – 2006. – Vol. 20. – P. 739-747.
- 136 Boeve B.F. Evidence for cholinesterase-inhibitor therapy for dementia associated with Parkinson's disease // *Lancet Neurol.* – 2005. – Vol. 4. – P. 137-138.
- 137 Benarroch E.E. Central neurotransmitters and neuromodulators in cardiovascular regulation // In book: *Autonomic Failure.* – Ed. 4th. – Oxford: Oxford University Press, 1999. – P. 37-44.
- 138 Kujawa K., Leurgans S., Raman R. et al. Acute orthostatic hypotension when starting dopamine agonists in Parkinson's disease // *Arch Neurol.* – 2000. – Vol. 57. – P. 1461-1463.
- 139 Etminan M., Gill S., Samii A. Comparison of the risk of adverse events with pramipexole and ropinirole in patients with Parkinson's disease: a meta-analysis // *Drug Saf.* – 2003. – Vol. 26. – P. 439-444.

- 140 Goldstein D.S., Holmes C.S., Dendi R. et al. Orthostatic hypotension from sympathetic denervation in Parkinson's disease // *Neurology*. – 2002. – Vol. 58. – P. 1247-1255.
- 141 Khan N.L., Graham E., Critchley P. et al. Parkin disease: a phenotypic study of a large case series // *Brain*. – 2003. – Vol. 126. – P. 1279-1292.
- 142 Dewey RB Jr. Non-motor symptoms of Parkinson's disease. // *Handbook of Parkinson's Disease*. – 2003. – P. 26–2.
- 143 Pfeiffer R.F. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease // *Lancet Neurol*. – 2003. – Vol. 2. – P. 107-116.
- 144 Anang J.B., Gagnon J.F., Bertrand J.A. et al. Predictors of dementia in Parkinson disease: a prospective cohort study // *Neurology*. – 2014. – Vol. 83(14). – P. 1253-1260.
- 145 Weil R.S., Schrag A.E. et al. Visual dysfunction in Parkinson's disease // *Brain*. – 2016. – Vol. 139, Issue 11. – P. 2827-2843.
- 146 Armstrong R.A. Visual Dysfunction in Parkinson's Disease // *Int Rev Neurobiol*. – 2017. – Vol. 134. – P. 921-946.
- 147 Ekker M.S., Janssen S., Seppi K. et al. Ocular and visual disorders in Parkinson's disease: Common but frequently overlooked // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2017. – Vol. 40. – P. 1-10.
- 148 Urwyler P., Nef T., Killen A. et al. Visual complaints and visual hallucinations in Parkinson's disease // *Park. Relat. Disord*. – 2014. – Vol. 20. – P. 318-322.
- 149 Biousse V., Skibell B.C., Watts R.L. et al. Ophthalmologic features of Parkinson's disease // *Neurology*. – 2004. – Vol. 62. – P. 177-180.
- 150 Birch J., Kolle R.U., Kunkel M. et al. Acquired color deficiency in patients with Parkinson's disease // *Vis. Res*. – 1998. – Vol. 38(21). – P. 3421-3426.
- 151 Amick M.M., Grace J., Ott B.R. Visual and cognitive predictors of driving safety in Parkinson's disease patients // *Arch. Clin. Neuropsychol*. – 2007. – Vol. 22. – P. 957-967.
- 152 Santos-Garcia D. et al. Impact of non-motor symptoms on health-related and perceived quality of life in Parkinson's disease // *J. Neurol. Sci*. – 2013. – Vol. 332. – P. 136-140.
- 153 Weil R.S., Schrag A.E., Warren J.D. et al. Visual dysfunction in Parkinson's disease // *Brain*. – 2016. – Vol. 139. – P. 2827-2843.
- 154 Azulay J.P., Mesure S., Amblard B. et al. Visual control of locomotion in Parkinson's disease // *Brain*. – 1999. – Vol. 122. – P. 111-120.
- 155 Davidsdottir S., Cronin-Golomb A., Lee A. Visual and spatial symptoms in Parkinson's disease // *Vis. Res*. – 2005. – Vol. 45. – P. 1285-1296.
- 156 Wood B.H., Bilclough J.A., Bowron A. et al. Incidence and prediction of falls in Parkinson's disease: a prospective multidisciplinary study // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2002. – Vol. 72. – P. 721-725.
- 157 Nieuwboer A., Kwakkel G., Rochester L. et al. Cueing training in the home improves gait-related mobility in Parkinson's disease: the RESCUE trial // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2007. – Vol. 78. – P. 134-140.

- 158 Nonnekes J., Snijders A.H., Nutt J.G. et al. Freezing of gait: a practical approach to management // *Lancet Neurol.* – 2015. – Vol. 14. – P. 768-778.
- 159 Rolheiser T.M., Fulton H.G., Good K.P. et al. Diffusion tensor imaging and olfactory identification testing in early-stage Parkinson's disease // *J Neurol.* – 2011. – Vol. 258. – P. 1254-1260.
- 160 Meissner W.G. When does Parkinson's disease begin? From prodromal disease to motor signs // *Rev Neurol.* – 2012. – Vol. 168. – P. 809-814.
- 161 Archibald N.K., Clarke M.P., Mosimann U.P. et al. The retina in Parkinson's disease // *Brain.* – 2009. – Vol. 132. – P. 1128-1145.
- 162 Archibald N.K., Clarke M.P., Mosimann U.P. et al. Visual symptoms in Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia // *Mov. Disord.* – 2011. – Vol. 26. – P. 2387-2395.
- 163 Sauerbier A., Ray K. Chaudhuri, Parkinson's disease and vision // *Basal Ganglia.* – 2013. – Vol. 3. – P.159-163
- 164 Almer Z., Klein K.S., Marsh L. et al. Oculomotor and sensory function in Parkinson's disease // *Ophthalmology.* – 2012. – Vol. 119. – P. 178-182.
- 165 Corin M.S., Elizan T.S., Bender M.B. Oculomotor function in patients with Parkinson's disease // *J. Neurol. Sci.* – 1972. – Vol. 15. – P. 251-265.
- 166 Pinkhardt E.H., Jurgens R., Lule D. et al. Eye movement impairments in Parkinson's disease: possible role of extradopaminergic mechanisms // *BMC Neurol.* – 2012. – Vol. 12. – P. 5-8.
- 167 Gorges M., Pinkhardt E.H., Kassubek J. Alterations of eye movement control in neurodegenerative movement disorders // *J. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 658243-658254.
- 168 MacAskill M.R., Anderson T.J. Eye movements in neurodegenerative diseases // *Curr. Opin. Neurol.* – 2016. – Vol. 29. – P. 61-68.
- 169 Nebe A., Ebersbach G. Selective diplopia in Parkinson's disease: a special subtype of visual hallucination? // *Mov Disord.* – 2007. – Vol. 22(8). – P. 1175-1178.
- 170 Matsui H. et al. Impaired visual acuity as a risk factor for visual hallucinations in Parkinson's disease // *J Geriatr Psychiatry Neurol.* – 2006. – Vol. 19(1). – P. 36-40.
- 171 Silva M.F., Faria P., Regateiro F.S. et al. Independent patterns of damage within magno-, parvo- and koniocellular pathways in Parkinson's disease // *Brain.* – 2005. – Vol. 128. – P. 2260-2271.
- 172 Diederich N.J., Fénelon G., Stebbins G. et al. Hallucinations in Parkinson disease // *Nat Rev Neurol.* – 2009. – Vol. 5(6). – P. 331-342.
- 173 Pagonabarraga J. et al. Neural correlates of minor hallucinations in non-demented patients with Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2014. – Vol. 20(3). – P. 290-296.
- 174 Meppelink A.M. et al. Regional cortical grey matter loss in Parkinson's disease without dementia is independent from visual hallucinations // *Mov Disord.* – 2011. – Vol. 26(1). – P. 142-147.



- 175 Ramirez-Ruiz B. et al. Cerebral atrophy in Parkinson's disease patients with visual hallucinations // *Eur J Neurol.* – 2007. – Vol. 14(7). – P. 750-756.
- 176 Goldman J.G. et al. Visuo-perceptive region atrophy independent of cognitive status in patients with Parkinson's disease with hallucinations // *Brain.* – 2014. – Vol. 137, Pt. 3. – P. 849-814.
- 177 Harding A.J., Broe G.A., Halliday G.M. Visual hallucinations in Lewy body disease relate to Lewy bodies in the temporal lobe // *Brain.* – 2002. – Vol. 125, Pt. 2. – P. 391-403.
- 178 Stebbins G.T., Goetz C.G., Carrillo M.C. et al. Altered cortical visual processing in PD with hallucinations: an fMRI study // *Neurology.* – 2004. – Vol. 63(8). – P. 1409-1416.
- 179 Ramirez-Ruiz B. et al. Brain response to complex visual stimuli in Parkinson's patients with hallucinations: a functional magnetic resonance imaging study // *Mov Disord.* – 2008. – Vol. 23(16). – P. 2335-2343.
- 180 Kiferle L., Ceravolo R., Giuntini M. et al. Caudate dopaminergic denervation and visual hallucinations: evidence from a (1)(2)(3)I-FP-CIT SPECT study // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2014. – Vol. 20(7). – P. 761-765.
- 181 Silva M.F., Faria P., Regateiro F.S. et al. Independent patterns of damage within magno-, parvo- and koniocellular pathways in Parkinson's disease // *Brain.* – 2005. – Vol. 128. – P. 2260-2271.
- 182 Bulens C., Meerwaldt J.D., Van der Wildt G.J. et al. Effect of levodopa treatment on contrast sensitivity in Parkinson's disease // *Ann Neurol.* – 1987. – Vol. 22. – P. 365-369.
- 183 Buttner T., Kuhn W., Muller T. et al. Distorted color discrimination in 'de novo' Parkinsonian patients // *Neurology.* – 1995. – Vol. 45. – P. 386-397.
- 184 Oh Y.S., Kim J.S., Chung S.W. et al. Color vision in Parkinson's disease and essential tremor // *Eur J Neurol.* – 2011. – Vol. 18. – P. 577-583.
- 185 Muller T., Kuhn W., Buttner T. et al. Colour vision abnormalities and movement time in Parkinson's disease // *Eur J Neurol.* – 1999. – Vol. 6. – P. 711-715.
- 186 Иллариошкин С.Н. Течение болезни Паркинсона и подходы к ранней диагностике // В кн.: *Болезнь Паркинсона и расстройства движений: руков. для врачей.* – М.: НЦН РАМН, 2011. – С. 41-47.
- 187 Price M.J., Feldman R.G., Adelberg D. et al. Abnormalities in color vision and contrast sensitivity in Parkinson's disease // *Neurology.* – 1992. – Vol. 42. – P. 887-890.
- 188 Muller T., Woitalla D., Peters S. et al. Progress of visual dysfunction in Parkinson's disease // *Acta Neurol Scand.* – 2002. – Vol. 105. – P. 256-260.
- 189 Regan B.C., Freudenthaler N., Kolle R. et al. Colour discrimination thresholds in Parkinson's disease: results obtained with a rapid computer-controlled colour vision test // *Vision Res.* – 1998. – Vol. 38. – P. 3427-3431.
- 190 Frederick J.M., Rayborn M.E., Laties A.M. et al. Dopaminergic Neurons in the Human Retina // *J Comp Neurol.* – 1982. – Vol. 210(1). – P. 65-79.
- 191 Uc E.Y., Rizzo M., Anderson S.W. et al. Visual dysfunction in Parkinson disease without dementia // *Neurology.* – 2005. – Vol. 65. – P. 1907-1913.

- 192 Williams-Gray C.H., Mason S.L., Evans J.R. et al. The CamPaIGN study of Parkinson's disease: 10-year outlook in an incident population-based cohort // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2013. – Vol. 84. – P. 1258-1264.
- 193 Lawson R.A., Yarnall A.J., Duncan G.W. et al. Quality of life and mild cognitive impairment in early Parkinson's disease: does subtype matter? // *J Parkinsons Dis*. – 2014. – Vol. 4. – P. 331-336.
- 194 Garcia-Diaz A.I., Segura B., Baggio H.C. et al. Structural MRI correlates of the MMSE and pentagon copying test in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2014. – Vol. 20. – P. 1405-1410.
- 195 Stella F., Gobbi L.T., Gobbi S. et al. Early impairment of cognitive functions in Parkinson's disease // *Arq Neuropsiquiatr*. – 2007. – Vol. 65. – P. 406-410.
- 196 Saur R., Maier C., Milian M. et al. Clock test deficits related to the global cognitive state in Alzheimer's and Parkinson's disease // *Dement Geriatr Cogn Disord*. – 2012. – Vol. 33. – P. 59-72.
- 197 Kulkarni O., Lafaver K., Tarsy D. The “floating door sign” in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2013. – Vol. 19. – P. 825-836.
- 198 Pereira J.B., Junque C., Marti M.J. et al. Neuroanatomical substrate of visuospatial and visuoperceptual impairment in Parkinson's disease // *Mov Disord*. – 2009. – Vol. 24. – P. 1193-1199.
- 199 Hipp G., Diederich N.J., Pieria V. et al. Primary vision and facial emotion recognition in early Parkinson's disease // *J Neurol Sci*. – 2014. – Vol. 338. – P. 178-182.
- 200 Martinez-Martin P., Schapira A.H. et al. Prevalence of nonmotor symptoms in Parkinson's disease in an international setting; Study using nonmotor symptoms questionnaire in 545 patients // *Mov Disord*. – 2007. – Vol. 22. – P. 1623-1629.
- 201 Romenets S.R., Wolfson C., Galatas C. et al. Validation of the non-motor symptoms questionnaire (NMS-Quest) // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2012. – Vol. 18. – P. 54-58.
- 202 Hoehn M.M., Yahr M.D. Parkinsonism: onset, progression, and mortality // *Neurology*. – 1967. – Vol. 17. – P. 427-442.
- 203 Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2008. – Vol. 79(4). – P. 368-376.
- 204 Gibb W.R., Lees A.J. The significance of the Lewy body in the diagnosis of idiopathic Parkinson's disease // *Neuropathol Appl Neurobiol*. – 1989. – Vol. 15(1). – P. 27-44.
- 205 Colosimo C., Hughes A.J., Kilford L. et al. Lewy body cortical involvement may not always predict dementia in Parkinson's disease // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2003. – Vol. 74(7). – P. 852-856.
- 206 Titova N., Chaudhuri K.R. Non-motor Parkinson disease: new concepts and personalised management // *The Medical Journal of Australia*. – 2018. – Vol. 208. – P. 375-415.

- 207 Goetz C.G., Stanley F. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Process, format, and clinimetric testing plan // *Mov. Disord.* – 2007. – Vol. 22. – P. 41-47.
- 208 Seppi K., Weintraub D., Coelho M. et al. The Movement Disorder Society evidence-based medicine review update: treatments for the non-motor symptoms of Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2011. – Vol. 26, Suppl 3. – P. S42-S80.
- 209 Moro E., Schüpbach M., Wächter T. et al. Referring Parkinson's disease patients for deep brain stimulation: a RAND/UCLA appropriateness study // *Journal of Neurology.* – 2016. – Vol. 263. – P. 112-119.
- 210 Hosaka T., Yamashita T., Tamaoka A. et al. Extracellular RNAs as Biomarkers of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Neurodegenerative Diseases // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20(13). – P. 3148-1353.
- 211 Jenner P., Morris H.R., Robbins T.W. Parkinson's Disease – the Debate on the Clinical Phenomenology, Aetiology, Pathology and Pathogenesis // *J Parkinsons Dis.* – 2013. – Vol. 3(1). – P. 1-11.
- 212 Viswambharan V., Thanseem I., Vasu M.M. et al. miRNAs as biomarkers of neurodegenerative disorders // *Biomark Med.* – 2017. – Vol. 11(2). – P. 151-167.
- 213 Yamashita C., Tomiyama H., Funayama M. et al. Evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease // *Neurobiol Aging.* – 2014. – Vol. 35(7). – P. e17-e21.
- 214 Paulson H. Repeat expansion diseases // *Handb Clin Neurol.* – 2018. – Vol. 147. – P. 105-123.
- 215 Zhang Y., Xu W., Nan S. et al. MicroRNA-326 inhibits apoptosis and promotes proliferation of dopaminergic neurons in Parkinson's disease through suppression of KLK7-mediated MAPK signaling pathway // *J. Mol. Neurosci.* – 2019. – Vol. 69. – P. 197-214.
- 216 Sadlon A., Takousis P., Alexopoulos P. et al. miRNAs Identify Shared Pathways in Alzheimer's and Parkinson's Diseases // *Trends Mol Med.* – 2019. – Vol. 25(8). – P. 662-672.
- 217 Zhao L., Wang Z. MicroRNAs: game changers in the regulation of  $\alpha$ -synuclein in Parkinson's disease // *Parkinsons Dis.* – 2019. – Vol. 2019(2). – P. 1-10.
- 218 Qin L.X., Tan J.Q., Zhang H.N. et al. Preliminary study of hsa-miR-626 change in the cerebrospinal fluid of Parkinson's disease patients // *J. Clin. Neurosci.* – 2019. – Vol. 70. – P. 198-201.
- 219 Patil K.S., Basak I., Dalen I. et al. Combinatory microRNA serum signatures as classifiers of Parkinson's disease // *Parkinsonism RelatDisord.* – 2019. – Vol. 64. – P. 202-210.
- 220 Behbahanipour M., Peymani M., Salari M. et al. Expression Profiling of Blood microRNAs 885, 361, and 17 in the Patients with the Parkinson's disease: Integrating Interaction Data to Uncover the Possible Triggering Age-Related Mechanisms // *Sci Rep.* – 2019. – Vol. 9(1). – P. 13759-13856.
- 221 Brennan S., Keon M., Liu B. et al. Panoramic Visualization of Circulating MicroRNAs Across Neurodegenerative Diseases in Humans // *Mol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 56. – P. 7380-7407.

222 Cao X.Y., Lu J.M., Zhao Z.Q. et al. MicroRNA biomarkers of Parkinson's disease in serum exosome-like microvesicles // *Neurosci. Lett.* – 2017. – Vol. 644. – P. 94-99.

223 Chen L., Yang J., Lü J. et al. Identification of aberrant circulating miRNAs in Parkinson's disease plasma samples // *Brain Behav.* – 2018. – Vol. 8. – P. e00941-e00952?.

224 D'Anca M., Fenoglio C., Serpente M. et al. Exosome determinants of physiological aging and age-related neurodegenerative diseases // *Front. Aging Neurosci.* – 2019. – Vol. 11. – P. 232-240.

225 Hu Y.B., Zhang Y.F., Wang H. et al. miR-425 deficiency promotes necroptosis and dopaminergic neurodegeneration in Parkinson's disease // *Cell Death Dis.* – 2019. – Vol. 10. – P. 589-595.

226 Kakati T., Bhattacharyya D.K., Barah P. et al. Comparison of methods for differential co-expression analysis for disease biomarker prediction // *Comput. Biol. Med.* – 2019. – Vol. 113. – P. 103380-103480

227 Kondybayeva A.M., Akimniyazova A.N., Kamenova S.U. et al. The characteristics of miRNA binding sites in mRNA of ZFH3 gene and its orthologs // *Vavilov J. Genet. Breed.* – 2018. – Vol. 22. – P. 438-444.

228 Niyazova R., Berillo O., Alybaeva A. et al. miR-1322 binding sites in paralogous and orthologous genes // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1-7.

229 Jurjević I., Miyajima M., Ogino I. et al. Decreased expression of hsa-miR-4274 in cerebrospinal fluid of normal pressure hydrocephalus mimics with Parkinsonian syndromes // *J. Alzheimers Dis.* – 2017. – Vol. 56. – P. 317-325.

230 Marques T.M., Kuiperij H.B., Bruinsma I.B. et al. MicroRNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for Parkinson's disease and multiple system atrophy // *Mol. Neurobiol.* – 2017. – Vol. 54. – P. 7736-7745.

231 Starhof C., Hejl A.M., Heegaard N. et al. The biomarker potential of cell-free microRNA from cerebrospinal fluid in Parkinsonian syndromes // *Mov. Disord.* – 2019. – Vol. 34. – P. 246-254.

232 Uwatoko H., Hama Y., Iwata I.T. et al. Identification of plasma microRNA expression changes in multiple system atrophy and Parkinson's disease // *Mol. Brain.* – 2019. – Vol. 12. – P. 49-55.

233 Chen Y., Zheng J., Su L. et al. Increased salivary microRNAs that regulate DJ-1 gene expression as potential markers for Parkinson's disease // *Front. Aging Neurosci.* – 2020. – Vol. 12. – P. 210-216.

234 Fejes Z., Erdei J., Pócsi M. et al. Elevated pro-inflammatory cell-free MicroRNA levels in cerebrospinal fluid of premature infants after intraventricular hemorrhage // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. – P. 6870-6885.

235 Nie C., Sun Y., Zhen H. et al. Differential expression of plasma exo-miRNA in neurodegenerative diseases by next-generation sequencing // *Front. Neurosci.* – 2020. – Vol. 14. – P. 438-443.

236 Ozdilek B., Demircan B. Serum microRNA expression levels in Turkish patients with Parkinson's disease // *Int. J. Neurosci.* – 2020. – Vol. 130. – P. 1-9.

- 237 Ravanidis S., Bougea A., Papagiannakis N. Validation of differentially expressed brain-enriched microRNAs in the plasma of PD patients // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* – 2020. – Vol. 7. – P. 1594-1607.
- 238 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A. et al. Binding sites of miR-1273 family on the mRNA of target genes // *Biomed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 620530-620539.
- 239 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A. et al. miR-3960 binding sites with mRNA of human genes // *Bioinformation.* – 2014. – Vol. 10. – P. 423-427.
- 240 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A. et al. The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096 and miR-5585-3p in the mRNAs of human genes // *Biomed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 720715-720719.
- 241 Atambayeva S., Niyazova R., Ivashchenko A. et al. The binding sites of miR-619-5p in the mRNAs of human and orthologous genes // *BMC Genomics.* – 2017. – Vol. 18. – P. 428-438.
- 242 Kondybayeva A., Akimniyazova A., Kamenova S. et al. Prediction of miRNA interaction with mRNA of stroke candidate genes // *Neurol. Sci.* – 2020. – Vol. 41. – P. 799-808.
- 243 Aisina D., Niyazova R., Atambayeva S. et al. Prediction of clusters of miRNA binding sites in mRNA candidate genes of breast cancer subtypes // *Peer J.* – 2019. – Vol. 7. – P. e8049- e8055.
- 244 Mukushkina D., Aisina D., Pyrkova A. et al. In silico prediction of miRNA interactions with candidate atherosclerosis gene mRNAs // *Front. Genet.* – 2020. – Vol. 11. – P. 605054-605065.
- 245 Berillo O., Régnier M., Ivashchenko A. Binding of intronic miRNAs to the mRNAs of host genes encoding intronic miRNAs and proteins that participate in tumourigenesis // *Comput. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 43. – P. 1374-1381.
- 246 Aldridge, S. , & Hadfield, J.. et al. Introduction to miRNA profiling technologies and cross-platform comparison. *Methods in Molecular Biology* // *Methods in Molecular Biology.* – 2012. – Vol. 822. – P. 19-31.
- 247 Rosas-Hernandez H., Chigurupati S., Raymick J. et al. Identification of altered microRNAs in serum of a mouse model of Parkinson's disease // *Neurosci. Lett.* – 2018. – Vol. 687. – P. 1-9.
- 248 Ramaswamy P., Yadav R., Pal P.K. et al. Clinical application of circulating microRNAs in Parkinson's disease: the challenges and opportunities as diagnostic biomarker // *Ann. Indian Acad. Neurol.* – 2020. – Vol. 23. – P. 84-97.
- 249 Lu J., Xu Y., Quan Z. et al. Dysregulated microRNAs in neural system: implication in pathogenesis and biomarker development in Parkinson's disease // *Neuroscience.* – 2017. – Vol. 365. – P. 70-82.
- 250 Li L., Xu J., Wu M. et al. Protective role of microRNA-221 in Parkinson's disease // *Bratisl. Lek. Listy.* – 2018. – Vol. 119. – P. 22-27.
- 251 Liu W., Li L., Liu S. et al. MicroRNA expression profiling screen miR-3557/324-targeted CaMK/mTOR in the rat striatum of Parkinson's disease in regular aerobic exercise // *Biomed Res. Int.* – 2019. – Vol. 2019(4). – P. 1-12.

- 252 Martinez B., Peplow P.V. MicroRNAs in Parkinson's disease and emerging therapeutic targets // *Neural Regen. Res.* – 2017. – Vol. 12. – P. 1945-1959.
- 253 Quinlan S., Kenny A., Medina M. et al. MicroRNAs in neurodegenerative diseases // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 334. – P. 309-343.
- 254 Recabarren D., Alarcón M. Gene networks in neurodegenerative disorders // *Life Sci.* – 2017. – Vol. 183. – P. 83-97.
- 255 Ren Y., Li H., Xie W. et al. MicroRNA-195 triggers neuroinflammation in Parkinson's disease in a Rho-associated kinase 1-dependent manner // *Mol. Med. Rep.* – 2019. – Vol. 19. – P. 5153-5161.
- 256 Singh A., Sen D. MicroRNAs in Parkinson's disease // *Exp. Brain Res.* – 2017. – Vol. 235. – P. 2359-2374.
- 257 Wang Y., Yang Z., Le W. Tiny but mighty: promising roles of microRNAs in the diagnosis and treatment of Parkinson's disease // *Neurosci. Bull.* – 2017. – Vol. 33. – P. 543-551.
- 258 Wang L., Zhang L. Circulating exosomal miRNA as diagnostic biomarkers of neurodegenerative diseases // *Front. Mol. Neurosci.* – 2020. – Vol. 13. – P. 53-1-53-11.
- 259 Rostamian Delavar M., Baghi M., Safaeinejad Z. et al. Differential expression of miR-34a, miR-141, and miR-9 in MPP+-treated differentiated PC12 cells as a model of Parkinson's disease // *Gene.* – 2018. – Vol. 662. – P. 54-65.
- 260 Titze-de-Almeida R., Titze-de-Almeida S.S. miR-7 replacement therapy in Parkinson's disease // *Curr. Gene Ther.* – 2018. – Vol. 18. – P. 143-153.
- 261 Tolosa E., Botta-Orfila T., Morató X. et al. MicroRNA alterations in iPSC-derived dopaminergic neurons from Parkinson disease patients // *Neurobiol. Aging.* – 2018. – Vol. 69. – P. 283-291.
- 262 Yue Dong., Li-li Han., Zhong-Xin Xu. et al. Suppressed microRNA-96 inhibits iNOS expression and dopaminergic neuron apoptosis through inactivating the MAPK signaling pathway by targeting CACNG5 in mice with Parkinson's disease // *Molecular Medicine.* – 2018. – Vol. 24. – P. 61-214.
- 263 Londin E., Loher P., Telonis A.G. et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2015. – Vol. 112. – P. 1106-1115.
- 264 Mortazavi A., Williams B.A., McCue K. et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq // *Nat. Methods.* – 2008. – Vol. 5. – P. 621-628.
- 265 Alexander G.E., DeLong M.R., Strick P.L. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex // *Annu Rev Neurosci.* – 1986. – Vol. 9. – P. 357-381.
- 266 Diederich N.J., Goetz C.G., Stebbins G.T. Repeated visual hallucinations in Parkinson's disease as disturbed external/internal perceptions: focused review and a new integrative model // *Mov Disord.* – 2005. – Vol. 20. – P. 130-140.

267 Pablo Martinez-Martin, Carmen Rodriguez-Blazquez. et al. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2011. – Vol. 26. – P. 399-406.

268 Ivashchenko A.T., Pyrkova A.Y., Alybayeva A. et al. Prediction of miRNA binding sites in mRNA // *Bioinformation.* – 2016. – Vol. 12. – P. 237-240.

269 Kool E.T. Hydrogen bonding, base stacking, and steric effects in DNA replication // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* – 2001. – Vol. 30. – P. 1-22.

270 Lemieux S., Major F. RNA canonical and non-canonical base pairing types: a recognition method and complete repertoire // *Nucleic Acids Res.* – 2002. – Vol. 30. – P. 4250-4263.

271 Leontis N.B., Stombaugh J., Westhof E. The non-Watson-Crick base pairs and their associated isostericity matrices *Nucleic Acids Res.* – 2002. – Vol. 30. – P. 3497-3531.

272 Garg A., Heinemann U. A novel form of RNA double helix based on G·U and C·A+ wobble base pairing // *RNA.* – 2018. – Vol. 24. – P. 209-218.

273 Kamenova S., Aralbayeva A., Kondybayeva A. et al. Evolutionary Changes in the Interaction of miRNA With mRNA of Candidate Genes for Parkinson's Disease // *Front. Genet.* – 2021. – Vol. 12. – P. 647288-647316.

# ПРИЛОЖЕНИЕ А

## Акты внедрения

### АКТ

#### Внедрения результатов научно-исследовательской работы

**Название предложения для внедрения:** Использование унифицированной шкалы оценки болезни Паркинсона международного общества расстройств движений для оценки моторных и немоторных симптомов у пациентов с болезнью Паркинсона (англ. Movement Disorders Society - Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS)) в клинической практике.

**Автор предложения (Ф.И.О., должность, место работы):** PhD докторант Аралбаева А.Д., Профессор кафедры нервных болезней с курсом нейрохирургии, д.м.н. Каменова С.У., глав. врач ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Умарова З.И., глав. внештатный невропатолог УЗ г.Алматы Кужыбаева К.К., зам. глав. врача ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Жармухамбетова Л.Т.

**Название темы, при выполнении которой сделано предложение:** «Клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан»

**Предложение реализует (новое лекарство, препарат, изделие, устройство, метод диагностики, лечения, реабилитации и т.д.)**

**Форма внедрения (методические рекомендации, технические документы выпуск устройства, препарата, обучение специалистов, научные публикации и т.д.)**

**Предложение реализовано в сфере здравоохранения, медицинской науки, в отрасли народного хозяйства (подчеркнуть)**

**Уровень внедрения: республиканский, регионарный, местный (подчеркнуть)**

**Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется:** ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4», Кабинет невропатолога.

**Количество наблюдений, в которых применено предложение:** 30

**Краткое заключение об эффективности, пользе предложения:** Использование унифицированной шкалы оценки болезни Паркинсона международного общества расстройств движений позволяет оценить степень повреждения моторных и немоторных симптомов, прогнозировать дальнейшее течение заболевания и подобрать адекватную терапию, тем самым, отодвинув глубокую инвалидизацию больного на более поздний период.

Главный врач  
ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4»

УЗ г. Алматы  
Умарова З.И.

**Исполнители темы:**

PhD докторант Аралбаева А.Д.

Профессор кафедры нервных болезней с курсом  
нейрохирургии, д.м.н.

Каменова С.У.

Глав. внештатный невропатолог УЗ г. Алматы

Кужыбаева К.К.

Зам. глав. врача ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Жармухамбетова Л.Т.





**АКТ**  
**Внедрения результатов научно-исследовательской работы**

**Название предложения для внедрения:** Использование шкалы оценки состояния когнитивных функций и психического статуса (краткая шкала оценки психического статуса) Mini-Mental State Examination у пациентов с болезнью Паркинсона в клинической практике.

**Автор предложения (Ф.И.О., должность, место работы):**

*PhD докторант Аралбаева А.Д., Профессор кафедры нервных болезней с курсом нейрохирургии, д.м.н. Каменова С.У., глав. врач ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Умарова З.И., глав. внештатный невропатолог УЗ г.Алматы Кужыбаева К.К., зам. глав. врача ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Жармухамбетова Л.Т.*

**Название темы, при выполнении которой сделано предложение:** «Клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан»

**Предложение реализует (новое лекарство, препарат, изделие, устройство, метод диагностики, лечения, реабилитации и т.д.)**

**Форма внедрения (методические рекомендации, технические документы выпуск устройства, препарата, обучение специалистов, научные публикации и т.д.)**

**Предложение реализовано в сфере здравоохранения, медицинской науки, в отрасли народного хозяйства (подчеркнуть)**

**Уровень внедрения: республиканский, регионарный, местный (подчеркнуть)**

**Наименование учреждения и его подразделения, где данное предложение используется:** ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4», Кабинет невропатолога.

**Количество наблюдений, в которых применено предложение:** 30

**Краткое заключение об эффективности, пользе предложения:** Использование комплекса диагностики нарушений когнитивных функций нейропсихологическим тестированием позволяет оценить степень повреждения когнитивных функций и психического статуса, прогнозировать дальнейшее течение заболевания и подобрать адекватную терапию, тем самым, отодвинув глубокую инвалидизацию больного на более поздний период.

Главный врач  
ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4»

УЗ г. Алматы

Умарова З.И.

**Исполнители темы:**

*PhD докторант Аралбаева А.Д.*

*Профессор кафедры нервных болезней с курсом нейрохирургии, д.м.н.*

*Каменова С.У.*

*Глав. внештатный невропатолог УЗ г. Алматы*

*Кужыбаева К.К.*

*Зам. глав. врача ГКП на ПХВ «Городская поликлиника №4» Жармухамбетова Л.Т.*



# ПРИЛОЖЕНИЕ Б

## Патент

  
ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ      РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН  
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ**  
**PATENT**

№ 5656

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2020/0891.2

(22) 14.01.2019

(45) 11.12.2020

(54) Паркинсон ауруын ерте диагностика тәсілі  
Способ ранней диагностики болезни Паркинсона  
Method for early diagnosis of Parkinson's disease

(73) Аралбаева Асель Досымхановна (KZ)  
Aralbayeva Assel Dosymkhanovna (KZ)

(72) Аралбаева Асель Досымхановна (KZ)      Aralbayeva Assel Dosymkhanovna (KZ)  
Каменова Салтанат Уалихановна (KZ)      Kamenova Saltanat Ualikhanovna (KZ)  
Кужыбаева Карлыгаш Кенжеахметовна (KZ)      Kuzhybayeva Karlygash Kenzheakhmetovna (KZ)  
Фахрадиев Ильдар Рафисович (KZ)      Fakhradiyev Ildar Rafisovich (KZ)



ЭЦҚ кол қойылды  
Подписано ЭЦП  
Signed with EDS

Е. Оспанов  
Е. Оспанов  
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ директоры  
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»  
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 – Скрининговая анкета - Visual Impairment in Parkinson's Disease

Домены	Вопросы	Возможный диагноз	Вопрос
Глазная поверхность	Слезная жидкость, веки, конъюнктив, роговица	Болезнь сухого глаза, блефарит, блефароспазм, конъюнктивит, низкая частота моргания глаз,	1: У меня нечеткое зрение, когда я читаю или работаю на компьютере. 2: У меня ощущение жжения или песка в глазах. 3: У меня слизь / слизь или частицы в глазах или веках. 4: у меня слезящиеся глаза.
Внутриглазый	Хрусталик, сосудистая оболочка, макула, сетчатка	Диабетическая ретинопатия, дегенерация желтого пятна, отслоение сетчатки, гипертоническая ретинопатия, микрососудистая ретинопатия, катаракта, аномалии рефракции, глаукома	5: Когда я читаю, некоторые буквы исчезают. 6. Линии должны быть прямыми, волнистыми или размытыми. 7: Я не выйду один вечером или ночью, потому что мое ночное зрение недостаточно. 8. Когда я еду ночью, встречные фары вызывают больше яркого света, чем раньше.
Глазо двигательный	Движения глаз, бинокулярное сотрудничество	Косоглазие, недостаточность конвергенции, параличи 3-го, 4-го и 6-го нервов, нистагм, нарушение зрения	9: За быстрыми движениями трудно следить глазами. 10: у меня двоение в глазах. 11: я могу читать лучше с одним закрытым глазом. 12: у меня проблемы с восприятием глубины. Мне трудно сказать, какой из двух предметов ближе.
Зрительного нерва	Заболевание зрительного нерва	Оптикопатия, глаукома (имитирует: структурное поражение, гемианопсия)	13: Цвета кажутся бледнее, чем раньше. 14: Я не могу читать простой текст на цветном или сером фоне. 15: Я сталкиваюсь с объектами или людьми или чувствую, что части моего поля зрения отсутствуют. 16. У меня проблемы с быстрым изменением интенсивности света. (Например, проезд через туннель)

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

### Тест Поппельрейтера (зашумленные рисунки).

Тест Поппельрейтера имеет пять перекрывающихся объектов.

В процессе исследования требуется от участников вслух назвать 5 объектов, которые они могли видеть на каждой из двух фигур. Регистрируются как правильные ответы, так и ошибки.

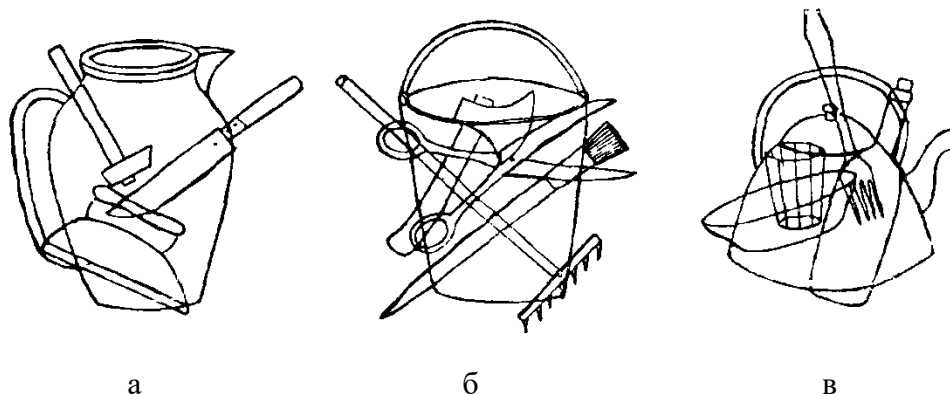
Оценивается также спонтанная активность больного, наличие тактильного, моторного или зрительного игнорирования, персевераций. Оценка результатов обследования проводится по 4-балльной системе.

Правильное выполнение какого-либо задания оценивается 0 баллов.

При замедленном, неуверенном, с речевым анализом, но самостоятельном, без помощи врача выполнении ставится оценка 1 балл.

Оценка 2 балла означает наличие у больного четкого неврологического дефекта, пациент мог справиться с заданием только при наличии посторонней помощи.

Оценка 3 балла означает полную невозможность выполнения задания.



а – 4 объектов; б – 5 объектов; в – 5 объектов

Рисунок Г. – Тест Поппельрейтера

## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Таблица Д.1 – Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS)

Я испытываю напряженность, мне не по себе
– все время
– часто
– время от времени
– совсем не испытываю
Мне кажется, что я стал все делать очень медленно
– практически все время
– часто
– иногда
– совсем нет
Я испытываю внутреннее напряжение или дрожь
– совсем не испытываю
– иногда
– часто
– очень часто
То, что приносило мне большое удовольствие, и сейчас вызывает такое же
– определенно, это так
– наверное, это так
– лишь в очень малой степени это так
– это совсем не так
Я испытываю страх, кажется, будто что-то ужасное может вот-вот случиться
– определенно, это так, и страх очень сильный
– да, это так, но страх не очень сильный
– иногда, но это меня не беспокоит
– совсем не испытываю
Я не слежу за своей внешностью
– определенно, это так
– я не уделяю этому столько времени, сколько нужно
– может быть, я стал меньше уделять этому внимания
– я слежу за собой так же, как и раньше.
Я испытываю неусидчивость, словно мне постоянно нужно двигаться
– определенно, это так
– наверное, это так
– лишь в некоторой степени это так
– совсем не испытываю
Я способен рассмеяться и увидеть в том или ином событии смешное
– определенно, это так
– наверное, это так
– лишь в очень малой степени это так
– совсем не способен

Беспокойные мысли крутятся у меня в голове
– постоянно
– большую часть времени
– время от времени и не так часто
– только иногда
Я считаю, что мои дела (занятия, увлечения) могут принести мне чувство удовлетворения
– точно так же, как и обычно
– да, но не в той степени, как раньше
– значительно меньше, чем обычно
– совсем так не считаю
У меня бывает внезапное чувство паники
– очень часто
– довольно часто
– не так уж часто
– совсем не бывает
Я испытываю бодрость
– совсем не испытываю
– очень редко
– иногда
– практически все время
Я легко могу сесть и расслабиться
– определенно, это так
– наверное, это так
– лишь изредка это так
– совсем не могу
Я могу получить удовольствие от хорошей книги, радио- или телепрограммы
– часто
– иногда
– редко
–
очень редко

## ПРИЛОЖЕНИЕ Е

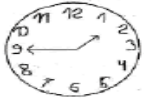
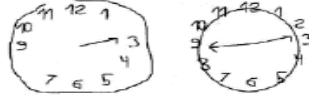

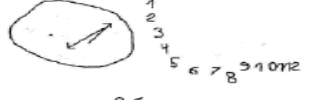
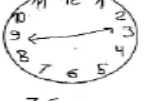
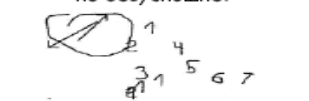




<p style="text-align: center;"><b>10 баллов – норма</b> Нарисован круг, цифры в правильных местах, стрелки показывают заданное время.</p> 	<p style="text-align: center;"><b>4 балла</b> Утрачена целостность часов, часть чисел отсутствует или расположена вне круга.</p> 
<p style="text-align: center;"><b>9 баллов</b> Незначительные неточности расположения стрелок.</p> 	<p style="text-align: center;"><b>3 балла</b> Числа и циферблат более не связаны друг с другом.</p> 
<p style="text-align: center;"><b>8 баллов</b> Более заметные ошибки в расположении стрелок.</p> 	<p style="text-align: center;"><b>2 балла</b> Деятельность больного показывает, что он пытается выполнить инструкцию, но безуспешно.</p> 
<p style="text-align: center;"><b>7 баллов</b> Стрелки показывают совершенно неправильное время.</p> 	<p style="text-align: center;"><b>1 балл</b> Больной не делает попыток выполнить инструкцию.</p> <p>Выполнение данного теста нарушается как при деменциях лобного типа, так и при альцгеймеровской деменции и деменциях с преимущественным поражением подкорковых структур.</p> <p>Для дифференциального диагноза данных состояний при неправильном самостоятельном рисунке больного просят дорисовать стрелки на уже нарисованном (врачом) циферблате с числами.</p> 
<p style="text-align: center;"><b>6 баллов</b> Стрелки не выполняют свою функцию (например, нужное время обведено кружком).</p> 	<p>При деменциях лобного типа и деменциях с преимущественным поражением подкорковых структур легкой и умеренной выраженности страдает лишь самостоятельное рисование, в то время как способность расположения стрелок на уже нарисованном циферблате сохраняется.</p> <p>При деменции альцгеймеровского типа нарушается как самостоятельное рисование, так и способность расположения стрелок на уже готовом циферблате.</p>
<p style="text-align: center;"><b>5 баллов</b> Неправильное расположение чисел на циферблате: они следуют в обратном порядке (против часовой стрелки) или расстояние между числами неодинаковое.</p> 	

Рисунок Е.1 – Тест рисование часов

## ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

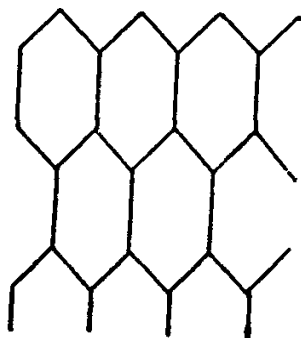


Рисунок Ж.1 – Проба Руппа



## ПРИЛОЖЕНИЕ И

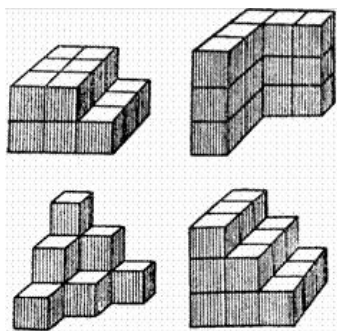


Рисунок И.1 – Проба Йеркса

## ПРИЛОЖЕНИЕ К

### Монреальская шкала оценки когнитивных функций

ИМЯ: \_\_\_\_\_  
 Образование: \_\_\_\_\_  
 Пол: \_\_\_\_\_ Дата рождения: \_\_\_\_\_  
 ДАТА: \_\_\_\_\_

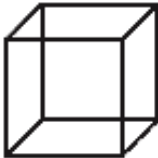
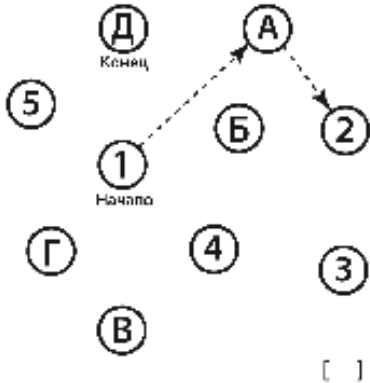
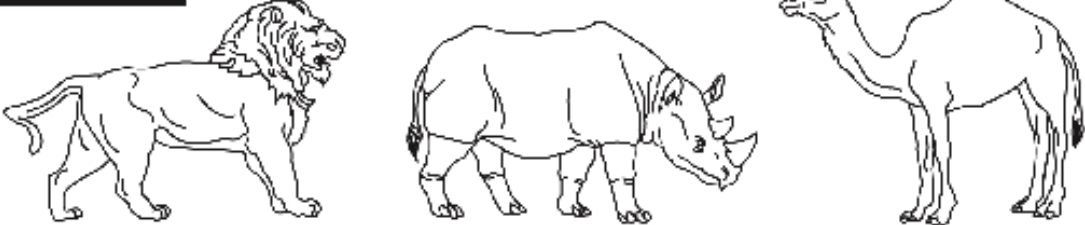
Зрительно-конструктивные/исполнительные навыки		 Скопируйте куб		Нарисуйте ЧАСЫ (Длина минут двенадцать) (3 балла)			БАЛЛЫ          _____/5		
		<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>		
НАЗЫВАНИЕ							_____/3		
ПАМЯТЬ		Прочтите список слов, используя для этого 2 минуты. Попробуйте повторить слова через 5 минут.		ЛИЦО <input type="checkbox"/>	БАРХАТ <input type="checkbox"/>	ЦЕРКОВЬ <input type="checkbox"/>	ФИАЛКА <input type="checkbox"/>	КРАСНЫЙ <input type="checkbox"/>	нет баллов
ВНИМАНИЕ		Прочтите список цифр (1 цифра/сек). Используемый должен повторить их в обратном порядке.		<input type="checkbox"/> 2 1 8 5 4				/2	
Прочтите ряд букв. Испытуемый должен хлопнуть рукой на каждую букву А. Нет баллов при > 2 ошибок.		<input type="checkbox"/> Ф Б А В М Н А А Ж К Л Е А Ф А К Д Е А А А Ж А М О Ф А А Б					_____/1		
Серийное вычитание по 7 из 100.		<input type="checkbox"/> 93	<input type="checkbox"/> 86	<input type="checkbox"/> 79	<input type="checkbox"/> 72	<input type="checkbox"/> 65	_____/3		
РЕЧЬ		Повторите: Я знаю только одно, что Иван – это тот, кто может сделать панно.					_____/2		
Бесплатная речь: за одну минуту назовите максимальное количество слов, начиная с буквы Л.		<input type="checkbox"/> _____ (N ≥ 1 слово)					_____/1		
АБСТРАКЦИЯ		Что общего между словами, например, багет-блинок – фрукты		<input type="checkbox"/> поезд – велосипед			<input type="checkbox"/> часы – лакейка		/2
ОТСРОЧЕННОЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ		Необходимо назвать слова БЕЗ ПОДСКАЗКИ		ЛИЦО <input type="checkbox"/>	БАРХАТ <input type="checkbox"/>	ЦЕРКОВЬ <input type="checkbox"/>	ФИАЛКА <input type="checkbox"/>	КРАСНЫЙ <input type="checkbox"/>	Баллы только за слова без подсказки
ДОПОЛНИТЕЛЬНО ПО ЖЕЛАНИЮ		Годовая категория							
Максимальный балл									
ОРИЕНТАЦИЯ		<input type="checkbox"/> Дата	<input type="checkbox"/> Месяц	<input type="checkbox"/> Год	<input type="checkbox"/> День недели	<input type="checkbox"/> Место	<input type="checkbox"/> Город	_____/6	
© Z.Nasreddine MD Version 7.1		<a href="http://www.mocatest.org">www.mocatest.org</a>			Норма: 25 / 30		КОЛИЧЕСТВО БАЛЛОВ _____/30		
Проведено:					перевод: Позилина О. В., Смирнова А. Ю.		Сделать * Загл. если образование ≤ 12		

Рисунок К.1 – Монреальская шкала оценки когнитивных функций

# ПРИЛОЖЕНИЕ Л

## Опросник немоторных симптомов

### Опросник немоторных симптомов

Этот вопросник должен быть заполнен и передан вашему врачу общей практики, специалисту или медсестре по Паркинсону при следующем назначении. Спасибо.

**ФИО** ..... **Дата:** .....

**Возраст:** ..... **Пол:** Муж  Жен

#### Немоторные проблемы болезни Паркинсона


Моторные симптомы Паркинсона хорошо известны. Однако иногда некоторые проблемы могут возникать как часть состояния или его лечения. Важно, чтобы врач знал об этом, особенно если они вам неприятны.

Ниже приведен ряд проблем. Пожалуйста, отметьте поле «Да», если вы испытали это в течение последнего месяца. Врач или медсестра могут задать вам несколько вопросов, чтобы помочь решить. Если вы не испытали проблему в прошлом месяце, отметьте поле «Нет». Вы должны ответить «Нет», даже если у вас была проблема в прошлом, но не в прошлом месяце.

- |   | да                       | нет                      |
|---|--------------------------|--------------------------|
| 1. Слюнотечение во время дневного дня   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Потеря или изменение вашей способности к вкусу или запаху.                                       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Трудность с глотанием пищи или напитка или проблемы с удушьем.                                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. Рвота или чувство болезни (тошнота).   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. Запор (менее трех дефекаций в неделю) или необходимость напрягаться, чтобы прошел стул.          | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. Недержание мочи.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. Ощущение того, что опорожнение кишечника является неполным после того, как сходил в туалет.      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Чувство срочности прохождения мочи заставляет вас спешить в туалет.                              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. Регулярно встаете ночью, чтобы помочиться.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. Необъяснимые боли (не из-за известных состояний, таких как артрит).                             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. Необъяснимое изменение веса (не из-за изменения диеты).   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Забывать вещи которые происходило недавно или забывать делать.                                  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Потеря интереса к тому, что происходит вокруг вас или потерять интерес что-то делать.           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 14. Увидеть или услышать то, что вам известно или сказано, нет.                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 15. Нарушена сосредоточенность  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 16. Чувство грустного, «низкого», подавлено.  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 17. Чувство тревоги, страха или паники.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 18. Чувствую себя менее заинтересованным в половом акте или более заинтересованным в половом акте . | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 19. Нахожу себя, трудно во время занятия половым актом, когда пытаюсь.                              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 20. Чувство легкого головокружения, или слабости от сидения или в положение лежи.                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 21. Падение   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 22. Нахождение бодрствование трудно во время занятий, таких как работа, вождение или еда.           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 23. Трудность заснуть ночью или спать по ночам.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 24. Интенсивные, яркие или пугающие сны.  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 25. Разговариваете или двигаетесь во сне, как будто вы «играете роль» во сне.                       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 26. Неприятные ощущения в ногах ночью или во время отдыха, и ощущение, что вам нужно двигаться.     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 27. Отек ног  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 28. Чрезмерное потоотделение  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 29. Двойное зрение.   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 30. Верить то что вещи происходят с вами но другие люди говорят что с вами не происходят.           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## ПРИЛОЖЕНИЕ М

### Выписка из протокола (ЛЭК)

	<b>«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ</b> <b>АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»</b>	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №9 (73)

**ВЫПИСКА ИЗ ПРОТОКОЛА**  
**Заседания № 9 (73)**  
Локальная этическая комиссия (ЛЭК)  
АО «Национальный медицинский университет»

Дата заседания: 26 сентября 2018 года.

Присутствовали:

**Председатель:** Алтынбеков С.А. – д.м.н., профессор, исполнительный директор УМО РУМС


**Заместитель председателя:** Жусупов Б.С. - проректор по исследовательской деятельности

**Секретарь:** Тажисва А.Е.

**Члены Локальной Этической Комиссии (ЛЭК):**

1. Балмуханова А.В. - д.м.н., профессор, руководитель департамента науки и инноваций
2. Айтхожин Г.К. – д.м.н., профессор кафедры хирургических болезней №3;
3. Супнев Т. К. - д.м.н., профессор кафедры «Стоматология детского возраста»;
4. Устенова Г.О. - д. фарм.н., зав. кафедры «Технология лекарств и инженерных дисциплин»;
5. Салиев Т.М. - директор Научно-исследовательского института фундаментальной медицины им. Б.А. Атчабарова;
6. Аймаханова А.Ш. - канд. физ.-мат. наук, заведующего кафедрой «Биостатистика и основы научного исследования»;
7. Батырбаева Д.Ж. - к.м.н., заведующая научной клинико-диагностической лабораторией НИИФМ им. Б. Атчабарова;
8. Сатбаева Э.М. - к.м.н., ассоциированный профессор, заведующая кафедрой «Фармакология», директор центра экспериментальной фармакологии НИИ ФМ им. Б. Атчабарова;
9. Нысанова Б.Ж. – к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии;
10. Касенов Б.Ж. - к.м.н., доцент кафедры «Патологическая физиология»;
11. Сейталиева А.М. – к.м.н., доцент кафедры фармакологии;
12. Фахрадиев И.Р. - заведующий лабораторией экспериментальной медицины Научно-исследовательского института фундаментальной медицины им. Б.А. Атчабарова, онколог, общий хирург, эндовидеохирург, докторант кафедры "Клиническая анатомия и оперативная хирургия";
13. Жансегитова А.М. – юрист;
14. Жарымбеков Н.М. – молла, теолог, преподаватель «Египетский университет исламской культуры Нурмубарак» (неаффилированное лицо)

Число голосов, принадлежащим членам ЛЭК, принявшим участие в заседании по вопросам повестки дня - «10». Кворум для проведения заседания Комиссии имеется. Из 16 членов ЛЭК присутствуют 10. Заседание Комиссии признано правомочным принимать решения по всем вопросам повестки дня.

	<b>«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ</b> <b>АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»</b>	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №9 (73)

#### ПОВЕСТКА ДНЯ

Дата: 26.09.2018г.

Рассмотрение материалов исследования: Заявка, Регистр. №645. Научно-исследовательская работа на тему: «Клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан» планируемую к выполнению в рамках диссертационного исследования на соискание степени PhD по специальности 6D110100- «Медицина». Главный исследователь: Аралбаева А.Д., докторант 2 года обучения. Научный руководитель: д.м.н., профессор Каменова С.У. Кафедра неврологии с курсом нейрохирургии АО «Национальный медицинский университет». Научный консультант: д.м.н., профессор Иващенко А.Т. Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени Аль-Фараби МОН РК. Научный консультант: Ovidiu BajenaruMD, PHD, Professor University of Medicine and Pharmacy «Carol Davila» Bucharest (Romania).

На рассмотрение представляются следующие документы:

1. Заявка с протоколом исследования;
2. Аннотация;
3. Выписка из протокола заседания Университетского совета КазНМУ об утверждении темы исследования и научного руководства;
4. Выписка из протокола заседания кафедры об одобрении прохождения экспертизы ЛЭК;
5. Форма «Информированное согласие» на казахском и русском языках;
6. Сведения об исследователях (резюме);
7. Индивидуальная регистрационная карта;
8. Копия сертификата GCP;
9. Опросник и шкалы для заполнения врачом-исследователем и пациентам.

#### Эксперт №1.:


##### Замечания эксперта:

В описании исследования есть стилистические и грамматические ошибки или возможно опечатки. **Ответ заявителя:** Все возможные стилистические и грамматические ошибки устранены. **Замечания эксперта:** В описании процедур исследования указано: «В исследовании планируется участие 100 человек», а в пункте «приблизительное (планируемое) количество испытуемых в исследовании; В исследовании примут участие 200 человек», так какое количество человек планируется в исследовании? **Ответ заявителя:** В исследовании планируется участия 200 человек (100 пациентов с болезнью Паркинсона и 100 здоровых людей). **Замечания эксперта:** В требованиях к проведению ЛЭК в списке подаваемых документов разве отсутствует протокол исследования? **Ответ заявителя:** Нет, не отсутствует. В списке подаваемых документах есть протокол исследования.


**Заключение эксперта:** Рекомендовать к одобрению после исправлений без повторного рассмотрения.

#### Эксперт 2:

**От заявителя:** Цель исследования: выявить клинические и генетические особенности болезни Паркинсона в Республике Казахстан. Обоснование исследования: Болезнь Паркинсона (БП) — одно из наиболее тяжелых и распространенных нейродегенеративных заболеваний человека, которое обусловлено гибелью дофаминергических нейронов (ДА-нейронов) компактной части черной субстанции головного мозга. Однако причины и механизмы развития этого заболевания остаются до конца не выясненными. В настоящее время одним из наиболее интересных и активно развивающихся направлений в области молекулярной биологии

	<b>«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ</b> <b>АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»</b>	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №9 (73)

является изучение роли микро-РНК в норме и при патологии. Микро-РНК регулируют экспрессию различных генов, а также могут быть вовлечены в патогенез различных заболеваний. В настоящее время проводится активное исследование роли недавно открытого класса РНК, микро-РНК, в функционировании как отдельной клетки, так и всего организма в целом. В настоящее время выявлен целый ряд микро-РНК, которые могут принимать прямое или опосредованное участие в развитии БП. В геноме человека картировано 17 локусов, ассоциированных с БП. Для 8 из них точно определены гены, мутации в которых приводят к формам БП. К данным генам, в первую очередь, относят SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, DJ-1 а также LRRK2. В нескольких работах было показано, что экспрессия этих генов может регулироваться различными микро-РНК и влиять на развитие патологии болезни Паркинсона. Своевременное выявление немоторных проявлений болезни Паркинсона и их адекватное, максимально раннее лечение и исследования микроРНК является очень важным для ранней диагностики болезни. Дизайн исследования: выполняется в рамках докторской диссертации, PhD - изучения «случая-контроля». **Замечания эксперта:** Участники исследования (возраст, пол, и т.д.): Требования к участникам исследования (что участники исследования должны будут делать в исследовании?): должны ответить на вопросы и принять участие в стандартных процедурах и краткосрочном вмешательстве **Ответ заявителя:** Общее число участников планируемые для данного исследования - 200 человек. В исследование будут включены мужчины и женщины в равном количестве. Ограничение по национальной/этнической принадлежности нет. В исследование будут участвовать все национальности, у которых выявлен болезнь Паркинсона. Возраст участников от 60 до 75 лет. Чаще всего болезнь Паркинсона поражает людей в возрасте 60-55 лет. Требования к участникам, дать согласия на исследования, заполнить необходимые документы, и ответить на вопросы, участие в стандартных процедурах и краткосрочном вмешательстве. **Замечания эксперта:** Риски (включая риски для конфиденциальности): Степень риска минимальная, так как исследование сопряжено с рисками, связанными с однократным забором крови у участников. Информация о участии в исследовании является конфиденциальной. Мы гарантируем, что имя участников не будет указано при публикации результатов исследования. Информация, полученная в результате этого исследования (материалы исследования), считается конфиденциальной и будет храниться в надлежащих условиях. **Замечания эксперта:** Компенсация за участие. **Ответ заявителя:** Если участники (пациенты или здоровые люди) понесли ущерб при участии в клиническом испытании, то предоставляется выплаты или прочие услуги. **Замечания эксперта:** Набор участников: критерии включения и исключения. **Ответ заявителя:** Критериями для включения является пациенты с брадикинезией и наличием как минимум одного из следующих признаков: мышечной ригидности, тремора в состоянии покоя, брадикинезии или акинезии и постуральной неустойчивости. Критерии исключения: острая декомпенсация болезни Паркинсона, акинетико-гипертермический (злокачественный) синдром, отсутствие ответной реакции на большие дозы леводопы, наличие опухоли в мозге или открытая гидроцефалия по данным КТ, рефлекс Бабинского, повторные травмы головы в анамнезе, определенный энцефалит в анамнезе, окулогирные кризы, лечение нейролептиками в начале симптомов, стойкая ремиссия, надъядерный паралич зрения, симптомы со стороны мозжечка. **Замечания эксперта:** Процедура набора испытуемых - кто и как будет набирать участников в исследование? **Ответ заявителя:** Набирать участников будет главный исследователь. В исследовании планируется участие 200 человек, которых разделит на две группы: пациенты с болезнью Паркинсона и здоровые люди. Участников включат в одну из двух групп в зависимости от наличия заболевания. Затем, с разрешения участников исследователи посмотрят историю болезни и амбулаторную карту. Эти данные помогут провести клинический анализ заболеваемости болезнью Паркинсона, то есть узнать характер

	<b>«ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ</b> <b>АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»</b>	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Выписка из протокола заседания ЛЭК №9 (73)
		Редакция: 1 Страница 5 из 5

исследователь: Аралбаева А.Д., PhD докторант 2 курса. Научный руководитель: д.м.н., профессор Каменова С.У. Кафедра неврологии с курсом нейрохирургии АО «Национальный медицинский университет». Научный консультант: д.м.н., профессор Иващенко А.Т. Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени Аль-Фараби МОН РК. Научный консультант: Ovidiu BajenaruMD, PHD, Professor University of Medicine and Pharmacy «Carol Davila» Bucharest (Romania).

Заключение об одобрении ЛЭК действует один год, с 26 сентября 2018 года по 26 сентября 2019 года. По истечении указанного срока необходимо представить в ЛЭК отчет о выполненной работе за год, не позднее 26 сентября 2019 года. Ответственность за представление в ЛЭК отчета по исследованию возлагается на главного исследователя А.Д. Аралбаеву, PhD докторанта 2 курса по специальности 6D110100-«Медицина», кафедра Нервных болезней с курсом нейрохирургии АО «Национальный медицинский университет» и ее научного руководителя д.м.н., профессора С.У. Каменову, кафедра Неврологии с курсом нейрохирургии АО «Национальный медицинский университет», а также ее научных консультантов д.м.н., профессора А.Т. Иващенко Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени Аль-Фараби МОН РК и Ovidiu BajenaruMD, PHD, Professor University of Medicine and Pharmacy «Carol Davila» Bucharest (Romania).

Председатель ЛЭК

Секретарь ЛЭК



С. Алтынбеков

А. Тажиева

# ПРИЛОЖЕНИЕ Н

## Договор о прохождении практики

ДОГОВОР № 1701/2  
о прохождении практики

г. Алматы

03 09 2018

Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, именуемое в дальнейшем «Университет», в лице проректора Б.С. Жусупова, действующего на основании Устава, и Государственное коммунальное предприятие на праве хозяйственного ведения «Городская поликлиника №4», именуемое в дальнейшем «Предприятие», в лице главного врача З.И. Умарова, действующего на основании Устава, с другой стороны, и Обучающийся, Аралбаевой Асель Досымхановны, именуемый в дальнейшем «Докторант», по специальности 6D 110100 «Медицина», отдел PhD докторантуры и магистратуры второго года обучения, с другой стороны, далее совместно именуемые «Стороны», а по отдельности, как указано выше или «Сторона», в соответствии с Законом Республики Казахстан «Об образовании» № 319-III от 27.07.2007 г., заключили настоящий Договор о нижеследующем:

### 1. ПРЕДМЕТ ДОГОВОРА

- 1.1. Университет направляет, а Предприятие принимает практиканта Университета для прохождения исследовательской практики (далее по тексту Договора – Практика) по специальности 6D 110100 «Медицина» (раздел неврологии) направленной на сбор исследовательских данных, полученных в процессе обучения, приобретение практических навыков, и освоение передового опыта.
- 1.2. Период прохождения практики: «1» сентября 2018 г. по «1» сентября 2020 г.
- 1.3. Общая продолжительность практики: 360 часа (ов).
- 1.4. Место проведения практики: Городская поликлиника №4.

### 2. ПРАВА И ОБЯЗАННОСТИ СТОРОН

- 2.1. **Университет обязуется:**
  - 2.1.1. За два месяца до начала практики представить в Предприятие для согласования программу и календарные графики прохождения практики.
  - 2.1.2. Направить на Предприятие Практиканта в соответствии со сроками начала Практики, предусмотренными графиками учебного процесса.
  - 2.1.3. Обеспечить методическое руководство практикой со стороны Университета.
  - 2.1.4. Обеспечить соблюдение Практикантом трудовой дисциплины и правил внутреннего распорядка, действующих на Предприятии.
  - 2.1.5. Осуществлять периодический контроль за проведением Практики непосредственно в месте нахождения Предприятия.
- 2.2. **Университет имеет право:**
  - 2.2.1. Направить на Предприятие Практиканта для прохождения исследовательской практики, по специальности 6D 110100 «Медицина» на период прохождения практики в соответствии с государственным образовательным стандартом.
  - 2.2.2. На закрепление руководителя практики от Предприятия по месту прохождения практики, обладающего соответствующей квалификацией и опытом работы.
  - 2.2.3. На руководство Практикой по месту ее прохождения в соответствии с требованиями, определенными государственным образовательным стандартом и программой практики.
  - 2.2.4. На обеспечение Предприятием прохождения практики Практикантом не менее 6 (шесть) часов в день.
  - 2.2.5. На получение информации, из дневника по практике, о посещаемости и качестве работы Практиканта до истечения срока Практики (для принятия соответствующих мер, в случае недобросовестного отношения Практиканта к работе).
- 2.3. **Предприятие обязуется:**
  - 2.3.1. Принять Практиканта Университета в порядке и на условиях, оговоренных в п. 2.2. настоящего Договора.
  - 2.3.2. Обеспечить предоставление квалифицированных специалистов для руководства Практикой.
  - 2.3.3. Предоставлять Практиканту возможность пользоваться имеющейся литературой и другой документацией, не имеющей коммерческой тайны.
  - 2.3.4. Обеспечить Практиканту безопасные и соответствующие санитарно-гигиеническим требованиям условия труда.
  - 2.3.5. Обеспечить учет рабочего времени Практиканта.
  - 2.3.6. Обеспечить Практиканта рабочим местом, необходимым оборудованием, а при необходимости спецодеждой.
  - 2.3.7. Обеспечить безопасные условия прохождения практики, провести необходимый инструктаж по технике безопасности.
  - 2.3.8. Не допускать привлечение Практиканта к выполнению работ, не предусмотренных программой, а также не имеющих отношение к его специальности.
  - 2.3.9. По окончании Практики предоставить каждому Практиканту характеристику о его работе с указанием срока пребывания на практике.
- 2.4. **Практикант обязуется:**
  - 2.4.1. Полностью выполнять программу Практики, вести дневник Практики по установленной Университетом форме. Дневник Практики заполняется Практикантом ежедневно и контролируется руководителем от базы Практики.
  - 2.4.2. Подчиняться правилам внутреннего распорядка, действующим на Предприятии.
  - 2.4.3. Изучить и строго соблюдать правила охраны труда, техники безопасности и производственной санитарии.
  - 2.4.4. Представить руководителю практики по установленной форме письменный отчет, дневник, подписанный руководителем базы практики о выполнении всех заданий.

### 3. СРОК ДЕЙСТВИЯ, УСЛОВИЯ РАСТОРЖЕНИЯ И ПРОДЛЕНИЯ ДОГОВОРА

- 3.1. Настоящий договор вступает в силу со дня подписания Сторонами и действует на время прохождения практики.
- 3.2. Настоящий Договор, может быть, расторгнут досрочно:
  - (а) в любое время по письменному соглашению Сторон.
  - (б) по основаниям, предусмотренным Договором и действующим законодательством Республики Казахстан.
- 3.3. Каждая из Сторон может расторгнуть Договор путем письменного уведомления, которое передается через средства связи, обеспечивающие подтверждение факта и даты его получения (например, заказным письмом с уведомлением о вручении,

от Университета

от Предприятия

от Практиканта

1



- специальным курьером), в случае существенного нарушения другой Стороной обязательств, вытекающих из Договора, или при возникновении исключительных обстоятельств, оправдывающих досрочное расторжение.
- 3.4. Стороны договариваются, что следующие ситуации считаются исключительными, оправдывающими досрочное расторжение Договора Стороной в одностороннем порядке: банкротство, мораторий, управление имуществом по доверенности, ликвидация или любая иная договоренность между должником и кредиторами, приостановление действия или лишение соответствующей государственной лицензии или иного разрешения, а также любые другие обстоятельства, которые могут существенно повлиять на возможности этой Стороны в выполнении ею обязательств по Договору.

#### 4. ФОРС-МАЖОР

- 4.1. Стороны полностью освобождаются от ответственности за невыполнение либо ненадлежащее выполнение своих обязательств по Договору, если причиной этому явилось наступление обстоятельств непреодолимой силы. Исполнение Стороной обязательств приостанавливается соразмерно времени, в течение которого длется обстоятельство непреодолимой силы и их последствия, в той степени, в какой они мешают, препятствуют или задерживают исполнить обязательства Стороной.
- 4.2. Обстоятельства непреодолимой силы означают любые чрезвычайные и непредотвратимые при данных условиях события, которые не находятся под влиянием Стороны и которые Сторона не могла предвидеть или предотвратить любыми разумными способами, включая, но не ограничиваясь такими обстоятельствами, как: стихийные бедствия природного характера (пожары, наводнения, землетрясения и другие), войны (объявленные и не объявленные), восстания, забастовки, гражданские войны или беспорядки, террористические акты, введение в действие нормативных правовых актов запретительного или ограничительного характера и иные подобные обстоятельства.
- 4.3. Сторона, для которой создалась невозможность надлежащего исполнения обязательств по Договору вследствие обстоятельств непреодолимой силы, обязана в максимально возможный короткий срок, но не позднее 10 (десяти) рабочих дней со дня наступления указанных событий, письменно уведомить об этом другую Сторону. Уведомление должно содержать описание обстоятельств непреодолимой силы, дату их наступления, предполагаемую дату их окончания, подтверждение обстоятельств непреодолимой силы, а также обоснование наличия причинной связи между обстоятельствами непреодолимой силы и неисполненным обязательством.
- 4.4. В течение 3 (трёх) рабочих дней после прекращения обстоятельств непреодолимой силы, вовлеченная в них Сторона должна письменно уведомить другую Сторону о прекращении обстоятельств непреодолимой силы и должна возобновить исполнение своих обязательств по Договору.

#### 5. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ СТОРОН

- 5.1. Стороны обязуются не разглашать конфиденциальные сведения производственного порядка, которые стали известны в процессе совместной деятельности.
- 5.2. За невыполнение и/или ненадлежащее выполнение условий Договора, Стороны несут ответственность в соответствии с условиями Договора, а в части, не урегулированной Договором, - в соответствии с действующим законодательством Республики Казахстан.

#### 6. ЮРИСДИКЦИЯ И ПРИМЕНИМОЕ ПРАВО

- 6.1. Настоящий Договор регулируется нормами материального права Республики Казахстан.
- 6.2. Споры, которые могут возникнуть при исполнении условий настоящего договора, Стороны будут стремиться разрешать в порядке досудебного разбирательства: путём переговоров, обмена письмами, уточнением условий Договора, составлением необходимых протоколов, дополнений и изменений. При этом каждая из Сторон вправе претендовать на наличие у неё в письменном виде результатов разрешения возникших вопросов.
- 6.3. В случае, если споры и разногласия не будут урегулированы в порядке досудебного разбирательства, они подлежат разрешению в суде в соответствии с действующим законодательством Республики Казахстан.

#### 7. ПРОЧИЕ УСЛОВИЯ

- 7.1. **Множественность копий.** Настоящий Договор составлен в трех подлинных экземплярах, имеющих равную юридическую силу, подписан и вручен по одному экземпляру каждой из Сторон.
- 7.2. **Целостность договора.** Настоящий Договор представляет собой полное согласие Сторон в отношении всех вопросов, отраженных в Договоре. После подписания настоящего Договора любые предшествующие договоры, заявления, переписка и иные соглашения Сторон по вопросам настоящего Договора становятся недействительными.
- 7.3. **Делимость.** Если какое-либо положение Договора утратит силу, станет недействительным, незаконным или неисполнимым по любой причине, это не должно каким-либо образом повлиять на действительность или законность остальных положений Договора, и все другие положения не утратят силы. Устанавливается, что в таких случаях Стороны приложат все усилия для замены недействительного положения юридически значимым.
- 7.4. **Сообщения и уведомления.** Если иное прямо не предусмотрено Договором, любые виды сообщений и уведомлений по вопросам настоящего Договора должны быть направлены одним из указанных способов:
  - заказным письмом по почте;
  - непосредственно доставлены получателю;
  - e-mail, телеком или факсимильным сообщением.Получатель должен подтвердить получение сообщения, при отсутствии такового передающая Сторона направляет сообщение другим способом.
- 7.5. **Толкование договора.** В случае каких-либо противоречий между статьями основного текста настоящего Договора и статьями дополнений к нему, преимущественную силу (но только в пределах таких противоречий) имеют статьи дополнений.
- 7.6. Стороны договорились, что настоящий Договор, относящийся к нему документы (приложения, дополнения, акты и т.п.), подписанные и переданные Сторонами друг другу, посредством факсимильной связи, признаются Сторонами действительными и имеющими силу оригинала до момента обмена Сторонами оригиналами указанных документов. Каждая из Сторон вправе требовать от другой Стороны предоставления оригинала документа, предварительно подписанного посредством факсимильной связи.
- 7.7. Стороны обязуются незамедлительно уведомлять друг друга об изменениях почтовых адресов, адресов электронной почты, телефонов, банковских и других реквизитов и/или предоставления официальных уведомлений.

от Университета

от Практиканта 2

7.8. Во всём остальном, что прямо не урегулировано Договором, Стороны руководствуются действующим законодательством Республики Казахстан.

### 8. ЮРИДИЧЕСКИЕ АДРЕСА И РЕКВИЗИТЫ СТОРОН

Университет:  
РГП на праве хозяйственного ведения «КазНМУ имени С.Д. Асфендиярова» МЗ РК  
Адрес: 050012, РК, г. Алматы, ул. Толе Би, 88 Тел./Факс: 8 (727) 292-78-85, 292-69-97  
РНН 600700012467  
Банковские реквизиты:  
ИКК KZ84856000000063180  
в АО «БанкЦентрКредит»,  
БИК KСJVKZKX  
БИН 900240007146

Предприятие:  
Адрес: 2. Алмата  
Морсишарда 12а  
РНН \_\_\_\_\_

Практикант:  
Адрес проживания: 2. Алмата  
ул. Саулебаева 71/1 ил 72  
РНН Уралов № 034988589  
наименование документа, удостоверяющего личность, №, орган выдачи, дата выдачи  
МДР РК 01.07.2022.

#### ПОДПИСИ СТОРОН:

от Университета:  
Проректор Жусупов Б.С.



от Предприятия:



от Практиканта:

[Signature]  
(подпись)

от Университета

[Signature]

от Предприятия

от Практиканта

[Signature] 3

## ПРИЛОЖЕНИЕ П

Таблица П.1 – Характеристики взаимодействия miRNA с 5'UTR mRNA кандидатных генов БП

Ген	miRNA	Начало сайта, нт	$\Delta G$ , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$ , %	Длина, нт
1	2	3	4	5	6
ATN1	ID01919.5p-miR	178	-108	89	23
ATP13A2	ID00338.3p-miR	101	-117	92	21
AXIN1	ID02769.5p-miR	214	-125	91	22
BOLA2	miR-4783-3p	130	-123	91	23
CD5	miR-5585-3p	55	-106	91	22
CDK5R1	ID03224.5p-miR	33	-123	94	23
	miR-1273g-3p	46	-110	95	21
	miR-1273f	79	-98	94	19
CRHR1	ID01291.3p-miR	69	-129	90	24
	ID01291.3p-miR	107	-127	88	24
	ID00331.5p-miR	179	-127	88	24
CTNNB1	ID00477.5p-miR	77	-113	95	20
	ID03064.3p-miR	122	-136	89	24
	ID03206.5p-miR	152	-115	92	20
	ID01206.3p-miR	165	-127	90	23
DYRK1A	ID03444.3p-miR	40	-104	89	23
FOXO1	ID00951.5p-miR	120	-110	91	21
	ID00661.5p-miR	228	-110	91	22
	ID00009.3p-miR	305	-115	92	20
	ID02200.3p-miR	356	-119	90	22
	miR-4728-3p	363	-125	88	25
KANSL1	ID00130.3p-miR	153	-119	89	24
	miR-6846-3p	391	-106	93	21
LAG3	ID02025.5p-miR	241	-104	91	21
LRCH1	ID03047.3p-miR	201	-132	89	24
LRP6	miR-6752-5p	69	-119	90	22
LRP10	miR-1229-3p	272	-115	89	23
	ID03064.3p-miR	406	-138	90	24
	ID01106.5p-miR	410	-132	89	24
	ID00462.3p-miR	480	-115	90	22
MANF	ID00278.3p-miR	56	-123	89	23
	ID01282.3p-miR	59	-117	89	23
	ID01768.3p-miR	67	-115	92	22
	ID01352.3p-miR	71, 74	-115, -117	90, 92	23
	ID00777.3p-miR	75, 78	-113	90	23
	ID03324.3p-miR	76	-115	90	22
MAPT	ID02608.5p-miR	107	-113	90	22
	ID01315.3p-miR	120	-115	92	20
PINK1	ID00553.3p-miR	30	-117	89	23

PRKN	miR-6861-5p	108	-117	93	22
PSEN1	ID00895.3p-miR	119	-117	89	23

Продолжение таблицы П.1

1	2	3	4	5	6
PSEN2	ID02019.3p-miR	10	-125	89	23
PSMD6	miR-6510-5p	113	-110	90	22
RTN1	ID01545.3p-miR	5	-110	91	21
	ID01310.3p-miR	67	-125	95	22
SMOX	ID01319.5p-miR	13	-106	93	20
	ID00443.5p-miR	40	-123	89	24
	ID00570.3p-miR	98	-113	90	22
SNAP25	ID03210.5p-miR	212	-127	90	24
STIP11	ID01628.5p-miR	375	-117	93	20
VSNL1	miR-7111-3p	52	-115	95	22
	miR-877-3p	52	-108	93	21
ZFAND4	ID01190.5p-miR	114	-136	89	24
	ID00030.3p-miR	114	-125	94	22
	ID03206.5p-miR	114	-115	92	20
	ID03073.3p-miR	128	-129	94	23

## ПРИЛОЖЕНИЕ Р

Таблица Р.1 – Характеристики взаимодействия miRNA с CDS mRNA кандидатных генов БП

Ген	miRNA	Начало сайта, нт	$\Delta G$ , kJ/mole	$\Delta G/\Delta G_m$ , %	Длина, нт
1	2	3	4	5	6
APOE	ID03402.5p-miR	758	-121	95	22
	ID03398.5p-miR	881	-115	93	20
	ID03261.5p-miR	883	-115	93	20
APP	ID01171.3p-miR	2404	-104	92	20
ASH2L	ID03311.5p-miR	158	-108	93	21
ATN1	mir-342-5p	744	-104	94	21
	ID02112.3p-miR	859	-121	90	22
	miR-4298	1138	-113	90	22
	miR-4271	1462	-102	96	19
	ID01448.5p-miR	2051	-108	93	22
	ID00517.5p-miR	2313	-117	93	20
	ID01047.3p-miR	3161	-125	94	22
ATP13A2	ID01047.3p-miR	459	-123	92	22
	ID00182.5p-miR	2321	-115	89	23
	ID02530.5p-miR	2882	-106	93	20
	miR-591	3365	-96	92	20
	ID03060.3p-miR	3661	-125	92	23
	ID01157.5p-miR	3749	-119	95	20
	ID01377.3p-miR	3750	-119	93	20
AXIN1	ID02727.5p-miR	2479	-115	92	21
	ID01279.5p-miR	2484	-110	90	22
BCL2-al	miR-1343-5p	606	-121	90	22
	ID02256.3p-miR	715	-125	91	22
CASK	ID00526.3p-miR	291	-115	89	24
	miR-6746-3p	2680	-115	90	22
CD5	ID00446.3p-miR	159	-119	90	23
	miR-6721-5p	522	-115	92	23
	miR-6793-5p	543	-110	91	22
	miR-6791-3p	740	-108	91	21
	ID01761.3p-miR	1573	-102	91	21
CRHR1	ID02323.3p-miR	969	-115	90	22
CTNNB1	miR-6083	1773	-98	92	20
EEF1A1	ID02627.5p-miR	1150	-117	96	22
EIF4G1	ID02781.3p-miR	623	-115	92	20
	ID03020.3p-miR	4758	-117	89	23
ERBB2	ID00692.3p-miR	3646	-113	90	22
	miR-4734	3648	-119	90	22
GAK	miR-3689d	2018	-110	91	22

	ID02646.3p-miR	3007	-113	95	20
	ID01021.3p-miR	3019	-115	90	22
	ID01048.5p-miR	3059	-117	89	23

Продолжение таблицы Р.1

1	2	3	4	5	6
GRN	let-7g-3p	846	-106	91	21
HSP90AA1	miR-3613-5p	1770	-93	90	22
	ID02619.5p-miR	2578	-102	91	22
KANSL1	miR-302b-3p	2075	-104	91	23
	miR-4706	3701	-123	87	25
LAG3	ID01184.3p-miR	560	-119	95	20
	ID00920.5p-miR	611	-125	88	24
	ID01542.3p-miR	711	-119	89	23
LRP6	ID03063.3p-miR	3421	-110	90	22
LRP10	miR-1229-3p	1856	-115	89	23
MAPT	ID01128.5p-miR	744	-110	90	23
	miR-7106-5p	1008	-106	94	20
MYL4	miR-4763-3p	189	-129	91	24
PDP2	miR-802	1963	-104	91	23
	ID01038.3p-miR	1723	-106	91	21
PLA2G6	miR-3619-5p	881	-117	93	22
	ID02257.3p-miR	1861	-117	90	22
RTN1	ID01172.3p-miR	1426	-110	91	21
	ID00194.3p-miR	1617	-115	89	23
	ID03137.5p-miR	1931	-115	92	20
SMOX	miR-5047	593	-102	91	21
	ID00211.3p-miR	1093	-113	90	22
	ID03343.3p-miR	1101	-110	90	22
	miR-3148	1240	-102	91	22
SNCA	miR-4668-3p	352	-100	89	23
	miR-4677-5p	427	-110	98	22
SRMS	ID00879.3p-miR	486	-123	89	23
	miR-6733-3p	853	-100	96	20
STK32B	miR-520g-5p	582, 975	-104	89	23
SYMPK	miR-762	3619	-125	92	22
	ID00744.3p-miR	3626	-125	89	23
TPO	ID02309.3p-miR	1089	-121	89	23
	ID01446.5p-miR	1152	-119	92	22
WNT3	ID02756.3p-miR	615	-117	89	23

## ПРИЛОЖЕНИЕ С

### Договор о проведении научно-исследовательских работ

г. Алматы

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, именуемое в дальнейшем Сторона 1, в лице проректора по исследовательской деятельности Бауржан Сабитовича Жусупова, с одной стороны, и Научно-исследовательский институт проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби, именуемый в дальнейшем Сторона 2, в лице академика НАН РК Амангельды Куанбаевича Бисенбаева, действующего на основании «Устава», заключили настоящий договор:

#### 1. Предмет договора

1.1. Сторона 1 и Сторона 2 принимают на себя обязательства по выполнению научно-исследовательских работ по теме: «Разработка метода ранней диагностики демиелинизирующих и дегенеративных заболеваний нервной системы на основе miRNA и их генов-мишеней», в рамках совместного проекта «Разработка тест-систем ранней диагностики сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний на основе ассоциаций miRNA и их генов-мишеней»

1.2. Содержание исследований, выполняемых в соответствии с настоящим договором, научные, экономические, социальные и другие параметры их ожидаемых результатов определяются согласованным Сторонами и являющимся приложением к настоящему договору календарным планом работ (приложение №1).

1.3. Перечисленные ниже документы и условия, оговоренные в них, образуют данный договор и являются его неотъемлемой частью:

- 1) Настоящий договор;
- 2) Календарный план (Приложение 1);
- 3) Техническая спецификация (Приложение 2).

1.4. Сторона 1 и Сторона 2 обязаны соблюдать требования, содержащиеся в календарном плане работ, и вправе отступить от них только с письменного согласия Сторон.

1.5. Сроки выполнения работ и содержание основных этапов научно-исследовательских работ определяется календарным планом (Приложение 1).

#### 2. Срок действия договора

2.1. Настоящий договор вступает в силу со дня его подписания Сторонами.

2.2. Настоящий договор заключен на срок до 31 декабря 2019 года.

2.3. Конкретное содержание и сроки выполнения отдельных этапов работы определяются Договором о научно-исследовательских работах и календарным планом работ, которые составляются отдельно и подписываются Сторонами.

#### 3. Обязанности сторон

3.1. Сторона 2 обязана:

провести научные исследования и вправе привлекать к исполнению настоящего договора третьих лиц;

обеспечить конфиденциальность сведений, касающихся предмета договора, хода его исполнения и полученных результатов;

выполнить работы в соответствии с согласованным со Стороной 1 техническим заданием и передать Стороне 1 их результаты в срок, установленный в приложении настоящего Договора;

согласовать со Стороной 1 необходимость использования охраняемых результатов интеллектуальной деятельности, принадлежащих третьим лицам, и приобретение прав на их использование;

3.2. Сторона 1 обязана:

провести научные исследования и передавать Стороне 2 необходимую для выполнения работы информацию и биологический материал;

принять результаты выполненных работ;

обеспечить конфиденциальность сведений, касающихся предмета договора, хода его исполнения и полученных результатов.

выполнить работы в соответствии с согласованным со Стороной 2 техническим заданием и передать Стороне 2 их результаты в срок, установленный в приложении настоящего Договора.

При завершении работ Сторона 2 и Сторона 1 составляют акт выполненных работ с приложением комплекта научной документации, предусмотренной календарным планом и условиями Договора.

Ответственный исполнитель Стороны 1 - профессор С.У.Каменова

Ответственный исполнитель Стороны 2 – профессор А.Т.Иващенко

#### 4. Порядок сдачи и приемки работ.

4.1. Сторона 2 и Сторона 1 обязуются составить аннотационный отчет о проведенных научно-исследовательских работах в двух экземплярах не позднее 10 января 2019 года (1-й отчет) и не позднее 31 декабря 2019 года (2-й отчет).

4.2. В случае досрочного выполнения научно-исследовательских работ Сторона 1 и Сторона 2 вправе досрочно составить отчеты.

4.3. Недостатки в выполненных работах или в оформлении документации, обнаруженные Сторонами при составлении отчетов, отражаются в акте сдачи-приемки этапа работы (работы в целом). Одновременно составляется двусторонний акт, содержащий перечень необходимых доработок и сроки их устранения.

#### 5. Дополнительные условия

5.1. Права и обязанности сторон, прямо не предусмотренные в настоящем договоре, определяются в соответствии с законодательством РК.

Настоящий договор составлен в двух экземплярах на русском языке. Оба экземпляра идентичны и имеют одинаковую силу. У каждой из сторон находится один экземпляр настоящего договора.

#### 6. Юридические адреса сторон

Директор  
Научно-исследовательский институт  
проблем биологии и биотехнологии  
КазНУ им. аль-Фараби  
А.К.Бисенбаев

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.



Проректор по исследовательской  
деятельности  
КазНУ им. С.Д.Асфендиярова  
И.С.Сызов



\_\_\_\_\_ 2018 г.

НИИ проблем биологии и биотехнологии РГП на ПХВ КазНУ им. аль-Фараби» МОН РК, 050038, пр. Аль-Фараби, 71, корпус 6, БИН – 030240004490, тел/факс: 8(727)3773437, 3773255, e-mail: Amangeldy.Bisenbaev@kaznu.kz	РГП на ПХВ «Казакский Национальный медицинский университет им.С.Д. Асфендиярова» МЗ РК 050012, г. Алматы, ул. Толе би,88 БИН –990 240 007 246 Тел8(727)33870046 3387014
--	---



КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН РАБОТ

Казахским Национальным медицинским университетом им. С.Д. Асфендиярова и Научно-исследовательским институтом проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби

По теме: «Разработка метода ранней диагностики демиелинизирующих и дегенеративных заболеваний нервной системы на основе microRNA и их генов-мишеней», в рамках совместного проекта «Разработка тест-систем ранней диагностики сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний на основе ассоциаций miRNA и их генов-мишеней».

Ответственный исполнитель Стороны 1 - профессор С.У.Каменова  
 Ответственный исполнитель Стороны 2 - профессор А.Т.Иващенко

№ пп	Наименование научно-исследовательских работ и основные этапы его выполнения	Сроки выполнения		Ожидаемый результат
		Начало	Окончание	
1	Сбор сведений о генах и miRNA у здоровых и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы	1 июля 2018г.	31 декабря 2018г.	Будут собраны сведения о генах и miRNA у здоровых и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы
2	Изучение взаимодействия miRNA с mRNA генов-мишеней здоровых доноров и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.	1 января 2019г.	31 декабря 2019г.	Будут установлены характеристики взаимодействия miRNA с mRNA генов-мишеней здоровых доноров и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.

Директор  
 Научно-исследовательского института  
 проблем биологии и биотехнологии  
 КазНУ им. аль-Фараби  
 А.К.Бисенбаев



« \_\_\_\_\_ » 2018 г.

Проректор по исследовательской  
 деятельности  
 КазНУ им. С.Д. Асфендиярова



2018 г.

Техническая спецификация  
(описание и требуемые технические характеристики)

По договору № \_\_\_ от « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Казахским Национальным медицинским университетом им. С.Д. Асфендиярова и Научно-исследовательским институтом проблем биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби

По теме: «Разработка метода ранней диагностики демиелинизирующих и дегенеративных заболеваний нервной системы на основе microRNA и их генов-мишеней», в рамках совместного проекта «Разработка тест-систем ранней диагностики сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний на основе ассоциаций miRNA и их генов-мишеней»

Ответственный исполнитель Стороны 1 - профессор С.У.Каменова  
 Ответственный исполнитель Стороны 2 - профессор А.Т.Ивашенко

Задачи	Ожидаемый результат
Сбор сведений о генах и miRNA у здоровых и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.	Будут собраны сведения о генах и miRNA у здоровых и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.
Изучение взаимодействия mRNA генов-мишеней с miRNA здоровых доноров и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.	Будут установлены характеристики взаимодействия mRNA генов-мишеней с miRNA здоровых доноров и больных демиелинизирующими и дегенеративными заболеваниями нервной системы.

Директор  
 Научно-исследовательского института  
 проблем биологии и биотехнологии  
 КазНУ им. аль-Фараби  
 А.К.Бисенбаев



« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.

Проректор по исследовательской  
 деятельности

КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова



« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2018 г.