Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова
2020, т. 120, №12, с. 7-17
https://doi.org/10.17116/jnevro20201201217

S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry
2020, vol. 120, no 12, pp. 7-17
https://doi.org/10.17116/jnevro20201201217

Разработка ранней диагностики болезни Паркинсона на основе биомаркеров в виде премоторных симптомов и изменений в крови

© Е.И. ГУСЕВ[1], Е.А. КАТУНИНА[1,2], М.Ю. МАРТЫНОВ[1], В.Е. БЛОХИН[3], А.Л. КАЛИНКИН[4], А.В. АЛЕСЕНКО[5], М.Р. НОДЕЛЬ[6], Е.А. МАЛЫХИНА[1,2], Н.В. ТИТОВА[1,2], Д.А. КАТУНИН[1,2], М.А. ШУПИК[5], У.А. ГУТНЕР[5], О.А. МАЛОШИЦКАЯ[7], С.А. СОКОЛОВ[7], В.Г. КУЧЕРЯНУ[8], Е.Н. ПАВЛОВА[3], М.В. УГРЮМОВ[3]

[1]ФГАОУ ВО «Российский научно-иследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;
[2]ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва, Россия;
[3]ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН, Москва, Россия;
[4]Медицинский научно-образовательный центр МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
[5]ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва, Россия;
[6]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;
[7]ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;
[8]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Определение изменения биохимического состава плазмы крови в группе риска развития болезни Паркинсона (БП) на продромальной стадии в сравнении с возрастным контролем.

Материал и методы. Испытуемые в группу риска отбирались по наличию нарушений сна, обоняния и перистальтики. Группу риска составили 12 человек, группу контроля — 8 человек.

Результаты. Показано, что в крови среди 7 катехоламинов и их метаболитов только концентрация L-диоксифенилаланина (L-ДОФА) снизилась в группе риска по сравнению с контролем. Снижение концентрации L-ДОФА рассматривается как маркер избирательной дегенерации центральных и периферических катехоламинергических нейронов при БП. В отличие от L-ДОФА в крови в группе риска выросла концентрация 7 из 12 сфингомиелинов. Учитывая то, что изменение метаболизма сфингомиелинов сопряжено с апоптозом, аутофагией и синуклеинопатиями, увеличение их концентрации в группе риска рассматривается как показатель системной дегенерации центральных и периферических нейронов. Кроме того, в группе риска обнаружена тенденция к снижению концентрации уратов, являющихся эндогенными нейропротекторами.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить, что изменения уровня L-ДОФА, сфингомиелинов и уратов в крови в группе риска могут служить диагностическими маркерами развития БП на продромальной стадии.

Ключевые слова: *нейродегенеративные заболевания, болезнь Паркинсона, ранняя диагностика, маркеры крови, премоторные симптомы.*

Информация об авторах:
Гусев Е.И. — https://orcid.org/0000-0003-0742-6875
Катунина Е.А. — https://orcid.org/0000-0001-5805-486X
Мартынов М.Ю. — https://orcid.org/0000-0003-2797-7877
Блохин В.Е. — https://orcid.org/0000-0001-9074-7279
Калинкин А.Л. — https://orcid.org/0000-0002-5324-4733
Алесенко А.В. — https://orcid.org/0000-0002-1209-0133
Нодель М.Р. — https://orcid.org/0000-0003-2511-5560
Малыхина Е.А. — https://orcid.org/0000-0002-2593-5481
Титова Н.В. — https://orcid.org/0000-0002-7044-3013
Катунин Д.А. — https://orcid.org/0000-0002-4109-8935
Шупик М.А. — https://orcid.org/0000-0003-0905-5035
Гутнер У.А. — https://orcid.org/0000-0001-5641-7452
Малошицкая О.А. — https://orcid.org/0000-0002-3579-8863
Соколов С.А. — https://orcid.org/0000-0002-2994-2291
Кучеряну В.Г. — https://orcid.org/0000-0002-5071-3581
Павлова Е.Н. — https://orcid.org/0000-0001-5662-3715
Угрюмов М.В. — https://orcid.org/0000-0003-3040-1828
Автор, ответственный за переписку: Катунина Елена Анатольевна — e-mail: elkatunina@mail.ru

Как цитировать:
Гусев Е.И., Катунина Е.А., Мартынов М.Ю., Блохин В.Е., Калинкин А.Л., Алесенко А.В., Нодель М.Р., Малыхина Е.А., Титова Н.В., Катунин Д.А., Шупик М.А., Гутнер У.А., Малошицкая О.А., Соколов С.А., Кучеряну В.Г., Павлова Е.Н., Угрюмов М.В. Разработка ранней диагностики болезни Паркинсона на основе биомаркеров в виде премоторных симптомов и изменений в крови. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(12):7–17. https://doi.org/10.17116/jnevro20201201217

Development of early diagnosis of Parkinson's disease based on the search for biomarkers such as premotor symptoms and changes in blood

© E.I. GUSEV[1], E.A. KATUNINA[1,2], M.YU. MARTINOV[1], V.E. BLOKHIN[3], A.L. KALINKIN[4], A.V. ALESENKO[5], M.R. NODEL[6], E.A. MALYKHINA[1,2], N.V. TITOVA[1,2], D.A. KATUNIN[1,2], M.A. SHUPIK[5], U.A. GUTNER[5], O.A. MALOSHITSKAYA[7], S.A. SOKOLOV[7], V.G. KUCHERYANU[8], E.N. PAVLOVA[3], M.V. UGRUMOV[3]

[1]Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;
[2]Federal Center for Brain and Neurotechnologies, Moscow, Russia;
[3]Koltsov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow, Russia;
[4]Medical Research and Education Center of Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
[5]Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russia;
[6]Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;
[7]Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;
[8]Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Abstract

Objective. To determine changes in the chemical composition of blood plasma in subjects at risk of Parkinson's disease (PD) at the prodromal stage compared with age control.

Material and methods. Subjects at risk were selected for the presence of characteristic premotor symptoms, including impairments of sleep, olfaction and constipation.The risk group included 12 people, the control group — 8 people.

Results. Among seven catecholamines and their metabolites detected in the blood, only the concentration of L-dioxiphenylalanine (L-DOPA) changed (decreased) in subjects at risk compared with the control. A decrease in the concentration of L-DOPA is considered as a manifestation (marker) of selective degeneration of central and peripheral catecholaminergic neurons in PD. In contrast to L-DOPA, the concentration of seven of the twelve detected sphingomyelins in the blood of the subjects at risk increased. Given that a change in the metabolism of sphingomyelins is associated with processes such as apoptosis, autophagy, and synucleinopathy, an increase in their concentration in the blood of patients at risk is considered as a manifestation of systemic general degeneration of central and peripheral neurons. Finally, in the blood of subjects at risk, we found a trend towards a decrease in the concentration of urates, which are endogenous neuroprotectors.

Conclusion. The changes in the level of L-DOPA, sphingmyelins and urates in the blood of subjects at risk may serve as diagnostic markers of PD at the prodromal stage.

Keywords: *neurodegenerative diseases, Parkinson' disease, early diagnostics, blood markers, premotor symptoms.*

Information about the authors:
Gusev E.I. — https://orcid.org/0000-0003-0742-6875
Katunina E.A. — https://orcid.org/0000-0001-5805-486X
Martinov M.Yu. — https://orcid.org/0000-0003-2797-7877
Blokhin V.E. — https://orcid.org/0000-0001-9074-7279
Kalinkin A.L. — https://orcid.org/0000-0002-5324-4733
Alesenko A.V. — https://orcid.org/0000-0002-1209-0133
Nodel M.R. — https://orcid.org/0000-0003-2511-5560
Malykhina E.A. — https://orcid.org/0000-0002-2593-5481
Titova N.V. — https://orcid.org/0000-0002-7044-3013
Katunin D.A. — https://orcid.org/0000-0002-4109-8935
Shupik M.A. — https://orcid.org/0000-0003-0905-5035
Gutner U.A. — https://orcid.org/0000-0001-5641-7452
Maloshitskaya O.A. — https://orcid.org/0000-0002-3579-8863
Sokolov S.A. — https://orcid.org/0000-0002-2994-2291
Kucheryanu V.G. — https://orcid.org/0000-0002-5071-3581
Pavlova E.N. — https://orcid.org/0000-0001-5662-3715
Ugrumov M.V. — https://orcid.org/0000-0003-3040-1828
Corresponding author: Katunina E.A. — e-mail: elkatunina@mail.ru

To cite this article:
Gusev EI, Katunina EA, Martinov MYu, Blokhin VE, Kalinkin AL, Alesenko AV, Nodel MR, Malykhina EA, Titova NV, Katunin DA, Shupik MA, Gutner UA, Maloshitskaya OA, Sokolov SA, Kucheryanu VG, Pavlova EN, Ugrumov MV. Development of early diagnosis of Parkinson's disease based on the search for biomarkers such as premotor symptoms and changes in blood. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2020;120(12):7–17. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/jnevro20201201217

Болезнь Паркинсона (БП) диагностируют на основании критериев Международного общества болезни Паркинсона и двигательных расстройств по наличию характерных двигательных проявлений [1]. Наряду с этим разнообразные недвигательные нарушения рассматриваются как неотъемлемая часть клинической картины БП [2—4]. Согласно современным представлениям, нейродегенеративный процесс начинается за 15—30 лет до появления мо-

торных нарушений [5, 6]. К моменту диагностирования БП погибает 50—60% дофаминергических (ДАергических) нейронов нигростриарной системы [7] и истощаются компенсаторные резервы мозга [8]. В совокупности это объясняет ограниченную эффективность существующего симптоматического лечения, которое не позволяет предотвратить прогрессирование заболевания и инвалидизацию больных [9].

В настоящее время для разработки ранней диагностики БП в основном используют два подхода, основанные на представлениях о системном характере патогенеза этого заболевания [8, 10]. Так, помимо ДАергических нейронов нигростриарной системы мозга, и нередко раньше, чем они, погибают нейроны в ряде других отделов центральной и периферической нервной системы [11]. Это приводит к нарушению некоторых немоторных функций (сон, обоняние, перистальтика кишечника и др.) задолго до нарушения моторики, что рассматривается в качестве биомаркеров ранней (продромальной) стадии БП [1, 12, 13]. Международной группой экспертов в 2015 г. на основании обобщения результатов популяционных наблюдательных исследований БП были предложены клинические критерии продромальной стадии болезни [1], диагностическая значимость которых продолжает уточняться. В качестве наиболее специфичного раннего симптома БП рассматривается вариант парасомнии — расстройство поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (РПБДГ). Наряду с РПБДГ при диагностике продромальной стадии БП предлагается учитывать нарушения обоняния, запоры, дневную сонливость, депрессию и ряд других расстройств. Показана также значимость утомляемости, когнитивной дисфункции, апатии в качестве премоторных нарушений БП [14]. Специфичность большинства премоторных симптомов невелика, однако их комбинация существенно повышает диагностическую значимость [15, 16].

Из представлений о системном характере БП вытекает то, что развитие этого заболевания должно сопровождаться нарушением не только немоторных функций, но и метаболизма нейротрансмиттеров в центральных и периферических нейронах, а также в иннервируемых ими внутренних органах. В свою очередь это должно приводить к изменениям в гуморальных средах, которые, как и премоторные симптомы, рассматриваются в качестве потенциальных диагностических биомаркеров [17—19]. Однако при отсутствии метода ранней диагностики БП поиск биомаркеров в гуморальных средах, в основном в крови и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), осуществляют у нелеченых больных на ранней стадии БП [8]. Вероятность диагностики БП на ранней стадии может быть существенно повышена при использовании комбинации биомаркеров.

Исходя из вышеизложенного, первой задачей данной работы явился поиск потенциальных больных на продромальной стадии БП по характерным немоторным проявлениям заболевания — РПБДГ, гипо/аносмии и нарушению функции кишечника (запоры). Второй задачей данного исследования явился поиск биомаркеров в плазме крови у лиц, отобранных по наличию немоторных симптомов в группу риска развития БП на продромальной стадии.

Материал и методы

Для решения первой задачи были сформированы 2 группы: риска и контроля. В группу риска включались лица в возрасте 50—75 лет с клиническими проявлениями РПБДГ (двигательная активность, сноговорение, соответствующее содержанию сновидений), жалобами на запоры и нарушение обоняния. Группу контроля составили подобранные по полу, возрасту и спектру сопутствующих заболеваний лица с отсутствием РПБДГ, нарушений обоняния и изменений по моторной части унифицированной рейтинговой шкалы болезни Паркинсона (УШОБС). *Критериями невключения* в исследование были заболевания кишечника, ЛОР-органов, органические поражения головного мозга, онкологические и психические заболевания.

Включение в группу риска проводилось в два этапа. На первом этапе на основании опроса уточнялось наличие нарушений сна (вопрос, рекомендованный для отбора пациентов исследовательской группой RBD — Rapid Behavior Disorder), обоняния и перистальтики кишечника. При положительном ответе на любой из этих вопросов обследуемого включали в предварительную группу риска, а при всех трех отрицательных ответах — в контрольную группу. На втором этапе симптомы РПБДГ уточняли с помощью опросника REM Sleep Behavior Disorder Screening Questionnaire, который обеспечивает диагностику с чувствительностью 96% и специфичностью 95% [20]. Нарушение обоняния оценивали с помощью набора Sniffin'Sticks («Burghart Medizintechnik», Wedel, Германия, 16 фломастеров с индивидуальными запахами). Обоняние считалось нарушенным при 12 ошибках пациента и более. Оценка двигательных нарушений проводилась с помощью моторной подшкалы УШОБС [21]. В группу повышенного риска включали пациентов, которые имели не менее 2 изменений из следующих: двигательные нарушения по УШОБС; 5 баллов и более по опроснику РПБДГ; 12 ошибок и более при исследовании обоняния. На основании показателей по УШОБС выделяли подгруппы риска со значениями 2 балла или меньше и больше, чем 2 балла.

Во время скрининга за период апрель 2019 г. — февраль 2020 г. были опрошены 1835 человек в возрасте от 50 до 75 лет. Среди них отобраны 45, которые положительно ответили на скрининговые вопросы о РПБДГ, или о нарушении обоняния, или о наличии запоров. Из 45 человек при последующем обследовании (этап 2) в группу риска были включены только 12 (6 мужчин, 6 женщин, средний возраст 59,3±6,3 года) **(табл. 1)**. Контрольную группу составили 8 человек (6 мужчин, 2 женщины, средний возраст 61,4±5,8 года) **(см. табл. 1)**. Набор в обе группы проводили на базе поликлиники и консультативно-диагностического центра ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова ДЗ г. Москвы.

Дополнительно в группе риска оценивали нарушения перистальтики кишечника по шкале SCOPA-AUT [22], депрессию и тревогу (госпитальная шкала тревоги и депрессии — HADS) [23], апатию [24], усталость (шкала тяжести усталости) [25], когнитивные функции по Монреальской шкале (MoCA) [26], физическую и умственную усталость по ВАШ [27]. Также при включении в группу риска по рекомендации Общества по двигательным расстройствам учитывали популяционные факторы риска развития БП — контакт с пестицидами/гербицидами; органическими растворителями; неупотребление кофеина; некурение, а также наличие родственников, страдающих БП [28].

В обеих группах проводили полисомнографическое исследование на аппарате Embla N7000 с регистрацией 6 каналов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) в отведениях F4-M1, C4-M1, O2-M1, F3-M2, C3-M2, O1-M2, 2 каналов электроокулограммы (ЭОГ), 2 каналов подбородочной электромиограммы (ЭМГ), 2 каналов ЭМГ передних большеберцовых мышц,

Таблица 1. **Характеристика обследованных**

Table 1. **Characteristics of patients in the risk group and the control group**

Группа	Средний возраст (годы)	Пол	Нарушение идентификации запахов (*n*)	Нарушение моторики кишечника (*n*)	Нарушения RBDSQ (*n*)	Минимальная паркинсоническая симптоматика (моторная часть подшкалы УШОБС) (*n*)	Наличие тревожно-депрессивных расстройств (HADS) (*n*)	Клинически значимая апатия (*n*)	Клинически значимая усталость (*n*)	Снижение когнитивных функций (*n*)
Риска (*n*=12)	59,3±6,3	6 муж. 6 жен.	6*	9^{+}	8*	8*	10	5	3	6
Контроля (*n*=8)	61,4±5,8	6 муж. 2 жен.	0	2	0	0	8	1	0	1

Примечание. * — различия достоверны с группой контроля при $p<0,05$; $^{+}$ — тенденция к достоверным различиям с группой контроля при $p=0,065$.
Note. * — significant differences with control group, $p<0.05$; $^{+}$ — tendency toward significant differences with control group, $p=0.065$.

1 канала ЭКГ в I отведении. Полисомнографическое исследование проводили в центре медицины сна Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

У всех обследованных брали кровь из вены в вакуумные пробирки (K3-ЭДТА). Пробоподготовку и анализ проводили в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Кровь центрифугировали при 4000 об/мин 10 мин при 4 °C, отделяя плазму от форменных элементов. С учетом особенностей пробоподготовки крови для анализа моноаминов/уратов и сфинголипидов кровь у пациентов брали с интервалом в несколько дней. Кровь для анализа моноаминов и уратов была получена у всех пациентов, а кровь для анализа сфинголипидов по техническим причинам удалось получить только у 5 пациентов в группе риска и 5 пациентов в группе контроля.

Измерение содержания моноаминов в плазме крови

Содержание катехоламинов и их метаболитов в плазме крови определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ-ЭД) по ранее описанному методу [29]. Полученные пробы замораживали в азоте и хранили при −70 °C не более 6 мес до измерения содержания катехоламинов и их метаболитов с помощью ВЭЖХ-ЭД. Содержание веществ рассчитывали методом внутреннего стандарта с помощью программного обеспечения LabSolutions («Shimadzu», Япония) как отношение площадей пиков в растворе стандартов и образце плазмы.

Измерение содержания сфинголипидов в плазме крови

Липиды выделяли из плазмы по методу Блайя—Дайера [30]. Масс-спектрометрическое определение молекулярных видов сфингомиелинов, церамидов и сфингоидных оснований (сфингозина и сфинганина) проводили с помощью масс-спектрометра TSQ Endura («Thermo Fisher Scientific», Германия) в режиме мониторинга множественных реакций (ММР). Для церамидов фрагментацию исходных протонированных и дегидратированных молекул проводили при энергии 20 эВ до иона с отношением массы к заряду (m/z) 264,2 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингомиелинов — при энергии 20 эВ до иона с m/z 184,1 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингозина и его дейтерированного стандарта (d7, «Avanti», США) фрагментацию протонированных молекул проводили при энергии 12,5 эВ до ионов с m/z 259,3 и 252,3 Да соответственно, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфинганина — при энергии 12,5 эВ до иона с m/z 266.3 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. В качестве стандарта использовали смесь церамидов Ceramide Porcine Brain 860052P («Avanti», США) с содержанием церамида d18:1/18:0 50% и d18:1/24:1 20%. Вычисления проводили по площадям пиков ММР-переходов MH+·→ m/z 264,4 Да и (M+H-H2O)+·→ m/z 264,4 Да. Содержание сфингозина d18:1 определяли по внутренней калибровке (метод внутреннего стандарта, стандарт D-erythro-sphingosine d7, «Sigma», США) по площадям ММР-переходов (m/z 300+·→ m/z 252,3 Да для недейтерированного и m/z 307+·→ m/z 259,3 Да для дейтерированного сфингозина). Содержание сфинганина d18:0 определяли по внешней калибровке (стандарт — DL-erythro-dihidrosphingosine, «Sigma», США) по площадям ММР-переходов m/z 302+·→ m/z 266,3 Да.

Хроматографическое разделение проводили с использованием системы Ultimate 3000 («Thermo Fisher Scientific», Германия) на колонке Eclipse Plus C8 3,0×150 мм («Agilent», США), размер частиц 3,5 мкм. Температура составляла 50 °C, поток — 400 мкл/мин. При определении сфингозина, церамидов и сфингомиелина использовали составы мобильных фаз: фаза А — вода+0,1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б — метанол+0,1% (по объему) муравьиной кислоты (0,7 мин 55% фазы Б, 100% фазы Б к 6, 7-й минуте, 100% фазы Б до 12-й минуты, 55% фазы Б от 13-й до 17-й минуты, 55% фазы Б к 13-й минуте). При определении сфинганина использованы мобильные фазы: фаза А — вода+0,1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б — 50% метанол+50% ацетонитрил+0,1% (по объему) муравьиной кислоты (1,5 мин 20% фазы Б, 100% фазы Б к 3, 2-й минуте, 100% фазы Б до 6, 7-й минуты, 20% фазы Б к 7, 7-й минуте, 20% фазы Б до 10-й минуты).

Измерение содержания уратов в плазме крови

Содержание уратов определяли колориметрическим энзиматическим методом в плазме на биохимическом анализаторе Advia 1800 («Siemens Healthcare Diagnostics», Германия) при длине волны 546 нм (7 пациентов в группе контроля и 11 — в группе риска).

Исследование было одобрено этическим комитетом ГКБ №1 им. Н.И. Пирогова ДЗ Москвы. Пациенты подписали информированное согласие на участие в проводимых исследованиях.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета GraphPad Prism Version 6.0 («GraphPad Software», США) или Microsoft Excel ver 16.37. Количественные переменные представлены в виде SE±SEM. Для проверки распределения данных на нормальность использовали W-критерий Шапиро—Уилка. Для проверки гипотезы о равенстве дисперсий — критерий Левена. В случае, если данные были распределены нормально, но не отвечали требованию о равенстве дисперсий, для двух групп использовали двухвыборочный t-тест с неравными дисперсиями. В случае, если данные были распределены нормально и имели равные дисперсии, использовали t-критерий Стьюдента (для двух групп) или однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (для трех групп). Множественные сравнения групп после дисперсионного анализа проводили при помощи критерия Тьюки. В остальных случаях использовали критерий Манна—Уитни (для двух групп) или критерий Краскела—Уоллиса (для трех групп). Критерием значимости считали $p \leqslant 0{,}05$.

Результаты

Группу риска составили 12 человек (6 мужчин, 6 женщин, средний возраст 59,3±6,3 года), группу контроля — 8 человек (6 мужчин, 2 женщины, средний возраст 61,4±5,8 года) **(см. табл. 1)**.

В группе риска нарушение идентификации запахов было выявлено у 6 (50%) человек и ни у одного пациента в группе контроля (p=0,042). Интересно, что из 21 пациента, положительно ответившего на вопрос о нарушении восприятия запахов, оно было объективно отмечено только у 4, что свидетельствует о субъективности оценки обоняния в популяции и необходимости проведения специального тестирования. Два пациента с гипосмией не замечали у себя нарушений обоняния. РПБДГ, по данным опросника, отмечалось у 8 (67%) обследуемых пациентов из 12 и ни у одного в контрольной группе (p=0,0047). Минимальные двигательные нарушения, не позволяющие диагностировать синдром паркинсонизма, в виде легкой брадикинезии (легкая амимия, общая минимальная замедленность движений, легкая замедленность или небольшое снижение амплитуды при выполнении моторных проб) или непостоянного повышения мышечного тонуса по пластическому типу были отмечены у 8 пациентов в группе риска и ни у одного в группе контроля (p=0,0047). Тремора покоя не отмечалось ни у одного из включенных в исследование. Нарушение перистальтики кишечника выявили в 9 (75%) случаях в группе риска и в 2 (25%) случаях в контрольной группе (p=0,065).

Оценка эмоционального статуса пациентов показала, что у 83% пациентов группы риска (10 из 12) и у 100% лиц контрольной группы отмечались изменения. Нарушения депрессивного спектра были выявлены у 9 пациентов группы риска и 7 — группы контроля. Тревожные расстройства — у 9 исследуемых группы риска и всех лиц контрольной группы.

Повышенную усталость отмечали 58,3% (4 из 10) пациентов группы риска, из них у 3 изменения отмечались по шкале усталости (36 баллов и выше). В контрольной группе клинически значимой усталости не выявлялось. Признаки апатии выявлены у 5 пациентов группы риска и 1 — из группы контроля.

Снижение суммы баллов до 23,6±2,4 по шкале MoCA было выявлено у 6 пациентов в группе риска. Ошибки выявлялись в тестах на внимание, беглость речи, тесте рисования часов, отсроченное воспроизведение слов, что свидетельствует об изменении нейродинамических и регуляторных функций.

Оценка факторов риска показала, что, несмотря на небольшую выборку обследуемых, среди пациентов группы риска только 1 человек курил и только 2 обследованных употребляли кофе. Двое обследуемых имели непродолжительный контакт с растворителями, у 2 были родственники, страдающие БП.

При проведении полисомнографии диагноз РПБДГ был подтвержден у 5 пациентов группы риска и еще у 3 пациентов он был под вопросом, так как при наличии клинических признаков не было выявлено полисомнографических маркеров РПБДГ. Два из 5 пациентов с изменениями на полисомнографии не знали о наличии у них повышенной двигательной активности во время сна. Вместе с тем ни у одного из пациентов, набравших <5 баллов по скрининговому опроснику РПБДГ, не было выявлено полисомнографических маркеров РПБДГ. Среди пациентов с подтвержденным диагнозом РПБДГ у всех отмечалась гипосмия и 2 в течение 5—7 лет страдали запорами.

Таким образом, анализ немоторных симптомов выявил достоверное преобладание или тенденцию к достоверным различиям в частоте гипо/аносмии, нарушений сна и функции кишечника по сравнению с контролем.

Катехоламины и метаболиты в плазме крови у обследуемых

Поскольку концентрация дофамина (ДА) в крови была наименьшей — на грани разрешающей способности ВЭЖХ-ЭД, этот нейротрансмиттер удалось выявить только у 3 человек в группе контроля и у 5 — в группе риска. Концентрация норадреналина (НА), ДА, L-диоксифенилаланина (L-ДОФА) и диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) в плазме крови в группе контроля и группе риска была на один-два порядка ниже, чем концентрация 3-О-метилдофы (3-ОМД), гомованилиновой кислоты (ГВК) и 3-метокситирамина (3-МТ) **(рис. 1)**. Различия между группами контроля и риска были только по одному показателю — концентрации L-ДОФА, которая оказалась на ≈30% выше в группе контроля **(см. рис. 1)**.

При сопоставлении концентрации катехоламинов и метаболитов в группе контроля с подгруппами риска с наличием/отсутствием по шкале УШОБС непаркинсонических моторных нарушений было установлено, что концентрация L-ДОФА и ДОФУК в подгруппе с моторными нарушениями была снижена по сравнению с контролем **(рис. 2)**. Напротив, достоверные различия концентрации L-ДОФА и ДОФУК у обследуемых в контроле и подгруппе без моторных нарушений отсутствовали.

Сфинголипиды в плазме крови у обследуемых

Концентрация 12 молекулярных видов сфингомиелинов в контроле варьирует (по средним значениям) от следовой величины (d18:1/14:0) до 40 250 (d18:1/16:0) нг/мл, а в группе риска в еще большей степени — от следового значения (d18:1/14:0) до 75 000 (d18:1/24:1) **(рис. 3)**. Достоверные различия были обнаружены в концентрации 6 из них в группе контроля и группе риска. Во всех случаях концентрация сфингомиелинов, содержащих жирнокислотные

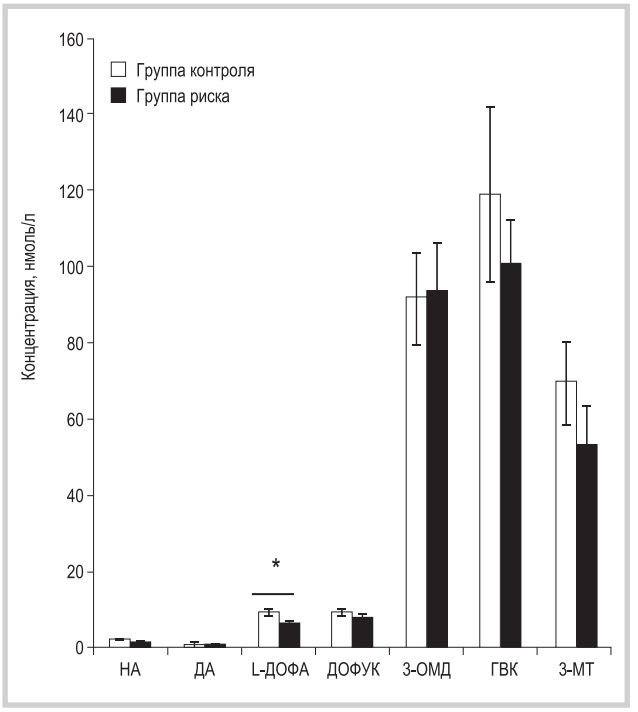

***Рис. 1*. Концентрация катехоламинов в плазме крови у пациентов в группе контроля и группе риска.**
Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего. * — $p \leqslant 0{,}05$ статистически достоверные различия.

***Fig. 1.* The concentration of catecholamines in plasma of patients in the risk group and the control group.**
The mean values and a standard error of the mean are given. * — $p \leqslant 0.05$ statistically significant differences.

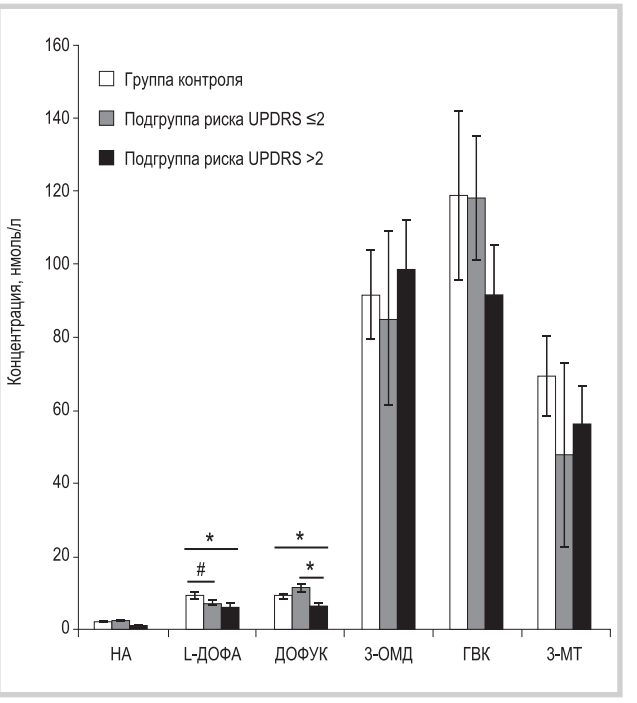

***Рис. 2.* Концентрация катехоламинов в плазме крови у обследуемых в группе контроля, подгруппе риска с непаркинсоническими моторными нарушениями и подгруппе риска без моторных нарушений.**
Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего. * — $p \leqslant 0{,}05$ статистически достоверное различия, # — $p \leqslant 0{,}15$ тенденция к различиям между группами.

***Fig.2.* The concentration of catecholamines in plasma of patients in the control group, in the risk subgroup in patients with non-parkinsonian motor impairments (UPDRS >2 points) and in the risk subgroup in patients without motor impairments (UPDRS ≤2 points).**
The mean values and standard error of the mean are given. * — $p \leqslant 0.05$ statistically significant differences, # — $p \leqslant 0.15$ tendency to differences between groups.

цепи d18:1/20:0, d18:1/20:1, d18:1/22:0, d18:1/22:1, в группе контроля была примерно в 2 раза меньше, чем в группе риска **(см. рис. 3)**.

Концентрация 9 молекулярных видов церамидов в группе контроля не отличалась от таковой в группе риска **(табл. 2)**. В обеих группах концентрации варьировали от следовых в случае церамидов с жирными кислотами d18:1/18:0, d18:1/20:0, d18:1/22:1, d18:1/26:0, d18:1/26:1 до 2600 нг/мл. Только в случае церамида d18:1/22:1 отмечена тенденция (p=0,06) к повышению его концентрации в группе риска **(см. табл. 2)**.

Концентрация сфинганина и сфингозина в группе контроля была низкой и не отличалась от таковой в группе риска **(см. табл. 2)**.

Ураты в плазме крови у обследуемых в группе контроля и группе риска

Отмечалась тенденция к достоверным различиям к снижению концентрации уратов в группе риска по сравнению с группой контроля (p=0,07). Эта тенденция не прослеживалась при раздельном сравнении группы контроля с подгруппами с моторными нарушениями по УШОБС (p=0,14) и без моторных нарушений (p=0,27) **(рис. 4)**.

Обсуждение

Несмотря на то что разработка ранней (доклинической) диагностики БП является одним из важнейших приоритетов неврологии, до сих пор отсутствует диагностическая технология, рекомендованная для клинического использования [8]. Это объясняется тем, что существующие методологии, основанные главным образом на идентификации премоторных симптомов на продромальной стадии или изменений в гуморальных средах (ЦСЖ, кровь) у нелеченых больных на ранней клинической стадии, позволяют идентифицировать БП на доклинической стадии только с некоторой вероятностью. Более того, выявленные до сих пор маркеры не являются абсолютно специфичными для БП [31].

Как было показано в последние годы, вероятность диагностики БП на доклинической стадии можно повысить путем использования комбинированного подхода — одновременной идентификации нескольких маркеров [32, 33]. Используя этот подход в данной работе, мы из 1835 обследованных отобрали 12 пациентов (группа риска), у которых имелись характерные для ранней стадии БП немоторные симптомы (гипо/аносмия, запоры, нарушение сна), а также минимальная двигательная симптоматика, недостаточная для диагностики синдрома паркинсонизма. При этом группа риска составила всего 0,65% от всех обследованных, что хорошо согласуется с эпидемиологическими данными, согласно которым БП страдают от 1 до 3% лиц старше 60 лет [34, 35]. При обследовании тех же 1835 человек в группу контроля были отобраны 8 человек, у которых отсутствовали указанные выше премоторные симптомы и любые

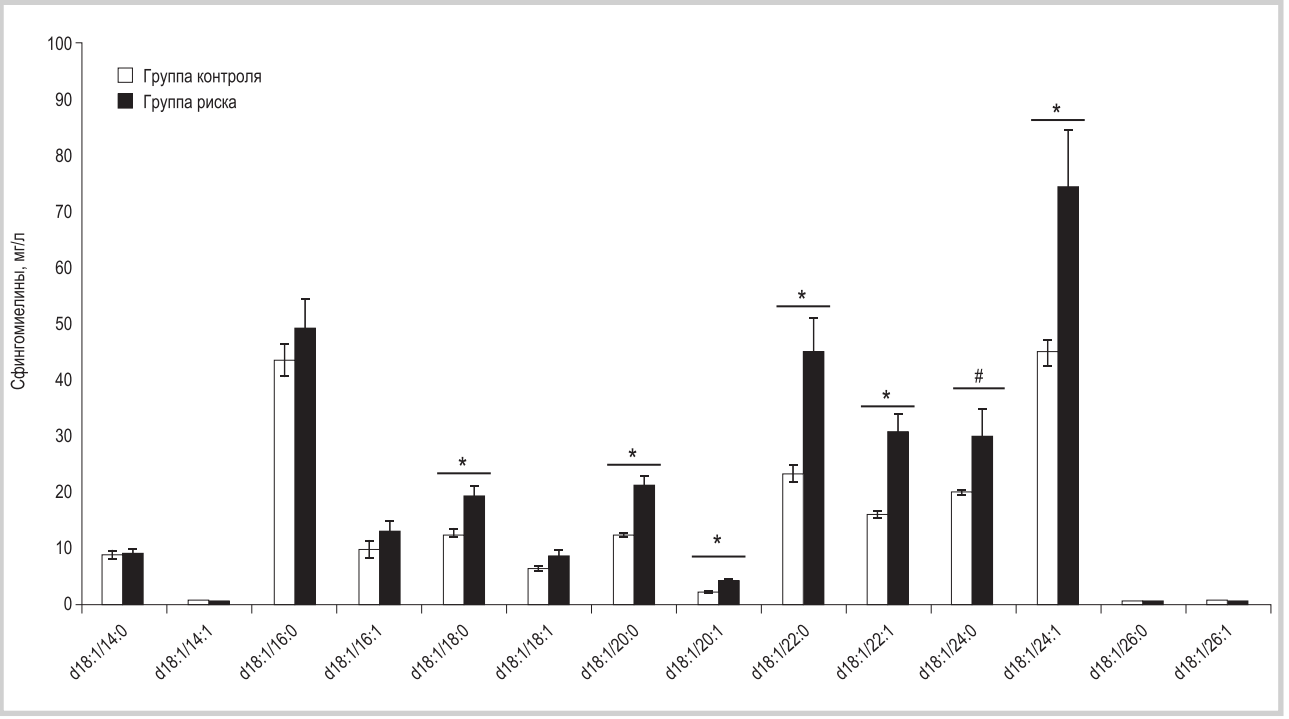

Рис. 3. **Концентрация молекулярных видов сфингомиелинов в плазме крови у обследуемых.**
* — $p<0,05$ достоверное отличие от контроля, # — $p\leqslant0,15$ тенденция к различиям между группами.

Fig. 3. **The concentration of molecular species of sphingomyelins in blood plasma of patients in the control group and of patients in the risk group.**
* — $p<0.05$ significant difference from control, # — $p\leqslant0.15$ tendency to differences between groups.

двигательные нарушения. Сформированные нами группы риска и контроля были минимальны по числу включенных пациентов для последующего количественного анализа. Поэтому мы рассматриваем данное исследование как пилотное, которое по полученным результатам позволит перейти к проведению более масштабного сетевого исследования с участием нескольких коллективов.

Важно отметить, что в нашем исследовании в группу риска отбирались пациенты по сочетанию клинических симптомов: трем немоторным признакам и минимальной двигательной симптоматике. Действительно, логично было предположить, что вероятность выявления пациента на продромальной стадии БП должна повышаться по мере увеличения количества положительных премоторных симптомов. Так, по полученным данным, среди 12 пациентов в группе риска у 2 положительными были все 4 теста, у 2 — 3 теста, у 4 — 2 теста. Наиболее значимыми явились нарушения сна, минимальная двигательная дисфункция и расстройства обоняния, которые достоверно чаще определялись в группе риска. Частота нарушений моторики кишечника в группе риска имела тенденцию к достоверным различиям с контрольной группой.

Выявление пациентов на продромальной стадии БП по проявлению у них клинических симптомов риска БП позволяет осуществлять поиск изменений в гуморальных средах до диагностики БП. Эти изменения в гуморальных средах в отличие от тех, которые выявляются у больных на ранней стадии БП, можно с уверенностью считать специфическими диагностическими биомаркерами доклинической стадии БП. Однако, учитывая системный характер спорадической БП и то, что эта болезнь фактически является синдромом, вряд ли можно ожидать, что биомаркеры крови, выявленные у пациентов в группе риска, будут специфичными для развернутой стадии БП. Для проверки этого предположения в дальнейшем необходимо провести сравнительный анализ маркеров крови на доклинической (продромальной) стадии при различных хронических заболеваниях мозга, в первую очередь при болезни Альцгеймера.

Исходя из того, что одним из ключевых элементов патогенеза БП является гибель центральных и периферических катехоламинергических нейронов, получены многочисленные, хотя нередко противоречивые данные об изменении содержания катехоламинов и метаболитов в ЦСЖ и плазме крови. Более того, обнаруженные изменения по этим показателям у нелеченых больных на ранней клинической стадии БП рассматриваются в качестве потенциальных диагностических маркеров доклинической стадии этого заболевания. Однако, учитывая прогрессирующий системный характер развития БП, нами предполагалось, что только незначительная часть биомаркеров, обнаруженных у нелеченых больных на ранней стадии БП, может быть использована для доклинической диагностики этого заболевания [8]. Эта гипотеза подтвердилась в нашем предыдущем исследовании при сравнении изменений содержания катехоламинов и метаболитов в крови у больных на ранней клинической стадии и у мышей на нейротоксической модели доклинической стадии БП. Так, у больных было обнаружено снижение концентрации всех изученных катехоламинов и метаболитов — норадреналина, адреналина, ДА, L-ДОФА и ДОФУК, тогда как на модели доклинической стадии было обнаружено снижение концентрации только L-ДОФА и ДОФУК [19].

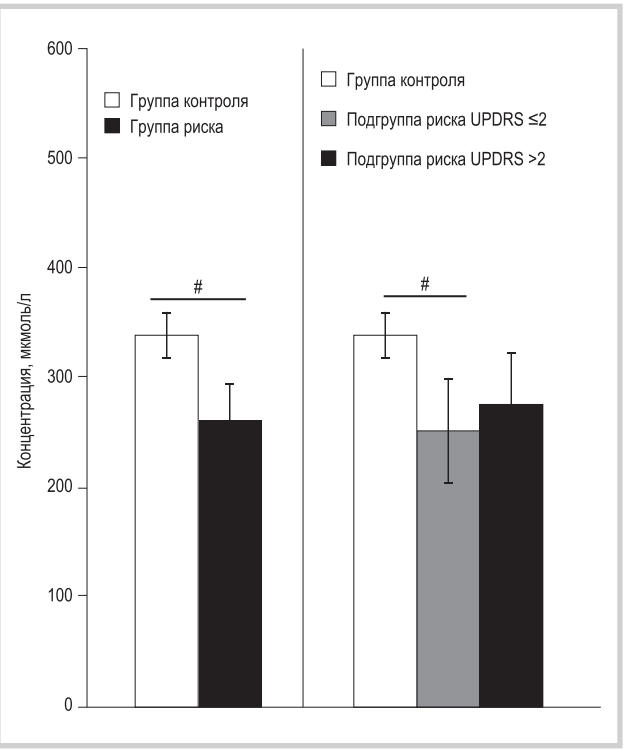

Рис. 4. **Концентрация уратов в плазме крови обследуемых.**
[#] — $p \leqslant 0{,}15$ тенденция к различиям между группами.

Fig. 4. **The concentration of urates in the blood plasma of patients in the control group and in the risk group.**
[#] — $p \leqslant 0.15$ tendency for differences between groups.

В настоящем исследовании получено дополнительное подтверждение того, что изменение концентрации только незначительной части катехоламинов и метаболитов в крови может служить маркером доклинической стадии БП. Так, было показано, что у пациентов в группе риска снижена концентрация только L-ДОФА. Это означает, что среди пяти биомаркеров в виде изменения концентрации в крови катехоламинов и метаболитов, обнаруженных нами ранее у нелеченых больных на ранней клинической стадии БП [19], только один маркер — снижение концентрации ДОФУК — может служить для диагностики БП на продромальной стадии.

Особый интерес представляет дифференцированный анализ изменения концентрации катехоламинов и метаболитов у пациентов в группе риска, подразделенной на две подгруппы — с моторными проявлениями по УШОБС и без моторных проявлений по этой шкале. Достоверное снижение L-ДОФА происходит только у пациентов с моторными нарушениями, тогда как у пациентов без моторных нарушений отмечена тенденция к снижению (p=0,11). Учитывая незначительные разбросы индивидуальных данных, отмеченная тенденция, вероятно, будет трансформирована в достоверные различия при увеличении числа пациентов. В подгруппе с моторными нарушениями в отличие от подгруппы без таких нарушений также отмечено достоверное снижение концентрации в плазме ДОФУК по сравнению с группой риска и подгруппой с моторными нарушениями. Если считать, что пациенты в группе риска без моторных нарушений находятся в более ранней фазе продромальной стадии, чем пациенты из группы риска с моторными нарушениями, то маркером ранней фазы продромальной ста-

Таблица 2. **Концентрация сфингоидных оснований и церамидов в плазме обследованных обеих групп (SE±SEM, мкг/л)**
Table 2. **Concentration of sphingoid bases and ceramides in the plasma of both groups (SE±SEM, mcg/l)**

Группа	Сфингозин	Сфинганин	Сфингомиелины								
			d18:1/16:0	d18:1/18:0	d18:1/20:0	d18:1/22:0	d18:1/22:1	d18:1/24:0	d18:1/24:1	d18:1/26:0	d18:1/26:1
Группа контроля (n=5)	6,11±0,94	3,24±0,45	145,01±23,17	26,26±1,74	31,81±3,56	614,05±70,86	6,39[#]±0,70	2159,25±157,62	432,45±29,31	33,71±4,70	14,7±0,76
Группа риска (n=5)	5,82±0,81	2,08±0,67	138,87±18,11	29,62±4,52	41,42±4,39	768,84±74,40	9,71[#]±1,31	2607,71±280,11	466,06±47,33	36,64±8,16	16,91±3,60
Значение t-критерия Стьюдента	0,82	0,15	0,84	0,51	0,13	0,17	0,06[#]	0,20	0,56	0,76	0,58

Примечание. [#]p<0,1 — тенденция к различию между выбранными группами.
Note. [#]p<0.1 — tendency towards difference between selected groups.

дии может быть только снижение L-ДОФА, а маркерами более поздней фазы — L-ДОФА и ДОФУК.

При поиске биомаркеров ранней клинической стадии БП в плазме наряду с изменениями уровня катехоламинов и их метаболитов, сопряженных с дегенерацией катехоламинергических нейронов, обнаружены неспецифические биомаркеры дегенерации нейронов. К ним относятся изменения в плазме крови уровня сфинголипидов, которые сопряжены с общими нейродегенеративными процессами, в частности с апоптозом [36]. Наиболее распространенными сфинголипидами в эукариотических клетках и плазме крови являются сфингомиелины. В нервной системе сфингомиелины являются основным компонентом миелиновой оболочки аксонов. Сфингомиелины также входят в состав рафтов и являются источником биоактивных липидов, таких как церамид, церамид-1-фосфат и сфингозин-1-фосфат, участвующих в процессах воспаления [37, 38], гибели клеток [39, 40], аутофагии [41] и α-синуклеинопатии [36].

Мутации в ферменте, расщепляющем сфингомиелин до церамида, — сфингомиелиназе-1 (нейтральной сфингомиелиназе) приводят к накоплению сфингомиелина, что является фактором риска развития БП [41, 42]. Это сопровождается усилением экспрессии α-синуклеина [43] и его увеличением в составе телец [44]. У пациентов с БП мутации в гене бета-глюкозидазы, кодирующей глюкоцереброзидазу, которая расщепляет глюкозилцерамид на глюкозу и церамид [45], являются наиболее распространенными генетическими факторами риска спорадической БП, составляющими около 7% всех случаев [46, 47]. У этих больных более высокий уровень сфингомиелина в плазме по сравнению с больными, не несущими мутации в этом ферменте [48].

Несмотря на большой интерес к изучению нарушений метаболизма сфинголипидов, сопровождающихся изменением их уровня в крови, которые рассматриваются как маркеры неврологических и психических заболеваний, до сих пор отсутствовали попытки оценить эти изменения на доклинической (продромальной) стадии БП. В данной работе удалось выявить изменения в уровне сфинголипидов в крови у пациентов в группе риска, предположительно на продромальной стадии БП по сравнению с группой контроля. Так, из 12 молекулярных форм измеренных сфингомиелинов концентрация 6 из них была достоверно повышена в плазме в группе риска по сравнению с группой контроля. Из 9 молекулярных форм церамидов концентрация только 1 из них была повышена — на грани достоверности (p=0,06). В отличие от сфингомиелинов и церамидов концентрация сфинганина и сфингазина в крови в группе риска не отличалась от таковой в группе контроля. Полученные данные позволяют предположить, что изменение уровня сфинголипидов, в частности сфингомиелинов, в крови может служить маркером доклинической (продромальной) стадии БП. Это предполагается проверить путем дальнейшей оценки функционального состояния нигростриарной ДАергической системы с помощью позитронно-эмиссионной томографии.

В предыдущих исследованиях, направленных на поиск биомаркеров в крови у нелеченых больных на ранней клинической стадии БП, обнаружены изменения, отражающие не только системные нейродегенеративные процессы в виде изменения концентрации моноаминов и их метаболитов в плазме, но и репаративные процессы [8]. Одним из таких маркеров считаются ураты, обладающие нейропротективным действием [49]. Во многих работах убедительно показано, что на клинической стадии БП концентрация уратов в крови снижена по сравнению с возрастным контролем. Более того, концентрация уратов в крови постепенно снижается по мере прогрессирования БП [50].

На текущий момент существуют лишь единичные работы, которые позволяют предположить, что концентрация уратов снижена в плазме не только на клинической стадии БП, но и на продромальной [51, 52]. Это предположение подтверждается результатами данной работы. Так, нами обнаружена тенденция (p=0,14) к снижению концентрации уратов в плазме у пациентов в группе риска по сравнению с контролем. Учитывая, с одной стороны, малый объем выборки пациентов в этом, как уже подчеркивалось, пилотном исследовании, а с другой — относительно небольшие индивидуальные различия в группах контроля и риска, можно рассчитывать на то, что в дальнейшем исследовании при увеличении выборки пациентов будут получены достоверные различия. Окончательным доказательством того, что снижение концентрации уратов в плазме может служить маркером продромальной стадии БП, может быть выявление функциональной недостаточности нигростриарной ДАергической системы у лиц в группе риска с пониженным уровнем уратов в крови и появление у них со временем нарушения моторики.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что изменения содержания в крови у людей без моторных нарушений некоторых метаболитов катехоламинов, сфингомиелинов и уратов могут служить маркерами продромальной стадии БП.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-00-01334/18.

The study was funded by RFBR, project number № 18-00-01334/18.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

1. Postuma RB, Berg D, Stern M, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1591-1601. https://doi.org/10.1002/mds.26424
2. Нодель МР. Влияние нервно-психических нарушений на качество жизни пациентов с болезнью Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2015;20(1):20-25. Nodel MR. The impact of neuropsychiatric symptoms on quality of life of patients with Parkinson's disease. *Nevrologicheskiy zhurnal*. 2015;20(1):20-25. (In Russ.). https://doi.org/10.18821/1560-9545-2015-20-1-20-27
3. Нодель МР, Украинцева ЮВ, Яхно НН. Синдром нарушения поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз при болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2015;20(6):28-34.

Nodel MR, Ukraintseva UV, Yakhno NN. Rapid eye movements sleep behavioral disorder in Parkinson's disease. *Nevrologicheskiy zhurnal*. 2015;20(6):28-34. (In Russ).
https://doi.org/10.17116/jnevro201711791l5-20

4. Катунина ЕА, Ильина ЕП, Садекова ГИ, Гайсенюк ЕИ. Подходы к ранней диагностике болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(6):119-127.
Katunina EA, Ilina EP, Sadekhova GI, Gaisenuk EI. Approaches to early diagnosis of Parkinson's disease. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2019;119(6):119-127. (In Russ).
https://doi.org/10.17116/jnevro2019119061119
5. Bezard E, Gross CE. Compensatory mechanisms in experimental and human parkinsonism: towards a dynamic approach. *Prog Neurobiol*. 1998;55(2):93-116.
https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00006-9
6. Blesa J, Trigo-Damas I, Dileone M, et al. Compensatory mechanisms in Parkinson's disease: Circuits adaptations and role in disease modification. *Exp Neurol*. 2017;298(Pt B):148-161.
https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.002
7. Agid Y. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet*. 1991;337(8753):1321-1324.
https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92989-f
8. Ugrumov M. Development of early diagnosis of Parkinson's disease: illusion or reality? *CNS Neurosci Ther*. 2020;26(10):997-1009.
https://doi.org/10.1111/cns.13429
9. Connolly BS, Lang AE. Pharmacological treatment of Parkinson disease: a review. *JAMA*. 2014;311(16):1670-1683.
https://doi.org/10.1001/jama.2014.3654
10. Goldstein DS. Dysautonomia in Parkinson disease. *Compr Physiol*. 2014;4(2):805-826.
https://doi.org/10.1002/cphy.c130026
11. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, et al.. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197-211.
https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00065-9
12. Mahlknecht P, Seppi K, Poewe W. The Concept of prodromal Parkinson's disease. *J Parkinsons Dis*. 2015;5(4):681-697.
https://doi.org/10.3233/JPD-150685
13. Postuma RB, Berg D. Advances in markers of prodromal Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2016;12(11):622-634.
https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.152
14. Pont-Sunyer C, Hotter A, Gaig C, et al. The onset of nonmotor symptoms in Parkinson's disease (the ONSET PD study). *Mov Disord*. 2015;30(2):229-237.
https://doi.org/10.1002/mds.26077
15. Izawa MO, Miwa H, Kajimoto Y, Kondo T. Combination of transcranial sonography, olfactory testing, and MIBG myocardial scintigraphy as a diagnostic indicator for Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2012;19(3):411-416.
https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2011.03533.x
16. Shin HY, Joo EY, Kim ST, et al. Comparison study of olfactory function and substantia nigra hyperechogenicity in idiopathic REM sleep behavior disorder, Parkinson's disease and normal control. *Neurol Sci*. 2013;34(6):935-940.
https://doi.org/10.1007/s10072-012-1164-0
17. Eller M, Williams DR. Biological fluid biomarkers in neurodegenerative parkinsonism. *Nat Rev Neurol*. 2009;5(10):561-570.
https://doi.org/10.1038/nrneurol.2009.135
18. Le W, Dong J, Li S, Korczyn AD. Can Biomarkers help the early diagnosis of Parkinson's Disease? *Neurosci Bull*. 2017;33(5):535-542.
https://doi.org/10.1007/s12264-017-0174-6
19. Kim A, Nigmatullina R, Zalyalova Z, et al. Upgraded methodology for the development of early diagnosis of Parkinson's Disease based on searching blood markers in patients and experimental models. *Mol Neurobiol*. 2019;56(5):3437-3450.
https://doi.org/10.1007/s12035-018-1315-2
20. Stiasny-Kolster K, Mayer G, Schäfer S, et al. The REM sleep behavior disorder screening questionnaire — a new diagnostic instrument. *Mov Disord*. 2007;22(16):2386-2393.
https://doi.org/10.1002/mds.21740
21. Fahn S, Elton RL. *UPDRS Development Committee. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale*. In: Fahn S, Marsden CD, Calne DB, Goldstein M, editors. *Recent Developments in Parkinson's Disease*. 2nd ed. Macmillan Healthcare Information; Florham Park, NJ: 1987;153-163, 293-304.
22. Visser M, Marinus J, Stiggelbout AM, Van Hilten JJ. Assessment of autonomic dysfunction in Parkinson's disease: the SCOPA-AUT. *Mov Disord*. 2004;19(11):1306-1312.
https://doi.org/10.1002/mds.20153
23. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983;67(6):361-370.
https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x
24. Starkstein SE, Mayberg HS, Preziosi TJ, et al. Reliability, validity, and clinical correlates of apathy in Parkinson's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1992;4(2):134-139.
https://doi.org/10.1176/jnp.4.2.134
25. Brown RG, Dittner A, Findley L, Wessely SC. The Parkinson fatigue scale. *Parkinsonism Relat Disord*. 2005;11(1):49-55.
https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2004.07.007
26. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment [published correction appears in J Am Geriatr Soc. 2019;67(9):1991]. *J Am Geriatr Soc*. 2005;53(4):695-699.
https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x
27. Choi-Kwon S, Han SW, Kwon SU, Kim JS. Poststroke fatigue: characteristics and related factors. *Cerebrovasc Dis*. 2005;19(2):84-90.
https://doi.org/10.1159/000082784
28. Berg D, Postuma RB, Adler CH, et al. MDS research criteria for prodromal Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1600-1611.
https://doi.org/10.1002/mds.26431
29. Kozina EA, Kim AR, Kurina AY, Ugrumov MV. Cooperative synthesis of dopamine by non-dopaminergic neurons as a compensatory mechanism in the striatum of mice with MPTP-induced Parkinsonism. *Neurobiol Dis*. 2017;98:108-121.
https://doi.org/10.1016/j.nbd.2016.12.005
30. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959;37(8):911-917.
https://doi.org/10.1139/o59-099
31. Antoniades CA, Barker RA. The search for biomarkers in Parkinson's disease: a critical review. *Expert Rev Neurother*. 2008;8(12):1841-1852.
https://doi.org/10.1586/14737175.8.12.1841
32. Yu Z, Stewart T, Aasly J, et al. Combining clinical and biofluid markers for early Parkinson's disease detection. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;5(1):109-114.
https://doi.org/10.1002/acn3.509
33. Li T, Le W. Biomarkers for Parkinson's Disease: How Good Are They? *Neurosci Bull*. 2020;36(2):183-194.
https://doi.org/10.1007/s12264-019-00433-1
34. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017;124(8):901-905.
https://doi.org/10.1007/s00702-017-1686-y
35. Marino BLB, de Souza LR, Sousa KPA, et al. Parkinson's Disease: A Review from pathophysiology to treatment. *Mini Rev Med Chem*. 2020;20(9):754-767.
https://doi.org/10.2174/1389557519666191104110908
36. Alessenko AV, Albi E. Exploring sphingolipid implications in neurodegeneration. *Front Neurol*. 2020;11:437.
https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00437
37. Nixon GF. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets. *Br J Pharmacol*. 2009;158(4):982-993.
https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00281.x
38. Norris GH, Blesso CN. Dietary and endogenous sphingolipid metabolism in chronic inflammation. *Nutrients*. 2017;9(11):1180.
https://doi.org/10.3390/nu9111180
39. Jembrek MJ, Hof PR, Šimić G. Ceramides in Alzheimer's Disease: key mediators of neuronal apoptosis induced by oxidative stress and Aβ accumulation. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:346783.
https://doi.org/10.1155/2015/346783
40. Kiraz Y, Adan A, Kartal Yandim M, Baran Y. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. *Tumour Biol*. 2016;37(7):8471-8486.
https://doi.org/10.1007/s13277-016-5035-9
41. Mao CY, Yang J, Wang H, et al. SMPD1 variants in Chinese Han patients with sporadic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017;34:59-61.
https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2016.10.014
42. Foo JN, Liany H, Bei JX, et al. Rare lysosomal enzyme gene SMPD1 variant (p.R591C) associates with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2013;34(12):37-42.
https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.06.010
43. Kim WS, Halliday GM. Changes in sphingomyelin level affect alpha-synuclein and ABCA5 expression. *J Parkinsons Dis*. 2012;2(1):41-46.
https://doi.org/10.3233/JPD-2012-11059
44. den Jager WA. Sphingomyelin in Lewy inclusion bodies in Parkinson's disease. *Arch Neurol*. 1969;21(6):615-619.
https://doi.org/10.1001/archneur.1969.00480180071006

45. Vila M, Przedborski S. Targeting programmed cell death in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(5):365-375. https://doi.org/10.1038/nrn1100

46. Simola N, Morelli M, Carta AR. The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neurotox Res*. 2007;11(3-4):151-167. https://doi.org/10.1007/BF03033565

47. Cicchetti F, Drouin-Ouellet J, Gross RE. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models? *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(9):475-483. https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.06.005

48. Guedes LC, Chan RB, Gomes MA, et al. Serum lipid alterations in GBA-associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017;44:58-65. https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.08.026

49. Cipriani S, Chen X, Schwarzschild MA. Urate: a novel biomarker of Parkinson's disease risk, diagnosis and prognosis. *Biomark Med*. 2010;4(5):701-712. https://doi.org/10.2217/bmm.10.94

50. Wen M, Zhou B, Chen YH, et al. Serum uric acid levels in patients with Parkinson's disease: A meta-analysis. *PLoS One*. 2017;12(3):e0173731. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173731

51. Uribe-San Martín R, Venegas Francke P, López Illanes F, et al. Plasma urate in REM sleep behavior disorder. *Mov Disord*. 2013;28(8):1150-1151. https://doi.org/10.1002/mds.25441

52. van Wamelen DJ, Taddei RN, Calvano A, et al. Serum Uric Acid Levels and Non-Motor Symptoms in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis*. 2020;10(3):1003-1010. https://doi.org/10.3233/jpd-201988

Поступила 03.08.2020
Received 03.08.2020
Принята в печать 11.08.2020
Accepted 11.08.2020