

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА»**

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

На правах рукописи

**АНДРЕЕВ МАКСИМ НИКОЛАЕВИЧ
МУЛЬТИСИСТЕМНАЯ АТРОФИЯ: ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СПЕКТР И
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ**

3.1.24. Неврология

1.5.7. Генетика

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук

Федотова Екатерина Юрьевна

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор,

Иллариошкин Сергей Николаевич

Москва — 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Общие сведения и история изучения вопроса	13
1.2. Эпидемиология.....	14
1.3. Клиническая картина.	16
1.4. Молекулярные механизмы развития мультисистемной атрофии.....	22
1.5. Инструментальная и лабораторная диагностика.	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, ДИЗАЙН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ...	36
2.1. Характеристика пациентов и дизайн исследования.	36
2.2. Инструментальные методы исследования вегетативной дисфункции.	38
2.3. Методы ДНК-диагностики.....	41
2.4. Оценка экспрессии гена альфа-синуклеина	44
2.5. Определение белка альфа-синуклеина и коэнзима Q10 в крови.	49
2.6. Статистическая обработка данных.....	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	52
3.1. Клинико-anamнестические особенности пациентов с мультисистемной атрофией	52
3.2. Инструментальный анализ вегетативных симптомов.....	66
3.3. Анализ генов <i>SNCA</i> и <i>COQ2</i> и ассоциированных с ними молекулярных биомаркеров.....	73
3.4 Экспрессия <i>SNCA</i> и альтернативные транскрипты.	79
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	84
ВЫВОДЫ.....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	94
СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ	95

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	96
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	114

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- БДГ — быстрые движения глаз
- БП — болезнь Паркинсона
- ВРС — вариабельность ритма сердца
- ДАД — диастолическое артериальное давление
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- КСВП — кожные симпатические вызванные потенциалы
- МРТ — магнитно-резонансная томография
- МСА — мультисистемная атрофия
- МСА-М — мультисистемная атрофия, мозжечковый тип
- МСА-П — мультисистемная атрофия, паркинсонический тип
- ООМ — объем остаточной мочи
- ОПЦА — оливопонтocerebellлярная дегенерация
- ОТ-ПЦР — обратная транскрипция — полимеразная цепная реакция
- ОФЭКТ — однофотонная эмиссионная компьютерная томография
- ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- САД — систолическое артериальное давление
- УЗИ — ультразвуковое исследование
- ЧСС — частота сердечных сокращений
- ЦНС — центральная нервная система
- ЭКГ — электрокардиография
- ACTB* — ген бета-актина
- AUC — площадь под кривой
- COQ2* — ген коэнзима Q2
- GCI — глиальные цитоплазматические включения
- GWAS — исследования с полногеномным поиском ассоциаций
- HADS — госпитальная шкала тревоги и депрессии

MAF — частота минорного аллеля

MDS — Международное общество по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений

MoCA — Монреальская шкала когнитивной оценки

NFL — легкие цепи нейрофиламентов

PDQ-39 — опросник по болезни Паркинсона из 39 пунктов

RBD1Q — скрининговый тест из одного вопроса на выявление расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз

RT-QuIC — реакция индуцированной вибрацией конверсии в реальном времени

SARA — стандартизированная шкала оценки выраженности атаксии

SCOPA-AUT — шкала оценки исходов болезни Паркинсона в части автономной дисфункции

SNCA — ген альфа-синуклеина

SNP — однонуклеотидных полиморфизм

UMSARS — унифицированная шкала оценки мультисистемной атрофии

UPDRS — унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Мультисистемная атрофия (МСА) — нейродегенеративное заболевание, относящееся к группе синуклеинопатий, для которого характерно сочетание вегетативной недостаточности с синдромом паркинсонизма либо мозжечковым синдромом, а также появление синуклеин-позитивных агрегатов в клетках астроглии; течение МСА – быстро прогрессирующее. Заболеваемость в мире в среднем составляет 0,6-0,7 случаев на 100 тыс. населения в год [39, 46, 173].

На сегодняшний день принято выделять паркинсонический и мозжечковый типы МСА. Несмотря на наличие четких диагностических критериев МСА [177], установление данного диагноза является сложной задачей: большое количество случаев МСА в мире ошибочно диагностируется как болезнь Паркинсона (БП), первичная вегетативная недостаточность (синдром Бредбери–Эгглстона), мозжечковая атаксия с поздним дебютом [115, 151, 152]. Также некоторыми исследователями отмечается необходимость пересмотра существующих критериев и выделение новых типов МСА, учитывая новые данные о клиническом полиморфизме заболевания [150]. Нуждаются в уточнении нейрофизиологические маркеры и критерии вовлечения в процесс вегетативной нервной системы у пациентов с МСА.

Выделены несколько генов, предположительно играющих роль в развитии МСА [76, 149, 153, 155]. Описаны случаи МСА с мутациями в гене α -синуклеина (*SNCA*), показана ассоциация болезни с нуклеотидными вариантами в данном гене [9, 134, 139]. В азиатских популяциях при МСА найдены мутации в гене *COQ2*, кодирующем фермент биосинтеза коэнзима Q10, с частотой до 1,7% [100]. У пациентов европейского этнического происхождения частота встречаемости носителей мутаций в *COQ2* существенно меньше. Таким образом, роль генетической составляющей при МСА требует дальнейшего изучения.

На настоящий момент причины патологической агрегации α -синуклеина в нейронах и/или глиальных клетках при различных нейродегенеративных заболеваниях окончательно не определены. Одной из гипотез является дисбаланс в изоформах белка и транскриптах *SNCA*. Показано, что некоторые изоформы α -синуклеина склонны к более выраженной внутриклеточной агрегации, чем другие, и они могут различно экспрессироваться при такой «классической» синуклеинопатии, как БП [24, 26, 52, 164]. При МСА подобных исследований пока не проводилось.

По обобщенным результатам мета-анализа выделен ряд кандидатов на роль биомаркеров МСА в крови и ликворе [31]. В качестве таких биомаркеров обсуждаются общий и фосфорилированный α -синуклеин, олигомеры α -синуклеина, общий и фосфорилированный τ -белок, легкие цепи нейрофиламентов – NFL [30, 31, 38, 50, 84]. Одним из наиболее перспективных кандидатов на роль биомаркера МСА является коэнзим Q10, играющий важную роль в митохондриальной дыхательной цепи и обладающий антиоксидантным эффектом. Показано, что уровень данного кофермента в сыворотке крови и в ликворе снижен у пациентов с МСА [30, 38, 75, 81, 100]. Все перечисленные биомаркеры являются относительно новыми и требуют дальнейшего изучения и, возможно, внедрения в клиническую практику.

Цель исследования

Анализ клинико-нейрофизиологических особенностей и молекулярно-генетических маркеров мультисистемной атрофии.

Задачи исследования

1) Исследовать фенотипические особенности пациентов с МСА в сравнении с БП, а также характеристики двух типов МСА — мозжечкового и паркинсонического.

2) Провести комплексную количественную оценку вегетативной дисфункции, в том числе с анализом диагностической значимости батареи тестов Юинга и кожных симпатических вызванных потенциалов, для расширения информативного биомаркерного спектра у пациентов с МСА.

3) Изучить у российских пациентов наличие ассоциаций между развитием синуклеинопатий и нуклеотидными вариантами в основных генах МСА – *SNCA* и *COQ2*, а также оценить их влияние на соответствующие молекулярные субстраты (потенциальные биомаркеры) — белок альфа-синуклеин и коэнзим Q10.

4) Исследовать лейкоцитарную экспрессию гена *SNCA* (его альтернативных транскриптов) при синуклеинопатиях, а также соответствующие корреляции с нуклеотидными вариантами гена *SNCA* и уровнем белка альфа-синуклеина в крови.

Научная новизна

В работе уточнен фенотипический спектр МСА и двух его типов (мозжечкового и паркинсонического) у российских пациентов, с особым акцентом на клинико-инструментальном анализе нарушений со стороны вегетативной нервной системы.

Впервые на одной когорте пациентов с МСА исследованы однонуклеотидные полиморфизмы гена *SNCA* с целью поиска генетических ассоциаций, показана дифференциальная экспрессия *SNCA* и его отдельных транскриптов.

Впервые в России и в одном из первых исследований в европейских популяциях у пациентов с МСА изучена роль коэнзима Q10: проведено секвенирование гена *COQ2*, продукт которого (ко-Q2) участвует в биосинтезе вышеуказанного коэнзима, а также оценен его уровень в периферической крови пациентов по сравнению с контролем.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическое значение работы заключается в сопоставлении молекулярных механизмов двух основных форм синуклеинопатий – МСА и БП – на трех уровнях: генетическом (нуклеотидные варианты *SNCA*), посттранскрипционном (альтернативные транскрипты *SNCA*) и посттрансляционном (общий уровень белка альфа-синуклеина). В работе проведено исследование возможной роли коэнзима Q10 в развитии митохондриальной дисфункции при синуклеинопатиях: изучены нуклеотидные варианты гена *COQ2* и уровень скорректированного коэнзима Q10 в крови.

Практическое значение работы заключается в детальной оценке клинической гетерогенности МСА с описанием клинических и нейрофизиологических характеристик двух фенотипов заболевания (паркинсонического и мозжечкового). Показана диагностическая значимость батареи тестов Юинга и кожных симпатических вызванных потенциалов для дифференциальной диагностики МСА с клинически близким заболеванием — БП.

Методология и методы исследования

Объектом исследования были пациенты с диагнозом МСА. У всех пациентов производилась оценка клинико-демографических данных, анамнеза заболевания, семейного анамнеза, неврологического и соматического статуса, данных нейровизуализации и нейрофизиологических обследований.

Скрининг на наличие мутаций проводился с использованием фрагментного анализа, прямого секвенирования по Сэнгеру. Уровень транскриптов гена *SNCA* определяли по пороговому циклу, нормированному на пороговый цикл гена бета-актина (*ACTB*) методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. МСА — быстро прогрессирующее, клинически гетерогенное, заболевание, недостаточно диагностируемое на практике.
2. Показана высокая диагностическая значимость батареи тестов Юинга и кожных симпатических вызванных потенциалов для выявления вегетативной дисфункции у пациентов с МСА.
3. Нуклеотидный вариант в полиморфном сайте rs10005233 гена *SNCA* ассоциирован с развитием синуклеинопатий – МСА и БП.
4. При синуклеинопатиях наблюдается дисбаланс транскриптов гена *SNCA* в лейкоцитах крови, что может иметь патогенетическое и, потенциально, диагностическое значение.
5. Полиморфные варианты нуклеотидной последовательности гена коэнзима Q2 (*COQ2*) не ассоциированы с развитием синуклеинопатий у российских пациентов.

Личный вклад автора

Автору принадлежит определяющая роль в постановке цели и задач исследования, разработке и выполнении протокола исследования, обосновании выводов и практических рекомендаций. Все этапы клинического осмотра, интерпретация нейрофизиологических и нейровизуализационных данных, молекулярно-генетические исследования, включая анализ данных, выполнены автором лично. Автором проведены анализ и статистическая обработка данных, сформулированы выводы по результатам работы, подготовлены статьи с последующей публикацией в научных журналах и представлением результатов на научных конференциях.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Высокая достоверность результатов обусловлена достаточным объёмом группы обследованных пациентов, четкой постановкой цели и задач, применением современных молекулярно-генетических,

нейровизуализационных, нейрофизиологических и клинических методов исследования, адекватной статистической обработкой полученных результатов.

Диссертация апробирована и рекомендована к защите на совместном заседании сотрудников консультативно-диагностического, 1-го, 2-го, 3-го неврологических отделений, 5-го неврологического отделения с лабораторией молекулярно-генетической диагностики, отдела лучевой диагностики, лаборатории клинической нейрофизиологии, лаборатории клинических исследований ФГБНУ НЦН и при участии сотрудников кафедры многопрофильной клинической подготовки факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова (протокол №8 от 13 сентября 2023 года).

Материалы диссертации были представлены в виде постерных и устных докладов на XVIII междисциплинарном конгрессе «Вейновские чтения» (Москва, Россия, 10–12 февраля 2022 г.), V Национальном конгрессе с международным участием «Болезнь Паркинсона и расстройства движений» (Москва, Россия, 25–27 июня 2022 г.); 8th Congress of the European Academy of Neurology (Вена, Австрия, 28 июня – 1 июля 2022 г.); 9th Congress of the European Academy of Neurology (Будапешт, Венгрия, 1–4 июля 2023 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.24. Неврология, согласно п. 1 – Нейрогенетика, наследственные и дегенеративные заболевания нервной системы, а также специальности 1.5.7. Генетика, согласно п. 19 – Генетика человека. Медицинская генетика.

Внедрение результатов работы

Полученные результаты внедрены в ФГБНУ «Научный центр неврологии» в работу неврологических отделений, используются в учебном

процессе для подготовки ординаторов, аспирантов, врачей-неврологов, создании обучающих циклов повышения квалификации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 127 листах машинописного текста, содержит 38 таблиц, 4 приложений и иллюстрирована 22 рисунками. Диссертация состоит из следующих разделов: введение; обзор литературы; материалы, дизайн и методы исследования; результаты исследования; обсуждение полученных результатов; выводы и практические рекомендации, список литературы и приложений.

Библиографический указатель содержит 8 отечественных и 183 зарубежных источника литературы, а также 6 собственных публикаций автора, подготовленных по теме диссертационной работы.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность своим научным руководителям д.м.н., проф., академику РАН С.Н. Иллариошкину и д.м.н. Е.Ю. Федотовой за неоценимую помощь в планировании и реализации работы. Автор также благодарит сотрудников 5 неврологического и консультативно-диагностического отделения ФГБНУ НЦН за помощь в наборе пациентов в исследование. Отдельная глубокая благодарность к.б.н. Н.Ю. Абрамычевой за помощь в молекулярно-генетической части работы, а также д.м.н. А.А. Шабалиной, к.б.н. Д.А. Абаимову и к.м.н. П.А. Федину.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общие сведения и история изучения вопроса

Мультисистемная атрофия (МСА) – тяжелое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, обусловленное накоплением патологических глиальных агрегатов альфа-синуклеина (так называемых телец Паппа–Лантоса) и характеризующееся тяжелой вегетативной недостаточностью (тазовыми нарушениями, ортостатической гипотензией) и двигательными нарушениями в виде синдрома паркинсонизма и/или мозжечковой атаксии, а также симптомами поражения пирамидных путей [96, 173].

Первые описания случаев спорадической оливопонтocerebellарной дегенерации, как ранее называлась МСА-мозжечкового типа (МСА-М), относятся еще к началу XX века и сделаны Жюлем Дежериним и Андре Тома (J. Dejerine, H. Thomas) в виде описания 53-летней женщины с мозжечковой атаксией, маскообразным лицом, гиперрефлексией и недержанием мочи; проведенная через 2 года аутопсия показала атрофию стволовых структур. Позднее, в 1933 году, немецкий невролог Штауффенберг описал вовлечение экстрапирамидной системы при оливопонтocerebellарная атрофия (ОПЦА) [176].

Первое описание стриатонигральной дегенерации, позднее определенной как МСА-паркинсонического типа (МСА-П), опубликовано Гансом Йоахимом Шерером (H.J. Scherer) (1906–1945) в 1933 году в виде серии из 4 клинических случаев сочетания мозжечковой атаксии и выраженного синдрома паркинсонизма. Позднее он эмигрировал в Бельгию, где работал с Людо ван Богартом (L. Van Bogaert, 1897–1989), который в 1960 году уже выделил подобные случаи в отдельную нозологию и дал им название «стриатонигральная дегенерация». В том же году был описан синдром Шая–Дрейджера (Shy–Drager syndrome): сочетание разнообразных неврологических синдромов с вегетативной дисфункцией [82, 131]. Наконец, в 1969 году предыдущие наблюдения были систематизированы и объединены под

термином «Мультисистемная атрофия» британцами Дж. Грэм и Д. Оппенгеймер (J. Graham и D. Oppenheimer). Любопытно, что в качестве одного из ключевых симптомов выделяли чувствительность к никотину [148].

В 1989 году М. Папп (M. Rapp) при аутопсии 11 пациентов со стриатонигральной дегенерацией, ОПЦА и синдромом Шая–Дрейджера обнаружил патологический субстрат МСА – глиальные цитоплазматические включения в олигодендроцитах, позднее названные тельцами Паппа–Лантоса, что позволило окончательно объединить данные синдромы в единую нозологию [118]. Позднее было установлено, что данные включения состоят из альфа-синуклеина [58, 172].

В том же 1989 году Н. Квинн (N. Quinn) были предложены первые диагностические критерии МСА с разделением на 2 типа — ОПЦА и стриатонигральную дегенерацию, а также с выделением «красных флагов» для дифференциальной диагностики с БП [78, 131].

Длительное время использовались критерии консенсуса экспертов второго пересмотра от 2008 г., которые представляют собой дополненные и измененные критерии N. Quinn [57].

В 2022 г. Международным обществом по изучению расстройств движений и болезни Паркинсона (MDS) принят новый вариант критериев диагностики МСА [177].

1.2. Эпидемиология.

На настоящий момент эпидемиологические данные, касающиеся МСА, весьма скромны. В среднем общемировая заболеваемость МСА составляет 1–5 на 100 тыс. чел. в год [28, 39]. Первое эпидемиологическое исследование было проведено в округе Ольмстед, штат Миннесота, США: были проанализированы медицинские данные за 15 лет: с 1976 по 1990 год. Общая заболеваемость МСА составила 0,6 на 100 тыс. чел. в год, для лиц старше 50 лет — 3,0 на 100 тыс. чел. в год, причем для мужчин и женщин она составила 2,3 и 3,5 на 100 тыс. чел. в год соответственно [20]. Второе исследование было проведено в департаменте

Жиронда, Новая Аквитания, Франция: исследована распространенность МСА, которая составила 1,94 на 100 тыс. чел. (для мужчин и женщин – 2,75 и 1,19 на 100 тыс. чел. соответственно), а для населения старше 50 лет — 5,6 на 100 тыс. чел. [28]. По данным выборки, полученной из нескольких районов Лондона, распространенность МСА составила 4,4 на 100 тыс. чел. [141]. Также проводилось исследование в городе Умео, Швеция: за 4 года с 2004 по 2007 гг. обнаружено 12 пациентов с МСА-П; заболеваемость составила 2,1 на 100 тыс. чел. в год, а при экстраполяции на население всей Швеции - 2,4 на 100 тыс. чел. в год [91]. В исследовании японских ученых распространенность МСА в одном из уездов провинции Нанкоку составила 17 на 100 тыс. чел. [110].

Крупное национальное исследование проведено в Исландии: за 10-летний период с 1999 по 2009 гг. обнаружено 19 случаев МСА (16 МСА-П и 3 МСА-М); таким образом, заболеваемость составила 0,7 на 100 тыс. чел. в год, распространенность — 3,4 на 100 тыс. чел. [17].

В Российской Федерации имеются лишь единичные данные по данным специализированных кабинетов по различным регионам: например, в Красноярском крае в 2008 г. на учете состояло 7 пациентов с МСА (0,85% от всех пациентов с синдромом паркинсонизма) [7], в Ярославской области по состоянию на 2017 год — 18 пациентов (0,9%) [6], в г. Нижний Новгород — 14 пациентов (1,1%) [8]. Комплексное эпидемиологическое исследование было проведено в одном из районов г. Москвы в 2006–2008 гг.: было диагностировано 4 случая МСА (0,7%), а заболеваемость составила 0,11 на 100 тыс. чел. в год., а для населения старше 60 лет — 0,34 на 100 тыс. в год [179].

Что касается непосредственно структуры МСА, то следует ориентироваться на ряд крупных исследований, проведенных в Японии, Республике Корея, Европе и странах американского континента. Данные этих исследований приведены в таблице 1.

:

Таблица 1. Структура МСА в различных регионах мира

Регион, год исследования	Количество пациентов, n	МСА-М, n (%)	МСА-П, n (%)	Ссылка
Без уточнения, 1887-1994 ¹	203	91	27	[172]
Япония, 2002	230	155 (67,4)	75 (32,6)	[170]
Япония, 2006	142	119 (83,8)	23 (16,2)	[181]
Респ. Корея, 2010	100	73 (73)	27 (27)	[142]
Хоккайдо, Япония, 2021 ²	184	107 (58)	55 (30)	[95]
Европа (EMSA-SG), 2010	437	139 (31,8)	298 (61,7)	[78]
Европа (EMSA-SG), 2013	141	54 (38,3)	87 (61,7)	[176]
Франция, 2020	261	90 (34)	171 (66)	[49]
Америка (PANMSA), 2014 ²	159	50 (31,4)	107 (67,3)	[53]
США (NAMSA-SG), 2015	175	49 (28)	126 (72)	[92]

¹ Поскольку исследование было ретроспективным, большое количество случаев было трудно классифицировать по фенотипу.

² Данные по некоторым пациентам отсутствуют.

1.3. Клиническая картина.

Как уже было сказано выше, клиническая картина МСА состоит из нескольких синдромов: вегетативной недостаточности, синдрома паркинсонизма и мозжечковой атаксии. На основании превалирования паркинсонического либо атактического синдромов МСА подразделяется на два типа: МСА-М и МСА-П [46, 169, 177].

В 2008 году были приняты вторые консенсусные критерии по диагностике МСА [57]. Исходя из основных проявлений МСА (вегетативной недостаточности, паркинсонизма и мозжечковой атаксии) требуется особое внимание в процессе осмотра для оценки мышечного тонуса и подвижности, координации и ходьбы, глазодвигательных функций, функции тазовых органов, а также обязательное проведение ортостатической пробы. Данные диагностические критерии заболевания представлены в таблице 2.

Таблица 2. Диагностические критерии МСА 2008 г. [57].

Вероятная МСА	Спорадическое прогрессирующее заболевание в возрасте старше 30 лет, сопровождающееся недержанием мочи (неспособностью контролировать мочеиспускание с эректильной дисфункцией) или ортостатической гипотензией (САД >30 мм рт.ст., ДАД >15 мм рт.ст.) и синдромом паркинсонизма со слабым ответом на препараты леводопы или мозжечковой атаксией (нарушениями походки, мозжечковой дизартрией, атаксией конечностей или глазодвигательными нарушениями)
Возможная МСА	Спорадическое прогрессирующее заболевание в возрасте старше 30 лет, сопровождающееся синдромом паркинсонизма со слабым ответом на препараты леводопы или мозжечковой атаксией (нарушениями походки, мозжечковой дизартрией, атаксией конечностей или глазодвигательными нарушениями) и одним из признаков, которые позволяют заподозрить вегетативную дисфункцию: учащенные позывы к мочеиспусканию, чувство неполного опорожнения мочевого пузыря, эректильной дисфункцией либо выраженной ортостатической гипотензией, которая не соответствует критериям вероятной МСА и одним из дополнительных признаков.
Дополнительные признаки	<p>Для МСА-П, МСА-М: рефлекс Бабинского, гиперрефлексия, стридор;</p> <p>Для МСА-П: быстро прогрессирующее течение, слабый ответ на препараты леводопы, постуральные нарушения в течение 3 лет от дебюта заболевания, мозжечковая атаксия, дисфагия в течение 5 лет от дебюта заболевания, атрофия скорлупы, средних мозжечковых ножек либо мозжечка на МРТ, гипометаболизм в области скорлупы, ствола головного мозга или мозжечка (на ПЭТ с фтордезоксиглюкозой);</p> <p>Для МСА-М: синдром паркинсонизма, атрофия скорлупы, средних мозжечковых ножек либо моста на МРТ, гипометаболизм в области скорлупы (на ПЭТ с фтордезоксиглюкозой), признаки пресинаптической нигростриарной дофаминергической денервации (по ОФЭКТ или ПЭТ);</p>

Таблица 2 – продолжение.

Поддерживающие признаки	Орофациальная дистония, непропорциональный антеколлис, камптокормия и/или синдром «пизанской башни», контрактуры конечностей, инспираторные вздохи, выраженная дисфония, дизартрия, появление и усиление храпа, холодные конечности, патологический смех или плач, миоклонический, постуральный или акционный тремор;
Признаки, не поддерживающие диагноз	Тремор покоя по типу «скатывания пилюль», клинически выраженная полиневропатия, галлюцинации, не связанные с употреблением лекарственных средств, дебют в возрасте старше 75 лет, семейный анамнез в отношении атаксии либо паркинсонизма, деменция (согласно критериям DSM-IV), признаки демиелинизирующего поражения белого вещества головного мозга по данным МРТ.

В 2022 году рабочая группа MDS опубликовала новые критерии по диагностике МСА [177]. Ключевыми отличиями данных критериев является более широкие возможности, в том числе и для исследовательских целей: включена категория «Вероятная продромальная МСА». Также термин «Достоверная МСА» заменен на «Патоморфологически подтвержденная МСА», что способствует более однозначному пониманию термина окончательного диагноза не только МСА, но, и по аналогии, других нейродегенеративных заболеваний. Также данные критерии отличает более широкое использование инструментальных методов диагностики: таких как магнитно-резонансная томография (МРТ) и ультразвуковое (УЗ)-определение объема остаточной мочи (ООМ). Данные критерии представлены в таблице ниже (Таблица 3).

Таблица 3. Диагностические критерии МСА 2022 г. [177].

	Клинически достоверная МСА (Clinically established)	Клинически вероятная МСА (Clinically probable)
Спорадическое прогрессирующее заболевание с дебютом в возрасте старше 30 лет		
Ключевые синдромы:	<p>Автономная дисфункция (как минимум один симптом из нижеперечисленных):</p> <p>Нарушение мочеиспускания с объемом остаточной мочи свыше 100 мл, не объяснимое иными причинами;</p> <p>Недержание мочи, не объясняемое иными причинами;</p> <p>Нейрогенная ортостатическая гипотензия, а именно: снижение САД/ДАД более чем на 20/10 мм рт.ст. через 3 мин при проведении ортостатической пробы;</p> <p>А также один из нижеперечисленных синдромов:</p> <p>Паркинсонизм со слабым ответом на препараты леводопы</p> <p>Мозжечковая атаксия (как минимум два из нижеперечисленных симптомов: атактическая походка, атаксия при координаторных пробах, мозжечковая дизартрия, глазодвигательные нарушения)</p>	<p>Как минимум два из нижеперечисленных синдромов:</p> <p>Автономная дисфункция, а именно (как минимум один из нижеперечисленных симптомов):</p> <p>Наличие остаточной мочи, не объясняемое иными причинами;</p> <p>Недержание мочи, не объясняемое иными причинами;</p> <p>Нейрогенная ортостатическая гипотензия, а именно: снижение САД/ДАД более чем на 20/10 мм рт.ст. через 10 мин при проведении ортостатической пробы;</p> <p>Синдром паркинсонизма;</p> <p>Мозжечковая атаксия (как минимум один из нижеперечисленных симптомов: атактическая походка, атаксия при координаторных пробах, мозжечковая дизартрия, глазодвигательные нарушения)</p>
Поддерживающие признаки	Как минимум два	Как минимум один
МРТ-признаки	Как минимум один	Не требуется
Критерии исключения	Отсутствуют	Отсутствуют

Для улучшения точности данных критериев имеются следующие как двигательные (моторные), так и немоторные поддерживающие признаки: быстрое прогрессирование заболевания в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики, умеренная или тяжелая постуральная неустойчивость в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики, краниоцервикальная дискинезия при отсутствии дискинезий конечностей на фоне приема препаратов леводопы, грубые нарушения речи либо дисфагия в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики, наличие патологического рефлекса Бабинского, необъяснимого иными причинами, наличие миоклонического постурального или кинетического тремора (полиминимиоклонуса), постуральные нарушения (камптокормия, антероколлиз), стридор, инспираторные вздохи, холодные на ощупь и измененной окраски (цианотичные) конечности, эректильная дисфункция у мужчин младше 60 лет (только для клинически вероятной МСА), патологический смех или плач.

При нейровизуализации для МСА характерны следующие признаки: оливопонтocerebellарная атрофия (атрофия моста, мозжечка, средних мозжечковых ножек, симптомы «креста» и гиперинтенсивность средних мозжечковых ножек), а также изменения со стороны базальных ядер (атрофия скорлупы, ее гиперинтенсивность в дорсолатеральных отделах (симптом «обода скорлупы»). Важно отметить, что при МСА-II возможно наличие атрофии стволовых структур, а при МСА-M, соответственно, изменения в базальных ядрах.

К критериям исключения относятся: выраженный и стойкий положительный эффект дофаминергической терапии, наличие необъяснимой иными причинами (например, травмы, воспалительные заболевания слизистой носа, последствия коронавирусной инфекции) аносмии (для исключения БП), флуктуирующие нарушения со стороны высших корковых функций (внимания, сознания), а также раннее нарушение зрительно-пространственных функций, рецидивирующие и не связанные с приемом препаратов зрительные

галлюцинации в течение 3 лет с дебюта заболевания, деменция согласно критериям DSM-V в течение 3 лет с дебюта заболевания (для исключения деменции с тельцами Леви), парез взора вниз или замедление вертикальных саккад (для исключения ПНП), а также наличие признаков на МРТ, позволяющих заподозрить иной диагноз (например, ПНП, рассеянный склероз и др.) и наличие альтернативного заболевания, способного объяснить симптоматику пациента [3, 4, 177].

Отдельно стоит упомянуть и новый тип «вероятно продромальная МСА», который введен с целью более детального изучения данного заболевания и для использования в исследовательских целях. Для постановки данного диагноза предложены следующие критерии (Таблица 4):

Таблица 4. Критерии диагностики вероятно продромальной МСА.

	Спорадическое прогрессирующее заболевание с дебютом в возрасте старше 30 лет
Немоторные симптомы (критерии включения)	Нарушение поведения в фазе сна с БДГ (подтвержденное полисомнографически) Нейрогенная ортостатическая гипотензия, а именно: снижение САД/ДАД более чем на 20/10 мм рт.ст. через 10 мин при проведении ортостатической пробы; Тазовые нарушения (эректильная дисфункция у мужчин младше 60 лет) в сочетании с нарушениями мочеиспускания с ООМ свыше 100 мл, либо недержанием мочи, не объяснимыми иными причинами;
Двигательные симптомы	Слабовыраженные признаки синдрома паркинсонизма Слабовыраженные признаки мозжечковой атаксии
Критерии исключения	наличие не объяснимой иными причинами аносмии либо нарушения симпатической иннервации миокарда при сцинтиграфии с ¹²³ I-МИБГ; флуктуирующие нарушения со стороны высших корковых функций (внимания, сознания), а также раннее нарушение зрительно-пространственных функций; рецидивирующие и не связанные с приемом препаратов зрительные

Таблица 4 – продолжение.

	галлюцинации в течение 3 лет с дебюта заболевания; деменция согласно критериям DSM-V в течение 3 лет с дебюта заболевания; парез взора вниз или замедление вертикальных саккад; наличие признаков на МРТ, позволяющих заподозрить иной диагноз (например, ПНП, рассеянный склероз и др.); наличие альтернативного заболевания, способного объяснить симптоматику пациента;
--	--

Также с целью исключения разночтений экспертами MDS введен глоссарий терминов, включающий в себя используемые в данных критериях определения. Данные термины приведены в приложении 1.

Средний возраст дебюта МСА составляет 55 – 60 лет, продолжительность жизни после появления двигательных симптомов — 8 – 9 лет. В то же время есть сведения и о случаях с продолжительностью жизни более 15 лет. [92, 95, 176]

Интересно, что по данным Matsushima и др. [95], отмечались случаи феноконверсии МСА-М в МСА-П, однако обратной конверсии отмечено не было.

1.4. Молекулярные механизмы развития мультисистемной атрофии.

Роль альфа-синуклеина. Как уже было сказано выше, основным субстратом МСА являются патологические включения альфа-синуклеина в цитоплазме олигодендроцитов — так называемые тельца Паппа–Лантоса, или глиальные цитоплазматические включения (GCI) [37, 46, 58, 111, 168]. Более того, было показано, что имеется прямая корреляция между агрегацией альфа-синуклеина, выраженностью симптомов заболевания и нейродегенеративным процессом [112]. Тельца Паппа–Лантоса состоят из фосфорилированных в положении Ser129 олигомеров альфа-синуклеина. Ввиду этого МСА характеризуется как первичная олигодендроглиопатия [74, 132, 175].

При синуклеин-ассоциированной патологии встречаются включения и другого типа. Это нейрональные включения в перикариальной области либо в нейритах нейронов центральной нервной системы (ЦНС) — так называемые тельца и нейриты Леви. Данные тельца являются субстратом БП и деменции с тельцами Леви, а также наблюдаются в ряде «несинуклиновых» заболеваний — напр., при *PLA2G6*- и *POLG*-ассоциированных заболеваниях ЦНС, болезни Ниманна–Пика типа С, болезни Краббе [61, 66, 137].

Существуют и другие теории возникновения и дальнейшего прогрессирования синуклеин-ассоциированных нейродегенеративных заболеваний, однако основную роль в данном процессе играют, несомненно, процессы, которые связаны с альфа-синуклеином.

Выделяют три типа синуклеинов: альфа-, бета- и гамма-, которые преимущественно экспрессируются в тканях нервной системы; наиболее изученным и значимым среди них является альфа-синуклеин [11, 14, 16, 21, 23, 52, 109].

Первичная структура альфа-синуклеина (ранее известного, как неамилоидный компонент сенильных бляшек — NACP) представляет собой 140 аминокислот, кодируемых геном *SNCA* (локус 4q21). В гене *SNCA* выделяют по меньшей мере 5 экзонов, которые играют важную роль в процессе альтернативного сплайсинга [15, 19, 73].

Данный белок состоит из 3 доменов: N-концевой области (1-60 а.к.), центральной области — неамилоидного бета-компонента (NAC) (61-95 а.к.), а также C-концевой области (96-140 а.к.) [14, 83, 109].

Экспрессия альфа-синуклеина в основном происходит в клетках центральной и периферической нервной системы, а также в клетках крови [14, 19, 83].

В ЦНС альфа-синуклеин преимущественно локализован в пресинаптических терминалях нейронов гиппокампа, полосатого тела, таламуса, мозжечка и коры и посредством взаимодействий с фосфолипидными

везикулами регулирует синаптическую функцию [11, 16, 104, 106, 157]. Также показана роль альфа-синуклеина в процессе фолдинга белков [27]. В нормальных условиях в цитоплазме нейронов он существует в динамическом равновесии в виде растворимых мономеров и тетрамерных форм в виде «альфа-спиралей» [58].

Следует учитывать не только свойства самой молекулы альфа-синуклеина, но и также то, что они не существуют в изолированном «идеальном» состоянии: в данном процессе играют также и «внешние» факторы: например, кислотность среды, её состав и вязкость, а также клеточное и молекулярное окружение [24].

Агрегация альфа-синуклеина является следствием 3 последовательных этапов, в которой большое значение имеет центральная NAC-область белка. После длительной «лаг»-фазы мономеры альфа-синуклеина, сформировавшие «ядра» агрегации, проходят через фазу элонгации, образуя протофибриллы и олигомерные структуры, которые в дальнейшем уже и становятся непосредственно агрегатами альфа-синуклеина. Дальнейшее распространение этих телец описывает теория «прионоподобного» распространения [37, 64, 66, 129].

Несмотря на четкое выделение патологического субстрата синуклеинопатий, остаются непонятными причины, которые приводят различиям в локализации агрегатов синуклеина, и, соответственно, к фенотипической гетерогенности данной группы болезней.

Альфа-синуклеин и роль глиальных клеток. Для понимания патогенеза МСА важно рассматривать ее в разрезе локализации патологических включений: клетки глиии играют важную роль в поддержании жизнедеятельности нейронов [14, 19, 21, 132]. Клетки астроглии и микроглии могут активировать друг друга при воздействии различных экзогенных факторов (например, воспалительных процессов), что способствует высвобождению трофических факторов и ускорению процессов элиминации поврежденных клеток [21, 36, 101, 133, 178]. Однако избыточная активация

глии приводит к так называемому реактивным астроглиозу и микроглиозу, результатом которых является повреждение тканей через процессы неадаптивной пластичности [117]. Более того, активация глии — причина высвобождения провоспалительных цитокинов, оксида азота и реактивных форм кислорода [21, 35, 36, 88, 117]. Также известно, что нейроны способны секретировать альфа-синуклеин в ответ на активацию микроглии, что ведет к активации TLR2 сигнального пути и возникновения «порочного круга» нейронального воспаления и гибели дофаминергических клеток [71, 77, 188]. При проведении позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с целью визуализации активации микроглии таковая была выявлена в дорсолатеральной префронтальной коре, скорлупе, бледном шаре, варолиевом мосту и черной субстанции; также патоморфологически было показано, что активации микроглии ассоциирована с накоплением телец Паппа–Лантоса [55, 71].

Генетические факторы МСА. Роль генетических факторов при синуклеинопатиях также активно изучается.

Ряд мутаций, включая дупликации и трипликации в гене *SNCA* может вызывать семейные формы синуклеинопатий; например, описаны мутации А53Т и А30Р, которые ответственны за развитие аутосомно-доминантных форм БП. В любом случае, роль генетических мутаций: как точковых, так и вариаций числа копий в настоящее время остается неясной [9, 139, 153, 155].

Несмотря на то, что МСА является спорадическим заболеванием, описаны несколько семей с фенотипом МСА: по одной в Германии [180], США [68] (с аутосомно-доминантным наследованием), а также несколько семей в Японии (с аутосомно-рецессивным наследованием) [65, 149]. В случае немецкой семьи при патоморфологическом исследовании были выявлены тельца Паппа–Лантоса, однако при секвенировании гена и оценке дозы гена *SNCA* не удалось выявить никаких изменений [180]. Наиболее ярким является описание семьи из Баварии с патоморфологически подтвержденным диагнозом у пробанда, состоящей в близкородственном браке. У прабабки пробанда

описывались психотические эпизоды, у бабушки, матери, тети и дяди, а также у двоюродного брата пробанда была диагностирована БП, у одной из теток — деменция. При проведении мультиплексной лигазной реакции зондов с амплификацией для генов, ассоциированных с развитием БП, не было обнаружено никаких изменений. По данным полноэкзомного секвенирования отобрано несколько вариантов неясного значения в генах *ATP13A2*, *ATXN7*, *SACNA1A*, *PLCG2* [45].

В двух крупных исследованиях, проведенных по данным Инсбрукского регистра пациентов с МСА и пациентов из французской популяции, обнаружено, что в 40% у близких родственников отмечался диагноз неуточненного «нейродегенеративного заболевания», в 10–18% — имелся синдром паркинсонизма, 4 – 10% — когнитивные нарушения [86, 167, 187].

Имеется ряд однонуклеотидных полиморфизмов, которые могут влиять на риск и течение заболевания, однако их вклад в развитие заболевания неоднозначен [9, 139, 155].

Рассматривается роль гена *COQ2* в патогенезе МСА: данный ген кодирует белок парагидроксibenзоатполипренилтрансферазу, который катализирует реакции биосинтеза коэнзима Q10, а нарушение его функции приводит к нарушению митохондриальной дыхательной цепи и повышенной чувствительности к воздействию оксидативного стресса [48]. Кроме заболеваний, которые вызываются первичным дефицитом коэнзима Q10, на японской популяции было показано, что мутации в *COQ2* ассоциированы с повышенным риском развития МСА [81, 107]. Эти данные не были воспроизведены при исследованиях на европейской и корейской популяциях [128, 171].

Было также проведено несколько исследований с полногеномным поиском ассоциаций (GWAS): на европейской популяции, включавшей в себя 918 пациентов с МСА и 3864 пациента из группы контроля, обнаружено несколько потенциально связанных с патологическим процессом

однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах *FBXO47*, *ELOVL7*, *EDN1*, *MART* [136]. Однако в другом исследовании, включавшем 906 пациентов с МСА и 941 пациента из группы контроля из восточноазиатской популяции, эти данные не были подтверждены; более того, не было выявлено ни одного потенциально связанного с МСА однонуклеотидного полиморфизма [60].

В настоящее время растет количество исследований, посвященных эпигенетическим взаимодействиям при синуклеинопатиях; активно изучается роль фосфорилирования, метилирования, нитрирования, убиквитинирования молекул альфа-синуклеина в образовании патологических агрегатов и их распространении. Например, было показано, что при МСА по сравнению с БП имеет место гипометилирование CpG-сайтов в регуляторной области гена *SNCA* [47, 155].

Особая роль принадлежит фосфорилированному в положении S129 альфа-синуклеину: особенно высоко его содержание в патологических агрегатах (тельцах Леви): если в тканях головного мозга здорового человека его содержание составляет примерно 4% от всего альфа-синуклеина, то в тельцах Леви оно достигает 90%. Более того, увеличение его количества в условиях *in vitro* увеличивает способность к образованию фибрилл и, соответственно, агрегации. Для телец Паппа-Лантоса подобные данные на настоящий момент недоступны [10, 24, 40, 51].

Также исследуется роль регуляции экспрессии микроРНК: есть данные, что при МСА повышен уровень miR-24, miR-34b, miR-148b, понижен уровень miR-96 [1, 165, 166].

Посттранскрипционные изменения и МСА. Большую роль, несомненно, играют и посттранскрипционные процессы, например, процессы альтернативного сплайсинга, которые упоминались выше, приводят к формированию различных изоформ альфа-синуклеина [52]. Как правило, альтернативный сплайсинг обусловлен пропуском либо экзона 3, либо экзона 5, а также их обоих (SNCA126, SNCA112 и SNCA98, соответственно). Имеются

данные, что пропуск экзона 3 приводит к прерыванию домена, ответственного за взаимодействие белков с клеточной мембраной, что уменьшает склонность к агрегации; пропуск экзона 5 же увеличивает склонность к агрегации ввиду укорочения С-терминали белка [15]. В работах, которые изучали роль альтернативного сплайсинга при деменции с тельцами Леви, выявлена увеличенная экспрессия SNCA112 в лобной коре. При сравнении экспрессии транскриптов альфа-синуклеина при БП и МСА выявлены различия в экспрессии SNCA126 в лобной доле: при БП она увеличена, в то время как при МСА не изменена по сравнению с контрольной группой [16]. Существует, однако, также большое количество альтернативных транскриптов с альтернативными сайтами сплайсинга, однако их доля невелика. В последнее время обсуждается роль транскрипта SNCA41 (с пропуском 3 и 4 экзонов), обнаруженного в тканях головного мозга пациентов с БП [164].

1.5. Инструментальная и лабораторная диагностика.

Нейровизуализация. Несмотря на то, что диагноз МСА в первую очередь является клиническим, нейровизуализация играет важную роль, в том числе в дифференциальной диагностике [152]. Для этих целей наиболее релевантно проведение МРТ, так как компьютерная томография головного мозга малоинформативна и может применяться только при невозможности проведения МРТ [67, 113].

В первую очередь, оцениваются наличие изменений скорлупы: атрофических изменений, гипоинтенсивность с гиперинтенсивным ободком в дорсолатеральных отделах (симптом «putaminal rim», или «обод скорлупы») в режиме T2-ВИ (рисунок 1). Также необходимо оценить инфратенториальные изменения: наличие оливопонтocerebellарной атрофии, атрофии средних мозжечковых ножек, а также симптома «креста» и гиперинтенсивности средних мозжечковых ножек, также в режиме T2-ВИ (рисунок 2). Следует отметить, что симптом «putaminal rim» часто визуализируется в норме при проведении МРТ на аппарате с напряженностью магнитного поля 3 Тл и более. [122, 126, 170]

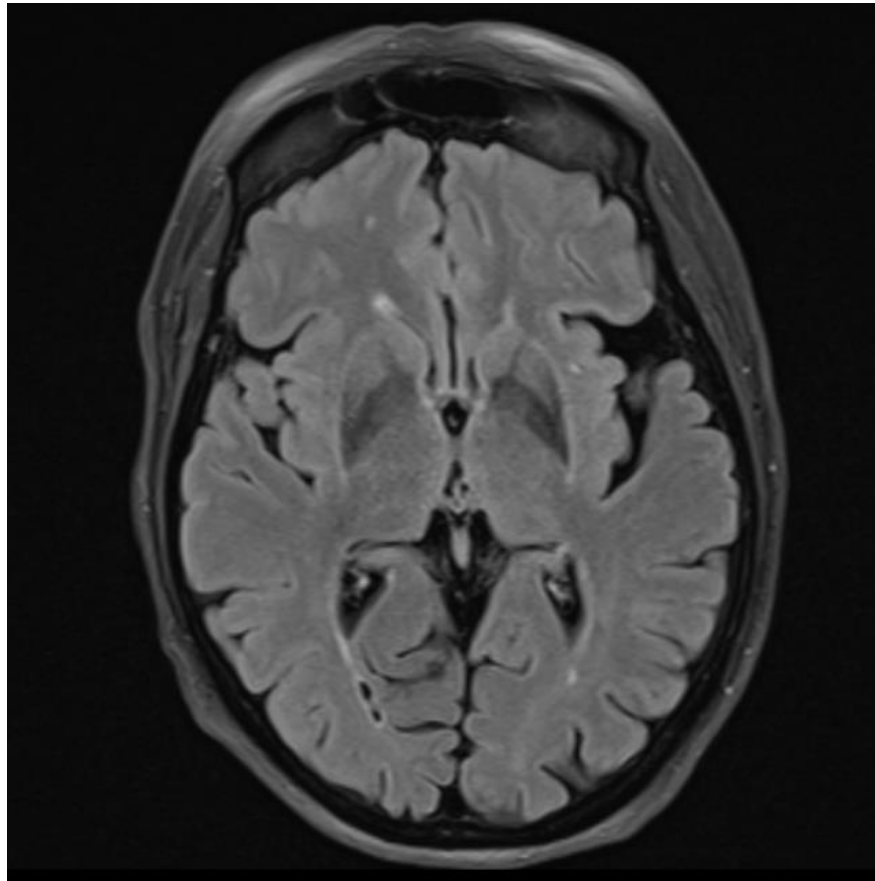


Рисунок 1. Симптом «обода скорлупы» в режиме T2-FLAIR.

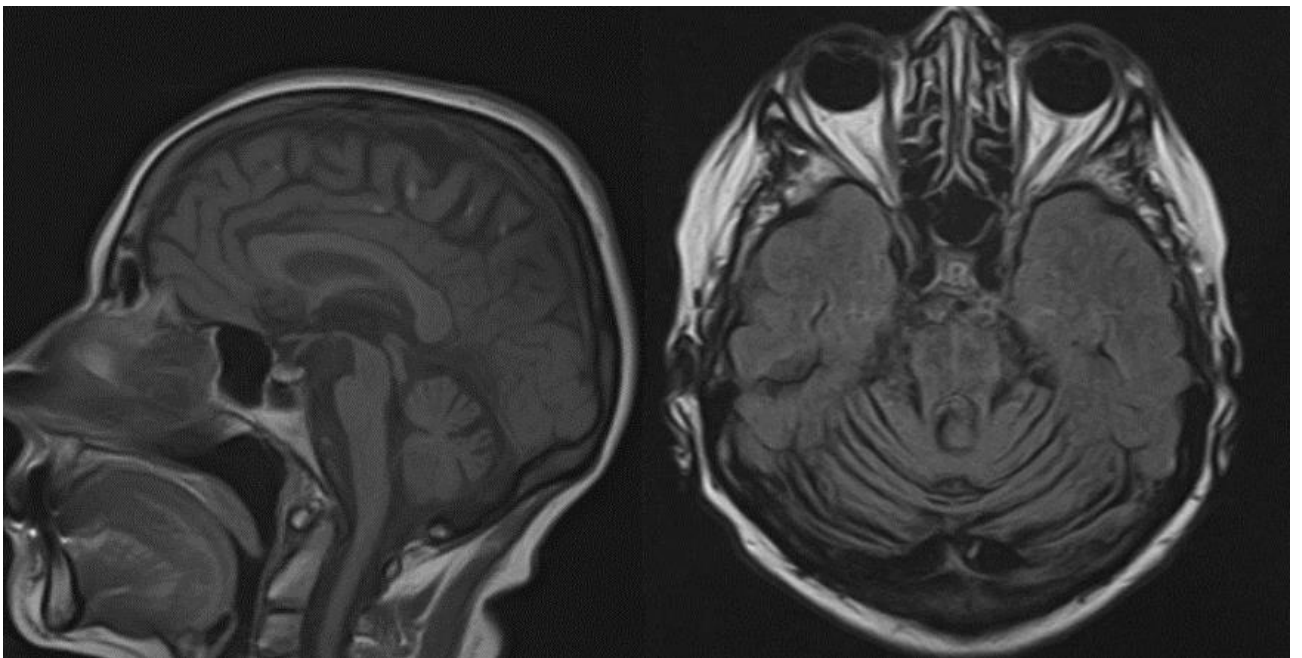


Рисунок 2. МР-картина оливопонтocerebellарной атрофии в режиме T2-ВИ, симптом «креста» в режиме T2-FLAIR.

Вышеописанные признаки применимы для дифференциальной диагностики МСА с другими синдромами атипичного паркинсонизма (прогрессирующим надъядерным параличом, деменцией с тельцами Леви), которые могут сопровождаться схожей клинической картиной [170].

В исследовании Massey и др., в котором проводилось сопоставление данных патоморфологических и нейровизуализационных данных у пациентов с МСА и с прогрессирующим надъядерным параличом, отмечено, что наиболее специфичны инфратенториальные изменения (100%), в то время как их чувствительность составляла до 68,4% [93]. Также описано, что изменения на МРТ могут предшествовать появлению развернутой клинической картины МСА (данное утверждение справедливо для МСА-П) [97].

Имеются данные, что при МРТ в режиме DWI у пациентов с МСА также возможны изменения и в области базальных ядер, и в инфратенториальных структурах, однако эти изменения не столь специфичны и могут наблюдаться и при прогрессирующем надъядерном параличе, а также при различных дегенеративных атаках [120, 123, 126]. Также предложено использовать данные изменения в качестве одного из маркеров прогрессирования заболевания [112, 114].

Согласно данным Вајај и др., при проведении МР-трактографии отмечались статистически значимые изменения проводящих путей в области скорлупы и средних мозжечковых ножек [12].

При постобработке МР-томограмм методом воксельной морфометрии показано, что при МСА-П наблюдается атрофия как скорлупы, так и мозжечка и стволовых структур, в то время как при МСА-М зафиксирована только ОПЦА. Что касается коры больших полушарий, то для МСА-П характерна атрофия верхней и средней височных извилин, нижней лобной извилины, островковой доли и миндалин, а для МСА-М - атрофия верхней и средней височных извилин, веретенообразной и язычной извилин [41, 72, 79, 89, 93, 126].

Также в настоящее время активно изучаются методы радионуклидной диагностики с различными лигандами [22]. Ценность этих методов в дифференциальной диагностике БП и МСА обобщена в таблице 5 [161].

Таблица 5. Методы радионуклидной диагностики при синуклеинопатиях.

Метод	Болезнь Паркинсона	Мультисистемная атрофия
ОФЭКТ с [¹²³ I]-Йофлупаном	Асимметричное уменьшение связывания препарата в стриарной области с наличием рострокаудального градиента	Симметричное уменьшение связывания препарата в стриарной области
ПЭТ с [¹⁸ F]-дезоксиглюкозой	Нормальная картина или гиперметаболизм в коре больших полушарий, скорлупе и мозжечке.	Гипометаболизм в области моста, мозжечка и скорлупы
ПЭТ с [¹⁸ F]-флуородопой	Асимметричное уменьшение связывания препарата в стриарной области и скорлупе, возможно усиление на ранних стадиях заболевания	Симметричное уменьшение связывания препарата в стриарной области и скорлупе
ОФЭКТ сердца с [¹²³ I]-МИБГ	Снижение связывания препарата в сердце по сравнению со средостением	Нормальная картина или аналогичная таковой при БП в 30% случаев

Оценка вегетативной дисфункции. Одним из наиболее доступных способов оценки вегетативной нервной системы являются оценка кожно-симпатических вызванных потенциалов (КСВП), а также оценка вегетативной нервной системы по батареям тестов Юинга и оценка вариабельности ритма сердца.

КСВП. Физиологической основой КСВП является т.н. кожно-гальваническая реакция (также известная как электродермальная активность) в ответ на электрический стимул.

Как и любой рефлекс, кожно-гальваническая реакция состоит из трех звеньев: афферентного звена — периферического нерва, центрального звена — структурами ЦНС: гипоталамус, таламус, лимбическая система, кора головного мозга, а также эфферентного звена — постганглионарных волокон симпатической системы.

Фиксируется ряд параметров: латентность ответа, амплитуды А1 и А2 фаз ответа и их длительность, а также порог возбуждения [2, 5].

Имеются как отечественные, так и зарубежные данные о применении КСВП в диагностике различных заболеваний ЦНС: нейродегенеративных заболеваниях — БП и синдромах атипичного паркинсонизма (например, прогрессирующем надъядерном параличе), боковом амиотрофическом склерозе, спиноцереbellарных атаксиях, сосудистых заболеваниях головного мозга (церебральной микроангиопатии, острого нарушения мозгового кровообращения), различных пароксизмальных состояниях (мигрень, эпилепсия) и др.

По данным Shindo et al. (2020), при МСА латентность ответов обратно коррелировала с тяжестью состояния по шкале SCOPA-AUT, а также с длительностью заболевания [147]. Li et al. в 2021 году было опубликовано исследование, в котором было показано статистически достоверное увеличение латентности у пациентов с МСА при сравнении с группой БП и здоровых добровольцев [87].

Батарея тестов Юинга. Данный комплекс тестов был предложен D. Ewing в 1978 для оценки степени дизавтономии при диабетической полинейропатии, однако со временем начал использоваться и при других заболеваниях [43]. Во время выполнения проб батареи фиксируется частота сердечных сокращений (ЧСС) и артериальное давление (АД), позволяя таким образом оценить реактивность вегетативной нервной системы.

Оценка параметров variability ритма сердца (BPC). Параметры BPC описывают флуктуации интервалов R-R на стандартной ЭКГ и оценивают вегетативную регуляцию сердца.

В 1995 году рабочая группа Европейского Кардиологического общества и Североамериканского общества стимуляции и электрофизиологии приняла стандарты измерения и интерпретации параметров BPC. Следует отметить, что вышеупомянутая батарея тестов Юинга также во многом базируется на оценке R-R интервалов [191]. В клинической практике оценка BPC в основном применялась для оценки вероятности риска смерти у больных с сахарным диабетом и ишемической болезнью сердца, при спинальных травмах [125, 143].

ООМ и уродинамическое исследование. Вовлечение тазовых органов встречается при всех синуклеинопатиях, однако именно при МСА оно часто является наиболее выраженным и одним из первых признаков [108, 138, 182]. Большая половина пациентов (до 74%) предъявляют жалобы на чувство неполного опорожнения мочевого пузыря и недержание мочи [115].

Одним из наиболее чувствительных и доступных методов оценки нарушения со стороны нижних мочевыводящих путей является оценка ООМ в помощь УЗИ [160].

Согласно имеющимся данным, при МСА наблюдается чаще всего ООМ более 100 – 150 мл, в то время как при БП и у здоровых людей данный объем колеблется в пределах 0 – 50 мл [62, 154, 183, 185].

Более сложным, однако дающим более развернутые результаты, является комплексное уродинамическое исследование, включающее в себя как инвазивную, так и неинвазивную оценку симптомов со стороны нижних мочевыводящих путей: оценку ООМ, урофлоуметрию, электромиографию, оценку уретрального и пузырного давления [185].

У пациентов с МСА отмечалась меньшая скорость потока, а также нарушение сократимости мочевого пузыря с гиперрефлекторным мочевым пузырем и детрузорно-сфинктерной диссинергией [18, 42, 146, 154].

Лабораторные методы диагностики МСА. Для МСА, как и для других нейродегенеративных заболеваний (в отличие от болезни Альцгеймера), нехарактерно наличие какого-либо однозначно трактуемого в пользу патологии лабораторного показателя.

Для уровня общего и олигомерного альфа-синуклеина данные противоречивы. В одном из исследований было показано, что уровень фосфорилированного альфа-синуклеина в эритроцитах крови у пациентов с МСА был достоверно выше, чем в группе контроля. Кроме того, его уровень увеличивается с течением заболевания. [31, 84].

Для уровня Q10 при МСА является характерным его снижение как в крови, так и в цереброспинальной жидкости [29, 31, 75]. Ввиду свойства коэнзима Q10 к конъюгированию с холестерином, Mitsui и др. был предложено пересчитывать уровень кофермента на уровень общего холестерина, что повысило специфичность метода [100].

Также изучается роль общих маркеров нейродегенерации — NFL и τ -белка. NFL — маркер нейродегенерации, отражающий процессы аксонального распада. В нескольких работах в ЦСЖ было выявлено повышение уровня лёгких цепей нейрофиламентов у больных МСА по сравнению с БП и спиноцеребеллярными атаксиями. Также уровень NFL в ЦСЖ прямо коррелирует с оценкой по шкале UMSARS [49, 54, 69, 114, 162]. Ассоциированный с микротрубочками τ -белок также может являться маркером процессов нейродегенерации. Показатель общего τ -белка в ликворе гораздо выше у пациентов с МСА, чем при БП [30, 31]. Информация по уровню фосфорилированного тау-белка остается весьма противоречивой [84].

В различных исследованиях были отмечены увеличение уровня мочевой кислоты и уменьшение уровня коэнзима Q10 и гомоцистеина в крови. При сравнении с группой с БП были отмечены уменьшение уровня альфа-синуклеина, а также повышенные NFL и общий тау-белок в ЦСЖ [25, 31, 85].

По данным Compta с соавт., при МСА также могут быть изменены уровни цитокинов в ликворе: MCP-3, MDC, фракталкина и MIP-1 α [30].

В рамках изучения нейродегенеративных заболеваний наибольший интерес в настоящий момент представляют диагностические биомаркеры, которые позволили бы диагностировать заболевание на ранних стадиях и начать терапию [59] [145]. В качестве уже признанных биомаркеров для диагностики МСА в настоящее время используются также нейровизуализационные маркеры [127, 177]. К клиническим и нейрофизиологическим маркерам относят нарушение поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз (как и для всех синуклеинопатий), гиперактивность детрузора либо детрузорно-сфинктерная диссинергия при проведении комплексного уродинамического исследования. Также одним из наиболее специфичных и перспективных новых маркеров является измененная агрегация альфа-синуклеина в ликворе при проведении реакции индуцированной вибрацией конверсии в реальном времени (RT-QuIC) для выявления прионоподобных свойств альфа-синуклеина [80, 98, 121, 135, 144].

Таким образом, МСА представляет собой редкое, тяжелое заболевание, характеризующееся прогрессирующими нарушениями со стороны различных отделов ЦНС и проявляющееся широким спектром симптомов. Механизмы его развития требуют дальнейшего изучения. Несмотря на наличие некоторых гипотез, которые могли бы раскрыть механизмы развития МСА, в настоящее время практически нет исследований, подтверждающих эти предположения. Дальнейшее тщательное изучение МСА позволит лучше понять его этиологию и патогенез, что, в свою очередь, откроет возможности для разработки эффективных стратегий ранней диагностики и лечения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, ДИЗАЙН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика пациентов и дизайн исследования.

В работу были включены 47 пациентов из российской популяции с предварительным диагнозом “мультисистемная атрофия”. При последующем дообследовании и проведении дифференциальной диагностики в двух случаях диагноз был изменен на иной (см. подраздел 3.1.5 и приложение 4). Таким образом, основную группу составили 45 пациентов с диагнозом МСА, поставленным по актуальным критериям Международного общества по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений (MDS)[177]. В качестве группы сравнения обследованы 30 пациентов с диагнозом “болезнь Паркинсона”. Все пациенты проходили обследование и лечение на базе 5 неврологического отделения с молекулярно-генетической лабораторией и наблюдались амбулаторно в консультативно-диагностическом отделении ФГБНУ НЦН (г. Москва). Группы были представлены преимущественно лицами славянской этнической принадлежности, проживающими на территории европейской части Российской Федерации.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦН (протокол №3-4/21 от 24.03.2021). Перед проведением исследования все пациенты были ознакомлены с предстоящими процедурами и подписали информированное согласие.

Общие критерии включения для всех участников исследования:

- полученное разрешение на обработку персональных данных и подписанное информированное согласие на участие в исследовании;
- возраст более 18 лет.

Критерии включения в основную группу:

- лица, соответствующие диагностическим критериям “мультисистемной атрофии” MDS от 2008 года (после их обновления в 2022 году – согласно обновленным критериям MDS).

Критерии включения в группу сравнения:

- лица, соответствующие диагнозу “болезни Паркинсона” согласно критериям MDS от 2015 года [105, 127].

Общие критерии невключения для всех участников исследования:

- возраст менее 18 лет;
- тяжелая соматическая или психическая патология.

Критерии исключения из исследования:

- отказ пациента от продолжения исследования;
- тяжелая соматическая или психическая патология.

Демографические характеристики представлены в таблице 6. Группы не отличались по полу и по возрасту.

Таблица 6. Демографические характеристики групп пациентов

Характеристика	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
Пол (муж/жен)	16 (35,6%) / 29 (64,4%)	11 (36,7%) / 19 (66,3%)	>0,999
Возраст на момент исследования	61,78±9,33	64,27±6,47	0,265

В общей группе МСА у 20 пациентов диагностирован мозжечковый тип заболевания (МСА-М), у 25 — паркинсонический тип (МСА-П). Демографические характеристики подгрупп представлены в таблице 7.

Таблица 7. Демографические характеристики пациентов с МСА

Характеристика	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
Пол (муж/жен)	8 (40%) / 12 (60%)	8 (32%) / 17 (68%)	0,577
Возраст на момент исследования	62,45±7,85	61,24±10,49	0,793

Всем пациентам с синуклеинопатиями был проведен сбор жалоб и анамнеза, семейного анамнеза, а также стандартные общий и неврологический осмотры. Отдельно всем пациентам задавались вопросы о наличии в анамнезе стридора, нарушений мочеиспускания, запоров, а также парасомний. В частности, для оценки наличия парасомний применялась специализированная

анкета (RBD1Q), состоящая из одного вопроса: «Вам когда-нибудь говорили или вы замечали сами, что вы совершаете во сне движения, которые вам снятся (например, толкаетесь, машете руками в воздухе, двигаете ногами как при беге)?».

Оценка выраженности клинической симптоматики осуществлялась с использованием соответствующих шкал и опросников: Унифицированная шкала оценки МСА (UMSARS – Приложение 2) [174], Унифицированная шкала оценки БП (UPDRS) [116], Монреальская шкала когнитивной оценки (MoCA) [103], стандартизированная шкала оценки атаксии (SARA – Приложение 2) [163], Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS) [189], Опросник по болезни Паркинсона из 39 пунктов (PDQ-39) [124], Шкала оценки исходов болезни Паркинсона в части автономной дисфункции (SCOPA-AUT — Приложение 3) [34].

При наличии снимков МРТ головного мозга, доступных для визуальной оценки, у пациентов основной группы оценивались два основных МР-симптома МСА: оливопонтocerebellарная атрофия (наличие атрофических изменений мозжечка, а также стволовых структур в T1-ВИ и симптом «креста» или гиперинтенсивность средних мозжечковых ножек в T2-ВИ и FLAIR) и симптом «обода скорлупы» (гипоинтенсивный сигнал от скорлупы с линейным гиперинтенсивным сигналом по дорсолатеральному краю в T2-ВИ и FLAIR, гипоинтенсивный сигнал от скорлупы в SWI).

Всем пациентам из основной группы МСА и группы сравнения проводилась оценка вегетативной дисфункции (см. подраздел 2.2), ДНК-диагностика (см. подраздел 2.3) в сопоставлении с молекулярными маркерами (см. подраздел 2.5). Также в группах пациентов исследовались уровни транскриптов альфа-синуклеина (см. подраздел 2.4).

2.2. Инструментальные методы исследования вегетативной дисфункции.

Ортоstaticческая проба

При проведении общего осмотра проводилась ортостатическая проба: пациент находится в исходном положении (лежа) в течение не менее 5 минут, далее проводится оценка АД; после этого пациент переходит в вертикальное положение, АД фиксируется спустя 3 мин после подъема. Наличие ортостатической гипотензии оценивалось согласно новым критериям диагностики МСА MDS (снижение САД и ДАД на ≥ 20 и 10 мм рт. ст., соответственно). Отдельно фиксировались случаи снижения САД и ДАД на ≥ 30 и 15 мм рт. ст. (согласно предыдущей версии критериев — вторым консенсусным критериям).

Объем остаточной мочи

Для оценки выраженности нарушений функции тазовых органов была использована ультразвуковая оценка ООМ. Дополнительно учитывались случаи с объемом остатка >100 мл.

Батарея тестов Юинга

Оценка по батарее тестов Юинга проводилась в группах МСА и БП, а также в контрольной группе из здоровых добровольцев ($n=10$). Средний возраст их составил $60 \pm 4,99$ лет, с равным количеством мужчин и женщин, что было статистически сопоставимо с двумя группами пациентов ($p=0,253$ для возраста, $p=0,689$ для пола).

Батарея тестов Юинга проводилась с помощью аппаратно-программного комплекса “ВНС-Спектр” (Нейрософт, Россия). Во время выполнения проб фиксировались ЧСС и АД, позволяя таким образом оценить реактивность вегетативной нервной системы.

Батарея состоит из следующих тестов:

1) прием Вальсальвы — после фоновой пробы обследуемый в горизонтальном положении делает вдох и в течение 15 секунд выдыхает воздух через узкое отверстие в мундштуке, увеличивая и поддерживая внутрилегочное давление на уровне 40 мм рт. ст. по данным манометра и последующей фиксацией отношения самого длинного интервала R-R по электрокардиограмме

после приема к самому короткому интервалу R-R во время приема (индекс Вальсальвы);

2) ортостатическая проба с оценкой индекса «30:15» (отношение максимального значения R-R-интервала (обычно в районе 30-го удара от начала вставания) к самому короткому R-R-интервалу, который соответствует 15 удару), а также изменения АД;

3) проба с глубоким дыханием с оценкой отношения максимального ЧСС во время одного дыхательного цикла к минимальному ЧСС;

4) проба с изометрической нагрузкой с сжатием динамометра с силой 30% от максимального усилия сжатия в течение 5 минут и оценкой прироста ДАД.

Результаты сравнивались с таблицей нормативных значений (таблица 8), при наличии отклонения от нормы зачитывают 1 балл, при патологии — 2 балла [43, 44].

Таблица 8. Нормативные значения для оценки вегетативной дисфункции по Юингу

Тест	Оцениваемая система	Норма	Пограничное состояние	Патология
1. Изменение ЧСС при приеме Вальсальвы (R-R)	ПС	>1,21	1,11-1,2	<1,10
2. Изменение ЧСС при вставании (R-R)	ПС	>1,04	1,01-1,03	<1
2. Изменение АД при вставании (mmHg)	С	<10	11-29	>30
3. Изменение ЧСС при глубоком дыхании	ПС	>15	11-14	<10
4. Изменение АД при изометрической нагрузке (mmHg)	С	>16	11-15	<10

С – симпатическая нервная система

ПС – парасимпатическая нервная система

Анализ результатов проводился с помощью программного обеспечения производителя.

Кожные симпатические вызванные потенциалы

КСВП проводилось в основной группе МСА, в группе сравнения БП и в группе контроля (n=10), которая совпадала с группой контроля в исследовании батареи тестов Юинга.

Исследование КСВП проводилось на аппаратно-программном комплексе “Нейро-МВП” (Нейрософт, Россия). Регистрация осуществлялась с ладони в ответ на стимуляцию импульсным током длительностью 100 мкс силой от 1 мА, подаваемым на активный электрод. На левой кисти активный электрод (отрицательный) устанавливался на середине ладони, референтный — на средней фаланге безымянного пальца.

При КСВП фиксировались следующие показатели: порог возбуждения, латентность ответа, амплитуда ответа A1, амплитуда ответа A2 и соотношение амплитуд A1/A2 [2, 5].

2.3. Методы ДНК-диагностики

Фрагментный анализ

Всем пациентам с предварительным диагнозом “мультисистемная атрофия, паркинсонический тип” проведена мультиплексная лигазная реакция зондов с амплификацией по отработанной методике для исключения мутаций — экзонных перестроек в генах *PRKN*, *PINK1*, *SNCA*, *ATP13A2* и *DJ-1*, а также точковых мутаций G2019S в гене *LRRK2* и A30P в гене *SNCA*. В одном случае выявлено носительство дупликации *SNCA* с фенотипом первичной вегетативной недостаточности (подпункт 3.1.5). Также всем пациентам с предварительным диагнозом “мультисистемная атрофия, мозжечковый тип” проведен поиск на наличие экспансий тандемных повторов в генах *ATXN1*, *ATXN2*, *ATXN3*, *CACNA1A*, ассоциированных с наследственными мозжечковыми атаксиями, по отработанным ранее методикам.

Секвенирование по Сэнгеру генов SNCA и COQ2

Секвенирование обоих генов проводили в основной группе МСА (n=45), группе сравнения БП (n=30) и в контрольной группе. В контрольную группу

вошли 20 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с исследованными нозологическими группами.

Таблица 9. Демографические характеристики групп, для которых было проведено секвенирование по Сэнгеру генов SNCA и COQ2

Диагноз	МСА (n=45)	БП (n=30)	Контроль (n=20)	p
Возраст, лет	61,78±9,33	64,27±6,47	62,25±0,96	0,352
Пол (муж/жен)	16/29	11/19	8/12	0,84

Образцы геномной ДНК выделяли из цельной крови с помощью набора для выделения Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega), по протоколу, состоящему из следующих основных этапов:

1. Осаждение лейкоцитов из периферической крови.
2. Разрушение плазматической и ядерной мембран лизирующими буферами.
3. Освобождение от клеточных белков путем высаливания.
4. Экстракция геномной ДНК из водного раствора изопропанолом.
5. Отмывка полученной ДНК этанолом.

Аmplификацию фрагментов ДНК для последующего секвенса проводили в 10 мкл реакционной среды: 50 мМ KCl, 50 мМ Трис-HCl (pH 8,8), 2,5 мМ MgCl₂, 250 мкМ dNTP, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами (Синтол, Россия), по 10 мкМ прямого и обратного праймера, образец ДНК ~ 20 нг.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на термоциклере T100 Thermal Cycler (BioRad, США) по следующему протоколу: фаза денатурации — 95°C — 300 сек; 40 циклов: 95°C — 20 сек, 60°C — 20 сек, 72°C — 30 сек; финальная элонгация (72°C) — 300 сек, хранение образцов до извлечения — 12°C. Температура отжига праймеров подбиралась индивидуально для каждой пары праймеров: оптимальная температура для всех пар праймеров — 60°C кроме b фрагмента 1 экзона гена SNCA (1b), для которого специфическая

температура — 62°C (Рисунок 3).

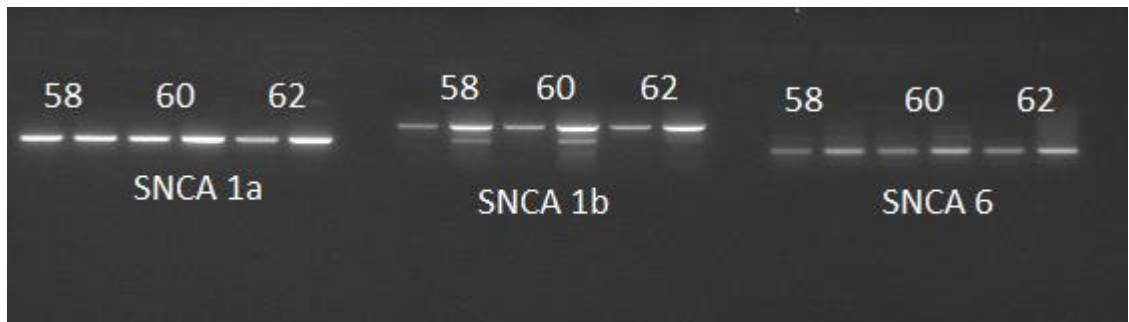


Рисунок 3. Электрофореграмма ПЦР-продуктов двух фрагментов (a, b) экзонов 1 и 6 гена SNCA, полученных при различных температурах отжига праймеров (58°C, 60°C и 62°C) для двух образцов.

Последовательности использованных праймеров представлены в Приложении 4.

Полученные ПЦР-продукты подвергали ферментативной очистке в 5 мкл реакционной смеси, содержащей: 2 мкл образца, 0,5 ед. креветочной щелочной фосфатазы (SAP) (Promega, Соединенное Королевство) и 5 ед. экзонуклеазы 1 (exoI) (Fermentas, США); при температуре 37°C — 30 мин с последующей инактивацией ферментов при 85°C — 15 мин.

Сиквенсовую реакцию проводили на программируемом термоциклере Veriti (Applied Biosystems) с использованием набора BrilliantDye v3.1 Cycle sequencing kit (NimaGen, Голландия), по протоколу: начальная денатурация при 96°C — 1 мин и далее 25 циклов с температурно-временным режимом: 96°C — 10 с; 50°C — 5 с; 60°C — 4 мин.

Сиквенсовый продукт очищали с помощью изопропилового спирта: 120 мкл 75% изопропилового спирта добавляли к 10 мкл амплификационной смеси и 20 мин выдерживали при комнатной температуре и постоянном перемешивании; затем 30 мин центрифугировали со скоростью 13000 об/мин при 4°C; далее к осадку добавляли 80 мкл 75% изопропилового спирта и повторно центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 13000 оборотов при 4°C; осадок высушивали 3 мин при 65°C.

Полученный осадок денатурировали в 10 мкл формамида при 95°C 4 мин с последующей фиксацией при быстром охлаждении до 4°C в течение 10 мин.

Анализ нуклеотидных последовательностей полученных образцов проводили на капиллярном генетическом анализаторе НАНОФОР-05 (ИАП РАН, Россия) с помощью программного обеспечения Mutation Surveyor® DNA Variant Analysis Software (SoftGenetics, LLC, США).

Также полученные данные сравнивались с частотой минорного аллеля (MAF) согласно БД ALFA (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa/>) и GnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>).

2.4. Оценка экспрессии гена альфа-синуклеина

Оценка экспрессии гена *SNCA* в лейкоцитах была проведена для 33 пациентов с МСА (18 пациентов с МСА-П, 15 пациентов с МСА-М), 27 пациентов с БП и 8 человек из контрольной группы. Исследованные группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Таблица 10. Демографические характеристики групп, для которых была проведена оценка экспрессии гена альфа-синуклеина.

Диагноз	МСА (n=33)	БП (n=27)	Контроль (n=8)	p
Возраст, лет	61,58±1,5	64,11±1,13	60,63±1,49	0,234
Пол (муж/жен)	13/20	11/16	3/5	0,985

Пробирки с венозной кровью сразу после забора помещали в лед для транспортировки в лабораторию, где незамедлительно проводили выделение лейкоцитарной фракции по следующему протоколу: кровь аликвотили по 300 мкл в пробирки с 1,5 мл эритроцит-лизис буфера (Qiagen, Германия), инкубировали 15 минут, далее центрифугировали в течение 10 минут на 2100 оборотах при температуре 4°C на центрифуге ALC PK131R, при неполном лизисе эритроцитов повторяли процедуру. При получении гомогенного раствора осадок вновь центрифугировали с 1,5 мл эритроцит-лизис буфера, после чего лейкоцитарный осадок осушали и растворяли в 350 мкл RLT буфера

из состава RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия) с 3,5 мкл димеркаптоэтанола, полученные образцы хранили при температуре -80°C .

Собственно выделение тотальной РНК проводили с помощью набора для выделения РНК RNeasy Mini Kit по протоколу производителя.

Полученные аликвоты РНК хранили при температуре -20°C .

Анализ изменения уровня РНК проводили методом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) с последующей количественной ПЦР в режиме «реального времени» с использованием в качестве референсного гена (housekeeping) — ген *ACTB* (бета-актин), который характеризуется стабильной экспрессией.

Обратную транскрипцию проводили с помощью набора ОТ-1 (Синтол, Россия) с использованием олиго-dT праймеров и фермента MMLV-RT, на программируемом термоциклере Veriti (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя. Полученные образцы кДНК, при необходимости, хранили при температуре -20°C .

ПЦР в режиме «реального времени» проводили в мультиплексном формате для исследуемого и референсного генов в объеме 25 мкл: 10 мкл 2,5х реакционной среды для проведения ПЦР-РВ (ООО «Синтол»), по 10 пкмоль прямого и обратного праймеров и по 5 пкмоль флуоресцентных зонда для обоих генов, на амплификатора АНК-48 (ИАП РАН, Россия), по следующему протоколу: 95° — 300 сек; 55 циклов: 61°C — 40 сек, 95°C — 15 сек.

Оценка экспрессии проводилась по оригинальной методике. В основу данной методики была заложена стабильная экспрессия экзона 4 гена *SNCA*. Праймеры и флуоресцентно меченый TaqMan-зонд были подобраны таким образом, чтобы оценить относительную экспрессию всех транскриптов (98, 112, 126 и 140), а также транскриптов, из которых в результате процесса альтернативного сплайсинга был удален или сохранен экзон 5, поскольку по литературным данным именно изоформы альфа-синуклеина, транслированные из данного транскрипта, отвечают за повышенную склонность к агрегации

(рисунок 4). Последовательности праймеров и флуоресцентного зонда представлены в приложении 4.

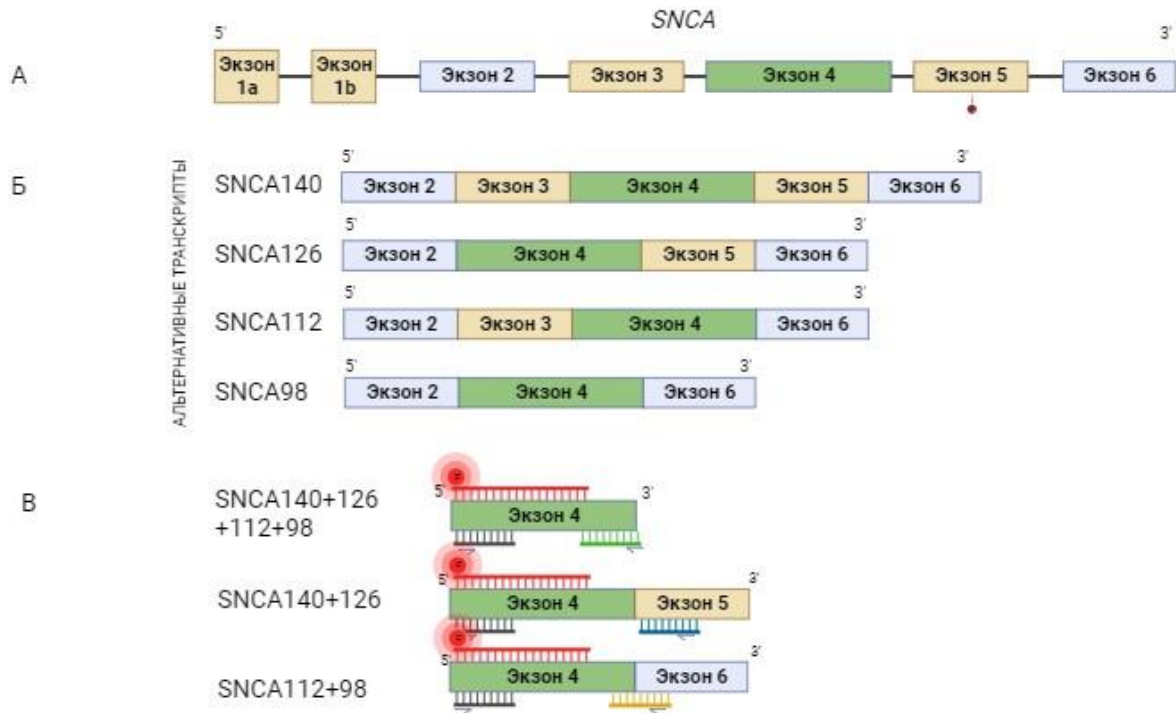


Рисунок 4. Схематичное отображение гена SNCA (рис. А) и его основных альтернативных транскриптов (рис. Б). Методика исследования представлена на рис. В.: чёрным цветом обозначен прямой праймер, зеленым – обратный праймер 1, синим – обратный праймер 2, желтым – обратный праймер 3. Красным цветом обозначен TaqMan-зонд с R6G-флуоресцентной меткой. Оценка транскриптов SNCA 98, 112, 126 и 140 проведена с учетом стабильной экспрессии экзона 4 (отмечен зеленым, прямой праймер + обратный праймер 1), обратный праймер 2 для оценки экспрессии транскриптов с 5 экзоном комплементарен 5'-концу 5 экзона. Обратный праймер 3 подобран таким образом, чтобы быть комплементарным 5'-концу 6 экзона и 3' концу 4 экзона. R6G-флуоресцентная метка комплементарна экзону 4 (изображение создано при помощи приложения BioRender (<https://app.biorender.com>)).

С целью оценки специфичности праймеров проводили электрофоретический анализ ампликонов, полученных с каждой парой праймеров на наличие неспецифических фрагментов ДНК. Во всех образцах

присутствовали четкие полосы на уровне детекции ожидаемых специфических фрагментов.

Проверку чувствительности и эффективности ПЦР-РВ проводили путем амплификации последовательных разведений кДНК с целью определения значений пороговых циклов C_t (рисунок 5) и построения стандартной кривой корреляции (рисунок 6).

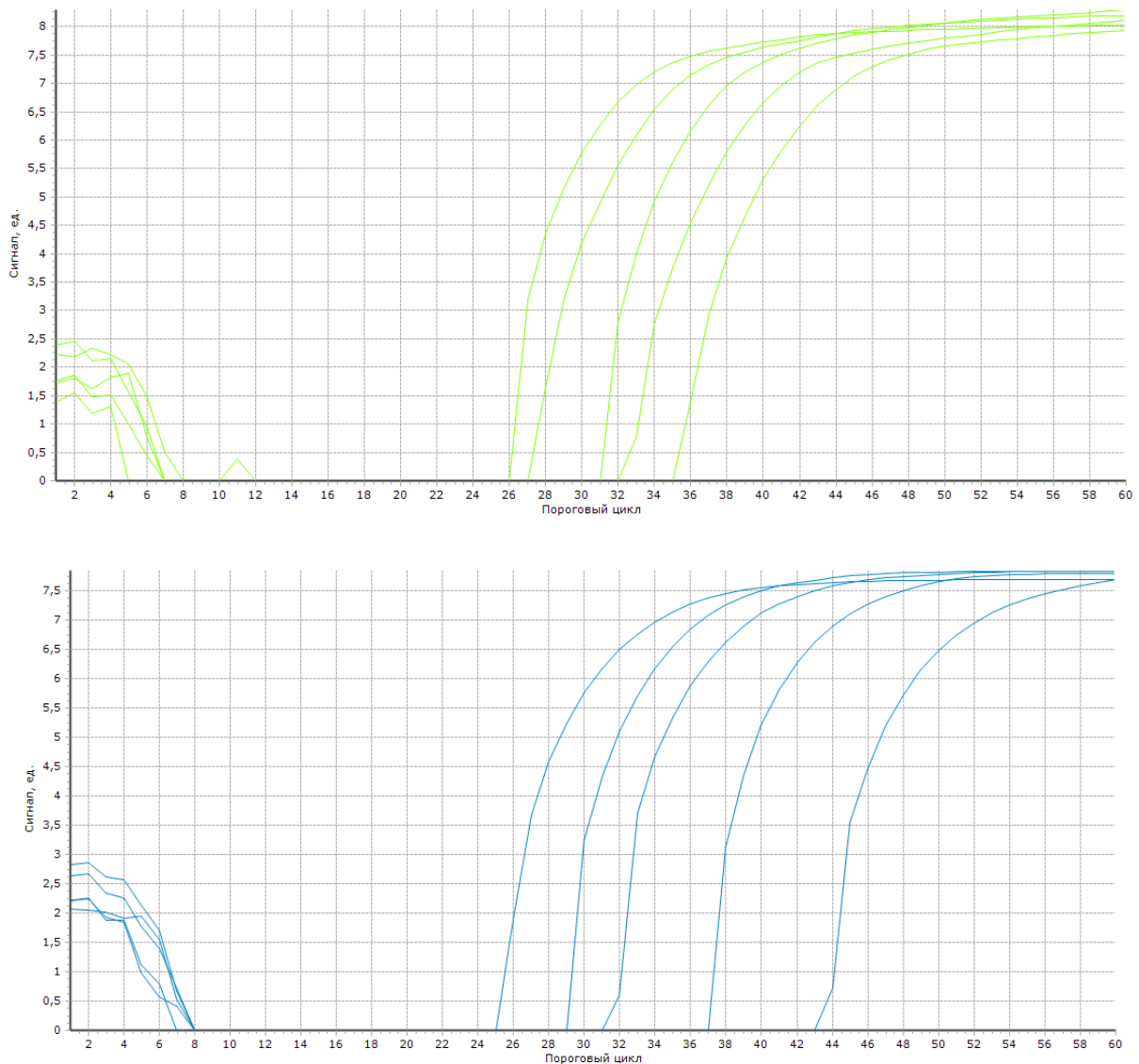


Рисунок 5. Кинетические кривые амплификации (логарифмическая шкала) для определения эффективности реакции с серийным разведением образцов. Зеленый цвет — ROX-метка для нормировочного гена *ACTB*. Синий цвет — R6G-метка для транскрипта *SNCA98+SNCA112*.

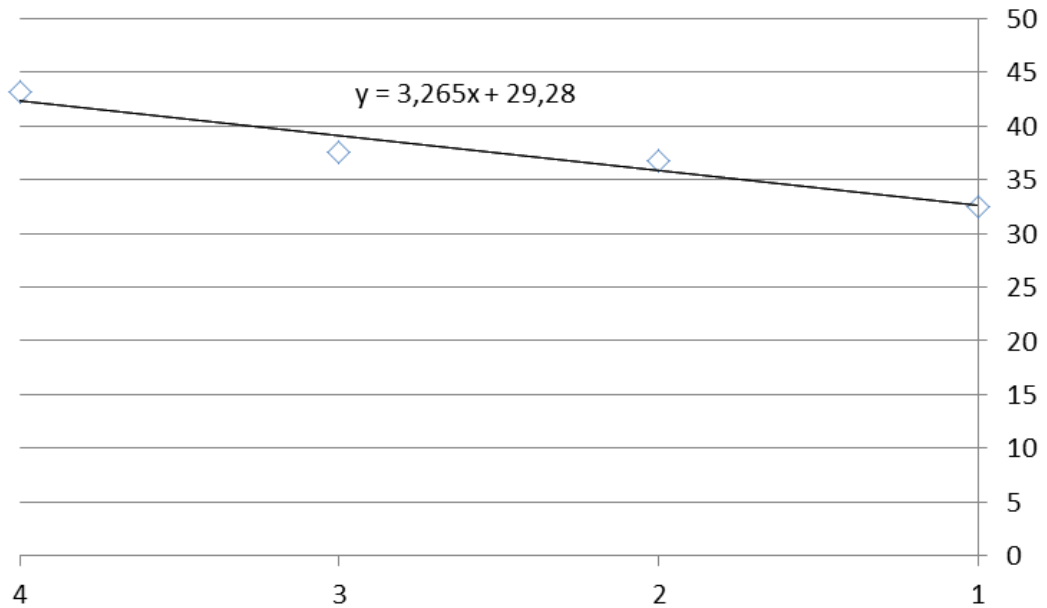


Рисунок 6. Стандартная кривая корреляции между значениями пороговых циклов C_t (ось y) и \log_{10} концентрации кДНК (ось x) и уравнение прямой для серийного разведения референсного гена АСТВ при мультиплексной ПЦР-РВ с транскриптом SNCA98+SNCA112.

Эффективность ПЦР-амплификации рассчитывали по формуле (1):

$$E = (10^{\frac{-1}{m}} - 1) \times 100\%$$

(1)

где m — угловой коэффициент прямой, построенной на основании ΔC_t (рисунок 6).

Результаты оценки эффективности, приведенные в таблице 11, укладываются в диапазон оптимальной эффективности (90–110%).

Мультиплексные реакции для каждого образца кДНК по трем альтернативным транскриптам ставили в трех повторах каждую.

Относительный уровень экспрессии рассчитывали методом $\Delta\Delta C_t$ (формула (2)) с дальнейшим вычислением арифметического среднего для всех повторов образца.

$$Exp = 2^{(\Delta Ct_{SNCA} - \Delta Ct_{ACTB})} \quad (2)$$

Таблица 11. Эффективность реакции для различных сплайсинг-форм SNCA, а также референсного гена.

Показатель	R6G (SNCA)	ROX (ACTB)
Суммарная экспрессия (140, 126, 112 и 98)	92,49%	103,09%
Форма с экзоном 5 (140 и 126)	107,42%	104,44%
Форма без экзона 5 (112 и 98)	99,25%	102,43%

2.5. Определение белка альфа-синуклеина и коэнзима Q10 в крови.

В работе оценивались уровни белка альфа-синуклеина, коэнзима Q10 и общего холестерина в крови. Данные параметры были проанализированы у 24 пациентов с МСА и 10 пациентов с БП. Также для сравнения была исследована контрольная группа из здоровых добровольцев (n=10). Группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Таблица 12. Демографические характеристики групп, для которых была проведена оценка экспрессии гена альфа-синуклеина.

Диагноз	МСА (n=24)	БП (n=10)	Контроль (n=10)	p
Возраст, лет	61,38±1,33	64,0±0,94	62,4±1,43	0,596
Пол (муж/жен)	8/16	3/7	3/7	0,972

Уровень альфа-синуклеина (пг/мл) в сыворотке крови проводили твердофазным иммуноферментным методом (ELISA) сэндвич-типа на планшетном ридере Реал-Бест (Вектор — Бест, Россия) с использованием наборов реагентов Euroimmun (Германия).

Уровень кофермента Q10 (нг/мл) оценивали в плазме крови (ЭДТА К3) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием с использованием жидкостного

хроматографа Agilent Infinity II 1290 (США) оснащенного квадруполь-времяпролётным масс-детектором Agilent QTOF 6545XT (производство фирмы "Agilent Technologies", США). Масс-спектрометрическая идентификация целевых соединений осуществлялась по принципу масс-спектрометрии высокого разрешения (МСВР) с точностью определения анализируемых масс до 0,0001 а.е.м.

Уровень общего холестерина (ммоль/л) измеряли в сыворотке крови энзиматическим методом по Ильке на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i (Финляндия) с использованием наборов реагентов Randox (Великобритания). Скорректированный уровень коэнзима Q10 определялся отношением уровня коэнзима Q10 в плазме крови к уровню общему холестерину.

2.6. Статистическая обработка данных.

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation, США).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению. В зависимости от результата проводился расчет средних величин и стандартных отклонений ($M \pm \sigma$), либо значений медианы и нижнего и верхнего квартилей ($Me [Q1-Q3]$). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей ($n (\%)$).

При сравнении выборок рассчитывался t-критерий Стьюдента или U-критерий Манна-Уитни. Также использовались критерий F Фишера и Краскела-Уоллиса, поправка Бонферрони. Сравнение номинальных данных проводилось

при помощи критерия χ^2 Пирсона. В качестве показателя тесноты связи между количественными показателями использовался коэффициент корреляции r_{xy} Пирсона либо ранговой корреляции Спирмена ρ . Визуализация количественных связей проводилась с использованием языка программирования R (версия 4.2.2) в программной оболочке «RStudio 2022.12.0» и загружаемых модулей «metan» и «ggplot».

Статистический уровень значимости принимался равным 0,05.

Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применялся метод анализа ROC-кривых.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Клинико-anamнестические особенности пациентов с мультисистемной атрофией

3.1.1. Сопоставление фенотипов мультисистемной атрофии и болезни Паркинсона.

В группе пациентов с МСА проводился анализ клинической картины с оценкой встречаемости основных клинических проявлений заболевания (по жалобам, анамнестическим данным, неврологическому осмотру). Группа МСА сравнивалась с группой пациентов с БП. Полученные результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13. Клинико-anamнестические характеристики групп пациентов с МСА и БП.

Характеристика	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
Возраст дебюта заболевания	57,7±1,38	56,3±1,26	0,355
Длительность заболевания	4 [3; 5]	8 [5; 11,25]	<0,001
Акинетико-ригидный синдром	36 (80%)	30 (100%)	0,009
Мозжечковая атаксия	45 (100%)	0 (0%)	<0,001
Пирамидный синдром	41 (91,1%)	9 (30%)	<0,001
Дрожательный гиперкинез	27 (60%)	26 (86,7%)	0,013
-тремор покоя	6 (13,3%)	26 (86,7%)	<0,001
-полиминимиоклонус	26 (57,8%)	0 (0%)	<0,001
Позные нарушения	11 (24,4%)	5 (16,7%)	<0,001
Дисфагия	30 (66,6%)	4 (13,3%)	<0,001
Стридор	13 (28,9%)	0 (0%)	<0,001
Ортостатические жалобы	42 (93,3%)	12 (40%)	<0,001
Нарушения мочеиспускания	42 (93,3%)	21 (70%)	0,003
-недержание мочи	32 (71,1%)	3 (10%)	<0,001

Таблица 13 – продолжение.

-учащенные мочеиспускания	42 (93,3%)	20 (70%)	<0,001
-задержка мочеиспускания	26 (57,8%)	0 (0%)	<0,001
Запоры	41 (91,1%)	25 (92,6%)	0,541
Нарушения поведения в фазу сна с БДГ	38 (84,4%)	12 (40%)	<0,001

Сопоставимые по возрасту начала заболевания группы отличались по длительности заболевания: при МСА она была меньше, чем при БП.

У большей части пациентов с МСА (75,6%) и у всех пациентов с БП имелся акинетико-ригидный синдром, что согласуется с диагностическими критериями. Несмотря на разделение по типам, у всех пациентов с МСА имелся синдром мозжечковой атаксии. У достоверно большего количества пациентов с МСА отмечался пирамидный синдром (оживление сухожильных рефлексов, наличие патологических рефлексов в отсутствие парезов). Полиминимиоклонус встречался только у пациентов с МСА, причем практически у половины (57,8%). Тремор покоя отмечался у подавляющего числа больных с БП, но также и у единичных пациентов с МСА. Что касается поздних нарушений (синдром «пизанской башни», камптокормия), то достоверно чаще они наблюдались у пациентов с МСА, чем с БП (24,4% против 16,7%). Дисфагия достоверно чаще встречалась у пациентов с МСА — примерно в две трети случаев. Высокоспецифичным маркером МСА являлось наличие стридора, который мог наблюдаться как при осмотре, так и выявляться при активном расспросе по анамнестическим данным (больше, чем у четверти пациентов МСА); тогда как у пациентов с БП подобного феномена не отмечалось.

Симптомы ортостатического характера (слабость при вставании, головокружение, боли в верхней половине тела) также достоверно чаще отмечались при МСА (93,3%), однако некоторые пациенты с БП (40%) также отмечали этот симптом.

Почти у всех пациентов с МСА присутствовали тазовые нарушения (нарушения мочеиспускания и запоры, 93,3% и 91,1%, соответственно). Из нарушений мочеиспускания можно отметить, что задержка мочеиспускания встречалась исключительно у пациентов с МСА (57,8%). Симптомы по типу гиперактивного мочевого пузыря значительно чаще встречались при МСА (учащенные мочеиспускания и недержание мочи — 93,3% и 71,1% против 70% и 10% у пациентов с БП).

Нарушения поведения в фазу сна с быстрым движением глаз, которые оценивались со слов пациентов либо их близких (информантов), встречались достоверно чаще у пациентов с МСА, однако не были редкостью и при другой синуклеинопатии — БП (84,4% против 40%).

Формализованная оценка двигательных нарушений проводилась по соответствующим шкалам — второй части UMSARS, третьей части UPDRS и по шкале SARA (таблица 14).

Таблица 14. Оценка двигательных нарушений у пациентов с МСА и БП.

Шкалы	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
UMSARS, ч. 2, баллы	27,22±9,02	15,87±5,23	<0,001
UPDRS, ч. 3, баллы	31,40±10,96	26,3±7,23	0,028
SARA, баллы	14 [12; 18]	4 [3,5; 6,5]	<0,001

Балльная оценка моторной дисфункции по специализированным подшкалам для МСА (UMSARS, ч. 2) и для БП (UPDRS, ч.3) была выше у пациентов с МСА, что говорит о более тяжелом состоянии пациентов, несмотря на то что у пациентов с МСА длительность заболевания была достоверно меньшей. Аналогично по шкале SARA, оценивающей преимущественно проявления мозжечковой дисфункции, у пациентов с МСА балл был выше по сравнению с пациентами с БП (более чем в 3 раза).

Помимо двигательных нарушений пациенты основной группы МСА и группы сравнения БП оценивались по шкалам немоторных нарушений: шкале вегетативной дисфункции (SCOPA-AUT), подшкале немоторных нарушений при БП (UPDRS, ч. 1), когнитивных и аффективных нарушений. Результаты представлены в таблице 15.

Таблица 15. Оценка немоторных нарушений по шкалам/опросникам у пациентов с МСА и БП.

Шкалы/опросники	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
SCOPA-AUT, баллы	23,80±8,73	14,53±5,69	<0,001
UPDRS, ч. 1, баллы	19,04±5,74	15,73±4,77	0,008
MoCA, баллы	26 [24; 27]	24 [21; 26]	0,089
HADS-A, баллы	7,49±3,60	7,73±3,62	0,775
HADS-D, баллы	8,07±4,04	9,33±3,84	0,175

Тяжесть немоторных и вегетативных нарушений в группе МСА по соответствующим шкалам была выше. При оценке когнитивной дисфункции по шкале MoCA у пациентов с БП медианный балл был несколько ниже, чем у пациентов с МСА, однако данный показатель оставался на уровне тенденции ($p < 0,1$). Что касается аффективных нарушений, то статистически достоверных различий между группами не было отмечено.

Пациенты двух групп также сравнивались (таблица 16), по интегративной оценке, повседневной активности (UMSARS, ч. 1 и UPDRS, ч. 2), по шкале общей инвалидизации (UMSARS, ч. 4) и по качеству жизни (PDQ-39).

Таблица 16. Интегративные оценки повседневной активности и качества жизни у пациентов с МСА и БП.

Шкалы/опросники	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
UMSARS, ч. 1, баллы	21 [14; 26]	10 [8; 13,0]	<0,001
UMSARS, ч. 4, баллы	2 [2; 4]	1 [1; 2]	<0,001

Таблица 16 – продолжение.

UPDRS, ч. 2, баллы	21,96±7,17	18,87±5,92	0,046
PDQ-39, баллы	96,96±24,00	58,10±31,17	<0,001

По всем исследуемым подшкалам и опроснику наличие МСА достоверно больше влияло на качество жизни/повседневную активность по сравнению с БП.

3.1.2. Сравнение двух типов мультисистемной атрофии.

В работе сравнивались 2 основных типа МСА – мозжечковый и паркинсонический – по клиническим и анамнестическим характеристикам. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17. Клинико-анамнестические характеристики пациентов с двумя типами МСА.

Характеристика	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
Возраст дебюта заболевания	58,7±1,59	57,3±2,16	0,507
Длительность заболевания	3 [3; 5]	4 [3; 5]	0,476
Акинетико-ригидный синдром	11 (55%)	25 (100%)	0,006
Мозжечковая атаксия	20 (100%)	25 (100%)	0,999
Пирамидный синдром	20 (100%)	21 (84%)	0,061
Дрожательный гиперкинез	12 (60%)	20 (80%)	0,242
-в т.ч. тремор покоя	0 (0%)	6 (24%)	<0,019
-в т.ч. полиминимиклонус	12 (60%)	14 (56%)	0,787
Позные нарушения	2 (10%)	9 (36%)	0,044
Дисфагия	9 (45%)	21 (84%)	0,01
Стридор	3 (23,1%)	10 (76,9%)	0,066
Ортостатические жалобы	19 (95%)	23 (92%)	0,999
Нарушения мочеиспускания	19 (95%)	23 (92%)	0,688
-в т.ч. недержание мочи	15 (75%)	17 (68%)	0,607
-в т.ч. учащенные мочеиспускания	18 (90%)	24 (96%)	0,423
-в т.ч. задержка мочеиспускания	11 (55%)	15 (60%)	0,736
Запоры	17 (41,5%)	24 (58,5%)	0,198

Таблица 17 – продолжение.

Нарушения поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз	17 (85%)	21 (84%)	0,927
---	----------	----------	-------

Возраст начала заболевания, а также длительность (от дебюта болезни до включения в исследование) при двух типах МСА не различались.

Следует отметить, что акинетико-ригидный синдром в той или иной степени выраженности присутствовал в неврологическом статусе у большинства (55%) пациентов с МСА-М, а синдром мозжечковой атаксии — у всех пациентов с МСА-П. Леводопу принимали 88% пациентов с МСА-П, субъективный положительный эффект отмечали 15 из них (68,2% из числа принимавших леводопу). Из числа пациентов с МСА-М леводопа была ранее назначена 1 пациенту (2%), пациент эффекта не отмечал. Несмотря на то, что тремор покоя не характерен для пациентов с МСА, данный феномен отмечен у нескольких пациентов с МСА-П.

Из всех исследованных характеристик две группы достоверно отличались по наличию поздних нарушений (чаще встречались в группе МСА-П) и дисфагии (также чаще при МСА-П). По остальным признакам статистически достоверного различия не отмечалось.

При сравнении пациентов с разными типами МСА обнаружено, что двигательные нарушения были более выражены у лиц с МСА-П, чем у лиц с МСА-М (по шкалам UMSARS ч.2 и UPDRS ч.2). Также стоит отметить тот факт, что, несмотря на превалирование мозжечковой симптоматики у пациентов с МСА-М, оценка по шкале SARA достоверно не отличалась от таковой у пациентов с МСА-П (таблица 18). Полученные данные свидетельствуют о том, что тяжесть мозжечковых нарушений при МСА-М сопоставима с МСА-П, тогда как при МСА-П наряду с мозжечковой симптоматикой тяжесть двигательных нарушений отягчается проявлениями паркинсонизма.

Группы пациентов с типами МСА сравнивались по немоторным проявлениям: ни по общей оценке, ни по вегетативным, когнитивным и

аффективными нарушениями группы не отличались (таблица 19). Однако, следует отметить, что немоторные проявления (кроме когнитивной дисфункции) несколько более выражены у пациентов с МСА-П.

Таблица 18. Оценка двигательных нарушений по шкалам у пациентов с двумя типами МСА.

Шкалы/опросники	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
UMSARS, ч. 2, баллы	22,70±7,34	30,84±8,70	0,002
UPDRS, ч. 3, баллы	26,85±10,21	35,04±10,32	0,013
SARA, баллы	14 [12; 18]	12 [12; 18]	0,604

Таблица 19. Оценка немоторных нарушений по шкалам/опросникам у пациентов с двумя типами МСА.

Шкалы/опросники	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
UPDRS, ч. 1, баллы	17,60±6,12	20,20±5,25	0,076
SCOPA-AUT, баллы	21,00±5,30	26,04±10,28	0,104
MoCA, баллы	25 [23; 27]	26 [25; 27]	0,446
HADS-A, баллы	6,45±3,35	8,32±3,65	0,09
HADS-D, баллы	6,85±3,36	9,04±4,33	0,075

Две группы МСА сравнивались по интегративным оценкам повседневной активности, инвалидизации и качеству жизни (таблица 20).

Таблица 20. Интегративные оценки повседневной активности и качества жизни у пациентов с двумя типами МСА.

Шкалы/опросник	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
UMSARS, ч. 1, баллы	19 [14; 22]	25 [15; 30]	0,095
UMSARS, ч. 4, баллы	2 [2; 3]	3 [2; 4]	0,076
UPDRS, ч. 2, баллы	19,15±6,64	24,20±6,89	0,023
PDQ-39, баллы	92,50±23,65	100,52±24,16	0,258

Сравнение показало, что по всем подшкалам показатели были выше в группе МСА-П по сравнению с МСА-М: статистически значимо по подшкале UPDRS, ч. 2 ($p < 0,05$), по остальным: UMSARS, ч. 1 и UMSARS, ч. 4 — на уровне тенденции ($p < 0,1$). По опроснику качества жизни PDQ-39 различие оказалось статистически незначимым, но среднее значение также было выше в группе МСА-П. Полученные данные говорят о более низкой повседневной активности и качестве жизни у пациентов данной группы — с МСА-П (таблица 20).

Представляем ниже клинические примеры показательных случаев МСА-П и МСА-М.

***Клинический пример 1.** Пациент А., 64 лет. Впервые появление замедленности и скованности, а также болезненность в поясничной области отметил в 2019 году (в возрасте 62 лет), наблюдался с диагнозом "остеохондроз позвоночника". Также отмечал склонность к артериальной гипотензии. В дальнейшем присоединился тремор покоя в левой руке. В июне 2020 года выставлен диагноз "болезнь Паркинсона", назначена терапия: амантадина сульфат 100 мг/сут., прамипексол 0,25 мг 3 р/сут. с небольшим положительным эффектом в виде уменьшения выраженности скованности. В начале 2021 года – эпизод острой задержки мочи, по данным УЗИ остаточной мочи от 29.04.2021: 320 мл: была установлена эпицистостома, наблюдался с диагнозом доброкачественной гиперплазии мочевого пузыря. В августе 2021 года была проведена ТУР простаты и удаление эпицистостомы, в дальнейшем – бужирование уретры с умеренным положительным эффектом в виде уменьшения ООМ (170 мл, данные от октября 2021). В октябре 2021 года отметил появление падений с потерей сознания на фоне пониженного АД (до 70/50 мм рт. ст.), отметил учащение мочеиспусканий в ночное время (до 6 – 10 раз за ночь), склонность к запорам.*

При осмотре выявлены ортостатическая гипотензия (АД лежа 140/90 мм рт. ст., стоя через 3 мин 110/70 мм рт. ст.), грубый акинетико-ригидный

синдром, пирамидные знаки (резкое оживление сухожильных рефлексов, появление патологических рефлексов), а также выраженная камптокормия. При дообследовании: на МРТ головного мозга: признаки оливопонтocerebellарной атрофии, а также симптом “обода скорлупы”. ООМ - 50 мл. Установлен диагноз: “МСА, паркинсонический тип”. Пациенту назначена симптоматическая терапия: флудрокортизон 100 мкг 1 р/сут., леводопа/карбидопа 250/25 мг по 1 таб. 3 р/сут., мирабегрон 50 мг 1 р/сут.

Клинический пример 2. Пациент В., 58 лет. Обратился в ФГБНУ НЦН в 2021 г. (в возрасте 56 лет) с жалобами на шаткость при ходьбе, неловкость в руках, императивные позывы на мочеиспускание, запоры, головокружения при вставании, нарушения сна в виде вскрикиваний и на эректильную дисфункцию. Данные симптомы появились около 2 лет назад, в дальнейшем постепенно прогрессировали. До обращения в ФГБНУ НЦН наблюдался у неврологов и урологов с диагнозами «Мозжечковая атаксия» и «Хронический простатит», соответственно. При осмотре обращают на себя внимание: ортостатическая гипотензия (АД в положении лежа 150/90 мм рт. ст., в положении стоя через 3 минуты 110/70 мм рт. ст.), мозжечковый синдром (наличие нистагма, дизартрии, мышечной гипотонии, дисметрии и адиадохокинеза, нарушений походки), олигобрадикинезия слева, пирамидная недостаточность (резкое оживление сухожильных рефлексов, появление патологических рефлексов). При дообследовании: УЗИ остаточной мочи: 100 мл. На МРТ головного мозга: МРТ-данные соответствуют дегенеративному процессу с преимущественным поражением ствола мозга и мозжечка. Установлен диагноз: “МСА, мозжечковый тип”. Пациенту назначена симптоматическая терапия: флудрокортизон 100 мкг 1 р/сут., тамсулозин 400 мкг 1 р/сут., силденафил по потребности.

3.1.3. Сравнение пациентов с мультисистемной атрофией паркинсонического типа и пациентов с болезнью Паркинсона.

Учитывая общность клинической картины МСА-П и БП и трудности их дифференциальной диагностики, особенно на ранних стадиях, был проведен сравнительный анализ пациентов с данными диагнозами по клинико-анамнестическим характеристикам (данные представлены в таблицах 13 и 17). Данные нозологические формы отличались по большей встречаемости при МСА-П мозжечковых симптомов, пирамидной недостаточности, полиминимииоклонуса (при БП – 0%), дисфагии, стридора (при БП – 0%), ортостатических и различных урологических жалоб (при БП задержки при мочеиспускании – 0%), нарушения поведения в фазу сна с БДГ. В то же время, при БП чаще встречался тремор покоя. Группы статистически значимо не отличались по частоте поздних нарушений, хотя в группе МСА-П процент встречаемости был существенно выше (36% vs. 16,7% при БП, $p=0,102$). Наоборот, такие вегетативные нарушения, как запоры, встречались в группе БП чаще, чем при МСА-П, но без статистически значимого различия (58,5% vs. 83,3%, $p=0,134$).

При сравнительной оценке по подшкалам UMSARS ч.2, UPDRS ч.3, SARA (таблицы 14 и 18) тяжесть моторных симптомов была выше у пациентов с МСА-П по сравнению с пациентами с БП ($p\leq 0,001$).

Также по оценке немоторных проявлений заболевания (UPDRS ч. 1) и по выраженности вегетативной дисфункции (SCOPA-AUT) более высокий балл отмечался в группе МСА-П ($p=0,003$ и $p<0,001$). При оценке когнитивных нарушений в группе БП выявлен более низкий балл по шкале MoCA, но без статистической значимости (24 [21; 26] vs. 26 [25; 27], $p=0,075$). При оценке аффективных нарушений по HADS группы не отличались (таблицы 14 и 18).

Качество жизни (PDQ-39), повседневная активность (UMSARS ч. 1, UPDRS ч. 2), общая инвалидизация (UMSARS ч. 4) были выше в группе МСА-П по сравнению с группой БП ($p<0,01$, таблицы 16 и 20).

3.1.4. Нейровизуализационное сопоставление двух типов мультисистемной атрофии.

Из 45 пациентов у 26 пациентов с МСА (12 с МСА-М, 14 с МСА-П) были доступны снимки МРТ для анализа нейровизуализационных признаков, характерных для данного заболевания. Оценивались 2 основных признака: гиперинтенсивность скорлупы и атрофия стволовых структур и мозжечка (рисунки 7 и 8, соответственно).

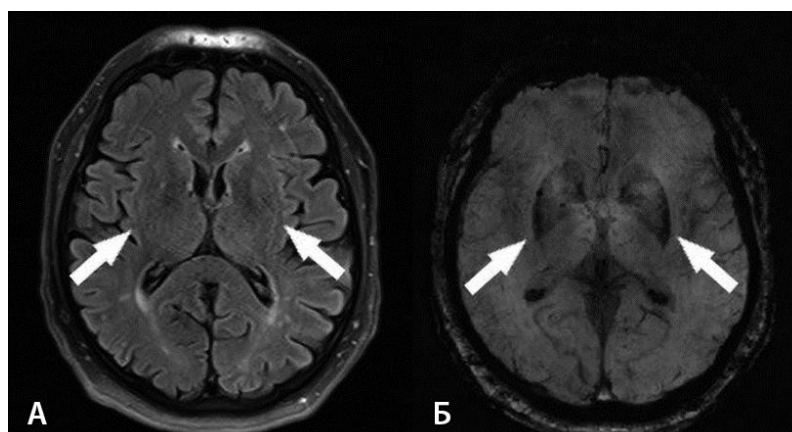


Рисунок 7. Симптом «обода скорлупы». А — режим T2-FLAIR. Б — режим SWI.



Рисунок 8. Оливопонтоцеребеллярная атрофия. А — режим T1. Б — режим T2-FLAIR (симптом «креста»).

В общей группе пациентов с МСА у 23 пациентов (88,5%) выделялись один или оба нейровизуализационных признака, ассоциированного с заболеванием: у 10 пациентов (38,5%) — изолированная атрофия ствола/мозжечка, в 7 случаях (26,9%) — изолированный симптом «обода

скорлупы», в 6 случаях (23,1%) – сочетание обоих симптомов, тогда как в 3 случаях (11,5%) радиологические признаки МСА отсутствовали (рисунок 9).

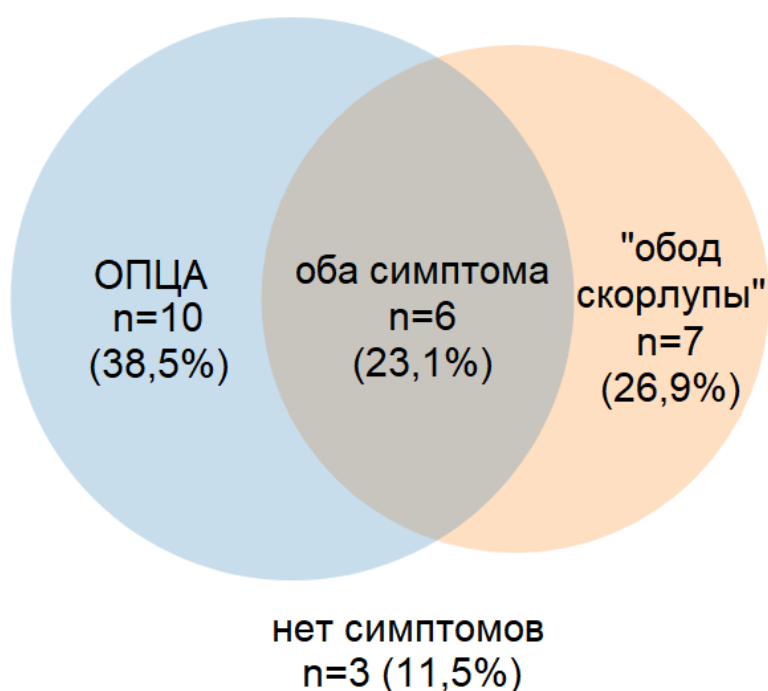


Рисунок 9. Диаграмма радиологических симптомов МСА в общей группе пациентов.

В подгруппах МСА-М и МСА-П отдельно были проанализированы встречаемость нейровизуализационных феноменов, полученные данные представлены в таблице 21.

Таблица 21. Нейровизуализационные характеристики в подгруппах пациентов с МСА

	МСА-М (n=12)	МСА-П (n=14)	p
Оливопонтоцеребеллярная атрофия	9	1	0,001
Симптом «обода скорлупы»	1	6	0,081
Оба симптома (в сочетании)	1	5	0,170
Отсутствие симптомов	1	2	0,636

Как показано в таблице, оливопонтocerebellарная атрофия выявлялась достоверно чаще при МСА-М. Что касается симптома «обода скорлупы» — гиперинтенсивности дорсолатеральных областей скорлупы, то при МСА-П данный симптом встречался чаще, на уровне тенденции. Оба симптома встречались также чаще у пациентов с МСА-П.

3.1.5. Дифференциальная диагностика МСА.

С практической точки зрения важно рассмотреть структуру направительных диагнозов у пациентов с МСА до обращения в ФГБНУ НЦН. Диагноз «мультисистемной атрофии» являлся направительным только у 6 пациентов с МСА (13,3%): 5 случаев МСА-П (20%) и 1 случаев МСА-М (5%). Доля других диагнозов указана в таблице 22.

Таблица 22. Направительные диагнозы у пациентов с различными типами МСА.

Направительный диагноз	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)
Мультисистемная атрофия	1 (5%)	5 (20%)
Болезнь Паркинсона	3 (15%)	14 (56%)
Поздняя мозжечковая атаксия	11 (55%)	0 (0%)
Дисциркуляторная энцефалопатия	2 (10%)	4 (16%)
Прогрессирующий надъядерный паралич	1 (5%)	1 (4%)
Рассеянный склероз	1 (5%)	0 (0%)
Соматоформная дисфункция вегетативной нервной системы	1 (5%)	1 (4%)

Также, как уже было указано выше в разделе 2.1, у 2 пациентов с первоначальным диагнозом МСА в процессе дообследования выявились другие заболевания. Так, у 1 пациентки при выполнении молекулярно-генетического исследования была выявлена дупликация гена *SNCA*. Также после коррекции терапии противопаркинсоническими препаратами одной пациентке был поставлен диагноз “БП”. Данные клинические случаи приведены ниже.

Клинический пример 3. Пациентка Е., 52 лет. Обратилась в ФГБНУ НЦН в 2021 году с жалобами на скованность, дрожание в руках и ногах, императивные позывы к мочеиспусканию, склонность к запорам, обмороки и низкое АД (до 80/70 мм рт.ст), частые пробуждения и сноговорение. Из анамнеза известно, что первые симптомы в виде скованности в левой руке появились в 2017 году, в том же году поставлен диагноз «болезнь Паркинсона» и назначен ропинирол в дозировке 4 мг/сут. с умеренным положительным эффектом в виде снижения скованности. С 2018 года была увеличена дозировка ропинирола до 8 мг/сут., начала падать в обморок, периодически фиксировать низкое АД. В 2019 году выставлен диагноз «МСА-П», назначены препараты леводопы. При осмотре: ортостатическая гипотензия с падением АД в положении стоя через 3 минута на 30/10 мм рт.ст., акинетико-ригидный синдром, более выраженный слева. На МРТ головного мозга от 2020 года – единичные сосудистые очаги. При УЗ-оценке ООМ: 10 мл. На фоне отмены ропинирола отметила улучшение общего самочувствия, также прекратились обмороки, купировалась ортостатическая гипотензия. Установлен диагноз: “Болезнь Паркинсона, 2 ст. по Хён-Яру. Вегетативные нарушения”. Пациентке назначена монотерапия препаратами леводопы в дозе 450 мг/сут., а также тропия хлорид 30 мг/сут.

Клинический пример 4. Пациентка Г., 62 лет. Обратилась в НЦН с жалобами на эпизоды снижения артериального давления до 60/40 мм рт.ст., общую слабость, редкие обмороки, сноговорение и крики во время сна. Из анамнеза известно, что длительное время отмечала у себя наличие сноговорения и повышенной утомляемости, однако внимания на это не обращала. 4 года назад впервые упала в обморок: при измерении АД в положении лежа САД – более 200 мм рт.ст., что было расценено как гипертонический криз. При назначении антигипертензивных препаратов состояние ухудшилось, ввиду этого пациентка самостоятельно отменила их прием. В последнее время также отметила появление небольшой

замедленности. При осмотре: АД лежа – 190/110 мм рт.ст., ЧСС 72 уд/мин, стоя через 3 минуты – 70/40 мм рт.ст., ЧСС 76 уд/мин. В неврологическом статусе: легкая дисметрия при выполнении координаторных проб, легкий акинетико-ригидный синдром с акцентом слева. При проведении дообследования: остаточной мочи не выявлено. При МРТ головного мозга – признаки микроангиопатии. При молекулярно-генетическом исследовании выявлена гетерозиготная дупликация гена SNCA. Таким образом, установлен диагноз “Первичная вегетативная недостаточность, обусловленная дупликацией в гене SNCA”. Были в разное время назначены флудрокортизон 100 мкг 2 р/сут., пиридостигмин 60 мг 2 р/сут. - без видимого положительного эффекта.

3.2. Инструментальный анализ вегетативных симптомов.

В работе проводились количественная оценка и ряд инструментальных исследований вегетативной дисфункции — основного, облигатного проявления МСА. Применялись: ортостатическая проба, оценка по шкале Юинга, КСВП и УЗИ остаточной мочи.

Ортостатическая проба

Снижение систолического и диастолического АД (через 3 минуты) при МСА и БП представлено в таблице 23.

Таблица 23. Оценка ортостатической гипотензии у пациентов с МСА и БП.

Диагноз	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
Снижение САД, мм рт.ст.	30 [30; 40]	12,5 [10; 20]	<0,001
- >20 мм рт. ст., случаи (%)	43 (95,6%)	9 (30%)	<0,001
- >30 мм рт. ст., случаи (%)	36 (80%)	1 (3,3%)	<0,001
Снижение ДАД, мм рт.ст.	15 [10; 20]	0 [0; 5]	<0,001
- >10 мм рт.ст., случаи (%)	40 (88,9%)	5 (16,7%)	<0,001
- >15 мм рт. ст., случаи (%)	26 (57,8%)	1 (3,3%)	<0,001

При рассмотрении выраженности снижения систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) установлено, что у пациентов с МСА наблюдается значительное снижение САД и ДАД по сравнению с пациентами с БП ($p < 0,001$). Кроме того, процент случаев, когда САД и ДАД значительно снизились (по новым диагностическим критериям и классическому определению ортостатической гипотензии — >20 мм рт. ст. и >10 мм рт. ст.), также значительно выше пациентов с МСА по сравнению с пациентами с БП.

При сравнении МСА-М и МСА-П не выявлено статистически значимых различий в снижении САД и ДАД между этими двумя подтипами МСА (таблица 24). Процент случаев, когда САД и ДАД снизились более чем на 20 мм рт. ст. и 10 мм рт. ст., соответственно, также сходен у обоих типов МСА. По данным показателям статистически достоверных различий получено не было.

Таблица 24. Оценка ортостатической гипотензии у пациентов с двумя типами МСА.

Диагноз	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
Снижение САД, мм рт.ст.	32,5 [27,5; 40]	30 [30; 40]	0,814
- >20 мм рт. ст., случаи (%)	19 (95%)	24 (96%)	0,872
- >30 мм рт. ст., случаи (%)	15 (75%)	21 (84%)	0,453
Снижение ДАД, мм рт.ст.	17,5 [10; 27,5]	15 [10; 20]	0,582
- >10 мм рт.ст., случаи (%)	18 (90%)	22 (88%)	0,832
- >15 мм рт. ст., случаи (%)	12 (60%)	14 (56%)	0,787

Батарея тестов Юинга

Таблица 25. Оценка по шкале Юинга в группах пациентов с МСА, БП и в контрольной группе.

Диагноз	МСА (n=45) (1)	БП (n=30) (2)	Контроль (n=10) (3)	$p_{1,2,3}$ ($p_{1,2}$; $p_{1,3}$; $p_{2,3}$)
Симпатическая система, баллы	2 [2; 3]	1 [1; 2]	2 [2; 2]	0,001 ($<0,001$; 0,179; 0,230)
Парасимпатическая система, баллы	3 [3; 4]	2 [1; 2]	0 [0; 1]	$<0,001$ (0,043 ; $<0,001$; $<0,001$)

У всех пациентов с МСА, с БП и в контрольной группе проведена оценка по шкале Юинга, полученные результаты представлены в таблице 25.

В общей группе МСА оценка суммы баллов по симпатической дисфункции показала отличия только между группой МСА и БП — с большей симпатической дисфункцией при МСА. Балл по шкале Юинга в оценке дисфункции парасимпатической системы был существенно выше по сравнению с группой БП и с контрольной группой.

При оценке двух типов МСА между собой подгруппы не отличались (таблица 26).

Таблица 26. Оценка по шкале Юинга у пациентов с двумя типами МСА.

Диагноз	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
Симпатическая система, баллы	2 [2; 3]	2 [2; 3]	0,713
Парасимпатическая система, баллы	3 [3; 4]	4 [2; 4]	0,882

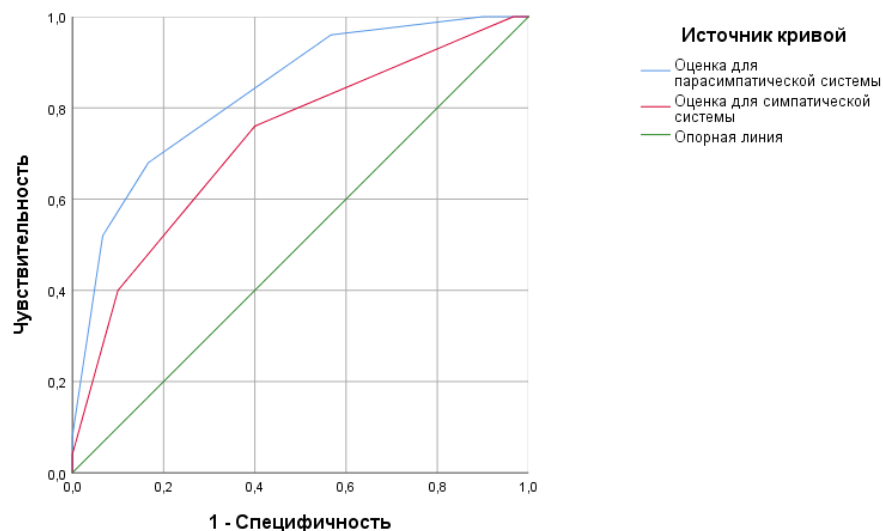


Рис 10. ROC-кривые для оценки по батарее тестов Юинга при сравнении МСА паркинсонического типа и БП.

Учитывая необходимость в инструментальной диагностике фенотипически схожих МСА-П и БП, также проведено сравнение двух этих групп, которое показало достоверные различия между обеими группами

(таблицы 25 и 26) и по баллам, оценивающим симпатическую дисфункцию ($p=0,002$), и по баллам парасимпатической дисфункции ($p<0,001$) — большие значения зарегистрированы в группе МСА-П. Исследована диагностическая ценность оценки по данной шкале с проведением ROC-анализа двух этих групп (рисунок 10).

Для парасимпатической системы оптимальным статистически значимым разграничительным значением между МСА-П и БП оказалось значение 3 балла с $AUC=0,835$, чувствительностью и специфичностью, 82% и 63,3%, соответственно. Для симпатической системы данный показатель составил 2 балла, с $AUC=0,728$, чувствительностью 58% и специфичностью 75%. Исходя из сравнения двух полученных значений AUC , большей диагностической значимостью обладает оценка парасимпатической системы.

Кожные симпатические вызванные потенциалы

Данные КСВП (рисунок 11) сравнивались между группами МСА, БП и группой здоровых добровольцев (таблица 27).

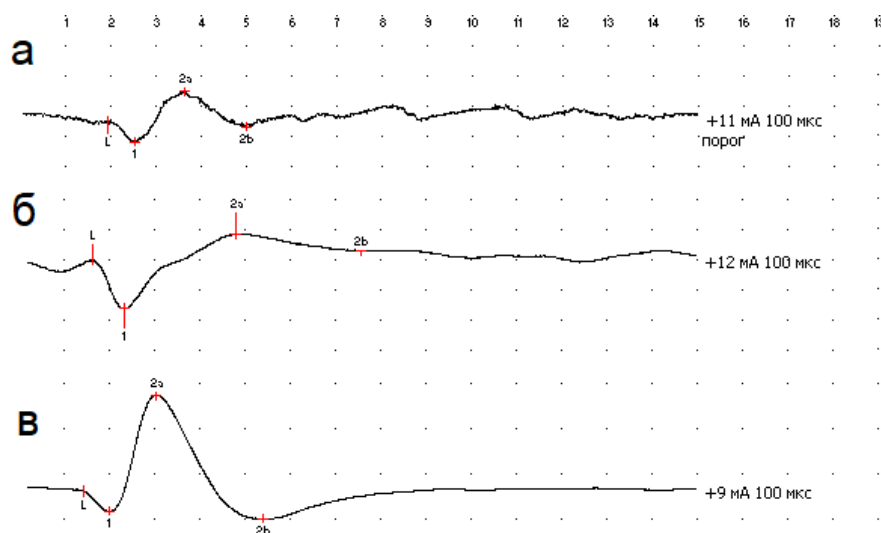


Рисунок 11. Кожные симпатические вызванные потенциалы: а — пациент с МСА, б — пациент с БП, в — здоровый доброволец.

Таблица 27. Параметры КСВП в исследованных группах.

Диагноз	МСА (n=45) (1)	БП (n=30) (2)	Контроль (n=10) (3)	p _{1,2,3} (p _{1,2} ; p _{1,3} ; p _{2,3})
Порог возбуждения, мВ	7 [5; 8]	5,5 [5; 6]	5 [4; 5]	0,001 (0,028; <0,001; 0,04)
Латентность ответа, мс	1,66±0,33	1,43±0,30	1,21±0,17	<0,001 (0,002; <0,001; 0,053)
Амплитуда ответа А1, мВ	0,12 [0,05; 0,46]	0,25 [0,14; 0,59]	0,32 [0,3; 0,49]	0,137
Амплитуда ответа А2, мВ	0,51 [0,16; 1,4]	1,18 [0,54; 1,62]	3,1 [0,54; 5,81]	0,009 (0,029; 0,007; 0,247)
А1/А2	0,48 [0,13; 0,76]	0,32 [0,13; 0,65]	0,32 [0,05; 0,68]	0,450

При сравнении всех трех групп показано, что группа МСА отличается от контрольной группы и от группы БП большим порогом возбуждения, большей латентностью ответа и меньшей амплитудой А2 ответа.

Также исследовались параметры КСВП в зависимости от типа МСА, данные представлены в таблице 28.

Таблица 28. Параметры КСВП у пациентов с двумя типами МСА.

Диагноз	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
Порог возбуждения, мВ	7,5 [6; 8]	6 [5; 7,5]	0,314
Латентность ответа, мс	1,6±0,3	1,71±0,35	0,249
Амплитуда ответа А1, мВ	0,11 [0,04; 0,35]	0,11 [0,045; 0,38]	0,775
Амплитуда ответа А2, мВ	0,63 [0,1; 2,56]	0,47 [0,13; 0,97]	0,465
А1/А2	0,39 [0,13; 0,67]	0,5 [0,13; 0,97]	0,293

Показатели КСВП в группах с различными типами МСА статистически достоверно не отличались.

Было проведено сравнение параметров КСВП у пациентов с БП и МСА-П (таблицы 27 и 28). Показано статистически значимое различие по двум параметрам: в группе МСА-П была больше латентность ($p=0,001$) и ниже амплитуда А2 ($p=0,007$). Для этих параметров проведен ROC-анализ. При дифференцировании МСА-П и БП пороговое значение для латентности ответа составило 1,57 мс (AUC=0,756, чувствительность — 72%, специфичность — 70%, рисунок 12).

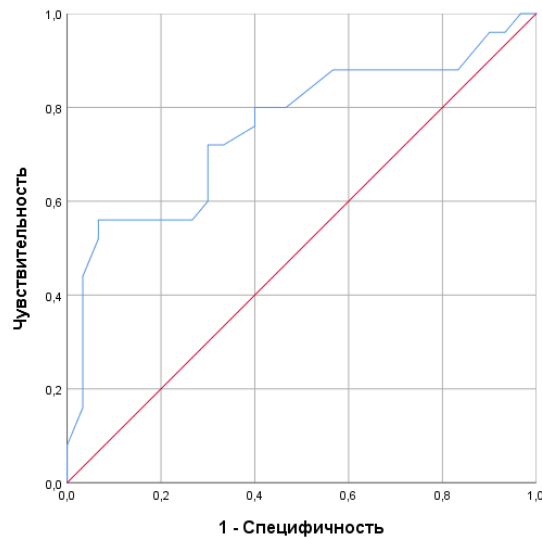


Рис. 12. ROC-кривая для латентности ответа на КСВП при сравнении МСА паркинсонического типа и БП.

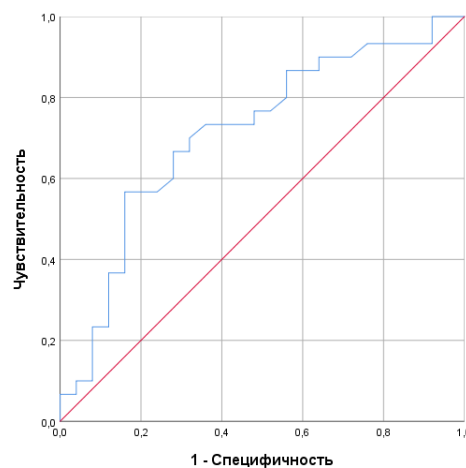


Рис. 13. ROC-кривая для амплитуды ответа А2 на КСВП при сравнении МСА паркинсонического типа и БП.

Для амплитуды ответа А2 пороговое значение дифференцирования сравниваемых патологий составило 0,79 мВ (AUC=0,712, чувствительность — 70%, специфичность — 68%, рисунок 13).

Объем остаточной мочи

В группах МСА и БП оценивался ООМ по данным УЗИ (таблица 29).

Таблица 29. Объем остаточной мочи в группах пациентов с МСА и БП.

Диагноз	МСА (n=45)	БП (n=30)	p
ООМ, мл	60 [20; 150]	0 [0; 10]	<0,001
>100 мл, случаи (%)	18 (40%)	0 (0%)	<0,001

Статистически значимо больший объем наблюдался в группе МСА, то же самое касается частоты случаев с ООМ более 100 мл. У пациентов с различными типами МСА ООМ был сопоставим (таблица 30).

Таблица 30. Объем остаточной мочи у пациентов с различными типами МСА.

Диагноз	МСА-М (n=20)	МСА-П (n=25)	p
ООМ, мл	85,5 [45; 150]	51 [15; 141]	0,309
>100 мл, случаи (%)	9 (45%)	9 (36%)	0,559

Корреляционный анализ параметров вегетативной дисфункции

Корреляционный анализ нескольких параметров вегетативной дисфункции в основной группе МСА показал только две статистически значимые взаимосвязи: падение САД и ДАД при ортостатической пробе, а также амплитуды А1 и А2 при КСВП (рисунок 14).

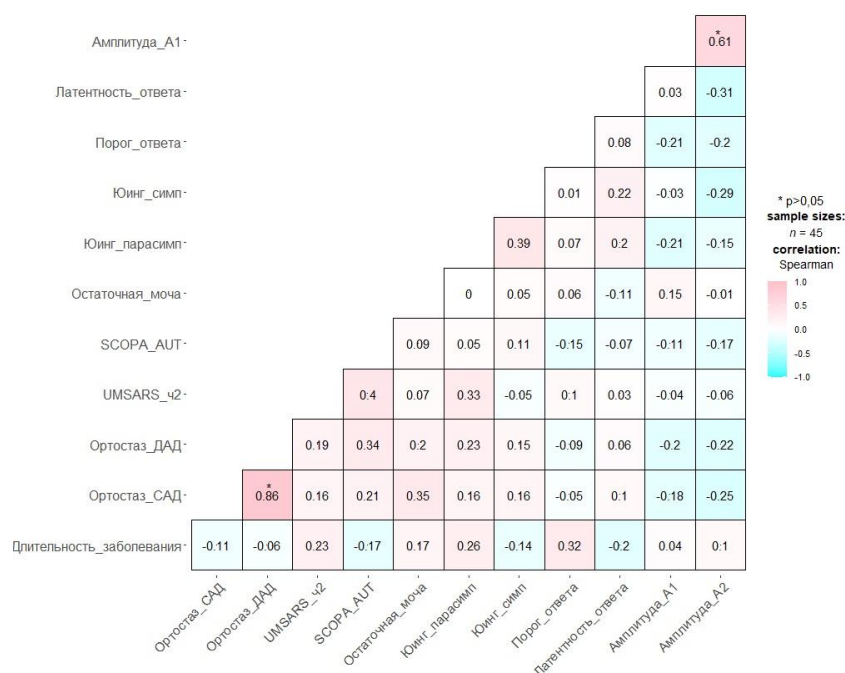


Рисунок 14. Анализ корреляционных связей оцененных параметров вегетативной дисфункции (корреляции по Спирмену, цвет меняется от синего (-1) к красному (+1) в зависимости от тесноты связи, звездочкой отмечены статистически значимые различия).

3.3. Анализ генов *SNCA* и *COQ2* и ассоциированных с ними молекулярных биомаркеров.

3.3.1. Ген альфа-синуклеина (*SNCA*).

При секвенировании кодирующей и близко прилегающей интронной областей гена *SNCA* в группах МСА, БП и в контрольной группе выявлены нуклеотидные замены в ряде полиморфных сайтов: rs3806789, rs10005233, rs770986610, rs1334654754 и rs76642636 (таблицы 31 и 32, рисунок 15). Пример гомозиготной замены С>Т в сайте rs10005233 представлен на рисунке 16. Для данного сайта определена более высокая частота встречаемости нуклеотидной замены С>Т среди пациентов с синуклеинопатиями по сравнению с контрольной группой: у пациентов с синуклеинопатиями носительство аллеля Т встречалось достоверно чаще, чем в группе контроля ($p=0,032$; ОШ=2,944; 95%ДИ: 1,071 – 8,096). При этом по открытым базам данных GnomAD и ALFA

носительство аллеля Т в общей популяции встречалось с частотой, сопоставимой с группами синуклеинопатий. Следует отметить, что частота носительства Т-аллеля широко варьирует в зависимости от популяции: согласно базе данных ALFA, в азиатской популяции частота носительства составляет 7%.

Таблица 31. Встречаемость аллельных вариантов гена SNCA в подгруппах.

SNP	МСА (1) (N=90)	БП (2) (N=60)	Контроль (3) (N=40)	p	MAF (GnomAD)	MAF (ALFA)
rs76642636 (G>A) A:	1 (1,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0,570	0,2%	0,3%
rs10005233 (C>T) T:	45 (50%)	35 (58,3%)	10 (25%)	0,01	58,9%	52,5%
rs1334654754 (T>C) C:	0 (0%)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,335	0,0007%	0,007%
rs3806789 (C>T) T:	40 (44,4%)	27 (45%)	21 (52,5%)	0,864	56,4%	53,5%
rs770986610 (A>G) G:	1 (1,1%)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,570	-	-

Для двух нуклеотидных вариантов в сайтах rs3806789 и rs10005233 проведен анализ частот генотипов (таблица 32). Группы МСА, БП и контроля отличались по встречаемости носительства мутантного Т-аллеля сайта rs10005233. Для других выявленных вариантов подобный анализ не проводился из-за крайне низкой частоты встречаемости альтернативных аллелей (n = 1–2).

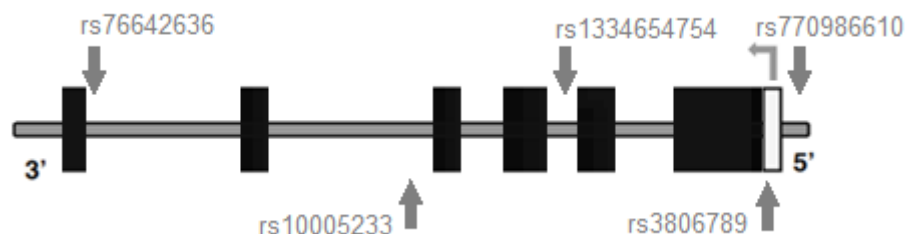


Рисунок 15. Ген SNCA и расположение выявленных нуклеотидных вариантов.

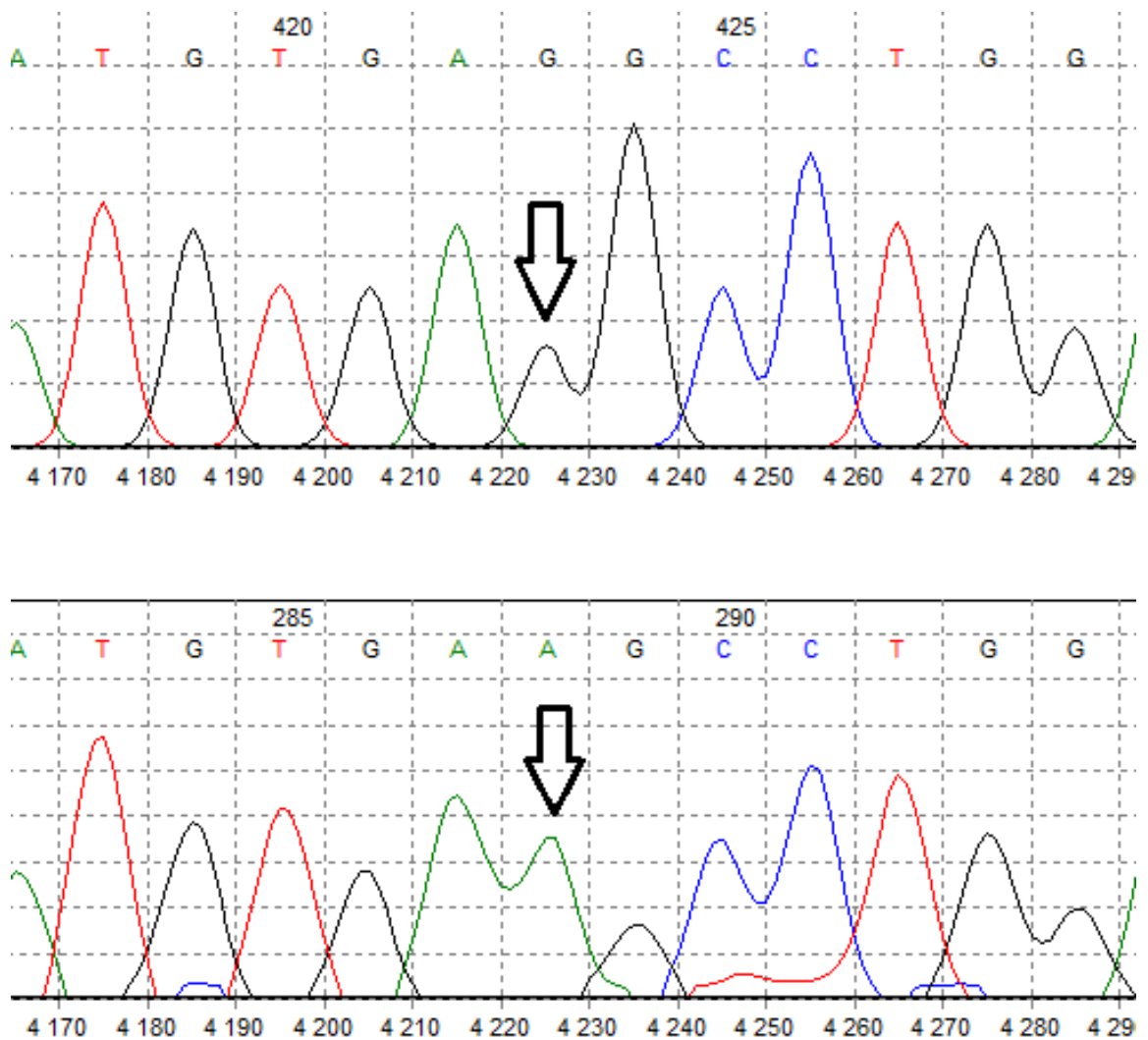


Рисунок 16. Хроматограмма с гомозиготной заменой C>T (rs10005233). Секвенирование по Сэнгеру с обратного праймера. Верхнее изображение - референсная последовательность.

Таблица 32. Частота генотипов с выявленными нуклеотидными вариантами в гене SNCA.

SNP		МСА	БП	Контроль	p
rs3806789 (C>T) T:	C/C	11	8	1	0,826
	C/T	28	17	11	
	T/T	6	5	5	
rs10005233 (C>T) T:	C/C	13	9	11	0,017
	C/T	19	7	8	
	T/T	13	14	1	

Подобный анализ для rs3806789 и rs10005233 был проведен в подгруппах МСА-М и МСА-П (таблицы 33 и 34). Статистически значимых различий между подгруппами ни по носительству аллельных вариантов, ни по частоте генотипов выявлено не было.

Таблица 33. Встречаемость аллельных вариантов гена SNCA в подгруппах пациентов с МСА.

SNP	МСА-М (N=40)	МСА-П (N=50)	p	MAF (GnomAD)	MAF (ALFA)
rs3806789 (C>T) T:	20 (50%)	20 (40%)	0,535	56,4%	53,5%
rs10005233 (C>T) T:	23 (57,5%)	22 (44%)	0,607	58,9%	52,5%

Таблица 34. Частота генотипов с выявленными нуклеотидными вариантами в гене SNCA в подгруппах пациентов с МСА.

SNP		МСА-М	МСА-П	p
rs3806789 (C>T) T:	C/C	4	7	0,468
	C/T	12	16	
	T/T	4	2	
rs10005233 (C>T) T:	C/C	5	8	0,338
	C/T	7	12	
	T/T	8	5	

3.3.2. Уровень белка альфа-синуклеина в периферической крови при синуклеинопатиях и его связь с нуклеотидными вариантами гена SNCA.

При сравнении уровней альфа-синуклеина в периферической крови в группах МСА (12517±708,9 пг/мл), БП (12486±984,9 пг/мл) и контрольной группе (12480±739,4 пг/мл) статистически значимых различий получено не было (p=0,845). При сравнении типов МСА не было получено статистически значимых различий (p=0,44).

При анализе уровня альфа-синуклеина в крови в зависимости от нуклеотидных вариантов rs3806789 и rs10005233 в гене SNCA не было выявлено статистически значимых различий (p=0,248 и p=0,553) в объединенной группе синуклеинопатий (МСА и БП).

3.3.3. Ген полипренилтрансферазы – коэнзима Q2 (COQ2).

Секвенирование кодирующей и близко прилегающей к ней областей гена COQ2 выявило 10 нуклеотидных вариантов в полиморфных сайтах. Встречаемость аллельных вариантов в группах представлена в таблице 35. Их расположение схематически отображено на рисунке 17.

Таблица 35. Встречаемость аллельных вариантов гена COQ2 в исследованных группах

SNP	MCA (1) (N=90)	БП (2) (N=60)	Контроль (3) (N=40)	p	MAF (GnomAD)	MAF (ALFA)
rs11448409 (T>TT) T:	58 (64,4%)	47 (78,3%)	12 (30%)	0,19 7	-	66,2%
rs6535454 (A>G) A:	30 (33,3%)	10 (16,7%)	10 (25%)	0,25 7	25,1%	28,8%
rs6841889 (C>T) T:	58 (64,4)	43 (76,7%)	28 (70%)	0,38 3	72,2%	-
rs369421547 (C>T) T:	0 (0%)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,33 5	-	0,013%
rs377272057 (T>C) C:	0 (0%)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,33 5	0,038%	0,057%
rs1347080578 (G>C) C:	0 (0%)	1 (1,7%)	0 (0%)	0,33 5	0,0007%	0%
rs1261015110 (A>G) G:	2 (2,2%)	0 (0%)	0 (0%)	0,32 1	-	0,007%
rs116687075 (T>A) A:	1 (1,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0,57 0	1,6%	2,1%
rs6818847 (C>A) C:	16 (17,8%)	5 (8,3%)	5 (12,5%)	0,49 7	37,5%	33,6%
rs112033303 (T>A) A:	2 (2,2%)	3 (5%)	0 (0%)	0,30 7	-	1,3%

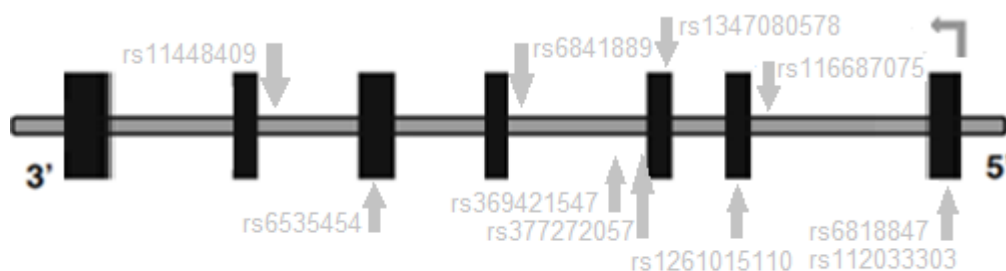


Рисунок 17. Ген *SOQ2* и расположение выявленных нуклеотидных вариантов.

При сравнении трех групп — МСА, БП и контрольной группы — статистически значимых различий по всем 10 нуклеотидным вариантам выявлено не было. Также не выявлено различий при анализе частот генотипов для однонуклеотидных полиморфизмов, которые встречались более одного раза (таблица 36).

Таблица 36. Частота генотипов с выявленными нуклеотидными вариантами в гене *SOQ2* в исследованных группах.

SNP	Генотип	МСА	БП	Контроль	p
rs6818847 (C>A) C:	C/C	4	1	0	0,105
	C/A	8	3	5	
	A/A	33	26	15	
rs377272057 (T>C) C:	T/T	45	29	20	0,335
	T/C	0	1	0	
rs369421547 (C>T) T:	C/C	45	29	20	0,335
	C/T	0	1	0	
rs6841889 (C>T) T:	C/C	8	4	1	0,483
	C/T	16	9	10	
	T/T	21	17	9	
rs6535454 (A>G) A:	A/A	6	1	1	0,261
	A/G	18	8	8	
	G/G	21	21	11	
rs11448409 (T>TT) T:	T/T	11	4	7	0,370
	T/TT	10	5	4	
	TT/TT	24	21	9	

Исследование встречаемости аллельных вариантов при МСА (всего выявлено 7) и распределение по генотипам при двух типах МСА — МСА-М и МСА-П не показало статистически значимых различий между подгруппами

(таблицы 37 и 38).

*Таблица 37. Встречаемость аллельных вариантов гена *COQ2* в подгруппах пациентов с двумя типами МСА.*

SNP	МСА-М (N=40)	МСА-П (N=50)	p	MAF (GnomAD)	MAF (ALFA)
rs6818847 (C>A) C:	6 (15%)	9 (18%)	0,696	37,5%	33,6%
rs6841889 (C>T) T:	26 (65%)	32 (64%)	0,663	72,2%	-
rs6535454 (A>G) A:	13 (32,5%)	17 (34%)	0,663	25,1%	28,8%
rs11448409 (dupT) (T)8	21 (52,5%)	37 (74%)	0,176	-	66,2%
rs112033303 (T>A) A:	1 (2,5%)	1 (2%)	0,196	-	1,3%
rs116687075 (T>A) A:	1 (2,5%)	0 (0%)	0,258	1,6%	2,1%
rs1261015110 (A>G) G:	1 (2,5%)	1 (2%)	0,872	-	0,007%

*Таблица 38. Частота генотипов с выявленными нуклеотидными вариантами в гене *COQ2* в подгруппах пациентов с двумя типами МСА.*

SNP	Генотип	МСА-М	МСА-П	p
rs6818847 (C>A) C:	C/C	15	18	0,701
	C/A	4	4	
	A/A	1	3	
rs6841889 (C>T) T:	C/C	3	5	0,828
	C/T	8	8	
	T/T	9	12	
rs6535454 (A>G) A:	A/A	4	2	0,663
	A/G	9	9	
	G/G	7	14	
rs11448409 (T>TT) T:	T/T	7	4	0,227
	T/TT	5	5	
	TT/TT	8	16	

*3.3.4. Уровень коэнзима Q10 в периферической крови при синуклеинопатиях и его связь с нуклеотидными вариантами гена *COQ2*.*

При оценке уровней коэнзима Q10 и скорректированного на общий холестерин коэнзима Q10 в плазме крови в различных подгруппах пациентов (МСА — 154,3±11,9 нг/мл и 26,1±1,9; БП – 155,4±17,6 нг/мл и 27,6±3,5; группа контроля — 177,9±11,9 нг/мл и 30,5±4,5, соответственно) значимых различий показано не было (p=0,731 и 0,705, соответственно). Аналогично, не получено различий и при сравнении типов МСА (p=0,599 и 0,805, соответственно). Несмотря на это, следует отметить тенденцию к пониженному уровню

коэнзима Q10, скорректированного на общий холестерин, у пациентов с МСА по сравнению с контрольной группой.

При анализе уровня коэнзима Q10 в крови в зависимости от аллеля для вышеуказанных нуклеотидных вариантов гена *COQ2* каких-либо значимых различий обнаружено не было (для rs6818847 $p=0,4$; для rs6841889 $p=0,458$; для rs6535454 $p=0,876$; для rs11448409 $p=0,631$) в объединенной группе синуклеинопатий (МСА и БП).

3.4 Экспрессия *SNCA* и альтернативные транскрипты.

3.4.1. Экспрессия транскриптов *SNCA* в группах синуклеинопатий и в контрольной группе.

В работе проводился анализ экспрессии гена *SNCA* (рисунок 18).

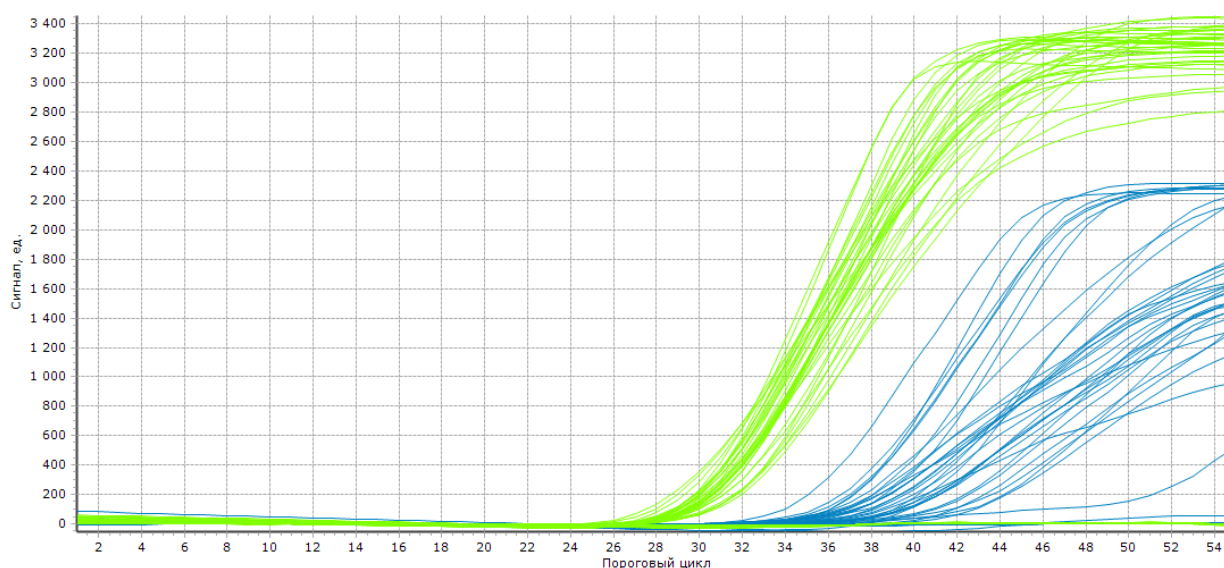


Рисунок 18. Кинетические кривые амплификации. Зеленый цвет – ROX-метка для нормировочного гена *ACTB*. Синий цвет — R6G-метка для транскриптов *SNCA*.

На первом этапе был проведен анализ суммарной экспрессии (*SNCA98* + *SNCA112* + *SNCA126* + *SNCA140*), при котором мы ориентировались на стабильно экспрессируемый экзон 4 гена *SNCA*. Были выявлены статистически значимые различия при сравнении группы МСА и здоровых добровольцев (17,9 [6,44; 36,06] и 0,83 [0,54; 1,9], $p<0,001$), а также группы БП и здоровых

добровольцев (17,84 [2,59; 30,03] и 0,83 [0,54; 1,9], $p=0,003$). При сравнении пациентов с БП и МСА различий получено не было (рисунок 19).

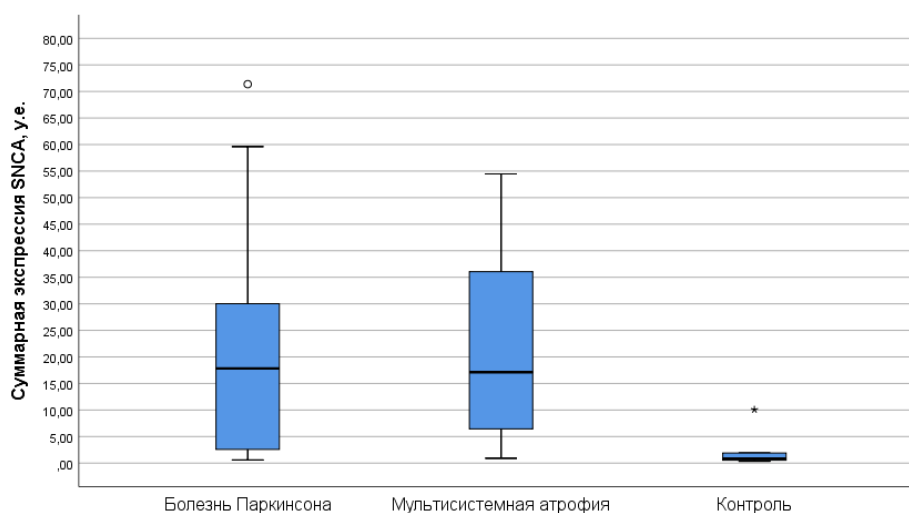


Рисунок 19. Суммарная экспрессия SNCA в группах МСА, БП и в контроле.

На втором этапе отдельно рассмотрена экспрессия альтернативных транскриптов с наличием экзона 5 (SNCA126 + SNCA140): статистически достоверных различий между группами: МСА (2,59 [1,12; 4,06]), БП (1,87 [0,86; 3,89]), а также группой контроля 1,01 [0,6; 2,93] ($p=0,325$) не было выявлено.

Для вариантов без экзона 5 (SNCA98 + SNCA112) были установлены статистически значимые различия при сравнении всех трех групп ($p=0,001$, рисунок 20). При апостериорном анализе при сравнении группы МСА (21,78 [6,63; 41,5]) и контрольной группы (1,59 [0,5; 2,48]) установлены достоверные отличия ($p<0,001$). Схожие данные ($p=0,003$) получены и при сравнении групп БП (25,46 [3,33; 34,82]) и контроля (1,59 [0,5; 2,48]). Не было установлено различий в экспрессии у пациентов с двумя синуклеинопатиями ($p=0,99$).

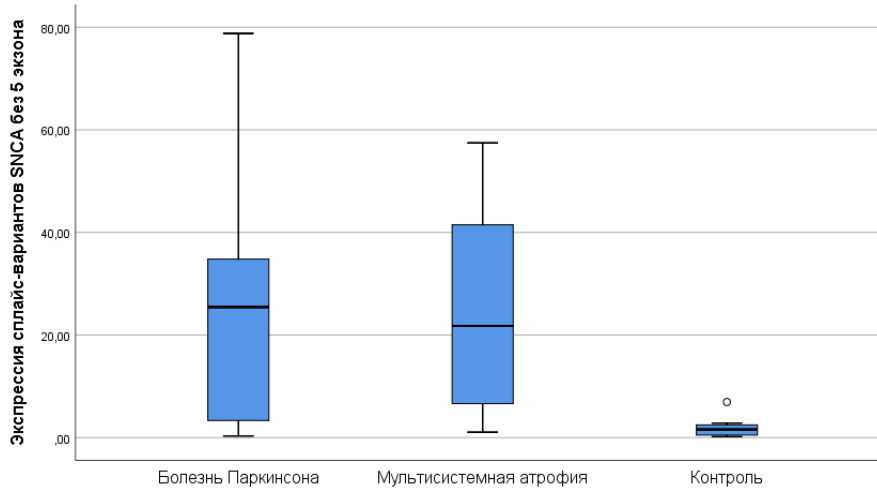


Рисунок 20. Экспрессия сплайсинг-вариантов SNCA без экзона 5 в группах МСА, БП и в контрольной группе.

3.4.2. Экспрессия транскриптов SNCA при различных типах мультисистемной атрофии.

При сравнении суммарной экспрессии в подгруппах пациентов с различными типами МСА установлено статистически значимое различие ($p=0,033$, рисунок 21). Общая экспрессия SNCA была выше у пациентов с мозжечковым типом МСА (34,95 [13,43; 39,97]), нежели при у пациентов с паркинсоническим типом (7,86 [3,1; 29,59]).

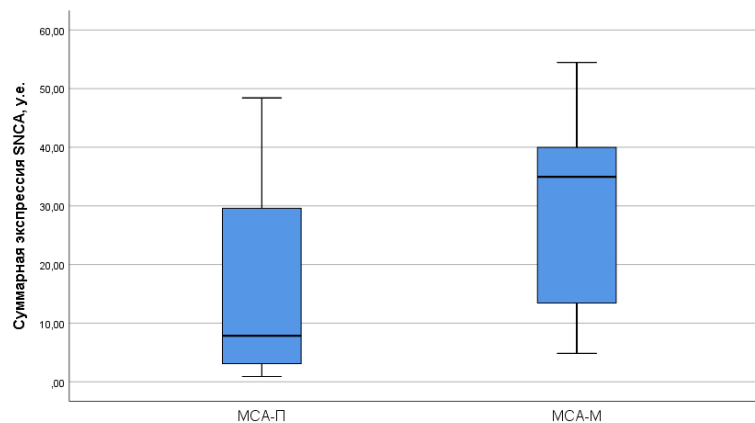


Рисунок 21. Суммарная экспрессия SNCA при с различных типах МСА.

Данное различие достигалось также за счет разного уровня экспрессии вариантов без экзона 5 ($p=0,011$): у пациентов с мозжечковым типом он составлял 40,36 [19,77; 45,57], с паркинсоническим – 10,72 [3,24; 28,34] (рисунок 22). Уровень транскриптов с экзоном 5 в подгруппах не различался: МСА-М - 3,2 [1,1; 5,23], МСА-П - 2,34 [1,12; 3,76], $p=0,509$.

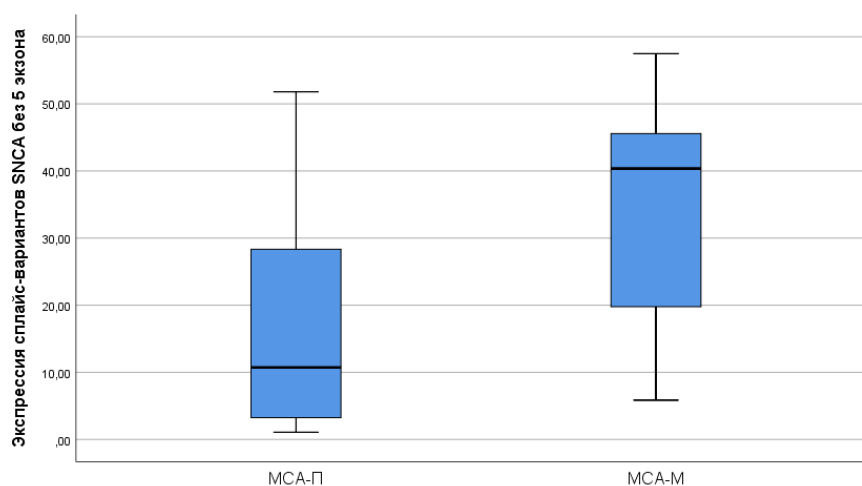


Рисунок 22. Экспрессия сплайсинг-вариантов SNCA без экзона 5 у пациентов с двумя типами МСА.

3.4.3. Взаимосвязь нуклеотидных вариантов гена SNCA, уровня транскриптов и уровня белка альфа-синуклеина крови.

При сравнении уровня транскриптов в зависимости от носительства конкретных аллелей однонуклеотидных вариантов rs3806789 и rs10005233 статистически значимых различий выявлено не было: для суммарной экспрессии — $p=0,12$ и $0,419$; для экспрессии сплайсинг-формы с экзоном 5 — $p=0,730$ и $0,753$; для экспрессии без экзона 5 — $p=0,232$ и $0,307$.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

МСА является наиболее тяжелым заболеванием из группы синуклеинопатий. Даже при том, что существуют неоднократно пересмотренные критерии диагностики МСА, диагностика данного состояния — сложная и нетривиальная задача для специалистов ввиду гетерогенности клинической картины, а также отсутствия однозначно трактуемых лабораторных и нейровизуализационных изменений [46, 115, 170]. Диагноз МСА остается в большей мере клиническим, и параклинические диагностические методы играют на сегодняшний день вспомогательную роль. Несмотря на это, в настоящее время идет изучение как клинических, так и лабораторных и инструментальных биомаркеров, ассоциированных с МСА [115, 174, 177].

Трудности диагностики обусловлены не только выраженным фенотипическим, но и патогенетическим сходством с первичной вегетативной недостаточностью и БП, что, во-первых, затрудняет использование инструментальных и лабораторных диагностических методик, а во вторых, представляет большую исследовательскую ценность для изучения основного белка, ассоциированного с этими заболеваниями — альфа-синуклеина [115, 151, 152]. Даже при установлении диагноза МСА отмечается сложность классификации данного заболевания по типам: некоторые исследователи выделяют промежуточные и смешанные типы заболевания [150].

В работе на нашей выборке показаны фенотипические особенности российских пациентов с МСА, а также ключевые их отличия от пациентов с другой распространенной синуклеинопатией — БП. По сравнению с БП, пациенты с МСА имеют большую тяжесть и более многообразный состав всей совокупности клинических симптомов.

Длительность заболевания у пациентов с МСА была меньше, чем у пациентов с БП при сопоставимом возрасте начала заболевания, что косвенно указывает на более быстрые темпы прогрессирования заболевания.

Акинетико-ригидный синдром имелся у большинства пациентов с МСА (75,6%) и у всех пациентов с БП, а одним из наиболее характерных симптомов МСА является мозжечковая атаксия, которая была выявлена у всех пациентов (в том числе при МСА-П). В предыдущих работах было показано, что атрофические изменения мозжечка выявляются и сопоставимы и при паркинсоническом, и при мозжечковом типах МСА, а также имеют связь с развитием моторной и немоторной симптоматики [74, 111, 140].

Также у пациентов с МСА чаще наблюдались пирамидный синдром и дисфагия. Пирамидный синдром (оживление сухожильных рефлексов, наличие патологических рефлексов в отсутствие парезов) был описан у значительного количества пациентов с МСА, но нечасто выявлялся у пациентов с БП.

Жалобы ортостатического характера (слабость при вставании, головокружение и/или боли в верхней половине тела) более характерны для пациентов с МСА, однако зарегистрированы не у всех пациентов. Эти жалобы также могут присутствовать у некоторых пациентов с БП (40%) [32, 123].

Высокоспецифичными симптомами МСА являются инспираторный стридор и полиминимиоклонус. Следует отметить, что вовлечение ларингеальной мускулатуры в настоящее время считается одним из наиболее ярких проявлений МСА и активно изучается с применением таких методов, как видеоларингоскопия. По литературным данным, частота встречаемости стридора при МСА варьирует от 12 до 42% в зависимости от типа МСА и длительности болезни, а в некоторых случаях стридор является первым симптомом заболевания [33]. Полиминимиоклонус встречался только у пациентов с МСА, причем более чем у половины из них (57,8%).

Несмотря на то, что чувствительность их невелика, наличие этих двух симптомов позволяет с высокой специфичностью отличить БП от МСА.

Полученные данные по фенотипическим особенностям заболевания совпадают с мировыми данными [33, 56, 70, 99].

При МСА и БП распространенными являются нарушения поведения в фазе сна с БДГ и тазовые нарушения [92, 159, 176]. Нарушения сна в фазе с БДГ являются высокоспецифичными для синуклеинопатий и также могут проявляться на премоторном этапе заболевания. Распространенность этого симптома при опросе пациента и его родственников составляет около 70%, а при проведении полисомнографии – 88% [70, 159].

У пациентов с БП чаще наблюдались симптомы по типу нейрогенного мочевого пузыря. У пациентов с МСА почти всегда присутствуют нарушения мочеиспускания (93,3%) и запоры (91,1%). Следует выделить задержку мочеиспускания, которая встречается только у пациентов с МСА (57,8%). Симптомы, связанные с гиперактивным мочевым пузырем, такие как учащенные мочеиспускания и недержание мочи, также встречаются значительно чаще у пациентов с МСА (93,3% и 71,1%) по сравнению с пациентами с БП (70 и 10%, соответственно). Данные симптомы подтверждают более выраженное вовлечение при МСА таких центральных структур, как ядра Онуфа, мостовые центры мочеиспускания [42, 138].

У пациентов с МСА-П чаще (по сравнению с БП) наблюдались поздние нарушения, тремор покоя и дисфагия, а также у пациентов с МСА наблюдался значительно менее выраженный эффект от приема леводопы [92, 176].

Пациенты с МСА имеют статистически значимо более высокие оценки по всем шкалам моторных симптомов (UMSARS, часть 2, UPDRS, часть 3, шкала SARA) чем пациенты с БП, что указывает на более выраженную тяжесть болезни у пациентов с МСА.

Пациенты с МСА-П имеют статистически значимо более высокие оценки по моторным шкалам, чем МСА-М (за исключением шкалы SARA). Эти данные также согласуются с результатами исследований в азиатской популяции [94].

Интересно, что по данным исследований в американской популяции значимых различий в тяжести состояний обнаружено не было [92].

Согласно данным литературы, при МСА отсутствует вовлечение в патологический процесс когнитивных функций; согласно полученным нами результатам, при сравнении МСА и БП различия в когнитивных тестах были лишь на уровне тенденции; результаты когнитивного тестирования не различались и при сравнении МСА по типам.

Что касается качества жизни и общего уровня функционирования, то по всем проведенным шкалам пациенты с МСА имеют более высокую оценку, что указывает на более выраженные проявления заболевания, а также подтверждает более негативное влияние болезни на качество жизни пациентов с МСА по сравнению с пациентами с БП. Для различных типов МСА достоверное различие наблюдалось только для шкалы UPDRS, часть 2, указывая на более тяжелое течение МСА-П.

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты говорят о более тяжелом течении заболевания и значимом ухудшении качества жизни у пациентов с МСА-П, что в целом соответствует мировым данным.

При МРТ-исследовании показана тенденция к более высокой распространенности атрофии стволовых структур и мозжечка у пациентов с МСА-М. Напротив, симптом "обода скорлупы", характеризующийся гиперинтенсивностью дорсолатеральных областей скорлупы, чаще встречался у пациентов с МСА-П. Интересно отметить, что оба симптома (атрофия стволовых структур и мозжечка и симптом "обода скорлупы") чаще сочетались у пациентов с МСА-П. Также отмечаются случаи наличия оливопонтocerebellарной атрофии при МСА-П, а также поражения скорлупы при МСА-М, что говорит о «полисистемном» поражении структур ЦНС при всех типах МСА [12].

В настоящей работе подтверждены и уточнены трудности при постановке диагноза МСА, встречающиеся на практике: согласно нашим данным, только

13% пациентов были направлены с корректным предварительным диагнозом. Наиболее тяжело дифференцировать данную форму от фенотипически близких состояний: БП и группы мозжечковых атаксий; однако также встречались случаи постановки диагноза БП и пациентам с мозжечковым типом МСА, что подчеркивает чрезвычайно высокую фенотипическую гетерогенность данной патологии.

Проведенное исследование выявило ряд значимых особенностей вегетативной дисфункции. Была проведена оценка использования шкалы Юинга для дифференциальной диагностики БП и МСА на основе анализа вегетативных параметров, связанных с симпатической и парасимпатической системами. Следует отметить, что пороговые значения для симпатической и парасимпатической систем составляют 2 и 3 балла соответственно, при которых возможно заподозрить наличие МСА. Хотя эти показатели обладают средней чувствительностью и специфичностью, метод может использоваться в клинической практике, как вспомогательный и дополнительный.

При выполнении КСВП наиболее показательными параметрами для дифференциальной диагностики МСА и БП явились латентность ответа и амплитуда пика А2. Полученные сведения согласуются с данными о том, что при БП парасимпатические структуры вовлечены в меньшей мере, чем при МСА. Действительно, при МСА отложение депозитов альфа-синуклеина происходит в основном в центральных отделах парасимпатического звена вегетативной нервной системы. Используемые в работе нейрофизиологические методы являются доступными и простыми в проведении и интерпретации данных, поэтому они могут быть внедрены в клиническую практику для дифференциальной диагностики синуклеинопатий [32, 115].

В работе проводился поиск генетических маркеров, ассоциированных с развитием синуклеинопатий. При секвенировании генов *SNCA* и *COQ2* нами было обнаружено носительство различных вариантов по ряду полиморфных

сайтов, однако их патогенность остается под вопросом. Вероятно, они могут играть лишь небольшую роль в рамках кумулятивного генетического риска для развития синуклеинопатий.

Для гена *SNCA* интерес представляет однонуклеотидный полиморфизм rs10005233 (T>C), расположенный в интронной области. Согласно базе данных GnomAD, частота носительства T-аллеля в популяции составляет 58,9%. В нашей группе контроля частота носительства T-аллеля составила 25%, что значительно отличается от мировых данных и может являться особенностью популяции. Также T-аллель в данном сайте был описан как фактор риска развития нарушений поведения в фазе сна с БДГ [80]. В наших наблюдениях выявлено, что у пациентов с гетеро- или гомозиготным носительством T-аллеля повышен риск развития синуклеинопатий в целом: как БП, так и МСА. Для БП уже имеется ряд работ, которые подтверждают роль данного SNP в риске развития БП [102, 119, 156, 158]. Эти данные подтверждаются мета-анализом: ОШ развития БП у пациентов с гомозиготным носительством T-аллеля составлял 1,36 [63].

Уровень альфа-синуклеина не отличался у пациентов с синуклеинопатиями по сравнению с контролем. В мировой литературе до настоящего времени нет консенсусного мнения о биомаркерной роли данного белка при синуклеинопатиях (в основном при БП), поскольку существующие данные противоречивы [90, 190]. Также противоречивые данные по уровню альфа-синуклеина получены и для МСА [184]. Отчасти это может быть объяснено исследованием альфа-синуклеина в системном кровотоке, вне гематоэнцефалического барьера [186]. Возможно, что дальнейшие исследования уровня альфа-синуклеина с инновационными тестами амплификации патологических белков (например, с применением методики RT-QuIC) будут иметь диагностический потенциал. Следует отметить, что в уже проведенных исследованиях при оценке динамики агрегации альфа-синуклеина в крови с использованием методики RT-QuIC показана высокая точность

диагностики БП (относительно контрольной группы), однако различие в динамике агрегации между контрольной группой и пациентами с МСА не столь очевидно [130].

В данной работе с использованием оригинальной методики было обнаружено, что у пациентов с синуклеинопатиями значительно повышена общая экспрессия *SNCA*, предположительно за счет изоформ *SNCA98* и *SNCA112*. Данный факт согласуется с современными представлениями о патогенезе синуклеинопатий и роли в этом процессе избыточной экспрессии белка альфа-синуклеина, который и образует характерные патоморфологические агрегаты в виде телец Леви и глиальных цитоплазматических включений — телец Паппа–Лантоса.

Интересно, что несмотря на общий патоморфологический субстрат, нами обнаружены значимые различия в экспрессии гена *SNCA* у пациентов с различными типами МСА. МСА-М сопровождается гиперэкспрессией гена в большей степени, чем МСА-П. Различие в способности к агрегации α -синуклеина при этих двух подтипах было показано и при использовании упоминавшейся выше методики амплификации патологических белков — RT-QuIC. Однако Bargar с соавт. показали, что, наоборот, у пациентов с МСА-М кинетические параметры агрегации были сопоставимы с группой контроля, в то время как у пациентов с БП и МСА-П, напротив, склонность к агрегации альфа-синуклеина была резко увеличена [13]. Исходя из вышперечисленного, можно сделать вывод, что клиническая и фенотипическая гетерогенность между различными типами МСА обусловлена различными молекулярными механизмами, вовлеченными в патологический процесс при разных формах болезни, различиями в структуре альфа-синуклеина и его различными агрегационными свойствами.

Изменение общей экспрессии гена *SNCA* определяет дальнейший биомаркерный потенциал данного исследования для диагностики синуклеинопатий, в том числе в рамках дифференциальной диагностики с

фенотипически близкими формами. Однако требуются дальнейшие исследования, чтобы более полно понять и подтвердить эти результаты и выяснить возможную причинно-следственную связь между повышением суммарного уровня транскрипции *SNCA* и развитием синуклеиновой патологии.

При анализе гена *COQ2* значимых ассоциаций между выявленными полиморфизмами и синуклеинопатиями выявить не удалось. При исследовании общего уровня коэнзима Q10 и уровня коэнзима Q10 с коррекцией на общий холестерин у пациентов с МСА, несмотря на ранее опубликованные данные [31, 75, 84, 100], данные показатели достоверно не отличались от таковых в группах пациентов с синуклеинопатиями и здоровых добровольцев. Если биомаркерная роль коэнзима Q10 в восточноазиатской популяции является доказанной, в европейской популяции уровень коэнзима Q10 в крови не показывал достоверного снижения. Несмотря на это, при проведении патоморфологических исследований установлено снижение уровня коэнзима Q10 в тканях мозжечка именно у пациентов европейского этнического происхождения [140], что позволяет рассматривать выявленный дефицит Q10 в качестве мишени для патогенетического подхода к лечению МСА. Кроме того, гетерогенность (многонациональность) российской популяции не позволяет сделать однозначных суждений по данным нашего пилотного исследования и требует дальнейшего изучения роли биомаркера Q10.

Таким образом, в настоящей работе был уточнен фенотипический спектр МСА и ее отдельных клинических форм, показан биомаркерный потенциал инструментальных методов оценки вегетативной дисфункции при МСА, установлена ассоциация с вариантом в гене *SNCA*, а также изменение экспрессии гена *SNCA* за счет альтернативных транскриптов, изучены уровень коэнзима Q10 и нуклеотидные варианты гена *COQ2* у пациентов с МСА из российской популяции.

ВЫВОДЫ

1. Мультисистемная атрофия является тяжелым быстро прогрессирующим заболеванием, спектр фенотипических проявлений которого шире по сравнению с наиболее распространенной синуклеинопатией — болезнью Паркинсона. Из двух основных типов мультисистемной атрофии паркинсонический тип проявляется более тяжелой и разнообразной клинической симптоматикой по сравнению с мозжечковым типом. Несмотря на разработанные диагностические критерии и ряд специфических симптомов, при мультисистемной атрофии на практике наблюдается высокая частота диагностических ошибок.

2. При оценке вегетативной дисфункции как облигатного проявления мультисистемной атрофии важными дополнительными инструментами диагностики являются батарея тестов Юинга и кожные симпатические вызванные потенциалы. При сопоставлении мультисистемной атрофии паркинсонического типа и болезни Паркинсона наибольшую диагностическую значимость показали оценка парасимпатической и симпатической дисфункции в тестах Юинга и латентность/амплитуда ответа А2 в кожных симпатических вызванных потенциалах.

3. Среди полиморфных нуклеотидных вариантов гена *SNCA* замена rs10005233 C>T ассоциирована с обеими изученными синуклеинопатиями — мультисистемной атрофией и болезнью Паркинсона. Носительство данного варианта не связано с уровнем белка альфа-синуклеина в периферической крови. Полученная более низкая частота носительства T-аллеля по сравнению с данными литературы может отражать популяционную особенность обследованной российской когорты пациентов с МСА.

4. Общая экспрессия гена *SNCA* в лейкоцитах, оцененная с помощью оригинальной методики, статистически значимо выше при синуклеинопатиях по сравнению с контролем, в первую очередь, за счет транскриптов, не содержащих экзон 5. Из двух типов мультисистемной атрофии экспрессия

SNCA выше при мозжечковом типе заболевания по сравнению с паркинсоническим типом, также за счет сплайсинг-форм без экзона 5.

5. В отличие от восточноазиатской популяции, в изученной выборке, состоящей преимущественно из лиц славянской этнической принадлежности, варианты нуклеотидной последовательности экзонов гена коэнзима Q2 (*COQ2*) не ассоциированы с развитием мультисистемной атрофии, как и болезни Паркинсона. Выявленные нуклеотидные варианты не влияют на уровень коэнзима Q10 периферической крови, в синтезе которого участвует коэнзим Q2. Скорректированный на холестерин уровень коэнзима Q10 у пациентов с синуклеинопатиями в крови также не изменен.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обязательные исследования для диагностики вегетативных нарушений при мультисистемной атрофии — ортостатическая проба и исследование объема остаточной мочи — могут быть дополнены количественной оценкой вегетативной дисфункции с помощью батареи тестов Юинга и кожных симпатических вызванных потенциалов.
2. Проведение исследований на выявление вегетативной дисфункции как проявления мультисистемной атрофии наиболее актуально с целью дифференциальной диагностики в группах пациентов с диагнозами “болезнь Паркинсона” (G20) и “поздняя мозжечковая атаксия” (G11.2).

**СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ
ДИССЕРТАЦИИ**

1. Андреев М. Н., Федотова Е. Ю. Мультисистемная атрофия: методы диагностики и биомаркеры // **Анналы клинической и экспериментальной неврологии.** — 2022. — Т. 16, № 4. — С. 54–61.
2. Андреев М. Н. Кожно-симпатические вызванные потенциалы при мультисистемной атрофии. Нервные болезни, 2, 18-21, 2022 / М. Н. Андреев, П. А. Федин, Е. Ю. Федотова, С. Н. Иллариошкин // **Нервные болезни.** — 2022. — № 2. — С. 18–21.
3. Андреев М. Н. Клинический полиморфизм мультисистемной атрофии: серия клинических наблюдений / М. Н. Андреев, Е. Ю. Федотова, Р. Н. Коновалов, С. Н. Иллариошкин // **Альманах клинической медицины.** — 2022. — Т. 50, № 5. — С. 310–314.
4. Андреев М.Н. Инструментальная диагностика вегетативных нарушений при мультисистемной атрофии / Андреев М.Н., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. // Бюллетень Национального общества по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений. — 2022. — №2. — С.8-12.
5. Andreev, M.N. Skin sympathetic responses in synucleinopathies / M. Andreev, P. Fedin, E. Fedotova, S. Ilarioshkin // *European Journal of Neurology.* — 2022. — V.29. — N.S1. — P. 522.
6. Andreev, M.N. Plasma and CSF biomarkers of neurodegeneration in multiple system atrophy / M. Andreev, E. Fedotova, D. Abaimov, A. Shabalina, M. Nesterov, S. Ilarioshkin // *European Journal of Neurology.* — 2023. — V30. — N.S1. — P. 749.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ардаширова Н. С., Федотова Е. Ю., Иллариошкин С. Н. МикроРНК в патогенезе и диагностике болезни Паркинсона // Нейрохимия. 2020. № 2 (37). С. 99–105.
2. Гнездицкий В. В., Корепина О. С., Чацкая А. В. Вегетативные вызванные потенциалы: основы метода и клиническое применение. Учебно-методическое пособие. ДекАРТ Москва, 2016. 72 с.
3. Нодель М.Р. Недвигательные нарушения болезни Паркинсона // Доктор.Ру. 2009. № 4 (48). С. 12–16.
4. Нодель М.Р. Клинические особенности и лечение недвигательных нарушений болезни Паркинсона // МС. № 4. С. 30–36.
5. Одинак М. М., Шустов Е. Б., Коломенцев С. В. Методология инструментального изучения вегетативной нервной системы в норме и патологии // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2012. №2 (38). С. 145–152.
6. Пизова Н. В., Курапин Е. В., Быканова М. А. Клинико-эпидемиологические аспекты паркинсонизма в Ярославле и Ярославской области по результатам многолетней работы кабинета помощи больным с экстрапирамидной патологией Руководство для врачей по материалам IV национального конгресса по болезни Паркинсона и расстройствам движений (с международным участием) Под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина. М. 2017. С. 69-73.
7. Похабов Д. В., Абрамов В.Г., Нестерова Ю.В. Эпидемиология паркинсонизма в Красноярском крае // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2008. Т.2. №.4. С. 4-9.
8. Шиндряева Н. Н. Экстрапирамидные расстройства: клинико-эпидемиологические и медико-социальные аспекты: автореф...дис. ... д-ра. мед. наук. М.: 2014. - 48 с.

9. Al-Chalabi A. [и др.]. Genetic Variants of the α -Synuclein Gene SNCA Are Associated with Multiple System Atrophy // PLoS ONE. 2009. № 9 (4). С. e7114.
10. Anderson J. P. [и др.]. Phosphorylation of Ser-129 Is the Dominant Pathological Modification of α -Synuclein in Familial and Sporadic Lewy Body Disease // Journal of Biological Chemistry. 2006. № 40 (281). С. 29739–29752.
11. Auluck P. K., Caraveo G., Lindquist S. α -Synuclein: Membrane Interactions and Toxicity in Parkinson's Disease // Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2010. № 1 (26). С. 211–233.
12. Bajaj S. [и др.]. Diffusion-weighted MRI distinguishes Parkinson disease from the parkinsonian variant of multiple system atrophy: A systematic review and meta-analysis // PLOS ONE. 2017. № 12 (12). С. e0189897.
13. Bargar C. [и др.]. Discrimination of MSA-P and MSA-C by RT-QuIC analysis of olfactory mucosa: the first assessment of assay reproducibility between two specialized laboratories // Molecular Neurodegeneration. 2021. № 1 (16). С. 82.
14. Bernal-Conde L. D. [и др.]. Alpha-Synuclein Physiology and Pathology: A Perspective on Cellular Structures and Organelles // Frontiers in Neuroscience. 2020. (13). С. 1399.
15. Beyer K. α -Synuclein structure, posttranslational modification and alternative splicing as aggregation enhancers // Acta Neuropathologica. 2006. № 3 (112). С. 237–251.
16. Beyer K. [и др.]. Differential expression of alpha-synuclein, parkin, and synphilin-1 isoforms in Lewy body disease // neurogenetics. 2008. № 3 (9). С. 163–172.
17. Bjornsdottir A. [и др.]. Incidence and prevalence of multiple system atrophy: a nationwide study in Iceland // Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 2013. № 2 (84). С. 136–140.
18. Bloch F. [и др.]. Urodynamic analysis in multiple system atrophy: characterisation of detrusor-sphincter dyssynergia // Journal of Neurology. 2010. № 12 (257). С. 1986–1991.

19. Booms A., Coetzee G. A. Functions of Intracellular Alpha-Synuclein in Microglia: Implications for Parkinson's Disease Risk // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2021. (15). С. 759571.
20. Bower J. H. [и др.]. Incidence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy in Olmsted County, Minnesota, 1976 to 1990 // *Neurology*. 1997. № 5 (49). С. 1284–1288.
21. Brück D. [и др.]. Glia and alpha-synuclein in neurodegeneration: A complex interaction // *Neurobiology of Disease*. 2016. (85). С. 262–274.
22. Buchert R. [и др.]. Nuclear Imaging in the Diagnosis of Clinically Uncertain Parkinsonian Syndromes // *Deutsches Ärzteblatt international*. 2019.
23. Buell A. K. [и др.]. Solution conditions determine the relative importance of nucleation and growth processes in α -synuclein aggregation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014. № 21 (111). С. 7671–7676.
24. Bungeroth M. [и др.]. Differential aggregation properties of alpha-synuclein isoforms // *Neurobiology of Aging*. 2014. № 8 (35). С. 1913–1919.
25. Cao B. [и др.]. Association of serum uric acid level with cognitive function among patients with multiple system atrophy // *Journal of the Neurological Sciences*. 2015. № 1–2 (359). С. 363–366.
26. Chakroun T. [и др.]. Alpha-synuclein fragments trigger distinct aggregation pathways // *Cell Death & Disease*. 2020. № 2 (11). С. 84.
27. Chandra S. [и др.]. α -Synuclein Cooperates with CSP α in Preventing Neurodegeneration // *Cell*. 2005. № 3 (123). С. 383–396.
28. Chrysostome V. [и др.]. Epidemiology of Multiple System Atrophy: A Prevalence and Pilot Risk Factor Study in Aquitaine, France // *Neuroepidemiology*. 2004. № 4 (23). С. 201–208.
29. Compta Y. [и др.]. Cerebrospinal fluid levels of coenzyme Q10 are reduced in multiple system atrophy // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2018. (46). С. 16–23.

30. Compta Y. [и др.]. Cerebrospinal fluid cytokines in multiple system atrophy: A cross-sectional Catalan MSA registry study // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2019. (65). С. 3–12.
31. Cong S. [и др.]. Diagnostic utility of fluid biomarkers in multiple system atrophy: a systematic review and meta-analysis // *Journal of Neurology*. 2021. № 8 (268). С. 2703–2712.
32. Coon E. A., Cutsforth-Gregory J. K., Benarroch E. E. Neuropathology of autonomic dysfunction in synucleinopathies // *Movement Disorders*. 2018. № 3 (33). С. 349–358.
33. Cortelli P. [и др.]. Stridor in multiple system atrophy: Consensus statement on diagnosis, prognosis, and treatment // *Neurology*. 2019. № 14 (93). С. 630–639.
34. Damon-Perrière N. [и др.]. Assessment of the Scopa-Aut questionnaire in multiple system atrophy: Relation to UMSARS scores and progression over time // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2012. № 5 (18). С. 612–615.
35. Dean J. M. [и др.]. Microglial MyD88 signaling regulates acute neuronal toxicity of LPS-stimulated microglia in vitro // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2010. № 5 (24). С. 776–783.
36. Deshpande M. [и др.]. Role of activated astrocytes in neuronal damage: Potential links to HIV-1-associated dementia // *Neurotoxicity Research*. 2005. № 3 (7). С. 183–192.
37. Desplats P. [и др.]. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of α -synuclein // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009. № 31 (106). С. 13010–13015.
38. Du J. [и др.]. Clinical correlates of decreased plasma coenzyme Q10 levels in patients with multiple system atrophy // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2018. (57). С. 58–62.
39. Dumurgier J., Tzourio C. Epidemiology of neurological diseases in older adults // *Revue Neurologique*. 2020. № 9 (176). С. 642–648.

40. Dutta S. [и др.]. Development of a Novel Electrochemiluminescence ELISA for Quantification of α -Synuclein Phosphorylated at Ser 129 in Biological Samples // ACS Chemical Neuroscience. 2023. № 7 (14). С. 1238–1248.
41. Ebina J. [и др.]. Individual voxel-based morphometry adjusting covariates in multiple system atrophy // Parkinsonism & Related Disorders. 2021. (90). С. 114–119.
42. Eschlböck S. [и др.]. Urodynamic Evaluation in Multiple System Atrophy: A Retrospective Cohort Study // Movement Disorders Clinical Practice. 2021. № 7 (8). С. 1052–1060.
43. Ewing D. J., Campbell I. W., Clarke B. F. Heart-rate response to standing as a test for automatic neuropathy. // BMJ. 1978. № 6128 (1). С. 1700–1700.
44. F. Jelinek H. [и др.]. Decision trees and multi-level ensemble classifiers for neurological diagnostics // AIMS Medical Science. 2014. № 1 (1). С. 1–12.
45. Fanciulli A. [и др.]. A multiplex pedigree with pathologically confirmed multiple system atrophy and Parkinson's disease with dementia // Brain Communications. 2022. № 4 (4). С. fcac175.
46. Fanciulli A., Wenning G. K. Multiple-System Atrophy // New England Journal of Medicine. 2015. № 3 (372). С. 249–263.
47. Fedotova E. Yu. [и др.]. SNCA Gene Methylation in Parkinson's Disease and Multiple System Atrophy // Epigenomes. 2023. № 1 (7). С. 5.
48. Forsgren M. [и др.]. Isolation and functional expression of human COQ2 , a gene encoding a polyprenyl transferase involved in the synthesis of CoQ // Biochemical Journal. 2004. № 2 (382). С. 519–526.
49. Foubert-Samier A. [и др.]. Disease progression and prognostic factors in multiple system atrophy: A prospective cohort study // Neurobiology of Disease. 2020. (139). С. 104813.
50. Foulds P. G. [и др.]. Phosphorylated α -synuclein can be detected in blood plasma and is potentially a useful biomarker for Parkinson's disease // The FASEB Journal. 2011. № 12 (25). С. 4127–4137.

51. Fujiwara H. [и др.]. α -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions // *Nature Cell Biology*. 2002. № 2 (4). С. 160–164.
52. Gámez-Valero A., Beyer K. Alternative Splicing of Alpha- and Beta-Synuclein Genes Plays Differential Roles in Synucleinopathies // *Genes*. 2018. № 2 (9). С. 63.
53. Gatto E. [и др.]. Pan-American Consortium of Multiple System Atrophy (PANMSA). A Pan-American multicentre cohort study of Multiple System Atrophy // *Journal of Parkinson's Disease*. 2014. № 4 (4). С. 693–698.
54. Ge F. [и др.]. Cerebrospinal fluid NFL in the differential diagnosis of parkinsonian disorders: A meta-analysis // *Neuroscience Letters*. 2018. (685). С. 35–41.
55. Gerhard A. [и др.]. [¹¹C](R)-PK11195 PET imaging of microglial activation in multiple system atrophy // *Neurology*. 2003. № 5 (61). С. 686–689.
56. Giannini G. [и др.]. Early stridor onset and stridor treatment predict survival in 136 patients with MSA // *Neurology*. 2016. № 13 (87). С. 1375–1383.
57. Gilman S. [и др.]. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy // *Neurology*. 2008. № 9 (71). С. 670–676.
58. Grazia Spillantini M. [и др.]. Filamentous α -synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies // *Neuroscience Letters*. 1998. № 3 (251). С. 205–208.
59. Group F. D. A. N. I. H. B. W. BEST (Biomarkers, EndpointS, and Other Tools) Resource / F. D. A. N. I. H. B. W. Group, Food and Drug Administration (US), 2016.
60. Gu X. [и др.]. Analysis of GWAS-linked variants in multiple system atrophy // *Neurobiology of Aging*. 2018. (67). С. 201.e1-201.e4.
61. Guo Y., Tang B., Guo J. PLA2G6-Associated Neurodegeneration (PLAN): Review of Clinical Phenotypes and Genotypes // *Frontiers in Neurology*. 2018. (9). С. 1100.
62. Hahn K., Ebersbach G. Sonographic assessment of urinary retention in multiple system atrophy and idiopathic Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2005. № 11 (20). С. 1499–1502.

63. Han W. [и др.]. Alpha-synuclein (SNCA) polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease: A meta-analysis // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2015. № 2 (168). С. 123–134.
64. Hansen C. [и др.]. α -Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells // *Journal of Clinical Investigation*. 2011. № 2 (121). С. 715–725.
65. Hara K. [и др.]. Multiplex Families With Multiple System Atrophy // *Archives of Neurology*. 2007. № 4 (64). С. 545.
66. Hatton C. [и др.]. Prion-like α -synuclein pathology in the brain of infants with Krabbe disease // *Brain*. 2022. № 4 (145). С. 1257–1263.
67. Heim B., Krismer F., Seppi K. *Structural Imaging in Atypical Parkinsonism* Elsevier, 2018. С. 67–148.
68. Hohler A. D., Singh V. J. Probable hereditary multiple system atrophy–autonomic (MSA–A) in a family in the United States // *Journal of Clinical Neuroscience*. 2012. № 3 (19). С. 479–480.
69. Hu X., Yang Y., Gong D. Cerebrospinal fluid levels of neurofilament light chain in multiple system atrophy relative to Parkinson's disease: a meta-analysis // *Neurological Sciences*. 2017. № 3 (38). С. 407–414.
70. Iranzo A. Sleep and breathing in multiple system atrophy // *Current Treatment Options in Neurology*. 2007. № 5 (9). С. 347–353.
71. Ishizawa K. [и др.]. Microglial Activation Parallels System Degeneration in Multiple System Atrophy // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2004. № 1 (63). С. 43–52.
72. Iskhakova E. V. [и др.]. Magnetic resonance morphometry of the brain in different variants of multisystem atrophy // *Diagnostic radiology and radiotherapy*. 2020. № 1 (11). С. 33–37.
73. Iwai A. [и др.]. The precursor protein of non-A β component of Alzheimer's disease amyloid is a presynaptic protein of the central nervous system // *Neuron*. 1995. № 2 (14). С. 467–475.

74. Jellinger K. A. Multiple System Atrophy: An Oligodendroglioneural Synucleinopathy1 // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018. № 3 (62). С. 1141–1179.
75. Kasai T. [и др.]. Serum Levels of Coenzyme Q10 in Patients with Multiple System Atrophy // *PLOS ONE*. 2016. № 1 (11). С. e0147574.
76. Katzeff J. S. [и др.]. Cross-examining candidate genes implicated in multiple system atrophy // *Acta Neuropathologica Communications*. 2019. № 1 (7). С. 117.
77. Kim C. [и др.]. Neuron-released oligomeric α -synuclein is an endogenous agonist of TLR2 for paracrine activation of microglia // *Nature Communications*. 2013. № 1 (4). С. 1562.
78. Köllensperger M. [и др.]. Presentation, diagnosis, and management of multiple system atrophy in Europe: Final analysis of the European multiple system atrophy registry // *Movement Disorders*. 2010. № 15 (25). С. 2604–2612.
79. Krismer F. [и др.]. Morphometric MRI profiles of multiple system atrophy variants and implications for differential diagnosis // *Movement Disorders*. 2019. № 7 (34). С. 1041–1048.
80. Krohn L. [и др.]. Fine-Mapping of SNCA in Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder and Overt Synucleinopathies // *Annals of Neurology*. 2020. № 4 (87). С. 584–598.
81. Kuo S.-H., Quinzii C. M. Coenzyme Q10 as a Peripheral Biomarker for Multiple System Atrophy // *JAMA Neurology*. 2016. № 8 (73). С. 917.
82. Lanska D. J. Chapter 33 The history of movement disorders Elsevier, 2009.С. 501–546.
83. Lashuel H. A. [и др.]. The many faces of α -synuclein: from structure and toxicity to therapeutic target // *Nature Reviews Neuroscience*. 2013. № 1 (14). С. 38–48.
84. Laurens B. [и др.]. Fluid biomarkers in multiple system atrophy: A review of the MSA Biomarker Initiative // *Neurobiology of Disease*. 2015. (80). С. 29–41.
85. Lee J. E. [и др.]. Uric acid as a potential disease modifier in patients with multiple system atrophy // *Movement Disorders*. 2011. № 8 (26). С. 1533–1536.

86. Leys F. [и др.]. Family History for Neurodegeneration in Multiple System Atrophy: Does it Indicate Susceptibility? // *Movement Disorders*. 2022. № 11 (37). С. 2310–2312.
87. Li X. [и др.]. The Value of Sacral Reflex and Sympathetic Skin Reflex in the Diagnosis of Multiple System Atrophy P-Type // *Parkinson's Disease*. 2021. (2021). С. 1–6.
88. Liberto C. M. [и др.]. Pro-regenerative properties of cytokine-activated astrocytes // *Journal of Neurochemistry*. 2004. № 5 (89). С. 1092–1100.
89. Lin J. [и др.]. Voxel-Based Meta-Analysis of Gray Matter Abnormalities in Multiple System Atrophy // *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2020. (12). С. 591666.
90. Lin W.-C. [и др.]. Plasma Total α -Synuclein and Neurofilament Light Chain: Clinical Validation for Discriminating Parkinson's Disease from Normal Control // *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2020. № 4 (49). С. 401–409.
91. Linder J., Stenlund H., Forsgren L. Incidence of Parkinson's disease and parkinsonism in northern Sweden: A population-based study // *Movement Disorders*. 2010. № 3 (25). С. 341–348.
92. Low P. A. [и др.]. Natural history of multiple system atrophy in the USA: a prospective cohort study // *The Lancet Neurology*. 2015. № 7 (14). С. 710–719.
93. Massey L. A. [и др.]. Conventional magnetic resonance imaging in confirmed progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy // *Movement Disorders*. 2012. № 14 (27). С. 1754–1762.
94. Matsushima M. [и др.]. Comparison of Different Symptom Assessment Scales for Multiple System Atrophy // *The Cerebellum*. 2016. № 2 (15). С. 190–200.
95. Matsushima M. [и др.]. Multiple system atrophy in Hokkaido, Japan: a prospective registry study of natural history and symptom assessment scales followed for 5 years // *BMJ Open*. 2021. № 2 (11). С. e045100.
96. Meissner W. G. [и др.]. Multiple System Atrophy: Recent Developments and Future Perspectives // *Movement Disorders*. 2019. № 11 (34). С. 1629–1642.

97. Mestre T. A., Gupta A., Lang A. E. MRI signs of multiple system atrophy preceding the clinical diagnosis: the case for an imaging-supported probable MSA diagnostic category // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2016. № 4 (87). С. 443–444.
98. Miglis M. G., Larsen N., Muppidi S. RT-QUiC in multiple system atrophy: the biomarker of the future? and other updates on recent autonomic research // *Clinical Autonomic Research*. 2021. № 1 (31). С. 47–49.
99. Miki Y. [и др.]. Improving diagnostic accuracy of multiple system atrophy: a clinicopathological study // *Brain*. 2019. № 9 (142). С. 2813–2827.
100. Mitsui J. [и др.]. Plasma Coenzyme Q10 Levels in Patients With Multiple System Atrophy // *JAMA Neurology*. 2016. № 8 (73). С. 977.
101. Mizuno T. [и др.]. Protective effects of nicergoline against neuronal cell death induced by activated microglia and astrocytes // *Brain Research*. 2005. № 1–2 (1066). С. 78–85.
102. Mueller J. C. [и др.]. Multiple regions of α -synuclein are associated with Parkinson's disease // *Annals of Neurology*. 2005. № 4 (57). С. 535–541.
103. Nasreddine Z. S. [и др.]. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool For Mild Cognitive Impairment // *Journal of the American Geriatrics Society*. 2005. № 4 (53). С. 695–699.
104. Neumann H. [и др.]. Tumor Necrosis Factor Inhibits Neurite Outgrowth and Branching of Hippocampal Neurons by a Rho-Dependent Mechanism // *The Journal of Neuroscience*. 2002. № 3 (22). С. 854–862.
105. Nodel M. R. Diagnostic criteria for Parkinson's disease // *Russian Journal of Geriatric Medicine*. 2021. № 1. С. 92–96.
106. Norris E. H., Giasson B. I., Lee V. M.-Y. α -Synuclein: Normal Function and Role in Neurodegenerative Diseases Elsevier, 2004. С. 17–54.
107. Ogaki K. [и др.]. Analysis of COQ2 gene in multiple system atrophy // *Molecular Neurodegeneration*. 2014. № 1 (9). С. 44.

108. Ogawa T. [и др.]. Prevalence and treatment of LUTS in patients with Parkinson disease or multiple system atrophy // *Nature Reviews Urology*. 2017. № 2 (14). С. 79–89.
109. Oliveira L. M. A. [и др.]. Alpha-synuclein research: defining strategic moves in the battle against Parkinson's disease // *npj Parkinson's Disease*. 2021. № 1 (7). С. 65.
110. Osaki Y. [и др.]. Prevalence of Parkinson's disease and atypical parkinsonian syndromes in a rural Japanese district: PD and APS in a rural Japanese district // *Acta Neurologica Scandinavica*. 2011. № 3 (124). С. 182–187.
111. Ozawa T. The spectrum of pathological involvement of the striatonigral and olivopontocerebellar systems in multiple system atrophy: clinicopathological correlations // *Brain*. 2004. № 12 (127). С. 2657–2671.
112. Ozawa T., Onodera O. Multiple system atrophy: clinicopathological characteristics in Japanese patients // *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017. № 5 (93). С. 251–258.
113. Pagano G., Niccolini F., Politis M. Imaging in Parkinson's disease // *Clinical Medicine*. 2016. № 4 (16). С. 371–375.
114. Palleis C. [и др.]. Longitudinal correlation between neurofilament light chain and UMSARS in Multiple System Atrophy // *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2020. (195). С. 105924.
115. Palma J.-A., Norcliffe-Kaufmann L., Kaufmann H. Diagnosis of multiple system atrophy // *Autonomic Neuroscience*. 2018. (211). С. 15–25.
116. Palmer J. L. [и др.]. Unified Parkinson's Disease Rating Scale-Motor Exam: inter-rater reliability of advanced practice nurse and neurologist assessments // *Journal of Advanced Nursing*. 2010. № 6 (66). С. 1382–1387.
117. Papa M. [и др.]. Astrocyte–neuron interplay in maladaptive plasticity // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2014. (42). С. 35–54.
118. Papp M. I., Kahn J. E., Lantos P. L. Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration,

olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome) // Journal of the Neurological Sciences. 1989. № 1–3 (94). С. 79–100.

119. Parsian A. J. [и др.]. Association of α -synuclein gene haplotypes with Parkinson's disease // Parkinsonism & Related Disorders. 2007. № 6 (13). С. 343–347.

120. Paviour D. C. [и др.]. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging differentiates Parkinsonian variant of multiple-system atrophy from progressive supranuclear palsy // Movement Disorders. 2007. № 1 (22). С. 68–74.

121. Peelaerts W. [и др.]. α -Synuclein strains and seeding in Parkinson's disease, incidental Lewy body disease, dementia with Lewy bodies and multiple system atrophy: similarities and differences // Cell and Tissue Research. 2018. № 1 (373). С. 195–212.

122. Pellecchia M. T. [и др.]. Diffusion-weighted imaging in multiple system atrophy: A comparison between clinical subtypes // Movement Disorders. 2009. № 5 (24). С. 689–696.

123. Pellecchia M. T. [и др.]. Can Autonomic Testing and Imaging Contribute to the Early Diagnosis of Multiple System Atrophy? A Systematic Review and Recommendations by the MOVEMENT DISORDER SOCIETY Multiple System Atrophy Study Group // Movement Disorders Clinical Practice. 2020. № 7 (7). С. 750–762.

124. Peto V., Jenkinson C., Fitzpatrick R. PDQ-39: a review of the development, validation and application of a Parkinson's disease quality of life questionnaire and its associated measures // Journal of Neurology. 1998. № S1 (245). С. S10–S14.

125. Pham T. [и др.]. Heart Rate Variability in Psychology: A Review of HRV Indices and an Analysis Tutorial // Sensors. 2021. № 12 (21). С. 3998.

126. Ponticorvo S. [и др.]. Magnetic resonance T1w/T2w ratio and voxel-based morphometry in multiple system atrophy // Scientific Reports. 2021. № 1 (11). С. 21683.

127. Postuma R. B. [и др.]. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease: MDS-PD Clinical Diagnostic Criteria // *Movement Disorders*. 2015. № 12 (30). С. 1591–1601.
128. Procopio R. [и др.]. Genetic mutation analysis of the COQ2 gene in Italian patients with multiple system atrophy // *Gene*. 2019. (716). С. 144037.
129. Prusiner S. B. [и др.]. Evidence for α -synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015. № 38 (112).
130. Quadalti C. [и др.]. Neurofilament light chain and α -synuclein RT-QuIC as differential diagnostic biomarkers in parkinsonisms and related syndromes // *npj Parkinson's Disease*. 2021. № 1 (7). С. 93.
131. Quinn N. A short clinical history of multiple system atrophy // *Clinical Autonomic Research*. 2015. № 1 (25). С. 3–7.
132. Reyes J. F. [и др.]. Alpha-synuclein transfers from neurons to oligodendrocytes // *Glia*. 2014. № 3 (62). С. 387–398.
133. Röhl C., Lucius R., Sievers J. The effect of activated microglia on astrogliosis parameters in astrocyte cultures // *Brain Research*. 2007. (1129). С. 43–52.
134. Ross O. A. [и др.]. Reply to: SNCA variants are associated with increased risk of multiple system atrophy // *Annals of Neurology*. 2010. № 3 (67). С. 414–415.
135. Rossi M. [и др.]. Ultrasensitive RT-QuIC assay with high sensitivity and specificity for Lewy body-associated synucleinopathies // *Acta Neuropathologica*. 2020. № 1 (140). С. 49–62.
136. Sailer A. [и др.]. A genome-wide association study in multiple system atrophy // *Neurology*. 2016. № 15 (87). С. 1591–1598.
137. Saito Y. [и др.]. Aberrant Phosphorylation of α -Synuclein in Human Niemann-Pick Type C1 Disease // *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2004. № 4 (63). С. 323–328.

138. Sakakibara R. [и др.]. Bladder dysfunction as the initial presentation of multiple system atrophy: a prospective cohort study // *Clinical Autonomic Research*. 2019. № 6 (29). С. 627–631.
139. Scholz S. W. [и др.]. SNCA variants are associated with increased risk for multiple system atrophy // *Annals of Neurology*. 2009. № 5 (65). С. 610–614.
140. Schottlaender L. V. [и др.]. Coenzyme Q10 Levels Are Decreased in the Cerebellum of Multiple-System Atrophy Patients // *PLOS ONE*. 2016. № 2 (11). С. e0149557.
141. Schrag A., Ben-Shlomo Y., Quinn N. Prevalence of progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy: a cross-sectional study // *The Lancet*. 1999. № 9192 (354). С. 1771–1775.
142. Seo J. [и др.]. A case–control study of multiple system atrophy in Korean patients // *Movement Disorders*. 2010. № 12 (25). С. 1953–1959.
143. Shaffer F., Ginsberg J. P. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms // *Frontiers in Public Health*. 2017. (5). С. 258.
144. Shahnawaz M. [и др.]. Discriminating α -synuclein strains in Parkinson’s disease and multiple system atrophy // *Nature*. 2020. № 7794 (578). С. 273–277.
145. Shi M., Caudle W. M., Zhang J. Biomarker discovery in neurodegenerative diseases: A proteomic approach // *Neurobiology of Disease*. 2009. № 2 (35). С. 157–164.
146. Shin J. H. [и др.]. Urodynamic study for distinguishing multiple system atrophy from Parkinson disease // *Neurology*. 2019. № 10 (93). С. e946–e953.
147. Shindo K. [и др.]. Sympathetic outflow to skin predicts central autonomic dysfunction in multiple system atrophy // *Neurological Sciences*. 2020. № 8 (41). С. 2241–2248.
148. Shy G. M. A Neurological Syndrome Associated with Orthostatic Hypotension: A Clinical-Pathologic Study // *A.M.A. Archives of Neurology*. 1960. № 5 (2). С. 511.
149. Soma H. [и др.]. Heredity in multiple system atrophy // *Journal of the Neurological Sciences*. 2006. № 1–2 (240). С. 107–110.

150. Stankovic I. [и др.]. A critique of the second consensus criteria for multiple system atrophy // *Movement Disorders*. 2019. № 7 (34). С. 975–984.
151. Stankovic I. [и др.]. A Review on the Clinical Diagnosis of Multiple System Atrophy // *The Cerebellum*. 2022. № 5 (22). С. 825–839.
152. Stefanova N. [и др.]. Multiple system atrophy: an update // *The Lancet Neurology*. 2009. № 12 (8). С. 1172–1178.
153. Stemberger S. [и др.]. Genetic players in multiple system atrophy: unfolding the nature of the beast // *Neurobiology of Aging*. 2011. № 10 (32). С. 1924.e5-1924.e14.
154. Stocchi F. [и др.]. Urodynamic and neurophysiological evaluation in Parkinson's disease and multiple system atrophy. // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1997. № 5 (62). С. 507–511.
155. Sturm E., Stefanova N. Multiple System Atrophy: Genetic or Epigenetic? // *Experimental Neurobiology*. 2014. № 4 (23). С. 277–291.
156. Sutherland G. T. [и др.]. Do polymorphisms in the familial Parkinsonism genes contribute to risk for sporadic Parkinson's disease? // *Movement Disorders*. 2009. № 6 (24). С. 833–838.
157. Tagliafierro L., Chiba-Falek O. Up-regulation of SNCA gene expression: implications to synucleinopathies // *neurogenetics*. 2016. № 3 (17). С. 145–157.
158. Tan E. K. [и др.]. Alpha-synuclein haplotypes implicated in risk of Parkinson's disease // *Neurology*. 2004. № 1 (62). С. 128–131.
159. Teive H. A. G. [и др.]. Differential diagnosis of sporadic adult-onset ataxia: The role of REM sleep behavior disorder // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2015. № 6 (21). С. 640–643.
160. Teng C.-H. [и др.]. Application of Portable Ultrasound Scanners in the Measurement of Post-Void Residual Urine // *Journal of Nursing Research*. 2005. № 3 (13). С. 216–224.
161. Thobois S. [и др.]. What a neurologist should know about PET and SPECT functional imaging for parkinsonism: A practical perspective // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2019. (59). С. 93–100.

162. Tokutake T. [и др.]. Clinical correlations of cerebrospinal fluid biomarkers including neuron-glia 2 and neurofilament light chain in patients with multiple system atrophy // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2022. (102). С. 30–35.
163. Trouillas P. [и др.]. International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome // *Journal of the Neurological Sciences*. 1997. № 2 (145). С. 205–211.
164. Tseng E. [и др.]. The Landscape of SNCA Transcripts Across Synucleinopathies: New Insights From Long Reads Sequencing Analysis // *Frontiers in Genetics*. 2019. (10). С. 584.
165. Ubhi K. [и др.]. Widespread micro RNA dysregulation in multiple system atrophy – disease-related alteration in miR-96 // *European Journal of Neuroscience*. 2014. № 6 (39). С. 1026–1041.
166. Vallelunga A. [и др.]. Identification of circulating microRNAs for the differential diagnosis of Parkinson’s disease and Multiple System Atrophy // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2014. (8).
167. Vidal J.-S. [и др.]. Familial aggregation in atypical Parkinson’s disease: a case control study in multiple system atrophy and progressive supranuclear palsy // *Journal of Neurology*. 2010. № 8 (257). С. 1388–1393.
168. Wakabayashi K. [и др.]. α -Synuclein immunoreactivity in glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy // *Neuroscience Letters*. 1998. № 2–3 (249). С. 180–182.
169. Watanabe H. [и др.]. Progression and prognosis in multiple system atrophy // *Brain*. 2002. № 5 (125). С. 1070–1083.
170. Watanabe H. [и др.]. Clinical and Imaging Features of Multiple System Atrophy: Challenges for an Early and Clinically Definitive Diagnosis // *Journal of Movement Disorders*. 2018. № 3 (11). С. 107–120.
171. Wen X. [и др.]. Mutation Analysis of COQ 2 in Chinese Patients with Cerebellar Subtype of Multiple System Atrophy // *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2015. № 8 (21). С. 626–630.

172. Wenning G. K. [и др.]. Multiple system atrophy: A review of 203 pathologically proven cases // *Movement Disorders*. 1997. № 2 (12). С. 133–147.
173. Wenning G. K. [и др.]. Multiple system atrophy // *The Lancet Neurology*. 2004. № 2 (3). С. 93–103.
174. Wenning G. K. [и др.]. Development and validation of the Unified Multiple System Atrophy Rating Scale (UMSARS) // *Movement Disorders*. 2004. № 12 (19). С. 1391–1402.
175. Wenning G. K. [и др.]. Multiple system atrophy: A primary oligodendrogliopathy // *Annals of Neurology*. 2008. № 3 (64). С. 239–246.
176. Wenning G. K. [и др.]. The natural history of multiple system atrophy: a prospective European cohort study // *The Lancet Neurology*. 2013. № 3 (12). С. 264–274.
177. Wenning G. K. [и др.]. The Movement Disorder Society Criteria for the Diagnosis of Multiple System Atrophy // *Movement Disorders*. 2022. № 6 (37). С. 1131–1148.
178. Wilhelmsson U. [и др.]. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006. № 46 (103). С. 17513–17518.
179. Winter Y. [и др.]. Incidence of Parkinson's disease and atypical parkinsonism: Russian population-based study // *Movement Disorders*. 2010. № 3 (25). С. 349–356.
180. Wullner U. [и др.]. Definite multiple system atrophy in a German family // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2008. № 4 (80). С. 449–450.
181. Yabe I. [и др.]. MSA-C is the predominant clinical phenotype of MSA in Japan: Analysis of 142 patients with probable MSA // *Journal of the Neurological Sciences*. 2006. № 2 (249). С. 115–121.
182. Yamamoto T. [и др.]. The Utility of Post-Void Residual Volume versus Sphincter Electromyography to Distinguish between Multiple System Atrophy and Parkinson's Disease // *PLOS ONE*. 2017. № 1 (12). С. e0169405.

183. Yamamoto T. [и др.]. Postvoid residual predicts the diagnosis of multiple system atrophy in Parkinsonian syndrome // *Journal of the Neurological Sciences*. 2017. (381). С. 230–234.
184. Yang F., Li W.-J., Huang X.-S. Alpha-synuclein levels in patients with multiple system atrophy: a meta-analysis // *International Journal of Neuroscience*. 2018. № 5 (128). С. 477–486.
185. Yao M., Simoes A. *Urodynamic Testing and Interpretation* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.
186. Yuan L., Li J.-Y. Exosomes in Parkinson's Disease: Current Perspectives and Future Challenges // *ACS Chemical Neuroscience*. 2019. № 2 (10). С. 964–972.
187. Zhang L. [и др.]. Brain morphological alteration and cognitive dysfunction in multiple system atrophy // *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2018. № 10 (8). С. 1030–1038.
188. Zhang W. [и др.]. Aggregated α -synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease // *The FASEB Journal*. 2005. № 6 (19). С. 533–542.
189. Zigmond A. S., Snaith R. P. The Hospital Anxiety and Depression Scale // *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1983. № 6 (67). С. 361–370.
190. Zubelzu M. [и др.]. Plasma and serum alpha-synuclein as a biomarker in Parkinson's disease: A meta-analysis // *Parkinsonism & Related Disorders*. 2022. (99). С. 107–115.
191. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology // *Circulation*. 1996. № 5 (93). С. 1043–1065.

ПРИЛОЖЕНИЯ

**Приложение 1. Глоссарий терминов, используемых в критериях
диагностики МСА MDS (2022).**

<i>Термин</i>	<i>Определение</i>
Дебют заболевания	Время возникновения первых жалоб, связанных с МСА
Нарушение мочеиспускания с ООМ свыше 100 мл, не объяснимое иными причинами (для клинически достоверной МСА) или менее 100 мл (для клинически вероятной МСА)	Нарушение мочеиспускания с ООМ свыше 100 мл (для клинически достоверной МСА), либо менее (для клинически вероятной МСА), измеренное после произвольной микции методом УЗИ, уродинамически либо методом катетеризации, не объяснимое иными причинами (например, обструкцией мочевыводящих путей ввиду увеличения объема предстательной железы)
Недержание мочи, не объясняемое иными причинами	Жалобы на непроизвольное подтекание мочи в отсутствие инфекции мочевыводящих путей, не объяснимое иными причинами (например, предшествовавшим оперативным вмешательством на органах малого таза, выпадением органов тазового дна)
Нейрогенная ортостатическая гипотензия	Снижение САД/ДАД более чем на 20/10 мм рт.ст. и индекса изменения ЧСС/САД < 0,5 через 3 мин (для клинически достоверной МСА) либо через 10 мин (для клинически вероятной МСА) при проведении ортостатической пробы либо тилт-теста, не объяснимое иными причинами (например, приемом медикаментов либо наличием вегетативной neuropathии)
Паркинсонизм	Наличие брадикинезии в сочетании с мышечной ригидностью или тремором (исключая интенционный тремор при мозжечковой атаксии), оцененное специалистом по расстройствам движений по инструкциям 3 части шкалы MDS UPDRS;
Брадикинезия	Замедление движений и декремент амплитуды и скорости (или наличие остановок) при повторении движения
Ригидность	Скорость-независимое сопротивление при пассивных движениях, способное сопровождаться феноменом «зубчатого колеса»
Дрожание	Ритмичные либо неритмичные непроизвольные движения конечностей
Слабый ответ на препараты леводопы	Улучшение менее чем на 30% при оценке по 3 части шкалы MDS-UPDRS при приеме препаратов леводопы в дозировке не менее чем 1000 мг не менее месяца при условии наличия показаний и переносимости препарата, оцененное специалистом по расстройствам движений
Мозжечковая атаксия	Как минимум два (для клинически достоверной МСА) или один (для клинически вероятной МСА) симптом нижеперечисленных: атаксия ходьбы, атаксия в конечностях, мозжечковая дизартрия либо глазодвигательные нарушения (незатухающий взор-индуцированный горизонтальный либо «бьющий вниз» нистагм или гиперметрия саккад)
Быстрое прогрессирование заболевания в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики	Потребность в помощи при выполнении работы по дому либо более выраженные нарушения в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики
Умеренная либо тяжелая постуральная неустойчивость в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики	Постуральные нарушения в виде более чем 3 шагов назад либо падения при проведении толчковой пробы (пробы Тевенара, pull-test) в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики
Краниоцервикальные дискинезии при отсутствии дискинезий конечностей на	Непроизвольные дистонические движения лица, вызванные либо усугубленные приемом леводопы при отсутствии

фоне приема препаратов леводопы	дискинезий конечностей либо при из слабой выраженности
Грубые нарушения речи в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики	Медленная, смазанная речь, либо дисфония, требующая повторения фраз в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики
Грубая дисфагия в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики	Не объяснимое иными причинами затруднение глотания жидкой либо твердой пищи, требуемое изменения пищевых привычек в течение 3 лет от дебюта двигательной симптоматики
Патологический рефлекс Бабинского, не объяснимый иными причинами	Наличие симптома Бабинского при условии исключения объемных образований, сосудистых, демиелинизирующих, метаболических заболеваний ЦНС, шейной миелопатии и инфекционных заболеваний ЦНС
Миоклонический постуральный или кинетический тремор	Непостоянный мелкоамплитудный постуральный или кинетический тремор кистей рук либо пальцев с наличием стимул-чувствительного миоклонуса
Постуральные нарушения	Наличие либо непропорционального антеро- либо латероколлеса, камптокормии, синдрома «Пизанской башни», либо контрактур кистей рук либо стоп (за исключением контрактуры Дюпюитрена либо наличия иных причин, например, кортикобазального синдрома)
Стридор	Высокочастотный звук вдоха во время сна либо в состоянии пробуждения. Необходимо проведение ларингоскопии для исключения иных причин
Инспираторные вздохи	Непроизвольный глубокий вздох либо хрип
Холодные на ощупь и измененной окраски (цианотичные) конечности	Развившееся впервые похолодание и изменение окраски (фиолетовая, синюшная) кожи конечностей с побледнением при надавливании
Эректильная дисфункция у мужчин младше 60 лет	Постоянная неспособность достижения и поддержания эрекции, достаточной для сексуальной активности (для мужчин в возрасте менее 60 лет для (для клинически вероятной МСА)
Патологический смех или плач	Недержание аффекта (со слов пациента либо окружающих его лиц)
Нарушение поведения в фазе сна с БДГ (подтвержденное полисомнографически)	Установленное согласно Международной классификации нарушений сна 3 пересмотра (ICSD-3)
Слабовыраженные признаки синдрома паркинсонизма	Наличие признаков паркинсонизма, не соответствующее диагностическим критериям MDS для БП, не требующее назначения дофаминергической терапии и оцененных как «слабовыраженные» специалистом по расстройствам движений
Слабовыраженные признаки мозжечковой атаксии	Наличие нарушения тандемной ходьбы или атаксии ходьбы, атаксии конечностей либо глазодвигательных нарушений, оцененных как «слабовыраженные» специалистом по расстройствам движений
Выраженный и стойкий положительный эффект дофаминергической терапии	Оцененный специалистом по расстройствам движений
Наличие не объяснимой иными причинами anosmia	Anosmia, не связанная с иными причинами (например, аллергическим ринитом, курением, структурными повреждениями, перенесённой операцией на ЛОР-органах)
Нарушение симпатической иннервации миокарда при скintiграфии с ¹²³ I-МИБГ	Изменение соотношения сердце/средостение спустя 4 часа после внутривенной инъекции ¹²³ I-МИБГ, оцененной специалистом по ядерной медицине, не объяснимое приемом препаратов, влияющих на транспорт дофамина и везикулярный транспорт, структурными поражениями сердца, а также нейропатией тонких волокон (например, при сахарном диабете)

Приложение 2. Унифицированная шкала оценки мультисистемной атрофии (UMSARS) .

Часть 1: Ретроспективная оценка.

Поставьте среднюю оценку названной функции за последние 2 недели (если не указано иного) со слов пациента или ухаживающего лица. Оцените функцию независимо от характера симптомов.

Оцениваемый признак	Балл	Выраженность симптомов
1. Речь	0	Не изменена.
	1	Слегка изменена, трудностей с пониманием не возникает.
	2	Умеренно изменена. Время от времени (менее чем в 1/2 времени разговора существует потребность в повторении для понимания).
	3	Выраженно изменена. Время от времени (более чем в 1/2 времени разговора существует потребность в повторении для понимания).
	4	Неразборчива практически все время разговора.
2. Глотание	0	Не нарушено
	1	Слегка нарушено. Поперхивания менее чем раз в неделю.
	2	Умеренно нарушено. Поперхивания более чем раз в неделю.
	3	Выраженно нарушено. Частые поперхивания.
	4	Питание через НГЗ или гастростому.
3. Письмо	0	Не нарушено
	1	Слегка нарушено, все слова разборчивы.
	2	Умеренно нарушено, невозможно разобрать до половины слов.
	3	Значительно нарушено, большинство слов невозможно разобрать.
	4	Невозможность письма.
4. Нарезка пищи и пользование посудой, кухонными принадлежностями	0	Не нарушено
	1	Иногда замедлено или затруднено, однако помощь не требуется.
	2	Может нарезать пищу, однако медленно и

		неуклюже; требуется некоторая помощь.
	3	Пища должна быть нарезана кем-то другим, но может питаться самостоятельно, медленно.
	4	Требуется кормление.
5. Одевание	0	Не нарушено.
	1	Иногда замедлено или затруднено, однако помощь не требуется.
	2	Иногда требуется помощь в застегивании пуговиц, продевании рук в рукава.
	3	Необходима помощь, однако может выполнять некоторые действия самостоятельно.
	4	Требуется одевание.
6. Гигиенические процедуры	0	Не нарушены.
	1	Иногда есть замедленность и неловкость, однако помощь не требуется.
	2	Требуется помощь при принятии ванны или душа; либо выраженная замедленность при выполнении гигиенических процедур.
	3	Требуется помощь при умывании, чистке зубов, причесывании, отправлении естественных нужд.
	4	Полностью неспособна выполнять гигиенические процедуры самостоятельно.
7. Ходьба	0	Не нарушена.
	1	Слегка нарушена. Помощь, поддержка при ходьбе не требуется (кроме как в ситуациях, не связанных с основным заболеванием).
	2	Умеренно нарушена. Иногда требуется помощь, поддержка при ходьбе.
	3	Выраженно нарушена. Часто требуется помощь, поддержка при ходьбе.
	4	Не может передвигаться даже с поддержкой.
8. Падения (в течение последнего месяца)	0	Не отмечаются.
	1	Редкие падения (менее чем раз в месяц).
	2	Периодические падения (менее чем раз в неделю).
	3	Падения чаще чем раз в неделю.
	4	Падает по крайней мере раз в день (либо не может передвигаться, см. п.7).
9. Ортостатические симптомы (синкопе,	0	Нет симптомов.

головокружения, нарушения зрения, боль в шее, которые проходят в горизонтальном положении)	1	Бывают редко и не влияют на повседневную активность.
	2	Бывают как минимум раз в неделю и слегка ограничивают повседневную активность.
	3	Бывают часто, может стоять более 1 мин в большинстве случаев, ограничивают повседневную активность.
	4	Симптомы при каждом вставании, может стоять менее 1 мин в большинстве случаев, синкопе/пресинкопе каждый раз при попытке вставания.
10. Мочеиспускание (данные симптомы не должны быть обусловлены другими заболеваниями)	0	Не нарушено.
	1	Императивные и/или частые позывы, однако нет необходимости в применении медикаментов.
	2	Императивные и/или частые позывы, необходимость в применении медикаментов.
	3	Недержание и/или неполное опорожнение мочевого пузыря, необходимость в периодической катетеризации.
11. Половая функция	0	Не нарушена.
	1	Легкое нарушение по сравнению с активностью до начала болезни.
	2	Умеренно нарушение по сравнению с активностью до начала болезни.
	3	Тяжелое нарушение по сравнению с активностью до начала болезни.
12. Дефекация	0	Нет изменения в частоте опорожнения по сравнению с частотой до начала болезни
	1	Эпизодические запоры, однако применение слабительных не требуется.
	2	Частые запоры, требуется применение слабительных.
	3	Хронические запоры, требуется применение слабительных или очистительных клизм.
Итого за часть 1:	4	Невозможность самостоятельного опорожнения кишечника.

Часть II: Шкала оценки двигательной функции (по наиболее пораженной конечности).

Оцениваемый признак	Балл	Выраженность симптомов
1. Мимика	0	Не изменена
	1	Минимальная гипомимия.
	2	Незначительное обеднение мимики
	3	Умеренная гипомимия, рот приоткрыт некоторое время
	4	Фиксированное выражение лица с значительным обеднением или полным отсутствием мимики, рот приоткрыт на 0,625 см или более.
2. Речь	0	Не нарушена.
	1	Слегка замедленна, смазана и/или дисфонична. Нет необходимости в повторении.
	2	Умеренно замедленна, смазана и/или дисфонична. Требуется повторить несколько раз.
	3	Выраженно замедлена, смазана и/или дисфонична. Требуется часто просить повторить.
	4	Неразборчива.
3. Глазодвигательная дисфункция. (Движения глаз исследуют, прося испытуемого следить за медленными горизонтальными движениями пальцев обследуемого, смотреть на палец сбоку в разных положениях и выполнять саккады между двумя пальцами, каждый из которых удерживается в эксцентрическом положении приблизительно 30°. Экзаменатор оценивает следующие признаки: (1) прерывистое плавное слежение (2) нистагм, индуцированный взглядом при положении глаз более 45 градусов, (3) нистагм, индуцированный взглядом при положении глаз менее 45 градусов, (4) гиперметрия саккад. Знак 3 предполагает наличие как минимум двух аномальных глазных моторных признаков, потому что знак 2 также присутствует.)	0	Нет.
	1	Один аномальный глазодвигательный признак.
	2	Два аномальных глазных двигательных признака.
	3	Три аномальных глазных двигательных признака.
	4	Четыре аномальных глазных двигательных признака.
4. Тремор покоя	0	Отсутствует
	1	Легкий, эпизодический
	2	Легкий по амплитуде и постоянный, либо непостоянный, но с умеренной амплитудой.
	3	Умеренный по амплитуде и присутствующий большую часть времени.
	4	Выраженный по амплитуде и присутствующий

		большую часть времени.
5. Акционный тремор Оцените постуральный тремор с вытянутыми руками (а) и тремор при пальце-пальцевой пробе (б). Оцените максимально выраженный тремор.	0	Отсутствует
	1	Небольшой тремор с небольшой амплитудой (а). Нет затруднений при пальце-пальцевой пробе (б).
	2	Умеренная амплитуда (а). Небольшие затруднения при пальце-пальцевой пробе (б).
	3	Выраженная амплитуда (а). Выраженные затруднения при пальце-пальцевой пробе (б)
	4	Большая амплитуда (а). Пальце-пальцевая проба невозможна (б).
6. Гипертонус Оценивается по пассивным движениям в крупных суставах в положении сидя; феномен «зубчатого колеса» не считается.	0	Отсутствует.
	1	Незначительный или обнаруживаемый только при зеркальных или других движениях.
	2	От легкого до умеренного.
	3	Значимый, но с полным объемом движений.
	4	Тяжелый, ограничение объема движений.
7. Адиадохокинез Пронация/супинация в руках в вертикальном либо горизонтальном положении с наиболее возможной амплитудой. Каждая рука оценивается отдельно.	0	Нет нарушений.
	1	Легко нарушен.
	2	Умеренно нарушен.
	3	Сильно нарушен.
	4	С трудом справляется с задачей.
8. Постукивание пальцами. Пациент быстро постукивает указательным и большим пальцами с максимально возможной амплитудой, каждой рукой не менее 15-20 секунд. Оцените наиболее пораженную конечность. Обратите внимание, что нарушение выполнения этой задачи может быть вызвано брадикинезией и/или мозжечковой дисфункцией.	0	Нет нарушений.
	1	Легко нарушено.
	2	Умеренно нарушено.
	3	Сильно нарушено.
	4	С трудом справляется с задачей.
9. Подвижность ног. Пациент сидит и быстро ударяет пяткой по земле, поднимая ногу целиком. Амплитуда должна быть примерно 10 см, оцените наиболее пораженную ногу. Обратите внимание, что нарушение выполнения этой задачи может быть вызвано брадикинезией и / или мозжечковой дисфункцией.	0	Нет нарушений.
	1	Легко нарушена.
	2	Умеренно нарушена.
	3	Сильно нарушена.
	4	С трудом справляется с задачей.
10. Пяточно-коленная проба. Пациента просят поднять одну ногу и поместить пятку на колено, а затем сдвинуть пятку вниз по передней большеберцовой	0	Нет нарушений.
	1	Легкая дисметрия.
	2	Умеренная дисметрия.

поверхности покоящейся ноги по направлению к лодыжке. Достигнув голеностопного сустава, нога снова поднимается в воздух на высоту примерно 40 см и действие повторяется. Для правильной оценки необходимо выполнить не менее трех движений каждой конечностью. Оцените наиболее пораженную конечность.	3	Тяжелая дисметрия.
	4	С трудом справляется с задачей.
11. Подъем со стула. Пациент пытается встать со стула с прямой спинкой, скрестив руки на груди.	0	Нет нарушений.
	1	Затруднен, может потребоваться более одной попытки.
	2	Отталкивается от стула руками.
	3	Падает обратно, может потребоваться более одной попытки.
	4	Не может встать без помощи.
12. Поза	0	Нормальная.
	1	Слегка сутулая.
	2	Может быть нормальной для пожилых людей.
	3	Умеренно сутулая поза, определенно ненормальная. Может быть слегка наклонена в сторону.
	4	Выраженная сутулость, кифоз. Может быть умеренно наклонен в сторону.
		Заметное сгибание с тяжелым нарушением позы.
13. Устойчивость. Оцените спонтанное раскачивание тела и реакцию на внезапное сильное смещение кзади, вызванное притягиванием за плечо, когда пациент стоит прямо с открытыми глазами и слегка расставленными ступнями. Пациент должен быть предупрежден.	0	Нет нарушений.
	1	Легкое раскачивание тела и/или ретропульсия с самостоятельным восстановлением.
	2	Умеренное раскачивание тела и/или снижена постуальная реакция; может упасть, если не будет пойман.
	3	Выраженное раскачивание тела, нестабилен. Склонность к спонтанной потере равновесия.
	4	Невозможность стояния без поддержки.
14. Походка	0	Нет нарушений.
	1	Легко нарушена.
	2	Умеренно нарушена. Ходит с трудом, но не требует или почти не требует помощи.
	3	Сильно нарушена. Требуется помощь.
	4	(RT-QuIC) Не может ходить даже с посторонней помощью.

Итого за Часть II:	
--------------------	--

Часть III. Автономная дисфункция.

АД и ЧСС измеряются после 2 минут в положении лежа и через 2 минуты после вставания. Ортостатические симптомы включают в себя «легкость» в голове, головокружение, смазанность зрения, утомляемость, слабость, когнитивные нарушения, тошнота, ощущение сердцебиения, ощущение «дрожания», головную боль, боль в шее и плечах.

Систолическое АД	Лежа	
	Стоя (через 2 мин)	
	Невозможно измерить	
Диастолическое АД	Лежа	
	Стоя (через 2 мин)	
	Невозможно измерить	
ЧСС	Лежа	
	Стоя (через 2 мин)	
	Невозможно измерить	
Ортостатические симптомы (есть/нет)		

Часть IV: Общая функциональная оценка.

1. Полностью независим(а). Способен выполнять все работы по дому с минимальными трудностями или ограничениями. Не замечает затруднений.
2. Нуждается в помощи по хозяйству.
3. Зависит от ухода. Требуется помощь с половиной дел. Большую часть дня тратит на работу по дому.
4. Очень зависим от ухода. Время от времени выполняет ограниченный спектр домашних дел. Требуется значительная помощь.
5. Абсолютно зависим и беспомощен. Прикован к постели.

Приложение 3. Шкала оценки исходов болезни Паркинсона – автономная дисфункция (SCOPA-AUT).

С помощью этого опросника мы хотели бы узнать, в какой степени в течение прошедшего месяца у Вас наблюдались проблемы с различными функциями организма: например, затруднения при мочеиспускании или чрезмерное потоотделение. Ответьте на вопросы, поставив крестик: в квадратике, который наилучшим образом отражает Вашу ситуацию.

1. Были ли у Вас в течение прошедшего месяца затруднения с глотанием или случалось ли Вам чем-нибудь подавиться?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

2. Бывало ли в течение прошедшего месяца, что у Вас происходило спонтанное слюноотделение?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

3. Бывали ли в течение прошедшего месяца случаи, когда пища застревала у Вас в горле?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

4. Бывало ли в течение прошедшего месяца, что во время еды у Вас очень быстро возникало чувство насыщения?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

5. Бывали ли у Вас запоры в течение прошедшего месяца? (Запор - это нарушение работы кишечника, при котором стул бывает два раза в неделю или реже).

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

6. Приходилось ли Вам сильно тужиться при дефекации в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

--	--	--	--

7. Бывали ли у Вас случаи недержания кала в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

Вопросы с 8 по 13 относятся к проблемам с мочеиспусканием. Если Вы пользуетесь катетером, это можно указать, поставив крестик в квадратике “пользуюсь катетером”.

8. Было ли Вам трудно контролировать мочеиспускание в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

9. Бывали ли у Вас случаи недержания мочи в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

10. Бывало ли у Вас в течение прошедшего месяца ощущение, что после мочеиспускания Ваш мочевой пузырь не полностью опорожнен?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

11. Бывали ли случаи в течение прошедшего месяца, когда струя мочи была слабой?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

12. Возникала ли у Вас потребность помочиться заново в течение 2 часов после предыдущего раза в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

13. Приходилось ли Вам в течение прошедшего месяца мочиться ночью?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто	Пользуюсь катетером

14. Были ли у Вас в течение прошедшего месяца чувство головокружения, нарушения зрения или способности ясно мыслить при вставании?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

15. Возникало ли у Вас в течение прошедшего месяца головокружение, после того как Вы некоторое время постоите?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

16. Бывали ли у Вас обмороки в течение прошедших 6 месяцев?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

17. Бывало ли у Вас в течение прошедшего месяца чрезмерное потоотделение в дневное время?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

18. Бывало ли у Вас в течение прошедшего месяца чрезмерное потоотделение в ночное время?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

19. Ощущали ли Вы чрезмерную чувствительность глаз к яркому свету в течение прошедшего месяца?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

20. Как часто в течение прошедшего месяца Вам было трудно переносить холод?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

21. Как часто в течение прошедшего месяца Вам было трудно переносить жару?

Никогда	Иногда	Регулярно	Часто

Приложение 4. Последовательности праймеров и флуоресцентных зондов для проведения молекулярно-генетических исследований.

Последовательности праймеров для ПЦР для гена COQ2.

	Прямой праймер	Обратный праймер
Экзон 1	5'- СТСАТТТСАААГТГТСССГАГГ -3'	5'- GAGTGTGCCCCGATAATGGAAC -3'
Экзон 2	5'- ТТССАТГСТГГАТТТСТГТГГТС -3'	5'- ТСТАГГСАСТСТГСГТАГТААГГ -3'
Экзон 3	5'- СТТАСАСТТГСТААСТТАСАГАТГС -3'	5'- САТАТТТГТГССТАССАТГГГГС -3'
Экзон 4	5'- АТСТСТССАТААААГТГТАГТТТГС -3'	5'- GGGAAAGTCGAAGGCTAGGA -3'
Экзон 5	5'- ТГГАГССАТГГААСТГТГАА -3'	5'- GAGCACTGAACACACTCCGA -3'
Экзон 6	5'- АГТТССТТГССАГГТАААСАСА -3'	5'- АТСАГССТГТТТСТГАГТТАСТГТ -3'
Экзон 7	5'- ГСТАГСАААТААГТААААТССАГГТ -3'	5'- GACCCAAAGTCCAGACTAGGT -3'

Последовательности праймеров для ПЦР для гена SNCA.

	Прямой праймер	Обратный праймер
Экзон 1a	5'- АГГАГААГГСТСАГСАААТСС -3'	5'- САГААСССАААТТАГСГСААГ -3'
Экзон 1b	5'- ГАГГСТТАГГГТСАГГГГТА -3'	5'- ГГСАГААГСГСТСАСАААТС -3'
Экзон 2	5'- ТАССТСТГАСТСАГТССАСТТ -3'	5'- ГАГТСТСАСАСТТТГГАГГГТТ -3'
Экзон 3	5'- ААТАСТГГГССАСАСТААТСАСТ -3'	5'- ТГГТГГТТАСТГГАГТТССТТСТ -3'
Экзон 4	5'- ГТАГССГТТСССАСАГАТАА -3'	5'- АГГТГТАТГГААГССГАТГГ -3'
Экзон 5	5'- ААГТТГТССАСТГААТГАГСА -3'	5'- ААГАТССГТГГССААСАТСС -3'
Экзон 6	5'-ТТТАСАТСТГАТАТГААГССАСА-3'	5'- ТТТТАГТГТААГТГГГГАГССА -3'

Последовательности подобранных праймеров и флуоресцентного зонда для анализа сплайсинг-форм гена SNCA.

Олигонуклеотид	Нуклеотидная последовательность
Прямой праймер	5'- GTGGCTGAGAAGACCAAAGAG -3'
Обратный праймер 1	5'- GACAAAGCCAGTGGCTGCTG -3'
Обратный праймер 2	5'- СТТССТГТГГГГСТССТТС -3'
Обратный праймер 3	5'- АТАССТТССТТГСССААСТГ -3'
Зонд	5'- (R6G) TGTGACAGCAGTAGCCCAGAAGACA (RTQ1) -3'

Последовательности подобранных праймеров и флуоресцентного зонда для референсного гена АСТВ

Олигонуклеотид	Нуклеотидная последовательность
Прямой праймер	5'- TGGCACCCAGCACAATGAA -3'
Обратный праймер	5'- CGGACTCGTCATACTCCTGC -3'
Зонд	5'- (ROX)- CCTCCTGAGCGCAAGTACTCCG -(BHQ2)-3'