

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права
УДК 616.831-005.1-036.82/.85

БОЙКО
Александр Васильевич

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ
ПРОГРЕССИРОВАНИЯ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.11 – нервные болезни

Минск 2024

Научная работа выполнена в государственном учреждении образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Научный консультант: **Пономарев Владимир Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Шалькевич Леонид Валентинович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детской неврологии Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Нечипуренко Наталия Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической патофизиологии нервной системы государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии»

Жильцов Иван Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой доказательной медицины и клинической диагностики ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 27 ноября 2024 года в 14:00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.11 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел.: +375 (17) 302-16-21, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан 23 октября 2024 года.

И. о. ученого секретаря совета
по защите диссертаций Д 03.18.11,
д-р мед. наук, профессор



О.А. Пересада

ВВЕДЕНИЕ

Развитие болезни Паркинсона (БП) определяется сложным взаимодействием наследственных и ненаследственных факторов [Е. В. Мазуренко, В. В. Пономарев, Р. А. Сакович, 2014; С. А. Лихачёв, А. Г. Буняк, 2016]. Результаты патоморфологических исследований головного мозга демонстрируют признаки воспаления в базальных ядрах и черной субстанции (ЧС), а лабораторные исследования часто выявляют изменения иммунных показателей в сыворотке крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) у пациентов с БП по сравнению с группой контроля [P. L. McGeer et al., 1988; M. Sawada, K. Imamura, T. Nagatsu, 2006; S. Saiki, 2014]. Описано участие таких негенетических факторов, как значимые стрессовые ситуации [A. D. Smith, S. L. Castro, M. J. Zigmond, 2002; Ke Zou et al., 2013] и болевые синдромы [Н. Н. Павлишина, И. В. Хубетова, А. Н. Стоянов, 2017; О. А. Аленикова, С. А. Лихачёв, Т. В. Свинковская, 2017] в дебюте моторных симптомов и при прогрессировании БП. Однако до сих пор остаются неизвестными механизмы влияния этих состояний на дебют и прогрессирование заболевания.

Усовершенствование различных вариантов лечения БП, направленных на замедление ее прогрессирования, является социально значимой и актуальной задачей современной медицины. Применение биомедицинского клеточного продукта (БМКП) на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) костного мозга в терапии БП является перспективным [I. Ullah, R. V. Subbarao, G. J. Rho, 2015; R. M. Samsonraj et al., 2017; С. Г. Пашкевич, Ю. Г. Шанько, 2018]. Несмотря на высокую эффективность клеточной терапии при ряде заболеваний нервной системы [А. С. Федулов и соавт., 2015], использование данного вида лечения при БП до конца не изучено.

Проведение научно обоснованных исследований для уточнения развития БП, разработка и внедрение в практическое здравоохранение методов диагностики и лечения ее прогрессирования представляют собой актуальную, практико-ориентированную задачу не только для белорусской, но и для мировой неврологии, а также определяют научную новизну и цель данной работы.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами) и темами

Исследование выполнено в рамках заданий: 1) 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» Государственной научно-технической программы «Новые

методы оказания медицинской помощи» подпрограммы «Трансплантация клеток, органов и тканей» (срок выполнения: 2017–2019 гг., № госрегистрации: 20171292); 2) 2.62 «Определение риска быстрого прогрессирования болезни Паркинсона» Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» на 2016–2020 годы, подпрограммы «Диагностика и терапия заболеваний» (срок выполнения: 2019–2020 гг., № госрегистрации: 20190441); 3) 1.4 «Разработать алгоритм прогнозирования течения неврологических заболеваний (рассеянный склероз, воспалительные полиневропатии, болезнь Паркинсона) у пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию (COVID-19)» Государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» (срок выполнения: 2021–2023 гг., № госрегистрации: 20210704).

Работа удостоена Гранта Президента Республики Беларусь в области здравоохранения в 2019 г.

Тема диссертации соответствует п. 4 «Приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы» (согласно постановлению Совета Министров Республики Беларусь № 190 от 12.03.2015), п. 4 «Приоритетных направлений научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2016–2020 годы» (согласно Указу Президента Республики Беларусь № 166 от 22.04.2015) и п. 2. «Приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы» (согласно Указу Президента Республики Беларусь № 156 от 07.05.2020).

Цель исследования: научно обосновать, разработать и внедрить в практическое здравоохранение методы диагностики и лечения прогрессирования болезни Паркинсона путем экспериментального моделирования и клинического исследования.

Задачи исследования:

1. Определить клинические, метаболические и морфологические изменения у экспериментальных животных (крысы) при моделировании паркинсонического синдрома нейровоспалительного и нейротоксического генеза.

2. Оценить влияние аллогенных (крысиных) мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга на двигательные проявления и лабораторные характеристики паркинсонического синдрома у экспериментальных животных.

3. Изучить особенности дебюта моторных симптомов болезни Паркинсона, выделить его возможные провоцирующие факторы.

4. Исследовать клинические и лабораторные характеристики пациентов с различными типами прогрессирования болезни Паркинсона.

5. Изучить влияние воспалительных реакций на патогенез клинических симптомов болезни Паркинсона.

6. Разработать, провести клиническую апробацию и внедрить метод диагностики разных типов прогрессирования болезни Паркинсона на ранних стадиях заболевания.

7. Обосновать применение, провести клиническую апробацию и оценить клинико-лабораторную эффективность однократного внутривенного введения биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациентов с болезнью Паркинсона.

Объект исследования: пациенты с болезнью Паркинсона и лабораторные животные (крысы) с паркинсоническим синдромом.

Предмет исследования: двигательные нарушения при паркинсоническом синдроме; морфологическая оценка дегенеративных изменений нейронов ЧС и базальных ядер крыс; моторные и немоторные симптомы БП; лабораторные показатели: уровни интерлейкина-1 β , интерлейкина-10, альбумина, кортизола и антител к α -синуклеину в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у пациентов с болезнью Паркинсона, дофамина и гомованилиновой кислоты в сыворотке крови и спинномозговой жидкости у лабораторных животных.

Научная новизна

1. Впервые на лабораторных животных при интраназальном введении различных доз липополисахарида (1, 10, 100 мкг/кг/мл) получено морфологическое подтверждение развития доклинической стадии паркинсонического синдрома нейровоспалительного генеза в виде дегенеративных изменений в базальных ядрах и черной субстанции без сопутствующих моторных нарушений.

2. При гистологическом исследовании базальных ядер и черной субстанции крыс с моделированным паркинсоническим синдромом различной этиологии (нейротоксическим или нейровоспалительным) определены одинаковые дегенеративные изменения нейронов, что подтверждает универсальность механизмов реализации негативного воздействия данных этиологических факторов на центральную нервную систему.

3. Исследование содержания дофамина и гомованилиновой кислоты наряду с визуальной оценкой моторных симптомов при синдроме нейротоксического паркинсонизма у лабораторных животных экспериментально подтвердило паракринный эффект однократной инфузии аллогенных (крысиных) мультипотентных мезенхимальных стволовых

клеток костного мозга в виде регресса двигательных нарушений и восстановлении уровней дофамина, гомованилиновой кислоты в раннем посттрансплантационном периоде.

4. На основании результатов лабораторных исследований сыворотки крови и спинномозговой жидкости и оценки динамики клинических проявлений болезни Паркинсона получены доказательства влияния воспалительных реакций на патогенез заболевания, что обуславливает формирование типа ее прогрессирования и выраженность немоторных симптомов.

5. При ретроспективном исследовании анамнеза заболевания пациентов с болезнью Паркинсона впервые выявлены приобретенные факторы, влияющие на антиципацию моторных симптомов заболевания и формирование быстрого типа ее прогрессирования.

6. На основании анализа морфологических характеристик базальных ядер и черной субстанции при моделировании нейровоспалительного и нейротоксического паркинсонического синдромов и динамики лабораторных показателей (обмена дофамина и иммунологических) в сыворотке крови и спинномозговой жидкости при формировании и прогрессировании клинических симптомов паркинсонического синдрома и болезни Паркинсона, а также данных о регрессе клинических симптомов и лабораторных нарушений под влиянием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга впервые предложен к применению в научных и практических целях термин «нейровоспалительная пенумбра» для четкого выделения мишени для терапии, изменяющей течение болезни Паркинсона.

7. На основании проведенных исследований впервые описаны клинические и лабораторные особенности пациентов с различными типами прогрессирования болезни Паркинсона, а также определена их чувствительность и специфичность для ранней диагностики быстрого типа прогрессирования заболевания.

8. У пациентов с болезнью Паркинсона получены новые данные, свидетельствующие о том, что однократная инфузия биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга вызывает улучшение самочувствия через сутки, а также уменьшение моторной симптоматики и изменение уровня цитокинов через 7 суток после клеточной терапии.

9. Создана база данных пациентов с болезнью Паркинсона, позволившая установить факторы, ассоциированные с развитием моторных симптомов заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Морфологические изменения в базальных ядрах и черной субстанции, оцененные через 7 суток после завершения 21-дневного курса ежедневной интраназальной аппликации одной из доз липополисахарида (1, 10 или 100 мкг/кг/мл) при моделировании паркинсонического синдрома нейровоспалительного генеза, характеризуются одинаковой тяжестью, объемом и степенью поражения нейронов ($p > 0,05$) во всех группах экспериментальных животных (крысы). Этот факт в совокупности с данными об отсутствии клинических проявлений двигательных нарушений при сравнении с результатами оценки моторного статуса контрольной группы ($p > 0,05$) свидетельствует о существовании доклинической стадии в модели нейровоспалительного паркинсонического синдрома, при которой определяются только морфологические изменения и отсутствуют моторные проявления.

2. Развитие паркинсонического синдрома нейровоспалительного (использование липополисахарида) или нейротоксического (использование ротенона) генеза у крыс сопровождается прогрессирующим уменьшением уровней дофамина ($p < 0,05$) и гомованилиновой кислоты ($p < 0,05$) в сыворотке крови и дофамина в спинномозговой жидкости ($p < 0,05$), что подтверждается при лабораторном исследовании показателей на 7-й и 21-й дни от начала эксперимента. Прогрессирующее нарушение обмена дофамина проявляется развитием моторных нарушений у крыс с нейротоксической моделью. Результаты экспериментальных исследований подтверждают нейромедиаторный дефицит, развивающийся под действием различных этиологических факторов, лежащий в основе клинических проявлений паркинсонизма.

3. Однократное внутривенное струйное введение лабораторным животным с нейротоксическим паркинсоническим синдромом взвеси аллогенных (крысиных) мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга приводит к уменьшению моторных нарушений и повышению уровней дофамина и гомованилиновой кислоты, измеренных в сыворотке крови на 7-е и 21-е сутки после начала эксперимента. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии клеточной терапии на патогенетические механизмы паркинсонического синдрома посредством паракринного действия в раннем (до 3 недель) посттрансплантационном периоде.

4. Ретроспективный анализ дебюта моторных симптомов болезни Паркинсона демонстрирует наличие у ряда пациентов провоцирующих факторов. У пациентов как с наличием, так и их отсутствием нет отличий по частоте клинических форм заболевания ($p > 0,05$), что свидетельствует

о едином патогенезе моторных проявлений болезни Паркинсона. При этом впервые было выявлено, что случаи сочетания острого значимого психологического стресса и болевого синдрома в дебюте заболевания с наличием более 2 следующих факторов: герпес-вирусные инфекции и/или хронические воспалительные заболевания ЛОР-органов, челюстно-лицевой системы, и/или воздействие пестицидов/гербицидов характеризуются более ранним дебютом моторных симптомов по сравнению с пациентами без предшествующего воздействия каких-либо факторов ($p < 0,05$). Этот факт отражает синергизм действия факторов окружающей среды и уже существующего субклинического премоторного нейромедиаторного дефицита в виде несемейной антиципации двигательных проявлений болезни Паркинсона.

5. Определение иммунных показателей в сыворотке крови и спинномозговой жидкости позволяет выявить отличия в уровнях цитокинов ($p < 0,05$), антител к α -синуклеину ($p < 0,05$) и альбуминовом коэффициенте ($p < 0,05$) между пациентами с болезнью Паркинсона и лицами группы сравнения, а также между пациентами с быстрым и медленным типами прогрессирования заболевания, что отражает участие воспалительных реакций в патогенезе болезни Паркинсона и позволяет разрабатывать новые методы лечения.

6. Проспективное обсервационное когортное исследование за пациентами с неопределенным типом прогрессирования болезни Паркинсона (односторонняя моторная симптоматика при длительности течения болезни Паркинсона до 5 лет) демонстрирует, что величина альбуминового коэффициента менее 83,95, уровень антител к α -синуклеину в сыворотке крови более 4,11 нг/мл и результат оценки когнитивных нарушений по Монреальской шкале оценки когнитивных функций менее 26 баллов являются предикторами риска развития быстрого типа прогрессирования болезни Паркинсона, что позволяет прогнозировать характер течения заболевания на его ранней стадии и научно обоснованно проводить отбор пациентов для применения терапии, изменяющей течение заболевания.

7. Пациенты с быстрым типом прогрессирования болезни Паркинсона в отличие от лиц с медленной прогрессией заболевания по результатам сравнительного анализа выраженности немоторных симптомов характеризуются большей выраженностью следующих нарушений: когнитивного снижения, депрессивных нарушений и дневной сонливости. Полученные данные свидетельствуют о более быстром развитии не только моторных, но и немоторных симптомов заболевания у пациентов с быстрым типом прогрессирования. Корреляции величины Монреальской шкалы оценки когнитивных функций и уровня кортизола в сыворотке крови

и спинномозговой жидкости, Монреальской шкалы оценки когнитивных функций и альбуминового коэффициента, показателя индекса качества сна Питтсбурга и уровня антител к α -синуклеину в сыворотке крови, величины шкалы дневной сонливости Эпворта и альбуминового коэффициента у пациентов с быстрым типом прогрессирования заболевания подтверждают участие иммунных реакций в формировании немоторных проявлений болезни Паркинсона.

8. Однократная внутривенная инфузия биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в дозе $11,9 [10,0-19,2] \times 10^6$ (0,16 млн/кг массы тела) улучшает общее самочувствие пациентов с болезнью Паркинсона по шкале общего клинического впечатления на первые сутки, а также изменяет уровни лабораторных иммунных показателей и выраженность моторных симптомов заболевания на седьмые сутки после введения по сравнению с лицами группы сравнения, получившими однократную внутривенную инфузию физиологического раствора натрия хлорида (плацебо) ($p < 0,05$). Этот факт подтверждает ранний паракринный эффект введения клеточной культуры на патогенетические механизмы формирования клинических симптомов у лиц с болезнью Паркинсона.

Личный вклад соискателя

Соискателем лично определены тема, цель, задачи и разработан протокол исследования, которые согласованы с научным консультантом. Анализ отечественной и зарубежной литературы, патентно-информационный поиск по теме диссертационного исследования выполнены автором самостоятельно.

Создание нейровоспалительной модели паркинсонического синдрома, оценка двигательной активности и неврологического статуса лабораторных животных, забор сыворотки крови и СМЖ, головного мозга крыс выполнено Ж. А. Гладковой, государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси» (Институт физиологии НАН Беларуси). Создание нейротоксической модели паркинсонического синдрома у крыс (выполнение подкожных инъекций ротенона, внутривенное введение суспензии аллогенных (крысиных) ММСК костного мозга (КМ) экспериментальным животным, наблюдение за их состоянием, забор сыворотки крови и СМЖ у крыс) выполнено аспирантом кафедры неврологии и нейрохирургии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (ГУО БелМАПО) Н. Е. Алейниковой. Она совместно с сотрудниками Научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) ГУО БелМАПО осуществляла забор головного мозга и проводила оценку двигательной активности лабораторных животных.

Морфологическое исследование биоматериала проведено кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником Института физиологии НАН Беларуси Т. Е. Кузнецовой.

Выделение, пробоподготовка и введение аллогенных (крысиных) ММСК КМ проведены на базе НИЛ ГУО БелМАПО. Выделение и пробоподготовка БМКП на основе аутологичных ММСК КМ пациентов проведены на базе НИЛ ГУО БелМАПО и лаборатории клеточных биотехнологий ГУ «Минский научно-практический центр трансплантологии, хирургии и гематологии». Лабораторные исследования проведены на базе НИЛ ГУО БелМАПО.

Соискателем самостоятельно проведен набор пациентов основной и контрольной групп, забор сыворотки крови и СМЖ, создание компьютерной базы пациентов с БП. Совместно с сотрудниками кафедры неврологии и нейрохирургии ГУО БелМАПО (Н. Е. Алейникова и В. А. Чижик) проведена оценка выраженности немоторных симптомов и введение БМКП на основе аутологичных ММСК КМ пациентам с БП.

Соискателем лично проанализированы данные доклинического и клинического этапов, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации (вклад диссертанта 100 %).

Статистическая обработка результатов исследования проведена самостоятельно соискателем с проверкой полученных данных доцентом кафедры финансового менеджмента и информатизации здравоохранения ГУО БелМАПО, канд. экон. наук А. Л. Стефаниным.

Участие соисполнителей в проведенной работе отражено в совместных печатных работах, научных докладах, патенте на изобретение. Вклад соискателя в написание научных статей в соавторстве составляет: не менее 75 % [1–А, 8–10–А, 12–А, 13–А, 27–А, 29–А, 30–А, 33–А, 43–47–А, 50–А, 58–А, 63–А], до 50% [2–6–А, 11–А, 15–19–А, 21–26–А, 28–А, 31–А, 32–А, 34–А, 35–А, 38–42–А, 48–А, 49–А, 51–А, 60–62–А].

Все разделы диссертации, ее оформление и автореферат работы написаны соискателем самостоятельно.

Автор принимал непосредственное участие в оформлении заявки на изобретение (личный вклад 75 %). По теме диссертации разработаны и утверждены в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь 2 инструкции по применению (личный вклад 80 %).

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные результаты исследований были представлены и обсуждены на 30 отечественных и зарубежных научных и научно-практических конференциях, конгрессах, форумах и междисциплинарных круглых столах.

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность учреждений здравоохранения Республики Беларусь и в учебный процесс (12 актов внедрения).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано: 36 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий (общим объемом публикаций 22,59 авторского листа); 15 материалов конференций и тезисов докладов (общим объемом публикаций 1,88 авторского листа). Получен 1 патент. Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждены 2 инструкции по применению.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, 6 глав основной части диссертации, заключения, библиографического списка и приложений. Написана на русском языке и изложена на 184 страницах машинописного текста, содержит 22 иллюстрации, 42 таблицы и 4 выписки из историй болезни. Список использованных источников включает в себя 317 библиографических наименований (33 русскоязычных и 284 зарубежных) и 60 публикаций соискателя (изложены на 33 страницах). Приложения представлены на 55 страницах.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

Экспериментальный этап исследования заключался в изучении клинических и лабораторных характеристик экспериментальных животных (крысы) с паркинсоническим синдромом (ПС) различной этиологии (нейротоксического и нейровоспалительного генеза). Критерии включения: нормальное исходное состояние неврологического и общего статуса (оценка внешнего вида и активности крыс). Оценка ПС проводилась при исследовании моторной активности животных (ригидности, птоза и постуральной нестабильности) на 7-е и 21-е сутки после первого введения ротенона или липополисахарида (ЛПС). В эти же сроки исследовались лабораторные показатели обмена дофамина (пг/мл), гомованилиновой кислоты (нг/мг) в сыворотке крови (К) и СМЖ. Для сравнения результатов использовались данные крыс контрольной группы.

Нейровоспалительная модель ПС получена на крысах-самцах линии Wistar массой 320–350 г согласно методике, предложенной He et al. (2013). Для создания модели формировали однородные группы лабораторных

животных с учетом веса, возраста и генетической линии. В основной группе (n = 21) использовали интраназально ЛПС *Escherichia coli* (ЛПС, 0111: B4, List Biological Laboratories, Campbell, CA; lot № LPS-25E, концентрация 1 мкг/мл) в объеме 50 мкл по 25 мкл в каждую носовую полость ежедневно в первой половине дня в течение 21 дня. В зависимости от дозы ЛПС крысы были разделены на 3 группы сравнения со следующей нумерацией: «2-я группа» (n = 7) получала ЛПС в дозе 1 мкг/кг/мл; «3-я группа» (n = 7) – ЛПС в дозе 10 мкг/кг/мл; «4-я группа» (n = 7) – ЛПС в дозе 100 мкг/кг/мл.

Контрольной группе (с дальнейшей нумерацией «1-я группа» (n = 14)) лабораторных животных вводили апирогенный физиологический раствор (АФР, Abbott Laboratories North Chicago, ИЛ 6006, lot № 18-379-DK) интраназально в эквивалентном объеме.

Через 7 суток после окончания введения ЛПС или АФР у животных после декапитации осуществляли забор биологического материала (головной мозг) с последующим морфологическим исследованием.

Нейротоксическая модель ПС получена на белых крысах массой 250–350 г (n = 80) согласно методике Fleming et al. (2004) путем введения ротенона подкожно в ростральные участки межлопаточной области в дозах 2,0 мг/кг по прерывистой схеме 4 раза в неделю на протяжении 3 недель, всего 13 введений. Для растворения ротенона использовали 99 %-ный раствор диметилсульфоксида и 20 %-ный раствор «Липовеноза» в соотношении 1:1.

Контрольную группу составили животные, которым при аналогичных условиях вводили 99 %-ный раствор диметилсульфоксида и 20 %-ный раствор «Липовеноза» в соотношении 1:1 в эквивалентном объеме (n = 20). Формирование групп осуществляли методом случайного отбора.

Эффективность клеточной терапии оценивалась при однократном внутривенном введении взвеси аллогенных (крысиных) ММСК КМ лабораторным животным с нейротоксической моделью ПС в дозе 1×10^6 кл/кг в 0,3 мл физиологического раствора после 9-кратного введения ротенона. Динамику ПС у крыс также оценивали клинически и лабораторно по изменению двигательной активности и по уровням дофамина и гомованилиновой кислоты. Исследование моторной активности животных (ригидности, птоза и постуральной нестабильности) проводили на 7-е и 21-е сутки после введения ММСК. В эти же сроки определяли уровни дофамина и гомованилиновой кислоты в К и СМЖ.

ММСК выделяли из моноклеарной фракции клеток красного костного мозга бедренных костей лабораторных крыс (n = 5).

При изучении микропрепаратов проводили подсчет количества нейронов: неизмененных, со слабым изменением структуры, с грубыми

нарушениями структуры и клеток-«теней» (отсутствующие нейроны). Обработка полученных данных заключалась в определении тяжести, объема и степени поражения нейронов ЧС и базальных ядер по методике А. И. Чубинидзе. Подсчитывали 3–5 полей зрения.

Клинический этап исследования. Определение показателей диагностики типов прогрессирования БП являлось одноцентровым проспективным обсервационным когортным исследованием. Распределение пациентов по группам: 1) с быстрым типом прогрессирования БП, если при неврологическом осмотре выявлялась двусторонняя моторная симптоматика, а от дебюта первых двигательных нарушений до вхождения в исследование прошло менее 5 лет; 2) с медленным типом прогрессирования, если при первичном осмотре симптоматика была с одной стороны, а длительность заболевания более 5 лет; 3) с неопределенным типом, когда при осмотре регистрировалась односторонняя моторная симптоматика, а длительность заболевания была до 5 лет. Лица с неопределенным типом ежегодно наблюдались для диагностики итогового типа прогрессирования.

Критерии включения в основную группу: диагноз БП, установленный согласно общепринятым диагностическим критериям (UK Brain Bank, 1992); возраст 18–85 лет; тяжесть заболевания по шкале Хен и Яра (1967): 1,0–3,0 ст.; общее состояние пациента должно было ему позволять понимать и выполнять требуемый график посещений/исследований; отсутствие очаговых (посттравматических, постинсультных и постэнцефалитических) и/или выраженных атрофических изменений в области базальных ядер по данным нейровизуализации.

Критерии исключения: все виды мышечной дистонии в анамнезе и развившиеся в течение 5 лет после дебюта моторных симптомов БП; декомпенсация соматической патологии на момент включения в исследование; снижение слуха и зрения средней и тяжелой степени на момент включения в исследование; когнитивные нарушения выраженной степени на момент включения в исследование; аутоиммунные заболевания в анамнезе или развившиеся в течение 5 лет после дебюта моторных симптомов БП; сепсис в анамнезе (1 год до включения в исследование); онкологические заболевания, в том числе и выявленные в течение 5 лет после дебюта моторных симптомов БП; положительный результат на вирус иммунодефицита человека, гепатита В, гепатита С, сифилис; подтвержденное результатами лабораторных анализов нарушение обмена меди или функционирования щитовидной железы в анамнезе.

Контрольную группу составили пациенты, которые поступали на плановое хирургическое лечение (грыжесечение или пластика малого таза под перидуральной анестезией) в УЗ «5-я городская клиническая больница»

г. Минска. Лица с такими нозологическими формами не нуждались в дополнительном поясничном проколе для взятия СМЖ.

Все пациенты основной и контрольной группы обследованы с помощью традиционных общесоматического и неврологического осмотров, лабораторного метода. Регистрация немоторных симптомов проводилась путем заполнения следующих шкал: шкалы депрессии Гамильтона (HDRS), Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA), опросника немоторных симптомов болезни Паркинсона (PD NMS QUESTIONNAIRE), индекса качества сна Питтсбурга (PSQI), шкалы дневной сонливости Эпворта (ESS).

Лабораторные исследования проводили с целью дифференцированной диагностики экстрапирамидного синдрома, а также изучения проницаемости гематоэнцефалического (ГЭБ) и гематоликворного барьера и определение уровня антител к α -синуклеину, цитокинов и кортизола в К и СМЖ. Забор биологических жидкостей (К и СМЖ) для исследования не производили при наличии острых воспалительных заболеваний и/или обострений хронических воспалительных заболеваний на момент взятия биообразцов или за 2 недели до него.

Антитела к α -синуклеину (нг/мл) определяли иммуноферментным методом с помощью набора ELISA (от англ. Enzyme-linked Immunosorbent Assay, иммуноферментный анализ) Kit for Anti-Synuclein Alpha Antibody, компании Cloud-Clone Corp. (ССС, США) согласно инструкции к набору.

Уровни кортизола (нмоль/л), интерлейкина- 1β (ИЛ- 1β) (пг/мл) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) (пг/мл) были определены с использованием панели ELISA (Vector-Best, Российская Федерация).

Альбуминовый коэффициент (Qalb) рассчитывали как отношение уровня альбуминов в К (мг/мл) к уровню альбуминов в СМЖ (мг/мл) согласно методике А. М. Лукьянова (2008). Для количественного определения микроальбумина в СМЖ использовали иммунотурбодиметрический метод. Исследование проводили с помощью коммерческих наборов реагентов компании Dialab (Австрия), с помощью автоматического анализатора Dialab (Австрия). Альбумин в К определяли спектрофотометрически с помощью наборов компании «Кормэй» (Польша).

Забор СМЖ производили путем поясничного прокола в первой половине дня. В это же время проводили взятие крови методом венопункции.

Заполнение опросников при определении выраженности немоторных симптомов проводилось в первой половине дня после приема противопаркинсонических препаратов.

Метод системного (внутривенного) введения БМКП на основе аутологических ММСК КМ. За 10 минут до начала инфузии выполняли

премедикацию, состоящую из внутривенного введения 60 мг преднизолона. Введение однократной дозы взвеси клеток в дозе $11,85 [10,00-19,20] \times 10^6$ клеток (0,16 млн/кг массы тела) в объеме 10–20 мл готового раствора выполняли шприцем внутривенно медленно под контролем общего состояния пациента сразу после их доставки в отделение. Применяли метод «ослепления» для минимизации осознанной или неосознанной возможности влияния на результаты исследования. Распределение пациентов по группам происходило методом случайной выборки. Оценка общего улучшения пациентов проводилась путем заполнения шкалы общего клинического впечатления (CGI-I). Для изучения влияния БМКП на иммунные процессы определяли уровни цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-10) в К, взятых до введения клеток и на 7-е сутки после введения. В эти сроки оценивали моторные симптомы по Разделу III Единой рейтинговой шкалы БП (MDS-UPDRS) Международного общества двигательных расстройств (2008) в период выключения (off-period, после 12–24-часового перерыва в приеме противопаркинсонических препаратов) и в период включения (on-period, через час после приема противопаркинсонических средств).

Методы статистической обработки. Числовые результаты представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей (Me [25 %; 75 %]). Использовали непараметрические методы статистики (программный пакет STATISTICA 6.0 для персонального компьютера). Для оценки точности предсказаний моделей использовался ROC-анализ (Receiver Operator Characteristic) (программный пакет MedCalc, version 22.006, MedCalc Software Ltd). Критический уровень статистической значимости равнялся $p < 0,05$. Построение рисунков и диаграмм проводили с помощью программ MS Excel и STATISTICA 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Нейровоспалительная модель ПС. У животных всех групп не было выявлено изменений в характеристиках моторной активности на фоне инстиллирования различных доз ЛПС. В течение всего эксперимента не было гибели животных.

После интраназального введения различных доз ЛПС (1, 10 или 100 мкг/кг/мл) в стриатуме и компактной части ЧС исследуемых групп при морфологическом исследовании наблюдались значительные однотипные изменения гистоструктуры.

В таблице 1 представлены данные о степени повреждения нейронов ЧС и базальных ганглиев после 21 дня интраназальной инстилляции ЛПС (1, 10 или 100 мкг/кг/мл) и результаты статистического анализа.

Таблица 1 – Степень поражения нейронов ЧС и базальных ганглиев после 21 дня интраназального введения ЛПС в дозах 1, 10, 100 мкг/кг/мл

Группы ЛПС	ЧС			Базальные ганглии		
	Тяжесть поражения, %	Объем поражения, %	Степень поражения, %	Тяжесть поражения, %	Объем поражения, %	Степень поражения, %
ЛПС 1, n = 7	57,14 [56,36; 58,33]	87,76 [87,27; 89,36]	72,45 [71,82; 73,92]	44 [41,3; 48,08]	71,43 [67,39; 78,31]	57,14 [54,36; 62,69]
ЛПС 10, n = 7	56 [53,85; 58,33]	88,24 [86,54; 89,59]	72,12 [70,2; 73,96]	40,38 [36; 42,86]	73,08 [68; 75]	56,73 [52; 59,1]
ЛПС 100, n = 7	58,82 [56; 60]	88 [86; 91,3]	73,47 [72; 75,49]	44 [39,22; 48,08]	80 [72,55; 83,64]	62 [55,89; 66,35]
Kruskal–Wallis test	H = 2,79 p = 0,25	H = 0,29 p = 0,86	H = 1,18 p = 0,55	H = 5,82 p = 0,054	H = 4,73 p = 0,09	H = 3,84 p = 0,15

Морфологически подтвержденный ПС нейровоспалительного генеза с отсутствием моторных изменений подтверждает наличие стадии доклинических изменений при нейровоспалительном ПС [17–А, 27–А, 28–А, 32–А, 41–А].

Нейротоксическая модель ПС. У крыс после первого введения ротенона выявлены моторные признаки ПС в форме ригидности, птоза и постуральной нестабильности через 2–3 суток.

После трехкратного введения ротенона (7-е сутки наблюдения) ригидность (измерение длины тела от шеи до основания хвоста) в 1–2 балла отмечалась у 70 % крыс (56 животных из 80); постуральная нестабильность 1 балл – у 10 % (8 из 80); птоз 1 балл – у 10 % (8 из 80).

После 9-кратного введения ротенона (21-е сутки наблюдения), до введения крысиных ММСК ригидность 1–2 балла наблюдалась в 100 % случаев (60 крыс из 60), постуральная нестабильность 1 балл – у 20 % крыс (12 из 60), птоз 1 балл – у 46,7 % (28 животных из 60).

Ротенон-индуцированный ПС патоморфологически также характеризовался развитием деструктивных изменений в нигростиатной системе. Полученные данные свидетельствуют о схожих нейродегенеративных проявлениях ПС различного генеза (токсического и воспалительного) [16–А – 18–А, 21–А, 27–А, 28–А, 32–А, 41–А].

Динамика лабораторных показателей при формировании ПС. Результаты проведенных лабораторных исследований демонстрируют прогрессирующее уменьшение уровней метаболитов дофамина в К и СМЖ экспериментальных животных на 7-й и 21-й день. Так, в группе «ЛПС 1 мкг/кг/мл» в К на 7-е сутки (n=10) уровень дофамина – 80,5 [78,2; 81,4] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 2,73 [2,65; 2,79] нг/мл, а на 21-е сутки (n=10) уровень дофамина – 76,9 [75,7; 78,1] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 2,54 [2,4; 2,61] нг/мл. В группе «Ротенон» в К на 7-е сутки (n=10)

уровень дофамина – 79,4 [78,6; 80,1] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 2,7 [2,48; 2,82] нг/мл, а на 21-е сутки (n=10) уровень дофамина – 72,5 [71,7; 75,6] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 2,14 [2,07; 2,36] нг/мл. В СМЖ в группе «ЛПС» на 7-е сутки уровень дофамина – 2,51 [2,41; 2,86] пг/мл, а на 21-е сутки – 2,25 [2,14; 2,34] пг/мл, при этом в группе «Ротенон» на 7-е сутки уровень дофамина – 2,76 [2,63; 2,92] пг/мл, а на 21-е сутки – 2,08 [1,96; 2,14] пг/мл. Отличия между всеми показателями при сравнении величин 7-х и 21-х суток в контрольных группах носили статистически значимый характер ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$).

В группе контроля (99 %-ный раствор диметилсульфоксида и 20 %-ный раствор «Липовеноза») в К на 7-е сутки уровень дофамина – 87,3 [85,7; 93,1] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 3,24 [3,18; 3,53] нг/мл, в СМЖ уровень дофамина – 2,75 [2,37; 3,02] пг/мл. На 21-е сутки уровень дофамина – 88,4 [87,8; 90,2] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 3,21 [3,13; 3,56] нг/мл, в СМЖ уровень дофамина – 2,73 [2,41; 3,14] пг/мл. Отличия между показателями при сравнении величин 7-х и 21-х суток не носили статистически значимый характер ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$).

В группе контроля (АФР) в К 7-е сутки уровень дофамина – 87,1 [81,6; 89,5] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 3,37 [3,18; 3,66] нг/мл, в СМЖ уровень дофамина – 2,98 [2,71; 3,37] пг/мл. На 21-е сутки уровень дофамина – 87,8 [86,2; 91,8] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 3,24 [3,08; 3,37] нг/мл, в СМЖ уровень дофамина – 2,92 [2,71; 3,35] пг/мл. Отличия между показателями при сравнении величин 7-х и 21-х суток не носили статистически значимый характер ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$).

Полученные результаты отражают прогрессирующее нарушение функции дофаминергических нейронов под влиянием различных по этиологии нейротропных факторов [27–А, 28–А, 48–А].

Эффект введения взвеси аллогенных (крысиных) ММСК КМ при ПС. При оценке статуса на 7-е сутки после введения крысиных ММСК у всех экспериментальных животных отмечалась ригидность выраженностью в 1–2 балла, постуральная нестабильность 1 балл наблюдалась в 10 % случаев (1 крыса из 10), птоз 1 балл – в 20 % (2 крысы из 10). При оценке статуса на 21-е сутки у животных основной группы отмечался полный регресс постуральной нестабильности и птоза, а также дальнейший регресс ригидности. Результаты говорят о значимом влиянии инфузии клеток на восстановление моторной активности экспериментальных животных.

При сравнении среднего уровня содержания дофамина в К крыс в посттрансплантационном периоде отмечается усиление выработки дофамина в экспериментальной группе (ротенон + аллогенные (крысиные) ММСК) после введения клеток. Так, в К на 7-е сутки уровень дофамина = 72,6

[69,8; 73,5] пг/мл, гомованилиновой кислоты – 2,17 [2,12; 2,28], а на 21-е сутки уровень дофамина – 81 [76,9; 83,8] пг/мл, а гомованилиновой кислоты – 2,73 [2,45; 2,78] нг/мл, в СМЖ на 7-е сутки уровень дофамина – 2,15 [2,09; 2,21] пг/мл, а на 21-е сутки – 2,54 [2,44; 2,86] пг/мл. Отличия между всеми показателями при сравнении величин 7-х и 21-х суток носили статистически значимый характер ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$).

Динамика лабораторных показателей свидетельствует о паракринном действии ММСК на патогенетические механизмы формирования нейротоксического ПС в первый месяц от применения [27–А, 28–А, 30–А].

Клинико-лабораторная характеристика лиц основной и контрольной групп. Основную группу сформировали 207 пациентов (муж. : жен. = 97 : 110, возраст – 65,0 [58,0; 70,0] лет, длительность заболевания на момент первичного осмотра – 5,0 [4,0; 9,0] лет) со следующими формами БП: преимущественно дрожательная – 7 пациентов (3,83 % случаев), смешанная (вошли пациенты с ригидно-дрожательной и дрожательно-ригидной формами) – 137 пациентов (66,18 % случаев) и акинетико-ригидная – 63 пациента (30,43 % случаев).

Когнитивные нарушения по шкале MoCA составили 24,0 [19,0; 26,0] балла. При этом число пациентов с результатом тестирования менее 26 баллов (когнитивное снижение) было 127 человек (61,35 % случаев). Депрессивные нарушения по шкале HDRS составили 11 [8; 14] баллов. Только у 45 человек (21,74 % случаев) результаты тестирования показали от 0 до 7 баллов (нормальное значение). Немоторные нарушения по шкале PD NMS QUESTIONNAIRE составили 10 [7; 14] баллов. Нарушения ночного сна по шкале PSQI составили 6 [3; 9] баллов, а уровень дневной сонливости (шкала ESS) – 5 [3; 7] баллов. Нарушения ночного сна наблюдались у 80,6 % лиц основной группы и были представлены как затруднения засыпания, так и ранними пробуждениями. Только у 19,4 % пациентов было получено нормальное значение баллов (до 5 включительно).

Полученные данные подтверждают важность оценки немоторных симптомов БП [8–А, 9–А, 13–А, 36–А, 37–А].

Контрольную группу составили 34 пациента (муж. : жен = 16 : 18; возраст – 62,0 [57,0–66,0] лет), Статистически значимые различия между лицами основной и контрольной группы по полу и возрасту отсутствовали (соответствующие результаты: $U = 3512$, $z = -0,02$, $p = 0,99$ и $U = 3013$, $z = 1,34$, $p = 0,18$). Клиническая однородность основной и контрольной группы по полу и возрасту свидетельствует об их пригодности для дальнейшей статистической обработки полученных данных.

При сравнении с основной группой когнитивные нарушения у лиц контрольной группы составили 28 [26; 30] баллов ($U = 1294$, $z = -5,9$,

$p < 0,001$); депрессивные нарушения – 3 [2; 7] балла ($U = 1193$, $z = 6,17$, $p < 0,001$); немоторные нарушения – 4 [3; 7] балла ($U = 829$, $z = 7,14$, $p < 0,001$); нарушения ночного сна – 4 [3; 6] балла ($U = 2799$, $z = 1,9$, $p = 0,056$); уровень дневной сонливости – 3,0 [2,0; 4,0] балла ($U = 2087$, $z = 3,8$, $p < 0,001$).

Полученные результаты подтверждают клиническую значимость определения немоторных симптомов БП у лиц с двигательными экстрапирамидными нарушениями [8–А, 9–А, 13–А, 29–А, 30–А, 36–А, 37–А].

Цитокины (ИЛ-1 β (провоспалительный цитокин), ИЛ-10 (противовоспалительный цитокин) и кортизол в К и СМЖ. При сравнении уровней ИЛ-10 и кортизола в К между лицами основной и контрольной группы достоверной разницы установлено не было ($U = 2876,5$, $z = -1,7$, $p = 0,09$; $U = 3475$, $z = -0,12$, $p = 0,91$ соответственно). Пациенты основной группы имели более высокий уровень антител к α -синуклеину 3,56 [2,39; 5,48] нг/мл и ИЛ-1 β 0,85 [0,73; 1,12] пг/мл по сравнению с лицами контрольной группы, где соответствующие величины были 1,29 [0,0; 2,5] нг/мл и 0,7 [0,52; 0,81] пг/мл. Полученные различия носили статистически значимый характер ($U = 1450,5$, $z = 5,49$, $p < 0,0001$ и $U = 2112,5$, $z = 3,7$, $p = 0,0002$ соответственно).

Статистически значимые различия отсутствовали между лицами основной и контрольной группы при сравнении уровней в СМЖ: ИЛ-10 и кортизола ($U = 1188$, $z = -1,06$, $p = 0,29$; $U = 1131,5$, $z = -1,4$, $p = 0,16$); ИЛ-1 β ($U = 1141,5$, $z = 1,35$, $p = 0,18$) и кортизола ($U = 1131,5$, $z = -1,4$, $p = 0,16$). Пациенты основной группы имели статистически значимо ($U = 189$, $z = -7,25$, $p < 0,0001$) более высокую проницаемость ГЭБ (Qalb равнялся 106,7 [83,6; 120,7], что ниже уровня 120 (нижняя граница нормы)) по сравнению с лицами контрольной группы, где аналогичное значение было 182,3 [167,7; 208,6]. Это свидетельствует об имеющемся нарушении проницаемости ГЭБ у пациентов с БП по сравнению с лицами контрольной группы.

Результаты лабораторных исследований говорят об участии воспалительных реакций и нарушении проницаемости ГЭБ в патогенезе БП [8–А, 9–А, 12–А, 13–А, 27–А, 29–А, 30–А, 36–А, 37–А].

Особенности дебюта моторных симптомов БП. 86 (41,5 %) пациентов с БП отметили в анамнезе случаи выраженных острых психологических стрессовых ситуаций. У 15 (17,5 %) пациентов это было не одно, а несколько следовавших друг за другом событий. У 52 (60,5 %) пациентов действие значимых острых стрессовых ситуаций проходило на фоне других факторов: частые герпес-вирусные инфекции (ГВИ), болевой синдром, воспалительные заболевания ЛОР-органов, действие токсических

веществ. У 24 (11,6 %) пациентов выявлены болевые синдромы различной локализации. У 38 (18,4 %) человек было сочетание стрессовой ситуации и болевого синдрома. 4 (1,9 %) пациента отметили в дебюте БП острые респираторные заболевания (ОРЗ). 55 (26,5 %) человек отрицали действие какого-либо лично значимого провоцирующего фактора в течение 1–2 лет до развития БП [7–А, 14–А, 29–А].

При изучении представленности клинических форм в группах с наличием и отсутствием ассоциированных с дебютом БП факторов были получены следующие данные. У пациентов с наличием стресса перед дебютом БП число лиц с акинетико-ригидной формой было 21 (24,4 %) человек, со смешанной – 61 (70,9 %), с преимущественно дрожательной – 4 (4,7 %). У лиц с болевыми синдромами: акинетико-ригидная форма – у 11 (45,8 %) человек, смешанная – у 13 (54,2 %). У пациентов с сочетанием стресса и боли: акинетико-ригидная форма была у 16 (42,1 %) человек, смешанная – у 20 (52,6 %), преимущественно дрожательная – у 2 (5,3 %). У лиц без факторов в анамнезе: акинетико-ригидная форма – у 15 (27,3 %) человек, смешанная – у 39 (70,9 %), преимущественно дрожательная – у 1 (1,8 %). Статистически значимые отличия между группами выявлены не были ($N = 6,45$, $p = 0,09$). Также отсутствовали статистически значимые отличия между группами с развитием моторных симптомов на фоне стресса и без действия значимых факторов ($U = 2250$, $z = 0,48$, $p = 0,63$), при сочетании стресса и боли и без действия значимых факторов ($U = 919$, $z = -0,98$, $p = 0,33$), на фоне боли и без действия значимых факторов ($U = 531$, $z = -1,36$, $p = 0,17$), на фоне боли и при сочетании стресса и боли ($U = 426$, $z = -0,43$, $p = 0,67$). Статистически значимые отличия были только между группами с развитием моторных симптомов на фоне стресса и на фоне боли ($U = 785$, $z = 2,17$, $p = 0,03$). При изучении влияния ассоциированных с дебютом моторных факторов путем сравнения представленности клинических форм между группами с наличием факторов ($n = 148$, т.к. не учитывались случаи с ОРЗ) и их отсутствием ($n = 55$) статистически значимые отличия выявлены не были ($U = 3930$, $z = -0,38$, $p = 0,7$). Полученные данные подтверждают универсальность формирования двигательных симптомов при БП [5–А, 29–А].

Для исключения вклада наследственного фактора в дебют моторных симптомов БП изучили клинико-лабораторные характеристики заболевания у лиц основной группы с неотягощенным семейным анамнезом по тремору и БП. Сравнили возраст дебюта БП среди трех подгрупп пациентов: подгруппа 1 – пациенты без предшествующего воздействия каких-либо факторов; подгруппа 2 – пациенты с предшествующим воздействием какого-либо одного провоцирующего фактора (боль или стресс); подгруппа 3 –

пациенты с предшествующим воздействием двух провоцирующих факторов (боль и стресс). Полученные результаты отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние количества провоцирующих факторов на возраст дебюта моторных симптомов БП.

Показатели	Исследуемые подгруппы			Статистическая значимость различия (Kruskal–Wallis test, H, Mann–Whitney test, U, z, p)
	Подгруппа 1 (n = 45)	Подгруппа 2 (n = 82)	Подгруппа 3 (n = 29)	
Возраст дебюта моторных симптомов, лет	62 [52; 67]	57 [51; 63]	55 [48; 64]	H = 4,22, p = 0,12 U = 1452,5, z = 1,98, p ₁₋₂ = 0,048 U = 520,5, z = 1,46, p ₁₋₃ = 0,15 U = 1172,5, z = 0,11, p ₂₋₃ = 0,91

Примечание – n = число пациентов в подгруппе.

У лиц с сочетанным действием острого значимого психологического стресса и болевого синдрома, а также наличием в анамнезе жизни более 2 других факторов дебют моторных симптомов был в возрасте 48 [41; 60] лет, что статистически значимо раньше (U = 139,5, z = -2,51, p = 0,01) дебюта у лиц без предшествующего воздействия каких-либо факторов – 62 [53; 67] года. Эти данные отражают синергизм взаимодействия факторов окружающей среды и существующего субклинического нейромедиаторного дефицита в виде негенетической, несемейной антиципации моторных проявлений БП [5–А, 7–А, 14–А, 29–А, 30–А, 33–А, 43–А].

Влияние количества факторов на прогрессирование заболевания.

Для изучения влияния приобретенных факторов на прогрессирование БП были сформированы три подгруппы лиц основной группы: подгруппа 1 – отсутствие в анамнезе следующих факторов (острые стрессовые ситуации, болевой синдром, простудные заболевания, частые ГВИ, воспалительные заболевания ЛОР-органов, действие токсических веществ); подгруппа 2 – наличие в анамнезе одного или двух факторов; подгруппа 3 – наличие в анамнезе трех и более факторов. В подгруппу 1 вошло 46 человек, из них быстрый тип прогрессирования был определен у 21 пациента, а медленный – у 25. Отношение лиц с медленным типом прогрессирования к быстрому было 1 : 0,84. В подгруппу 2 вошло 117 человек, из них быстрый тип прогрессирования был определен у 58 пациентов, а медленный – у 59. Отношение лиц с медленным типом прогрессирования к быстрому было 1 : 0,98. В подгруппу 3 вошло 44 человека, из них быстрый тип прогрессирования был определен у 37 пациентов, а медленный – у 7. Отношение лиц с медленным типом прогрессирования к быстрому было 1 : 5,29. Выявленное отличие носило статистически значимый характер

($N = 16,18$, $p = 0,0003$). Получена обратная умеренная линейная зависимость ($R = -0,24$, $t(N-2) = -3,58$, $p = 0,0004$) между числом приобретенных негативных факторов и типом прогрессирования БП. Результаты важны для последующей разработки эффективных профилактических мероприятий и персонализированной терапии, направленной на изменение течения заболевания [30–А, 33–А, 42–А].

Определение клинико-лабораторных предикторов быстрого типа прогрессирования БП. Формирование основной и контрольной группы было начато в апреле 2015-го. К январю 2017 года отобрали 113 человек основной группы. Для поиска клинико-лабораторных маркеров быстрого прогрессирования БП пациенты основной группы были разделены на 3 подгруппы согласно дизайна исследования: подгруппа «А» – пациенты с быстрым типом прогрессирования ($n = 32$); подгруппа «Б» – лица с медленным типом прогрессирования ($n = 26$); подгруппа «В» – пациенты с «неопределенным» типом прогрессирования БП ($n = 55$). Быстро прогрессирующее течение БП выставлялось пациенту и ретроспективно, если сам пациент отмечал моторные симптомы заболевания на второй, ранее не пораженной стороне тела и эти жалобы подтверждали при текущем неврологическом осмотре.

Вначале сравнивались клинико-лабораторные характеристики подгрупп «А» и «Б». В подгруппе «А» дебют моторных симптомов БП был в возрасте 59 [53; 67] лет, длительность заболевания – 5 [3; 7] лет, гендерный состав – муж. : жен. = 12 : 20. А для подгруппы «Б» возраст дебюта моторных симптомов БП – 59 [49; 66] лет ($U = 386$, $z = -0,46$, $p = 0,64$), длительность заболевания – 4,5 [4; 7] лет ($U = 385$, $z = -0,47$, $p = 0,64$), гендерный состав – муж. : жен. = 12 : 14 ($U = 380$, $z = 0,56$, $p = 0,58$) Отсутствие статистически значимых отличий позволило продолжить дальнейшую обработку полученных данных.

Выявлен более низкий уровень когнитивных нарушений, оцененных по шкале MoCA, у лиц с быстрым типом прогрессирования – 24 [19,5; 26] балла по сравнению с медленным типом прогрессирования – 25 [24; 27] баллов ($U = 285,5$, $z = 2,03$, $p = 0,04$). Отличия между подгруппами «А» и «Б» по шкалам HDRS, PD NMS QUESTIONNAIRE, ESS носили статистически незначимый характер ($p > 0,05$).

Изучение лабораторных показателей сыворотки крови установило более высокий уровень антител к α -синуклеину у лиц с быстрым типом прогрессирования БП – 4,14 [3,03; 5,44] нг/мл по сравнению с медленным типом прогрессирования – 2,98 [1,29; 3,92] нг/мл. Полученные отличия носили статистически значимый характер ($U = 270,5$, $z = -2,27$, $p = 0,02$). Установлено, что у лиц подгруппы «А» ИЛ-1 β – 1,03 [0,88; 1,27] пг/мл,

статистически значимо не отличался ($U = 291$, $z = -1,95$, $p = 0,052$) от лиц подгруппы «В» – 0,96 [0,79; 1,08] пг/мл. Выявлено, что ИЛ-10 в подгруппе «А» – 0,42 [0,28; 0,83] пг/мл статистически значимо не отличался ($U = 308$, $z = 1,68$, $p = 0,09$) от лиц подгруппы «В» – 0,69 [0,36; 1,67] пг/мл. Отличия по уровням кортизола в К между подгруппами «А» – 989,9 [696,6; 1200,0] нмоль/л и «Б» – 830,8 [498,5; 1200,0] нмоль/л носили статистически незначимый характер ($U = 325,5$, $z = -1,4$, $p = 0,16$).

Установлена более высокая проницаемость ГЭБ ($Q_{alb} = 97,0$ [78,5; 109,1]) у лиц с быстрым типом прогрессирования по сравнению с медленным типом ($Q_{alb} = 112,6$ [98,2; 130,3]). Полученная разница носила статистически значимый характер ($U = 238$, $z = 2,8$, $p = 0,005$). Установлено, что в СМЖ у лиц подгруппы «А» ИЛ-1 β составил – 1,03 [0,84; 1,37] пг/мл статистически значимо не отличался ($U = 296$, $z = -1,87$, $p = 0,06$) от лиц подгруппы «В» – 0,91 [0,8; 1,11] пг/мл. Выявлено, что ИЛ-10 в подгруппе «А» – 0,76 [0,45; 1,14] пг/мл статистически значимо не отличался ($U = 301$, $z = 1,79$, $p = 0,07$) от лиц подгруппы «В» – 0,98 [0,64; 1,45] пг/мл. Отличия по уровням кортизола в К между подгруппами «А» – 21,3 [15,7; 36,4] нмоль/л и «Б» – 25,2 [18,6; 33,4] нмоль/л также носили статистически незначимый характер ($U = 403,5$, $z = 0,19$, $p = 0,85$).

В зависимости от результатов клинического осмотра и лабораторных данных пациенты с неопределенным типом течения БП (58 человек) были распределены на 2 группы: «возможно быстро прогрессирующее» течение (22 (37,9 %) пациента) и «возможно медленно прогрессирующее» течение БП (36 (62,1 %) пациентов). Разделение пациентов на группы было основано на результатах ROC-анализа клинических и лабораторных показателей.

Выявлены статистически значимые отличия ($p = 0,023$, $AUC = 0,663$, чувствительность 100 %, специфичность 27 %) между пациентами с различными формами (быстро- и медленно прогрессирующими) БП при значении результата тестирования по MoSA менее 26 баллов.

Уровень антител к α -синуклеину в К более 4,11 нг/мл показал статистически значимое отличие ($p = 0,046$, $AUC = 0,656$, чувствительность 52,4 %, специфичность 78,4 %) между группами пациентов с различными типами прогрессирования БП.

Получено статистически значимое отличие ($p < 0,001$, $AUC = 0,811$, чувствительность 61,9 %, специфичность 97,3 %) между группами пациентов с различными типами прогрессирования БП при уровне Q_{alb} менее 83,95.

Статистическая достоверность ROC-анализа диагностической значимости других исследованных в рамках проведения научного исследования показателей оказалась выше принятого значения ($p > 0,05$).

Следующие показатели были отобраны для дальнейшего изучения их прогностической значимости в определении быстрого типа прогрессирования БП: Qalb менее 83,95, антитела к α -синуклеину в К более 4,11 нг/мл, MoSA менее 26 баллов. Вероятность наличия быстро прогрессирующего типа течения БП у пациента считали легкой при превышении порогового значения одним любым из указанных показателей, умеренной – двумя любыми из указанных показателей, высокой – всеми тремя показателями. У 6 (27,2 %) пациентов группы «возможно быстро прогрессирующее» течение БП была высокая вероятность быстрого прогрессирования заболевания, у 8 (36,4 %) пациентов – умеренной степени и у 8 (36,4 %) – легкой.

У 16 (72,7 %) пациентов из группы «возможно быстро прогрессирующее» течение БП подтвердился изначальный прогноз о наличии быстрого типа прогрессирования заболевания. У восьми пациентов с малой вероятностью быстрого прогрессирования развитие симптоматики со второй стороны было отмечено в 3 (37,5 %) случаях, при вероятности умеренной степени – 7 (87,5 %) и при вероятности высокой степени – 6 (100 %). У 31 (86,1 %) пациентов из группы «возможно медленно прогрессирующее» течение БП подтвердился прогноз о медленном типе прогрессирования.

Подтверждена приемлемая статистическая значимость ($p < 0,001$, AUC = 0,844, чувствительность 83,8 % и специфичность 76,2 % выбранных пороговых значений критериев для определения типа прогрессирования БП у пациентов с односторонней экстрапирамидной моторной симптоматикой и длительностью заболевания до 5 лет. Данные исследования свидетельствуют о приемлемой клинической эффективности выявленных показателей для диагностики прогрессирования БП и подтверждают возможность использования предложенного подхода в практике [29–А, 30–А, 35–А].

Особенности пациентов с быстрым типом прогрессирования БП. Развитие неврологической симптоматики со второй стороны в срок до 5 лет от момента дебюта моторных симптомов позволило подтвердить быстрый тип прогрессирования заболевания у 116 (56 % случаев) пациентов основной группы (муж. : жен. = 63 : 53). Возраст составил 62,5 [56,0; 70,0] лет, дебют моторных симптомов – 59,0 [49,5; 65,5] лет. Наследственность по БП была отягощена у 13 пациентов (11,2 % случаев), а по тремору – у 20 лиц (17,2 % случаев). Причем сочетание БП и тремора в семейном анамнезе отметили 4 пациента (3,4 % случаев). ГВИ в анамнезе отметили 50 пациентов (43,1 % случаев), воспалительные заболевания челюстно-лицевой системы – 12 пациентов (10,3 % случаев).

У 91 (44 % случаев) пациента (муж. : жен. = 34 : 57) был отмечен медленный темп прогрессирования БП. Возраст составил 68,0 [60,0; 72,0] лет, дебют моторных симптомов – 55,0 [50,0; 63] лет. Наследственность по БП

была отягощена у 7 пациентов (7,7 % случаев), а по тремору – у 16 лиц (17,6 % случаев). Причем сочетание БП и тремора в семейном анамнезе отметили 3 пациента (3,3 % случаев). ГВИ в анамнезе отметили 15 пациентов (16,5 % случаев) ($U = 3873$, $z = -3,28$, $p = 0,001$), воспалительные заболевания челюстно-лицевой системы – 2 пациента (2,3 % случаев). Статистически значимые различия между группами по возрасту ($U = 4099,5$, $z = 2,75$, $p = 0,006$), гендерному составу ($U = 4383$, $z = -2,09$, $p = 0,04$), длительности моторных симптомов ($U = 1197$, $z = 9,54$, $p < 0,0001$), наличию случаев ГВИ и заболеваний ЛОР-органов в анамнезе ($p < 0,05$) свидетельствует о клинической неоднородности полученных групп по данным признакам.

Для лиц с быстрым типом прогрессирования был характерен более высокий уровень когнитивных нарушений 23 [19; 26] по сравнению с медленным типом прогрессирования 24 [20; 27], полученная разница носила статистически значимый характер ($U = 4865,5$, $z = 2,06$, $p = 0,04$). Был выявлен более высокий уровень депрессивных нарушений у лиц с быстрым типом прогрессирования 12 [8; 15] по сравнению с медленным типом прогрессирования 10 [8; 13], полученная разница также носила статистически значимый характер ($U = 4383$, $z = -2,09$, $p = 0,04$). Кроме этого, для лиц с быстрым типом прогрессирования был характерен более высокий уровень дневной сонливости 6 [3,5; 8] по сравнению с медленным типом прогрессирования 4 [3; 6], полученная разница также носила статистически значимый характер ($U = 4233$, $z = -2,44$, $p = 0,01$) [29–А, 30–А, 36–А].

Лабораторные показатели сыворотки крови пациентов с быстрым типом прогрессирования заболевания были следующие: антитела к α -синуклеину – 3,87 [2,86; 5,07] нг/мл, ИЛ-1 β – 0,87 [0,76; 1,12] пг/мл, ИЛ-10 – 0,53 [0,31; 0,72] пг/мл, кортизол – 857,4 [598,1; 1200] нмоль/л. С медленным типом прогрессирования: антитела к α -синуклеину – 2,72 [1,03; 6,81] нг/мл, ИЛ-1 β – 0,81 [0,71; 1,14] пг/мл, ИЛ-10 – 0,57 [0,41; 1,19] пг/мл, кортизол – 822,4 [498,5; 998,3] нмоль/л. Статистически значимые отличия между группами были только по уровню антител к α -синуклеину ($U = 4158,5$, $z = -2,62$, $p = 0,009$) и ИЛ-10 ($U = 3952$, $z = 3,1$, $p = 0,002$) в К. Для лиц с быстрым типом прогрессирования БП в отличие от пациентов с медленным типом характерен больший уровень антител к α -синуклеину и меньший уровень противовоспалительного цитокина в К [29–А, 30–А, 36–А, 39–А]. В СМЖ данной категории пациентов были получены такие значения лабораторных показателей: антитела к α -синуклеину – 2,1 [1,02; 3,67] нг/мл, ИЛ-1 β – 1,03 [0,87; 1,23] пг/мл, ИЛ-10 – 0,74 [0,56; 1,01] пг/мл, кортизол – 19,9 [12,3; 36,5] нмоль/л, Qalb – 93,8 [78,3; 108,5]. У лиц с медленным типом прогрессирования данные показатели характеризовались следующими величинами: антитела к α -синуклеину – 1,52 [0,85; 2,86] нг/мл, ИЛ-1 β –

0,86 [0,73; 1,24] пг/мл, ИЛ-10 – 1,02 [0,79; 1,24] пг/мл, кортизол – 20,9 [18,6; 31,5] нмоль/л, Qalb – 117,6 [111,2; 138,4]. Статистически значимые отличия между группами были выявлены по Qalb ($U = 299$, $z = 4,7$, $p < 0,0001$) и уровню ИЛ-1 β ($U = 463,5$, $z = -3,09$, $p = 0,002$) в СМЖ. Результаты свидетельствуют об участии иммунных реакций в формировании типа прогрессирования заболевания [29–А, 30–А, 36–А, 39–А].

Корреляционный анализ полученных данных выявил, что у пациентов с быстрым типом прогрессирования БП имеются следующие статистически значимые корреляции ($p < 0,05$): величины МоСА и уровня кортизола в К ($R = -0,38$) и СМЖ ($R = -0,26$), МоСА и Qalb ($R = 0,39$), PSQI и уровня антител к α -синуклеину в К ($R = 0,15$), ESS и Qalb ($R = -0,29$). При этом у пациентов с БП без разделения на типы прогрессирования заболевания также имеется связь между выраженностью ряда немоторных симптомов БП (когнитивных нарушений, оцененных по шкале МоСА; депрессии, оцененной по шкале HDRS) с уровнем лабораторных биомаркеров (ИЛ-1 β , ИЛ-10, кортизол) в К и СМЖ (МоСА и Qalb ($R = 0,39$), PSQI и уровнем антител к α -синуклеину в К ($R = 0,15$), ESS и Qalb ($R = -0,29$), $p < 0,05$). Результаты свидетельствуют об участии нейровоспалительного компонента в генезе немоторных симптомов заболевания [8–А, 9–А, 13–А, 29–А, 30–А, 36–А, 37–А].

Влияние однократной внутривенной инъекции БМКП на основе аутологичных ММСК костного мозга или плацебо (физиологический раствор) на пациентов с БП. В основную группу вошли 20 пациентов (муж. : жен. = 12 : 8, возраст составил 54,5 [42,0; 62,5] года, длительность заболевания – 5,5 [4,0; 7,5] лет, тяжесть заболевания по шкале Хен и Яра – 2,0 [2,0; 2,0] с однократным введением БМКП на основе аутологичных ММСК костного мозга. Группу сравнения составили 13 пациентов (муж. : жен. = 8 : 5) с диагнозом БП. Возраст – 58,0 [49,0; 66,0] лет, длительность заболевания – 6,0 [5,0; 7,0] лет, тяжесть заболевания по шкале Хен и Яра – 2,0 [2,0; 2,0]. На время исследования доза и количество принимаемых пациентами противопаркинсонических препаратов не изменялась. Более 92 % пациентов основной группы и группы сравнения принимали 2 и более патогенетических препарата (различные торговые марки лекарственных средств со следующим международным названием: «Леводопа» + «Бенсеразид», «Прамипексола» и/или «Амантадин»).

Уровни цитокинов сыворотки крови (день 0) лиц основной группы были: ИЛ-1 β – 1,94 [1,73; 2,23] пг/мл, ИЛ-10 – 0,45 [0,36; 0,53] пг/мл, группы сравнения: ИЛ-1 β – 1,74 [1,63; 1,98] пг/мл, ИЛ-10 – 0,53 [0,44; 0,62] пг/мл ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$). Также между группами отсутствовали отличия по оценке неврологического статуса по Разделу III MDS-UPDRS в off-period и on-period ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$).

На следующий день после введения БМКП или плацебо (физиологический раствор) пациенты основной группы и группы сравнения заполнили шкалу CGI-I. В основной группе были следующие ответы: 5 пациентов (25 %) отметили значительное улучшение самочувствия, 7 (35 %) – незначительное улучшение, 8 (40 %) не отметили изменений в самочувствии. У лиц группы сравнения: 5 пациентов (38,5 %) отметили незначительное улучшение самочувствия и 8 (61,5 %) не отметили изменений в самочувствии [26–А, 35–А].

На 7-е сутки в основной группе после введения клеток оценка неврологического статуса в off-period составила 36,5 [29; 41,5] балла, что было статистически значимо ниже ($T = 25,5$, $z = 2,97$, $p = 0,03$) результата на день 0 – 41 [34,5; 44] балл. В on-period оценка по MDS-UPDRS стала 25 [22,5; 27,5] баллов, что также было статистически значимо меньше ($T = 8$, $z = 2,95$, $p = 0,03$) результата на день 0 – 26 [24; 30] баллов. Получены на 7-е сутки следующие уровни цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-10) сыворотки крови лиц основной группы: ИЛ-1 β – 1,87 [1,55; 2,02] пг/мл, ИЛ-10 – 0,46 [0,38; 0,6] пг/мл, а группы сравнения: ИЛ-1 β – 1,89 [1,58; 2,06] пг/мл, ИЛ-10 – 0,52 [0,41; 0,62] пг/мл. Не было выявлено статистически значимых отличий между лицами основной группы и группы сравнения по уровням ИЛ-1 β ($U = 127,5$, $z = -0,07$, $p = 0,94$) и ИЛ-10 ($U = 105,5$, $z = -0,88$, $p = 0,38$) сыворотки крови на 7-е сутки после инфузий. Выявлена статистически значимая динамика ($T = 40$, $z = 2,42$, $p = 0,015$) уровней ИЛ-10, полученные на день 0 и на 7-е сутки у лиц основной группы. Отличия по уровню ИЛ-1 β в основной группе на фоне введения БМКП приближаются к выбранному уровню значимости ($T = 55$, $z = 1,87$, $p = 0,06$). В группе сравнения не было статистически значимых отличий по изменению неврологического статуса в off-period и on-period, а также между уровнями ИЛ-1 β ($T = 35,5$, $z = 0,7$, $p = 0,48$) и ИЛ-10 ($T = 37,5$, $z = 0,56$, $p = 0,58$), полученных на день 0 и на 7-е сутки. Результаты свидетельствуют, что плацебо не оказывает влияния на изменение уровней ИЛ-1 β и ИЛ-10 в К [26–А, 35–А].

Серьезные нежелательные явления в обеих группах при введении БМКП или плацебо и в течение 7 суток наблюдения выявлены не были.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Морфологические исследования головного мозга экспериментальных животных, проведенные через 7 суток после завершения 21-дневного курса ежедневной интраназальной аппликации одной из доз ЛПС (1, 10 или 100 мкг/кг/мл) при моделировании ПС нейровоспалительного генеза,

демонстрируют отсутствие статистически значимых отличий между группами по характеру изменений нейронов в базальных ядрах (тяжесть поражения ($N = 5,82$ $p = 0,054$), объем поражения ($N = 4,73$ $p = 0,09$), степень поражения ($N = 3,84$ $p = 0,15$)) и в области ЧС (тяжесть поражения ($N = 2,79$ $p = 0,25$), объем поражения ($N = 0,29$ $p = 0,86$), степень поражения ($N = 1,18$ $p = 0,55$)). При этом морфологические дегенеративные изменения в базальных ядрах в группе 1 мкг/кг/мл ЛПС были следующими: тяжесть поражения – 44 [41,3; 48,08] %, объем поражения – 71,43 [67,39; 78,31] %, степень поражения – 57,14 [54,36; 62,69] %; в области ЧС: тяжесть поражения – 57,14 [56,36; 58,33] %, объем поражения – 87,76 [87,27; 89,36] %, степень поражения – 72,45 [71,82; 73,92] %. Морфологические изменения в базальных ядрах в группе 10 мкг/кг/мл ЛПС составили: тяжесть поражения – 40,38 [36; 42,86] %, объем поражения – 73,08 [68; 75] %, степень поражения – 56,73 [52; 59,1] %; в области черной субстанции: тяжесть поражения – 56 [53,85; 58,33] %, объем поражения – 88,24 [86,54; 89,59] %, степень поражения – 72,12 [70,2; 73,96] %. Изменения в базальных ядрах в группе 100 мкг/кг/мл ЛПС характеризовались: тяжесть поражения – 44 [39,22; 48,08] %, объем поражения – 80 [72,55; 83,64] %, степень поражения – 62 [55,89; 66,35] %; в области ЧС: тяжесть поражения – 58,82 [56; 60] %, объем поражения – 88 [86; 91,3] %, степень поражения – 73,47 [72; 75,49] %. Полученные морфологические изменения, а также отсутствие двигательных нарушений в исследованных группах согласно сравнению с оценкой моторного статуса контрольной группы ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$) свидетельствуют о существовании премоторной стадии в модели ПС нейровоспалительного генеза, при которой определяются только гистологические изменения и отсутствуют двигательные проявления [16–А, 17–А, 18–А, 21–А, 27–А, 28–А, 32–А, 41–А].

2. Развитие ПС нейровоспалительного генеза характеризуется большим снижением ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$) уровней лабораторных показателей обмена дофамина на 21-й день от начала применения ЛПС по данным иммуноферментного анализа (сыворотка крови: дофамин – 76,9 [75,7; 78,1] пг/мл, гомованилиновая кислота – 2,54 [2,4; 2,61] нг/мл; СМЖ: дофамин – 2,25 [2,14; 2,34] пг/мл), чем на 7-й день (сыворотка крови: дофамин – 80,5 [78,2; 81,4] пг/мл, гомованилиновая кислота – 2,73 [2,65; 2,79] нг/мл; СМЖ: дофамин – 2,51 [2,41; 2,86] пг/мл). Подобная динамика показателей обмена дофамина ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$) наблюдается при формировании ПС нейротоксического генеза: более низкий уровень на 21-й день от начала применения ротенона (сыворотка крови: дофамин – 72,5 [71,7; 75,6] пг/мл, гомованилиновая кислота – 2,14 [2,07; 2,36] нг/мл; СМЖ: дофамин – 2,08 [1,96; 2,14] пг/мл), чем на 7-й день (сыворотка крови: дофамин – 79,4 [78,6; 80,1] пг/мл, гомованилиновая кислота – 2,7

[2,48; 2,82] нг/мл; СМЖ: дофамин – 2,76 [2,63, 2,92] пг/мл). Схожая динамика лабораторных показателей в различных по этиопатогенезу экспериментальных группах ПС свидетельствует о едином нейромедиаторном базисе формирования экстрапирамидных нарушений различного генеза и об одинаковой валидности экспериментальных моделей в формировании и исследовании нейромедиаторного дефицита. Прогрессирующее нарушение обмена дофамина клинически проявляется формированием и нарастанием моторных нарушений ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$) у крыс с нейротоксической моделью (изменение балльной оценки ригидности, постуральной нестабильности и птоза в динамике) [27–А, 28–А, 48–А].

3. Однократное внутривенное струйное введение лабораторным животным (крысам) взвеси аллогенных (крысиных) ММСК костного мозга воздействует на патогенетические механизмы формирования ПС (нейротоксическая модель), что подтверждается статистически значимым ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$) повышением уровней лабораторных показателей обмена дофамина с 7-го дня (сыворотка крови: дофамин – 72,6 [69,8; 73,5] пг/мл и гомованилиновая кислота – 2,17 [2,12; 2,28] нг/мл, СМЖ: дофамин – 2,15 [2,09; 2,21] пг/мл) на 21-й день (сыворотка крови: дофамин – 81 [76,9; 83,8] пг/мл и гомованилиновая кислота – 2,73 [2,45; 2,78] нг/мл, СМЖ: дофамин – 2,54 [2,44; 2,86] пг/мл) в сыворотке крови после введения клеток, а также уменьшением ($p_{\text{Манна-Уитни}} < 0,05$) клинических проявлений моторных нарушений (изменение балльной оценки ригидности, постуральной нестабильности и птоза в динамике), оцененных на 7-й и на 21-й дни [27–А, 28–А, 30–А].

4. Ретроспективное исследование дебюта моторных симптомов БП выявляет у 41,5 % (86) пациентов наличие выраженных острых психологических стрессовых ситуаций накануне развития заболевания. У 17,5 % (15) лиц это было не одно, а несколько следовавших друг за другом события. У 60,5 % (52) пациентов действие значимых стрессовых ситуаций проходило на фоне других факторов: частые ГВИ, болевой синдром, воспалительные заболевания ЛОР-органов, действие токсических веществ. У 11,6 % (24) пациентов выявлены болевые синдромы различной локализации. У 18,4 % (38) человек было сочетание стрессовой ситуации и болевого синдрома. 4 (1,9 %) пациента отметили в дебюте БП острые респираторные заболевания. 26,5 % (55) опрошенных не отметили действие факторов в дебюте БП. У пациентов с наличием стресса число лиц с акинетико-ригидной формой было 21 (24,4 %) человек, со смешанной – 61 (70,9 %), с преимущественно дрожательной – 4 (4,7 %). У лиц с болевыми синдромами: акинетико-ригидная форма – у 11 (45,8 %) человек, смешанная – у 13 (54,2 %). У пациентов с сочетанием стресса и боли: акинетико-ригидная

форма была у 16 (42,1 %) человек, смешанная – у 20 (52,6 %), преимущественно дрожательная – у 2 (5,3 %). Статистически значимые отличия между группами выявлены не были ($H = 6,45$, $p = 0,09$). При сравнении представленности клинических форм между группами с наличием факторов ($n = 148$, т.к. не учитывались случаи с ОРЗ) и их отсутствием ($n = 55$) статистически значимые отличия также выявлены не были ($U = 3930$, $z = -0,38$, $p = 0,7$). Эти данные свидетельствуют о едином патогенезе клинических проявлений БП. При этом у пациентов с предшествующим действием какого-либо одного фактора (боль или стресс) дебют моторных симптомов отмечается в 57 [51; 63] лет, что статистически значимо ($U = 1452,5$, $z = 1,98$, $p = 0,048$) раньше, чем у лиц без предшествующего воздействия – 62 [52; 67] года, а сочетанное действие острого значимого психологического стресса и болевого синдрома с наличием в анамнезе жизни более 2 других факторов, дебют моторных симптомов был в возрасте 48 [41; 60] лет, что статистически значимо раньше ($U = 139,5$, $z = -2,51$, $p = 0,01$) дебюта у лиц без предшествующего воздействия каких-либо факторов – 62 [53; 67] года. Эти данные отражают синергизм взаимодействия факторов окружающей среды и существующего субклинического нейромедиаторного дефицита в виде негенетической, несемейной антиципации моторных проявлений БП [5–А, 7–А, 14–А, 29–А, 30–А, 33–А, 43–А].

5. По данным иммуноферментного анализа, пациенты с БП характеризовались более высоким уровнем антител к α -синуклеину – 3,56 [2,39; 5,48] нг/мл и провоспалительного цитокина ИЛ-1 β – 0,85 [0,73; 1,12] пг/мл в сыворотке крови по сравнению с лицами контрольной группы, где соответствующие величины были 1,29 [0,0; 2,5] нг/мл и 0,7 [0,52; 0,81] пг/мл. Полученные различия носили статистически значимый характер ($U = 1450,5$, $z = 5,49$, $p < 0,0001$ и $U = 2112,5$, $z = 3,7$, $p = 0,0002$ соответственно). Пациенты с БП имели статистически значимо ($U = 189$, $z = -7,25$, $p < 0,0001$) более высокую проницаемость ГЭБ (Qalb равнялся 106,7 [83,6; 120,7], что ниже уровня 120 (нижняя граница нормы)) по сравнению с лицами контрольной группы, где аналогичное значение было 182,3 [167,7; 208,6]. Это свидетельствует об имеющемся нарушении проницаемости ГЭБ у пациентов с БП по сравнению с лицами контрольной группы. Выраженность немоторных симптомов БП (когнитивных нарушений, оцененных по шкале MoCA; депрессии, оцененной по шкале HDRS; дневной сонливости, оцененной по шкале ESS) коррелирует с уровнем лабораторных показателей в сыворотке крови и СМЖ ($p < 0,05$): MoCA и Qalb ($r_s = 0,39$), PSQI и уровень антител к α -синуклеину в сыворотке крови ($R = 0,15$), ESS и Qalb ($r_s = -0,29$), что подтверждает участие нейровоспалительного компонента в патогенезе немоторных симптомов

заболевания [8–А, 9–А, 10–А, 12–А, 13–А, 15–А, 19–А, 27–А, 29–А, 30–А, 36–А, 37–А, 38–А, 39–А, 40–А, 44–А, 45–А, 46–А, 47–А, 50–А].

6. Проспективное наблюдение за пациентами с неопределенным типом прогрессирования БП (односторонняя моторная симптоматика при длительности течения БП до 5 лет) обнаружило, что показатель Qalb менее 83,95, уровень антитела к α -синуклеину в сыворотке крови более 4,11 нг/мл и MoCA менее 26 баллов с чувствительностью 83,8 % и специфичностью 76,2 % позволяет прогнозировать вероятность наличия быстрого типа прогрессирования БП у пациентов с односторонней моторной симптоматикой при длительности течения БП до 5 лет ($AUC = 0,844$, $p \leq 0,001$). При этом тестирование только когнитивных нарушений у пациентов с односторонней моторной симптоматикой при длительности течения БП до 5 лет позволяет прогнозировать вероятность наличия быстрого типа прогрессирования БП с чувствительностью 100 % и специфичностью 27 % (результаты по шкале MoCA ≤ 26 баллов, $AUC = 0,663$, $p = 0,023$); расчет только коэффициента проницаемости ГЭБ – с чувствительностью 61,9 % и специфичностью 97,3 % (результаты Qalb $\leq 83,95$, $AUC = 0,811$, $p < 0,001$); определение только уровня антитела к α -синуклеину в сыворотке крови – с чувствительностью 52,4 % и специфичностью 78,4 % (α -синуклеин $> 4,11$ нг/мл, $AUC = 0,656$, $p = 0,046$). Данная информация позволяет персонафицированно планировать применение терапии, изменяющей течение БП [29–А, 30–А, 35–А].

7. Пациенты с быстрым типом прогрессирования БП по результатам определения лабораторных показателей в сыворотке крови демонстрируют высокий уровень антител к α -синуклеину – 3,87 [2,86; 5,07] нг/мл и низкий уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 – 0,53 [0,31; 0,72] пг/мл по сравнению с пациентами с медленным типом, где соответствующие величины были 2,72 [1,03; 6,81] нг/мл и 0,57 [0,41; 1,19] пг/мл. Полученные различия носили статистически значимый характер ($U = 4158,5$, $z = -2,62$, $p = 0,009$ и $U = 3952$, $z = 3,1$, $p = 0,002$ соответственно). В СМЖ статистически значимая разница ($U = 463,5$, $z = -3,09$, $p = 0,002$) между группами была по величине провоспалительного цитокина ИЛ-1 β с большим уровнем среди лиц с быстрым типом прогрессирования (1,03 [0,87; 1,23] пг/мл), чем с медленным (0,86 [0,73; 1,24] пг/мл). Пациенты с быстрым типом прогрессирования БП имели статистически значимо ($U = 299$, $z = 4,7$, $p < 0,0001$) более высокую проницаемость ГЭБ (Qalb равнялся 93,8 [78,3; 108,5]) по сравнению с лицами с медленным типом, где аналогичное значение было 117,6 [111,2; 138,4]. Это свидетельствует об участии нарушения проницаемости ГЭБ в формировании типа прогрессирования БП. При сравнении результатов количественной оценки выраженности немоторных симптомов БП между пациентами с разным типом прогрессирования заболевания выявлен более высокий

уровень когнитивных нарушений у лиц с быстрым типом – 23 [19; 26] балла по сравнению с медленным – 24 [20; 27] балла, полученная разница носила статистически значимый характер ($U = 4865,5$, $z = 2,06$, $p = 0,04$); более высокий уровень депрессивных нарушений у лиц с быстрым типом – 12 [8; 15] баллов по сравнению с медленным – 10 [8; 13] баллов, полученная разница носила статистически значимый характер ($U = 4383$, $z = -2,09$, $p = 0,04$); более высокий уровень дневной сонливости у лиц с быстрым типом прогрессирования – 6 [3,5; 8] баллов по сравнению с медленным – 4 [3; 6] балла, полученная разница также носила статистически значимый характер ($U = 4233$, $z = -2,44$, $p = 0,01$). Полученные данные свидетельствуют, что для пациентов с быстрым типом прогрессирования БП характерно не только быстрое развитие моторных симптомов заболевания (смена стадий в срок до 5 лет от их дебюта), но и большая выраженность немоторных проявлений БП. Корреляции величины МоСА и уровня кортизола в сыворотке крови ($r_s = -0,38$) и СМЖ ($r_s = -0,26$), МоСА и Qalb ($r_s = 0,39$), показателя PSQI и уровня антител к α -синуклеину в сыворотке крови ($r_s = 0,15$), величины ESS и Qalb ($r_s = -0,29$) у пациентов с быстрым типом прогрессирования заболевания отражает участие воспалительных реакций в патогенезе прогрессирования БП [8–А, 9–А, 10–А, 12–А, 13–А, 15–А, 19–А, 27–А, 29–А, 30–А, 36–А, 37–А, 38–А, 39–А, 44–А, 45–А, 46–А, 47–А, 50–А].

8. Однократная внутривенная инфузия БМКП на основе аутологичных ММСК КМ в дозе $11,9 [10,0–19,2] \times 10^6$ (0,16 млн/кг массы тела) улучшает самочувствие по шкале CSI-I у 5 (25 %) пациентов с БП, незначительное – у 7 (35 %), не заметили изменений в своем самочувствии 8 (40 %) человек в первые сутки. В группе сравнения лица с БП, получившие однократную внутривенную инфузию физиологического раствора натрия хлорида (плацебо), только 5 (38,5 %) человек на первые сутки отметили незначительное улучшение самочувствия, а 8 (61,5 %) – не заметили изменений в самочувствии. Данный факт указывает на развивающийся уже с первых суток после введения паракринный эффект введенных клеток на патогенетические механизмы клинических и лабораторных характеристик, который может продолжаться до 7-ми суток после введения (день 7 vs. день 0) и вызывает изменение величины оценки неврологического статуса по Разделу III MDS-UPDRS и уровня ИЛ-10 у лиц основной группы: off-period день 7 – 36,5 [29; 41,5] балла vs. день 0 – 41 [34,5; 44] балл ($T = 25,5$, $z = 2,97$, $p = 0,03$); on-period день 7 – 25 [22,5; 27,5] баллов vs. день 0 – 26 [24; 30] баллов ($T = 8$, $z = 2,95$, $p = 0,03$); ИЛ-10 изменение результата от уровня 0,45 [0,36; 0,53] пг/мл на день 0 до уровня 0,46 [0,38; 0,6] пг/мл на день 7 ($T = 40$, $z = 2,42$, $p = 0,015$) и изменение величины ИЛ-1 β от уровня 1,94 [1,73; 2,23] пг/мл на день 0 до уровня 1,87 [1,55; 2,02] пг/мл ($T = 55$,

$z = 1,87$, $p = 0,06$) на день 7. А динамика величин ИЛ-1 β и ИЛ-10, а также оценки двигательных нарушений в группе сравнения не имеет статистически значимый характер ($p_{\text{Манна-Уитни}} > 0,05$) [22–А, 23–А, 24–А, 27–А, 30–А, 35–А, 51–А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При сборе анамнеза заболевания у пациента с подозрением на наличие БП рекомендуется уточнять не только наличие семейных случаев экстрапирамидных расстройств (БП и/или эссенциальный тремор, например), которые свидетельствуют о высоком вкладе генетических, врожденных факторов в развитие заболевания, но и выявлять действие ассоциированных с дебютом моторных симптомов приобретенных факторов (болевые синдромы, острые респираторные заболевания (в т.ч. и COVID-19) и значимые психологические стрессовые ситуации), которые синергетически негативно влияют на этиопатогенез БП [1–А, 2–А, 3–А, 7–А, 19–А, 33–А, 34–А, 55–А, 60–А, 61–А].

2. При обследовании пациента с установленным диагнозом БП и односторонним экстрапирамидным синдромом длительностью до 5 лет для диагностики типа прогрессирования заболевания рекомендуется проводить оценку выраженности когнитивных нарушений по шкале MoCA, определять уровень антител к α -синуклеину в сыворотке крови и рассчитывать величину Qalb [36–А, 54–А].

3. Комплексная оценка клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования пациентов с БП позволяет точно определять клиническую форму, тип прогрессирования и стадию заболевания, а также наличие показаний и противопоказаний к применению БМПК на основе аутологичных ММСК КМ [2–А, 4–А, 11–А, 22–А, 24–А, 25–А, 26–А, 40–А, 49–А, 52–А, 53–А, 55–А].

4. При проведении доклинических исследований для оценки эффективности терапии, изменяющей течение БП, на стадии домоторных проявлений патоморфологических изменений нервной системы возможно использовать лабораторных животных (крыс) с нейровоспалительной моделью ПС, полученной путем интраназальной инсталляции ЛПС в одной из следующих дозировок (1, 10 или 100 мкг/кг/мл) в течение 21 дня, а на стадии двигательных нарушений – лабораторных животных (крыс) с нейротоксической моделью ПС, полученной при введении ротенона подкожно в дозе 2 мг/кг в течение 21 дня [20–А, 28–А, 32–А].

5. Пациентам с БП для немедикаментозного уменьшения клинических проявлений заболевания возможно проводить трансплантацию аутологичных

ММСК при отсутствии противопоказаний к использованию метода [6–А, 20–А, 22–А, 25–А, 26–А, 53–А].

6. Учитывая случаи дебюта моторных нарушений БП, а также утяжеления моторных и немоторных симптомов заболевания во время или в течение 6 недель после ОРЗ (в том числе и COVID-19) необходимо продолжать научные исследования по изучению воспалительных реакций в патогенезе не только БП, но и других нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, например) для разработки и внедрения новых методов профилактики, диагностики и лечения [20–А, 29–А, 31–А, 42–А, 56–А, 57–А, 58–А, 59–А].

7. Выполнение премедикации до внутривенного струйного медленного введения БМКП на основе аутологичных ММСК КМ, а также соблюдение правил асептики/антисептики, разработанных для выполнения внутривенных инъекций, позволяют минимизировать риск развития нежелательных явлений [22–А, 24–А, 25–А, 26–А, 53–А].

8. Для повышения уровня квалификации врачей-неврологов, а также обучения студентов медицинских вузов, клинических ординаторов и повышения квалификации/переподготовки слушателей предлагается использовать полученные результаты и учебно-методическое пособие, одобренное Министерством образования Республики Беларусь, которые могут быть широко использованы в образовательной деятельности [55–А, 56–А, 57–А, 60–А].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых научных журналах и сборниках научных трудов

1–А. Бойко, А. В. Синергетика в медицине / А. В. Бойко, К. И. Червяковский // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2007. – № 1. – С. 110–117.

2–А. Пономарев, В. В. Лабораторные биомаркеры ранней диагностики болезни Паркинсона / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, О. А. Ионова // Междунар. неврол. журн. – 2016. – № 3. – С. 17–22.

3–А. Иммунологические аспекты патогенеза болезни Паркинсона / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, О. А. Ионова, Т. В. Хомиченко, С. А. Живолупов // Лечеб. дело. – 2016. – № 6. – С. 6–10.

4–А. Клеточная терапия болезни Паркинсона / В. В. Пономарев, Н. Е. Алейникова, А. В. Бойко, М. Ю. Юркевич, М. М. Зафранская // Мед. новости. – 2017. – № 1. – С. 4–8.

5–А. Клинический полиморфизм болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Е. В. Мазуренко, О. А. Ионова, Т. В. Хомиченко, И. И. Михневич // Здоровоохранение. – 2017. – № 5. – С. 50–56.

6–А. Клеточная терапия болезни Паркинсона: достижения и перспективы / М. Ю. Юркевич, М. М. Зафранская, В. В. Пономарев, А. В. Бойко, Н. Е. Алейникова // Междунар. неврол. журн. – 2017. – № 4. – С. 93–101.

7–А. Бойко, А. В. Провоцирующие факторы дебюта моторных симптомов болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Междунар. неврол. журн. – 2017. – № 5. – С. 15–20.

8–А. Влияние нейровоспаления на когнитивные нарушения при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Т. В. Хомиченко, И. И. Михневич // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2017. – № 2. – С. 83–88.

9–А. Бойко, А. В. Нарушение сна при болезни Паркинсона: роль иммунных механизмов / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Т. В. Хомиченко // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2017. – Т. 16, № 6. – С. 72–78.

10–А. Биомаркеры нейровоспаления цереброспинальной жидкости при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Г. И. Иванчик, С. А. Живолупов // Инновац. технологии в медицине. – 2017. – № 4. – С. 256–262.

11–А. Бойко, А. В. Обоснование интракаротидного введения лекарственных средств и клеточных культур при болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Мед. новости. – 2018. – № 1. – С. 24–26.

12–А. Гематоэнцефалический/гематоликворный барьер при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Е. В. Мазуренко, О. М. Соловей // Мед. новости. – 2018. – № 3. – С. 36–39.

13–А. Иммунные механизмы депрессивных нарушений при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Е. В. Мазуренко, И. И. Михневич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2018. – Т. 16, № 2. – С. 159–164.

14–А. Бойко, А. В. Дебют моторных проявлений болезни Паркинсона. Роль стресса / А. В. Бойко // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2018. – № 1. – С. 112–117.

15–А. Антитела к α -синуклеину при болезни Паркинсона / Е. В. Мазуренко, А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Г. И. Иванчик // Инновац. технологии в медицине. – 2018. – № 3. – С. 204–210.

16–А. Ротеноновые модели синдрома паркинсонизма *in vivo* / Ж. А. Гладкова, Н. Е. Алейникова, Т. Е. Кузнецова, А. В. Бойко, В. В. Пономарев, А. М. Устемчук, Д. Б. Нижегородова // Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности. – 2018. – № 2. – С. 31–38.

17–А. Моделирование синдрома паркинсонизма у крыс введением липополисахарида / А. В. Бойко, Ж. А. Гладкова, Т. Е. Кузнецова, В. В. Пономарев // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2018. – Т. 16, № 6. – С. 690–696.

18–А. Получение токсической хронической модели синдрома паркинсонизма у крыс / Н. Е. Алейникова, А. В. Бойко, Д. Б. Нижегородова, В. В. Пономарев, М. И. Ванслав, А. М. Устемчук, Т. В. Игнатович, Т. Е. Кузнецова, Ж. А. Гладкова, М. М. Зафранская // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2018. – Т. 17, № 6. – С. 92–99.

19–А. Пономарев, В. В. Роль генетических факторов в развитии болезни Паркинсона / В. В. Пономарев, В. А. Чижик, А. В. Бойко // Мед. новости. – 2019. – № 1. – С. 19–22.

20–А. Бойко, А. В. Терапия, изменяющая течение болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Мед. новости. – 2019. – № 1. – С. 41–44.

21–А. Миграция мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при системном и локальном введении на экспериментальной модели паркинсонизма / М. М. Зафранская, Д. Б. Нижегородова, Н. Е. Алейникова, Т. Е. Кузнецова, М. И. Ванслав, Т. В. Игнатович, А. В. Бойко, В. В. Пономарев // Анналы клин. и эксперим. неврологии. – 2019. – Т. 13, № 2. – С. 32–40.

22–А. Оценка эффективности проведения клеточной терапии пациентам с болезнью Паркинсона с использованием различных путей трансплантации клеток [Электронный ресурс] / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, М. М. Зафранская, Д. Б. Нижегородова, Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик,

Р. П. Шмарловский, А. Е. Барановский, С. С. Жуковская // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. сб. науч. тр. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол.: А. В. Сикорский, В. Я. Хрыщанович. – Минск, 2019. – Вып. 9. – С. 132–137. – Режим доступа: <http://rep.bsmu.by/bitstream/handle/BSMU/26399/20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. – Дата доступа: 23.02.2023.

23–А. Mesenchymal stem cells in Parkinson's disease: motor and non-motor symptoms in the early post-transplant period [Electronic resource] / A. Boika, N. Aleinikava, V. Chyzhyk, V. Ponomarev, M. Zafranskaya, D. Nizheharodava // Surg. Neurol. Int. – 2020. – Vol. 11. – Mode of access: <https://surgicalneurologyint.com/wp-content/uploads/2020/11/10392/SNI-11-380.pdf>. – Date of access: 23.02.2023.

24–А. Первые результаты применения клеточной терапии болезни Паркинсона в Республике Беларусь / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, М. М. Зафранская, Д. Б. Нижегородова, Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик, Р. П. Шмарловский, А. Е. Барановский, С. С. Жуковская // Здоровоохранение. – 2020. – № 2. – С. 64–70.

25–А. Пятилетний опыт применения клеточной терапии болезни Паркинсона в Республике Беларусь / В. В. Пономарев, Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик, А. В. Бойко, М. М. Зафранская, Д. Б. Нижегородова, С. И. Кривенко, Н. И. Дедюля, Р. П. Шмарловский, С. С. Жуковская // Мед. новости. – 2021. – № 5. – С. 15–19.

26–А. Опыт применения клеточной терапии болезни Паркинсона: эффективность малоинвазивных способов трансплантаций / Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик, А. В. Бойко, Д. Б. Нижегородова, М. М. Зафранская, В. В. Пономарев // Наука и здравоохранение. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 81–91.

27–А. Neuroinflammatory penumbra in Parkinson's disease / V. V. Ponomarev, A. V. Boika, Z. A. Hladkova, T. Y. Kuznetsova, M. M. Sialitski, N. E. Aleinikava, V. A. Bahamaz // Int. Neurol. J. – 2021. – Vol. 17, № 5. – P. 82–85.

28–А. Формирование синдрома паркинсонизма у экспериментальных животных. Нейровоспалительная пенумбра / А. В. Бойко, Н. Е. Алейникова, В. В. Пономарев, А. М. Устемчук, Г. И. Иванчик // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 53–60.

29–А. Нейровоспаление при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, М. М. Селицкий, О. А. Богомаз, В. В. Пономарев // Мед. новости. – 2021. – № 9. – С. 72–75.

30–А. To search for targets of therapy that changes the course of Parkinson's disease / V. V. Ponomarev, A. V. Boika, M. M. Sialitski, V. A. Bahamaz // Int. Neurol. J. – 2021. – Vol. 17, № 6. – P. 5–9.

31–А. Болезнь Паркинсона, ассоциированная с COVID-19 / М. М. Селицкий, Э. В. Вист, В. В. Пономарев, А. В. Бойко, А. Б. Малков, Е. В. Мазуренко // Неврология и нейрохирургия. Вост. Европа. – 2021. – Т. 11, № 3. – С. 344–354.

32–А. The effect of different doses of lipopolysaccharide on the degree of morphological changes in the nigrostrial system / A. V. Boika, Z. A. Hladkova, T. Y. Kuznetsova, V. V. Ponomarev // Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. / Гродн. гос. мед. ун-т ; гл. ред. И. А. Наумов. – Гродно, 2021. – Т. 11. – С. 24–41.

33–А. Несемейная антиципация моторных симптомов болезни Паркинсона / А. В. Бойко, М. М. Селицкий, О. А. Богомаз, В. В. Пономарев // Мед. новости. – 2022. – № 1. – С. 22–24.

34–А. Особенности течения болезни Паркинсона на фоне пандемии COVID-19 / А. В. Бойко, М. М. Селицкий, О. А. Богомаз, В. А. Чижик, В. В. Пономарев // Мед. новости. – 2022. – № 2. – С. 48–50.

35–А. Сравнение ранних эффектов однократного введения аутологичных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток / плацебо у пациентов с болезнью Паркинсона / Н. Е. Алейникова, Г. И. Иванчик, А. В. Бойко, В. А. Чижик // Мед. новости. – 2023. – № 1. – С. 56–59.

36–А. Бойко, А. В. Клинико-лабораторные предикторы быстрого типа прогрессирования болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Воен. медицина. – 2023. – № 2. – С. 79–89.

Материалы конференций

37–А. Бойко, А. В. Нарушение сна при болезни Паркинсона / А. В. Бойко // Научные исследования в медицине: от теории к практике [Электронный ресурс] : сб. науч. тр. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию БелМАПО, Минск, 25 нояб. 2016 г. / Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; под ред. М. А. Герасименко [и др.]. – Минск, 2016. – С. 182–186. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

38–А. Маркеры воспаления при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, Н. Е. Алейникова, В. В. Пономарев, Г. И. Иванчик // Неврология и нейрохирургия. Вост. Европа. – 2017. – Прил. : Клиническая неврология и нейрохирургия : материалы XVI Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием молодых специалистов, Ивацевичи, 12 мая 2017 г. – С. 8–9.

39–А. Нейровоспаление при болезни Паркинсона. Миф или реальность? / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, М. М. Зафранская, Н. Е. Алейникова // Болезнь Паркинсона и расстройства движений : рук. для врачей по материалам IV Нац. конгр. по болезни Паркинсона и расстройствам

движений с междунар. участием, Москва, 11–13 сент. 2017 г. / под ред. С. Н. Иллариошкина, О. С. Левина. – М., 2017. – С. 341.

40–А. Интерлейкины при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, В. В. Пономарев, М. М. Зафранская, Д. Б. Нижегородова, Т. В. Игнатович, А. Ю. Адамович // Современный многопрофильный стационар – мультидисциплинарный подход к пациенту : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 35-летию УЗ «10-я гор. клин. больница», Минск, 22 мая 2020 г. / 10-я гор. клин. больница, Белорус. гос. мед. ун-т, Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; под общ. ред. В. П. Исачкина. – Минск, 2020. – С. 147–149.

41–А. Нейровоспалительная пенумбра при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, Т. Е. Кузнецова, Ж. А. Гладкова, М. М. Селицкий, В. В. Пономарев, В. А. Чижик, Н. Е. Алейникова, О. А. Богомаз // От истоков к достижениям XXI века [Электронный ресурс] : сб. науч. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию БелМАПО, Минск, 7–8 окт. 2021 г. / Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; редкол.: А. Н. Чуканов [и др.]. – Минск, 2021. – С. 159–165. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

42–А. Селицкий, М. М. COVID-19 как фактор риска развития и прогрессирования болезни Паркинсона / М. М. Селицкий, В. В. Пономарев, А. В. Бойко // Актуальні питання клінічної медицини : тези XV Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнар. участю, Запоріжжя, 19 лист. 2021 р. / Запорізька мед. акад. післядиплом. освіти ; редкол.: О. С. Никоненко [та інш.]. – Запоріжжя, 2021. – С. 272–273.

43–А. Non-Family anticipation of Parkinson's disease / A. V. Boika, M. M. Sialitski, V. B. Vagamaz, V. V. Ponomarev // Актуальні питання клінічної медицини : тези XV Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнар. участю, Запоріжжя, 19 лист. 2021 р. / Запорізька мед. акад. післядиплом. освіти ; редкол.: О. С. Никоненко [та інш.]. – Запоріжжя, 2021. – С. 363–365.

Тезисы докладов

44–А. Boika, A. To immune response at Parkinson disease / A. Boika, V. Ponomarev, H. Ivanchik // Eur. J. of Neurol. – 2017. – Vol. 24, suppl. 1 : Abstracts of the 3rd Congress of the European Academy of Neurology, Amsterdam, The Netherlands, June 2017. – P. 710.

45–А. Boika, A. Anti-synuclein alpha antibodies and IL-1 β at Parkinson Disease (PD) / A. Boika, V. Ponomarev, H. Ivanchik // Mov. Dis. – 2017. – Vol. 32, suppl. 2 : Abstracts of the 21st International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. – P. S223.

46–А. Boika, A. Aspects of neuroinflammation at Parkinson's disease / A. Boika, V. Ponomarev, H. Ivanchik // J. of the Neurol. Sci. – 2017. – Vol. 381, suppl. : Abstracts from the World Congress of Neurology (WCN 2017). – P. 724–725.

47–А. Нейровоспаление при болезни Паркинсона: факт или фикция? / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, Н. Е. Алейникова, И. И. Иванчик // Укр. неврол. журн. – 2017. – № 3 : Актуальні питання діагностики та лікування захворювань нервової системи : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Київ, 12–13 жовтня 2017 р. – С. 72–73.

48–А. Динамика уровня гомованилиновой кислоты на фоне терапии мезенхимальными стволовыми клетками экспериментальной модели синдрома паркинсонизма / Н. Е. Алейникова, А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Д. Б. Нижегородова, М. И. Ванцлав, Г. И. Иванчик // Новости мед.-биол. наук. – 2018. – Т. 18, № 3 : Фундаментальные и прикладные науки – медицине : тр. междунар. науч. конф., Минск, 12 окт. 2018 г. – С. 7–8.

49–А. Immediate results of intranasal administrations of multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) to Parkinson's disease (PD) patients / V. Ponomarev, A. Boika, M. Zafranskaya, D. Nizheharodova, N. Aleinikava, V. Chyzhyk, A. Baranouski, R. Shmarlovskiy // J. of the Neurol. Sci. – 2019. – Vol. 405, suppl. : Abstracts from the World Congress of Neurology (WCN 2019), Dubai, United Arab Emirates, 27–31 Oct. 2019. – P. 114–115.

50–А. Бойко, А. В. Цитокины (IL-1 β и IL-10) при болезни Паркинсона / А. В. Бойко, Г. И. Иванчик, Т. В. Игнатович // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гомель, 21–22 нояб. 2019 г. / Гом. гос. мед. ун-т ; А. Н. Лызигов [и др.]. – Гомель, 2019. – Т. 2. – С. 42–45.

51–А. Assessment of motor and non-motor symptoms in patients with Parkinson's Disease in the early post-transplant period / V. Chyzhyk, V. Ponomarev, A. Boika, N. Aleinikava // Eur. J. of Neurol. – 2020. – Vol. 27, suppl. 1 : Abstracts of the 6th Congress of the European Academy of Neurology, Virtual, 23–26 May 2020. – P. 653.

Патент

52–А. Способ диагностики стадии болезни Паркинсона : пат. ВУ 22974 / В. В. Пономарев, А. В. Бойко. – Опубл. 30.06.2020.

Инструкции по применению

53–А. Метод клеточной терапии болезни Паркинсона : инструкция по применению № 159-1219 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 26.12.2019 / В. В. Пономарев, М. М. Зафранская, А. В. Бойко, С. И. Кривенко,

Д. Б. Нижегородова, Н. Е. Алейникова, Н. И. Дедюля, Е. С. Бузук, Е. А. Примакова, Е. Г. Петровская, Е. А. Назарова, В. А. Чижик. – Минск, 2019. – 6 с.

54–А. Метод определения вероятности быстрого прогрессирования болезни Паркинсона : инструкция по применению № 162-1220 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 05.11.2021 / В. В. Пономарев, А. В. Бойко, Д. Б. Нижегородова, Г. И. Иванчик, Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик. – Минск, 2021. – 6 с.

Прочее

55–А. Эффективность трансплантации аутологических мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток при болезни Паркинсона / М. М. Зафранская, В. В. Пономарев, Д. Б. Нижегородова, А. В. Бойко, Н. Е. Алейникова, В. А. Чижик, Р. П. Шмарловский, А. Е. Барановский // Достижения медицинской науки Беларуси [Электронный ресурс] : науч. рец. полнотекстовая база данных. – Минск, 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-13_1. – Дата доступа: 23.02.2023.

56–А. Boika, A. V. A Post-COVID-19 Parkinsonism in the Future? / A. V. Boika // Mov. Disord. – 2020. – Vol. 35, № 7. – P. 1094.

57–А. Post-COVID worsening of a Parkinson's disease patient / A. V. Boika, M. M. Sialitski, V. A. Chyzhyk, V. V. Ponomarev, E. G. Fomina // Clin. Case Rep. [Electronic resource]. – 2021. – Vol. 9, № 7. – Mode of access: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ccr3.4409>. – Date of access: 23.02.2023.

58–А. Влияние инфекционных возбудителей на течение болезни Паркинсона / М. М. Селицкий, А. В. Бойко, В. В. Пономарев, В. А. Чижик, О. А. Богомаз // Нейрохирургия и неврология Казахстана. – 2021. – № 2. – С. 16–21.

59–А. Возможные иммунопатогенетические механизмы влияния SARS-CoV-2 на дебют и течение болезни Паркинсона / М. М. Селицкий, О. А. Богомаз, А. В. Бойко, В. В. Пономарев, Е. В. Мазуренко // Коронавирусная инфекция 2021: фундаментальные, клинические и эпидемиологические аспекты : сб. науч. материалов по итогам заседаний Респ. межведомств. рабочей группы по преодолению COVID-19 / Нац. акад. наук Беларуси, Отд-ние мед. наук ; под общ. ред. В. Г. Гусакова. – Минск, 2021. – С. 157–172.

60–А. Бойко, А. В. Болезнь Паркинсона: этиопатогенез, диагностика и лечение : учеб. пособие / А. В. Бойко, О. А. Богомаз ; Белорус. мед. акад. последиплом. образования. – Минск : БелМАПО, 2023. – 157 с.

РЭЗІЮМЭ

Бойка Аляксандр Васільевіч

Дыягностыка і лячэнне прагрэсавання хваробы Паркінсона (клініка-эксперыментальнае даследаванне)

Ключавыя словы: хвароба Паркінсона (ХП), прагрэсаванне, эксперыментальныя і клінічныя даследаванні, паркінсанічны сіндром (ПС), нейразапаленне, мультыпатэнтныя мезенхімальныя страмальныя клеткі касцявога мозга (ММСК КМ)

Мэта даследавання: навукова абгрунтаваць, распрацаваць і ўкараніць у практычную ахову здароўя метады дыягностыкі і лячэння прагрэсавання ХП шляхам эксперыментальнага мадэлявання і клінічнага даследавання.

Метады даследавання: клінічны, лабараторны, гісталагічны, статыстычны.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню пры вывучэнні рухальнай актыўнасці і пры даследаванні нейронаў базальных ядзер і чорнай субстанцыі марфалагічна пацверджана адсутнасць статыстычна значных адрозненняў паміж групамі пацукоў, якія атрымалі 21-дзённы курс адной з доз ліпаполіцукрыду (1, 10 або 100 мкг/кг/мл), што ў сукупнасці з адсутнасцю неўралагічных адрозненняў з кантрольнай групай даказвае наяўнасць даклінічнай стадыі ПС нейразапаленчага генезу. Упершыню паказана, што з дэбютам рухальных парушэнняў пры ХП асацыяваны: вострыя стрэсавыя сітуацыі ў 41,5 % выпадкаў, болевыя сіндромы ў 11,6 % выпадкаў, ВРЗ ў 1,9 % выпадкаў. Вывучана роля запаленчых рэакцый у фарміраванні тыпу прагрэсавання ХП. Упершыню распрацаваны і ўкаранены ў практыку аховы здароўя метады хуткага тыпу прагрэсавання ХП пры велічыні МоСА менш за 26 балаў, узроўні антыцелаў да α -сінуклеіну ў сываратцы больш за 4,11 нг/мл і альбумінавам каэфіцыенце Qalb менш за 83,95 ($p < 0,001$, AUC = 0,844, адчувальнасць 83,8 % і спецыфічнасць 76,2 %). Даказаны клінічна і лабараторна ранні эфект ММСК КМ пры ПС і ХП. Упершыню прапанаваны да прымянення ў навуковых і практычных мэтах тэрмін «нейразапаленчая пенумбра» для вызначэння мішэні тэрапіі ХП.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі даследавання могуць быць укаранены ў працу арганізацый аховы здароўя і навучальны працэс ва ўстановах адукацыі.

Галіна прымянення: неўралогія.

РЕЗЮМЕ

Бойко Александр Васильевич

Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-экспериментальное исследование)

Ключевые слова: болезнь Паркинсона (БП), прогрессирование, экспериментальные и клинические исследования, паркинсонический синдром (ПС), нейровоспаление, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки костного мозга (ММСК КМ)

Цель исследования: научно обосновать, разработать и внедрить в практическое здравоохранение методы диагностики и лечения прогрессирования БП путем экспериментального моделирования и клинического исследования.

Методы исследования: клинический, лабораторный, гистологический, статистический.

Полученные результаты и их новизна. Впервые при изучении двигательной активности и при исследовании нейронов базальных ядер и черной субстанции морфологически подтверждено отсутствие статистически значимых отличий между группами крыс, получивших 21-дневный курс одной из доз липополисахарида (1, 10 или 100 мкг/кг/мл), что в совокупности с отсутствием неврологических отличий с контрольной группой доказывает наличие доклинической стадии ПС нейровоспалительного генеза. Впервые показано, что с дебютом двигательных нарушений при БП ассоциированы: острые стрессовые ситуации в 41,5 % случаев, болевые синдромы в 11,6 % случаев, ОРЗ в 1,9 % случаев. Изучена роль воспалительных реакций в формировании типа прогрессирования БП. Впервые разработан и внедрен в практику здравоохранения метод диагностики быстрого типа прогрессирования БП при величине МоСА менее 26 баллов, уровне антител к α -синуклеину в сыворотке более 4,11 нг/мл и альбуминовом коэффициенте Qalb менее 83,95 ($p < 0,001$, AUC = 0,844, чувствительность 83,8 % и специфичность 76,2 %). Доказан клинически и лабораторно ранний эффект ММСК КМ при ПС и БП. Впервые предложен к применению в научных и практических целях термин «нейровоспалительная пенумбра» для определения мишени терапии БП.

Рекомендации по использованию: результаты исследования могут быть внедрены в работу организаций здравоохранения и учебный процесс в учреждениях образования.

Область применения: неврология.

RESUME

Boika Aliaksandr Vasilevich

**Diagnosis and treatment of progression of Parkinson's disease
(clinical experimental study)**

Key words: Parkinson's disease (PD), progression, preclinical and clinical studies, parkinsonian syndrome (PS), neuroinflammation, multipotent mesenchymal stem cells of bone marrow (MMSC BM)

Purpose of the study: to scientifically substantiate, develop and implement in practical healthcare methods of diagnosing and treating the progression of PD through experimental modeling and clinical research.

Research methods and equipment used: clinical, laboratory, histological, statistical.

The results obtained and their novelty. For the first time, when studying motor activity and morphologically examining neurons of the basal ganglia and substantia nigra, the absence of statistically significant differences between groups of rats that received a 21-day course of one of the doses of lipopolysaccharide (1, 10 or 100 mcg/kg/ml) was confirmed, which, together with the absence of neurological differences with the control group, proves the presence of a preclinical stage of PS of neuroinflammatory genesis. For the first time, it was shown that the onset of motor disorders in PD is associated with: acute stressful situations in 41.5 % of cases, pain syndromes in 11.6 % of cases, acute respiratory diseases in 1.9 % of cases. The role of inflammatory reactions in the formation of the type of progression of PD has been studied. For the first time, a method for diagnosing the rapid type of PD progression with a MoCA value less than 26 points, levels of antibodies to α -synuclein in the serum more than 4.11 ng/ml and an albumin coefficient Qalb less than 83.95 ($p < 0.001$, AUC = 0.844, sensitivity 83.8 % and specificity 76.2 %) has been developed and introduced into healthcare practice. The early effect of MMSC BM on PS and PD has been proven clinically and laboratory. For the first time, the term "neuroinflammatory penumbra" was proposed for use for scientific and practical purposes to determine the target of PD therapy.

Recommendations for use: the results of the study can be implemented in the work of healthcare organizations and the educational process in educational institutions.

Area of application: neurology.

Подписано в печать 21.10.24. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Марафон Бизнес».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,63. Тираж 60 экз. Заказ 567.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.