

Биомаркеры бокового амиотрофического склероза

© А.Н. ХАБИБРАХМАНОВ, М.А. МУХАМЕДЬЯРОВ, Э.И. БОГДАНОВ

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия

Резюме

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — фатальное нейродегенеративное заболевание, не поддающееся эффективному лечению. На сегодняшний день сложилось представление о БАС как о многофакторном гетерогенном заболевании, при котором различные патологические процессы приводят к единому конечному результату — гибели мотонейронов головного и спинного мозга. Современные диагностические критерии и классификация БАС не учитывают всей гетерогенности заболевания. Несмотря на развитие молекулярной нейробиологии и нейрофизиологии, генетики, на существенный прогресс в понимании патогенеза БАС, заболевание диагностируется преимущественно на основании клинических проявлений. За последние годы ряд перспективных лекарственных препаратов не смог доказать эффективность в клинических исследованиях. К причинам данных неудач некоторые исследователи относят вариабельность БАС, включение пациентов в исследования уже на поздней стадии болезни, отсутствие применения биомаркеров в отборе пациентов и оценке фармакодинамики потенциальных лекарств. Исследование и внедрение биомаркеров в клиническую практику способны помочь в решении данных проблем. В настоящей статье рассмотрены биомаркеры, выявляемые в биологических жидкостях организма человека.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, биомаркеры, диагностика, цепи нейрофиламента, микро-РНК.

Информация об авторах:

Хабибрахманов А.Н. — <https://orcid.org/0000-0001-5625-8658>; e-mail: aidarxah@gmail.com

Мухамедьяров М.А. — <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Богданов Э.И. — <https://orcid.org/0000-0001-9332-8053>

Автор, ответственный за переписку: Хабибрахманов А.Н. — e-mail: aidarxah@gmail.com

Как цитировать:

Хабибрахманов А.Н., Мухамедьяров М.А., Богданов Э.И. Биомаркеры бокового амиотрофического склероза. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(5):30–35. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212205130>

Biomarkers of amyotrophic lateral sclerosis

© А.Н. ХАБИБРАХМАНОВ, М.А. МУХАМЕДЬЯРОВ, Э.И. БОГДАНОВ

Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease that has no effective treatment. To date, ALS is considered as a multifactorial heterogeneous disease, in which the death of motor neurons is a final result of the different pathological pathways. Modern diagnostic criteria and classification of ALS do not take into account all heterogeneity of the disease. Despite the development of molecular neurobiology and neurophysiology, genetics, and technology, significant progress in understanding the pathogenesis of ALS, the disease is diagnosed primarily on the basis of clinical manifestations. In recent years, a number of clinical trials of promising drugs have failed to show positive results. Among the reasons for these failures are variability of ALS forms, patients enrollment already at a late stage of the disease, the lack of use of biomarkers for patients selection and drugs' pharmacodynamics assessment. The study of biomarkers and their implementation in clinical practice can help to solve these problems. Here we will discuss the fluid-based biomarkers for ALS.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, biomarkers, diagnosis, miRNA, neurofilaments.

Information about the authors:

Khabibrakhmanov A.N. — <https://orcid.org/0000-0001-5625-8658>; e-mail: aidarxah@gmail.com

Mukhamedyarov M.A. — <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Bogdanov E.I. — <https://orcid.org/0000-0001-9332-8053>

Corresponding author: Khabibrakhmanov A.N. — e-mail: aidarxah@gmail.com

To cite this article:

Khabibrakhmanov AN, Mukhamedyarov MA, Bogdanov EI. Biomarkers of amyotrophic lateral sclerosis. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry = Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2022;122(5):30–35. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro202212205130>

Боковой амиотрофический склероз (БАС) — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью мотонейронов головного и спинного мозга, проявляющееся в виде прогрессирующей мышечной слабости и амиотрофий. БАС считается гетерогенным по своему патогенезу заболеванием, развитие которого связано с комбинацией генетических факторов, факторов внешней среды, а также процессов естественного старения [1, 2]. Отмечена высокая степень вариабельности возраста начала заболевания, его первых проявлений, скорости прогрессирования. Средняя продолжительность жизни с момента установления диагноза составляет 3 года. В патогенезе БАС важную роль играют механизмы оксидативного стресса, нарушение аксонального транспорта, митохондриальная дисфункция, эксайтотоксичность, нарушение метаболизма протеинов и РНК, образование белковых агрегатов, астроцитарная дисфункция, активация микроглии, нейровоспаление [3, 4].

До 95% всех случаев БАС относят к спорадической форме. Лишь в 5—10% случаев заболевание связано с наследованием мутантного гена. Известно более 40 генов, вовлеченных в этиопатогенез БАС [5]. Самыми распространенными являются мутации генов *C9orf72*, *SOD1*, *TARDBP*, *FUS* и *TBK-1*.

На сегодняшний день существует несколько актуальных проблем БАС. Существующая классификация не учитывает всей гетерогенности патологии, а современные диагностические критерии обладают низкой чувствительностью [6]. Еще одной проблемой является большое количество неудачных клинических исследований потенциальных лекарственных средств. Причинами этих неудач в том числе являются включение пациентов в исследования на поздних стадиях и высокая вариабельность форм БАС [7]. Также при оценке эффективности лекарственных препаратов очень редко исследуются биомаркеры, которые могут более объективно отражать их влияние на патогенетические мишени. Исследование биомаркеров может помочь в решении данных проблем.

Биомаркер — это характеристика, которую можно объективно измерить, и которая является показателем нормальных или патологических процессов, а также различных реакций на терапевтическое вмешательство [8]. Развитие молекулярной биологии, иммунологии, генетики, протеомики и метаболомики открывает большой простор для научных исследований в поисках наилучших маркеров БАС.

Биомаркеры биологических жидкостей

Наиболее репрезентативным источником биомаркеров считается цереброспинальная жидкость (ЦСЖ), так как она находится в непосредственном контакте с нервной тканью и лучше всего может отражать патологические процессы и изменения, происходящие в нервной системе. Однако получение образцов ЦСЖ является инвазивной процедурой, несет риски осложнений, имеет ряд неудобств для пациента. Также этот метод имеет явные этические преграды, особенно для вовлечения здоровых лиц в клинические исследования. Поэтому кровь представляется более доступным для исследования источником биомаркеров. Однако в крови может происходить трансформация биомаркеров, поступающих из ЦНС, что может сказаться на репрезентативности исследований. При этом кровь может лучше отражать другие патологические процессы, происходящие за пределами ЦНС, например в мышечной ткани

или нервно-мышечных синапсах. Привлекательными субстратами для исследований представляются моча и слюна. Забор этих жидкостей является неинвазивной манипуляцией, очень простой в исполнении, лишенной возможных рисков для пациента.

Цепи нейрофиламента

На сегодняшний день наиболее изученными биомаркерами БАС являются фосфорилированные тяжелые цепи нейрофиламента (pNFH) и легкие цепи нейрофиламента (NFL). Нейрофиламенты — это структурные белки цитоскелета, экспрессирующиеся в нейронах. Агрегация и аккумуляция этих белков приводят к нарушению аксонального транспорта, морфологическим и функциональным изменениям мотонейронов и их массивной гибели, что является характерной чертой БАС [9]. Цепи нейрофиламента достаточно стабильны, поэтому с использованием серологических методов исследования достаточно легко определять их концентрацию в таких биологических жидкостях, как ЦСЖ и кровь. В исследованиях было показано повышение концентрации pNFH в ЦСЖ и крови на ранних стадиях БАС по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с другими неврологическими заболеваниями, что говорит о достаточной специфичности для БАС [10—12]. В случае семейной формы БАС концентрация NFL повышается примерно за 1 год до появления первых симптомов, что может использоваться в прогностических целях у носителей мутантных генов.

В настоящее время в ряде исследований установлены чувствительность и специфичность для pNFH в диагностике БАС. При определении pNFH в ЦСЖ чувствительность составляет от 77 до 97,3%, специфичность — от 80 до 95%. При определении цепей нейрофиламента в крови чувствительность и специфичность составляют 89—90% и 71—75% соответственно [13]. Показано, что уровень концентрации pNFH коррелирует с продолжительностью жизни (установлена обратная зависимость) и скоростью прогрессирования заболевания (прямая зависимость) [12, 14, 15]. Это может использоваться в прогностических целях и для разделения пациентов на группы с быстро и медленно прогрессирующими формами БАС.

Также установлено, что повышение концентрации pNFH и NFL коррелирует со степенью поражения верхних мотонейронов [10].

Микро-РНК

Микро-РНК (miRNA) — это некодирующие цепочки РНК длиной в 20—25 нуклеотидов, которые участвуют в регуляции экспрессии генов на транскрипционном и посттранскрипционном этапе путем РНК-интерференции. Микро-РНК имеют тканеспецифичную экспрессию [16]. Они выявляются во многих физиологических жидкостях, в исследованиях БАС их определяют в ЦСЖ, крови и мышечных биоптатах. Дисрегуляция в экспрессии микро-РНК играет роль в развитии нейродегенеративных заболеваний в общем, и БАС в частности [17].

Наиболее изученной микро-РНК при БАС является miR-206. Это специфичная для мышечной ткани микро-РНК, экспрессия которой подвергается изменениям при развитии БАС [18]. Считается, что miR-206 играет протективную роль, обеспечивая выживаемость синаптических контактов и активность спрутинга. Определение miR-206 в плазме крови обладает прогностическим потенциалом,

что было показано в исследовании G. Dobrowolny и соавт. [19]. В данном исследовании, помимо miR-206, еще для двух микро-РНК, miR-133a и miR-155a-5p, было показано значимое увеличение их концентрации в плазме крови при БАС по сравнению с контролем. Также имеется тесная корреляция между их концентрацией и темпами прогрессирования заболевания. Чем больше копий данных микро-РНК в плазме на начальных стадиях болезни, тем ниже темпы прогрессирования БАС. В клинической практике определение данных микро-РНК позволит выделять пациентов с быстро и медленно прогрессирующим БАС.

Интересным представляется исследование микро-РНК экзосом. Экзосомы — это везикулы, образованные в ходе естественного экзоцитоза клеткой, содержащие различные типы РНК, ДНК, липиды и белки [20]. Экзосомы захватываются соседними клетками, и их содержимое влияет на клеточные функции клетки-реципиента, что обеспечивает межклеточные взаимодействия. Экзосомы очень стабильны, их содержимое не подвергается воздействию различных ферментов. Таким образом, содержащиеся в экзосомах микро-РНК являются наилучшими маркерами, которые непосредственно отражают дисрегуляцию метаболизма микро-РНК в клетках при различных патологиях, представляющих интерес.

В исследовании, проведенном С. Ricci и соавт., использовался метод выделения из плазмы крови пациентов с БАС экзосом, образованных нейронами [21]. В данном исследовании было выделено несколько микро-РНК, экспрессия которых значимо меняется в случае БАС. Так, для miR-146a-5p, miR-199a-3p, miR-199a-5p, miR-151a-3p, miR-151a-5p было показано увеличение экспрессии, а для miR-4454, miR-10b-5p, miR-29b-3p — снижение экспрессии по сравнению с группой контроля.

Учитывая высокую стабильность в биологических жидкостях, а также тканеспецифичную экспрессию, микро-РНК представляются наиболее перспективными биомаркерами БАС. На сегодняшний день данные некоторых исследований противоречат друг другу, что может быть связано с гетерогенностью патологии, применением разных методов определения микро-РНК, несовершенством выборок пациентов и контролей [22]. Потому еще требуется время для стандартизации методов и технологий определения микро-РНК и валидации референсных значений.

Воспалительные цитокины

Общей чертой многих нейродегенеративных заболеваний является активация глии, сопровождающаяся повышением уровня медиаторов воспаления, что потенцирует нейровоспаление и гибель нейронов. БАС не является исключением, потому достаточно много исследований посвящено изучению воспалительных профилей при БАС [23].

Так, исследование панели из 35 медиаторов воспаления показало значительное повышение концентрации таких медиаторов, как интерлейкин (ИЛ)-10, ИЛ-6, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), ИЛ-2 и ИЛ-15 в ЦСЖ при БАС по сравнению с другими нейродегенеративными заболеваниями. Эти маркеры обладают высокими чувствительностью и специфичностью (87,5 и 91,2% соответственно), однако их уровни не коррелируют с длительностью заболевания или клиническим вариантом БАС [24].

В исследовании М. Olesen и соавт. было установлено, что для разных вариантов БАС характерны свои воспали-

тельные профили, которые коррелируют с продолжительностью заболевания [25]. В этом исследовании сравнивались воспалительные профили пациентов с БАС, имеющих мутацию в гене *SOD1* (*mSOD1*), с гексануклеотидной экспансией *C9orf72* и все остальные случаи БАС. Так, в случае *C9orf72* заметно выше значения альфа-интерферона в ЦСЖ. В сравнении с *mSOD1* и *C9orf72* в прочих случаях БАС в ЦСЖ было выявлено более высокое значение фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α). Продолжительность жизни пациентов с *mSOD1* обратно пропорциональна уровню лиганда семейства TNF, индуцирующего апоптоз (TRAIL) в ЦСЖ. При наличии гексануклеотидной экспансии *C9orf72* продолжительность жизни коррелирует с уровнем ИЛ-1 β плазмы крови (обратная зависимость), в остальных же случаях БАС продолжительность жизни коррелирует с уровнями TNF- α , ИЛ-10 и TRAIL плазмы крови (обратная зависимость).

В ряде исследований было показано изменение концентраций различных провоспалительных медиаторов и медиаторов иммунного ответа, что говорит о вовлечении различных механизмов воспалительных реакций и различных путей их регулирования в патогенезе БАС. Таким образом, исследование профилей медиаторов воспаления можно использовать для дифференциальной диагностики БАС, отбора пациентов в различные группы в клинических исследованиях, а также для оценки эффективности таргетной терапии.

Рецептор нейротрофина р75 (p75NTR)

p75NTR экспрессируется в большом количестве в мотонейронах в период эмбрионального развития, в постнатальном же периоде экспрессия значительно снижается, а при повреждении мотонейронов экспрессия рецептора нейротрофина вновь значительно возрастает [26]. Данный белок опосредует два противоположных процесса — выживание и гибель нервных клеток в зависимости от наличия или отсутствия нейротрофинов. При БАС данный рецептор запускает процессы апоптоза в мотонейронах. Гистологически была показана гиперэкспрессия p75NTR в α -мотонейронах спинного мозга пациентов с БАС [27].

Внеклеточный домен рецептора нейротрофина выделяется с мочой, где его можно обнаружить у новорожденных и в значительно меньшем количестве у взрослых. В исследованиях было показано, что по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с неврологическими заболеваниями у пациентов с БАС достоверно выше концентрация p75NTR в моче, и чем выше уровень p75NTR, тем быстрее темпы прогрессирования БАС. Чувствительность и специфичность для p75NTR составляют 93 и 100% соответственно по сравнению со здоровыми людьми, и 93 и 79% соответственно по сравнению с другими нейродегенеративными заболеваниями [28].

C9orf72 DRP

Одной из наиболее распространенных генетических причин развития БАС является экспансия гексануклеотидных повторов GGGGCC в гене *C9orf72*, которая обнаруживается в 30–40% семейных и до 10% спорадических случаев БАС [29]. Эта мутация ведет к потере функции кодируемого белка, участвующего в аксональном транспорте и межнейрональном взаимодействии, а также к приобретению нейротоксических свойств синтезируемой РНК [30]. С этих РНК возможна трансляция белков с дипептидными

ми повторами (DPR), которые можно обнаружить в ЦСЖ с помощью иммунологических методов [31, 32]. DPR представляется потенциальным биомаркером, который, вероятно, позволит оценивать эффективность таргетной терапии.

TDP-43

TDP-43 (TAR ДНК-связывающий протеин 43 кДа) является ключевым компонентом цитоплазматических убиквитинированных включений при спорадических и семейных формах БАС [33]. Скопления этого белка обнаруживаются в нервной ткани в 97% случаев и являются высокоспецифичным патоморфологическим признаком БАС. Потому TDP-43 может оказаться очень ценным биомаркером для большинства пациентов с БАС. В ряде исследований было показано повышение концентрации TDP-43 в ЦСЖ и плазме крови, однако есть сообщения и об исключительно высокой вариабельности значений TDP-43 [34]. Учитывая наличие различных изоформ TDP-43, а также его взаимодействия с различными белками и мРНК, требуется дальнейшее изучение TDP-43 для валидации методов его определения в ЦСЖ и плазме крови.

Супероксиддисмутаза (SOD1)

Cu/Zn-супероксиддисмутаза относится к семейству антиоксидантных ферментов и катализирует реакцию дисмутации супероксида в кислород и пероксид водорода и играет важную роль в защите клеток от оксидативного стресса [35]. Мутации гена *Cu/Zn-SOD1* приводят к образованию нерастворимых патологических агрегатов этого белка, нарушающих множество важных клеточных функций, и являются причиной около 20% всех семейных и 1–2% спорадических случаев БАС [36]. Патологические агрегаты *Cu/Zn-SOD1* выявляются в ЦСЖ, однако статистически значимых различий между пациентами с БАС и группами контроля обнаружено не было, потому данный фермент не может рассматриваться в качестве диагностического биомаркера [37]. Однако *Cu/Zn-SOD1* может рассматриваться в качестве маркера эффективности таргетной терапии семейной формы SOD1-БАС — в исследовании было показано значимое снижение концентрации агрегатов *Cu/Zn-SOD1* в ЦСЖ в ответ на интратекальное введение антисмысловых олигонуклеотидов [38].

Цистатин С

Цистатин С является ингибитором цистеиновых протеаз и участвует в некоторых заболеваниях ЦНС [39]. При БАС цистатин С выявляется в небольших эозинофильных включениях в телах нижних мотонейронов [40]. При БАС было обнаружено значительное снижение концентрации цистатина С в ЦСЖ пациентов с БАС по сравнению с группами контроля. При этом уровень цистатина С прямо коррелирует с продолжительностью жизни пациентов [41]. Противоположные данные были получены при исследовании цистатина С в плазме крови, где было показано значимое увеличение его концентрации у пациентов с БАС по сравнению со здоровыми лицами [42].

Ацетилхолинэстераза

Диагностической ценностью может обладать исследование активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) в плазме крови. Еще в 1981–1983 гг. было показано специфическое увеличение активности АХЭ в плазме крови пациентов с БАС по сравнению со здоровыми лицами и пациентами,

страдающими различными нервно-мышечными заболеваниями [43, 44]. Также в этих исследованиях было установлено, что активность АХЭ повышается у пациентов с типичной формой БАС и прогрессирующей мышечной атрофией, в то время как у пациентов с первичным латеральным склерозом активность АХЭ не повышалась. Однако в случае БАС не было обнаружено корреляции между уровнем активности АХЭ и длительностью заболевания либо степенью его тяжести (стоит отметить, что в этих исследованиях для оценки тяжести БАС не применялась функциональная шкала БАС ALSFRS-r). В тех исследованиях было высказано предположение, что повышение активности АХЭ в плазме крови связано с поражением мотонейронов спинного мозга. Однако, например, у пациентов со спинальной мышечной атрофией подобного увеличения активности АХЭ обнаружено не было [45]. Вероятно, изменение активности АХЭ имеет специфический характер при БАС, потому АХЭ можно рассматривать в качестве потенциального маркера. Интересным является еще и тот факт, что активность АХЭ можно определить в слюне, что уже было проведено у пациентов с болезнью Альцгеймера и болезнью Паркинсона [46, 47].

Нейроспецифические белки

Помимо цепей нейрофиламента, в ЦСЖ можно определять концентрацию других нейроспецифических белков. В работе Ю.Н. Рушкевич и соавт. [48] исследовались концентрации нейроспецифической энolahзы (НСЭ) и белка S100b в ЦСЖ и плазме пациентов с БАС. НСЭ — это гликолитический фермент, экспрессирующийся в зрелых нервных клетках [49]. S100b — кальцийсвязывающий белок, синтезирующийся астроцитами и олигодендроцитами. В исследовании было показано значимое повышение концентрации НСЭ в ЦСЖ при разных клинических формах БАС (бульбарная, шейно-грудная, пояснично-крестцовая) по сравнению с контрольной группой (неврологически здоровые лица и пациенты с радикулопатией). Значимое повышение концентрации S100b в ЦСЖ было отмечено только при бульбарной форме БАС. В плазме крови только при шейно-грудной форме БАС было отмечено достоверное повышение концентрации НСЭ. Достоверных изменений концентрации этих белков при других формах БАС в плазме крови отмечено не было.

Стоит отметить, что концентрация НСЭ повышается в ЦСЖ при некоторых заболеваниях нервной системы, например при нарушениях мозгового кровообращения, черепно-мозговых травмах, эпилепсии [49]. Таким образом, НСЭ можно рассматривать как неспецифический маркер нейронального поражения. Требуется дальнейшее исследование для оценки чувствительности и специфичности определения НСЭ в ЦСЖ при БАС, а также корреляции между концентрацией НСЭ и темпами прогрессирования заболевания. Учитывая, что НСЭ отражает повреждение нервной системы, ее можно использовать как биомаркер в клинических исследованиях для объективной оценки эффективности лекарственных препаратов.

Другие маркеры

Возможно комплексное исследование биомаркеров. Так, совместное определение эндотелиального фактора роста сосудов и его рецептора (VEGF, VEGFR2) с TDP-43 в ЦСЖ и VEGFR2 с оптинейрином в плазме крови в комбинации с данными о возрасте и индексе массы тела пациен-

та обладает высокой предсказательной способностью риска БАС с чувствительностью 98% и специфичностью 93% [50].

Помимо p75NTF, в моче были обнаружены еще несколько потенциальных биомаркеров БАС. У пациентов с БАС выявляется значимое снижение уровня глюкозил-галактозил-гидроксилизина — метаболита распада коллагена. По мере прогрессирования заболевания концентрация глюкозил-галактозил-гидроксилизина также постепенно снижается [51]. Также в моче пациентов с БАС можно обнаружить снижение концентрации коллагена IV типа [52]. Еще один потенциальный биомаркер — 8ОН2'-dG (8-гидроксил-2'-деоксигуанозин) отражает повреждения ДНК вследствие оксидативного стресса. Концентрация этого маркера повышается при БАС, уровень имеет обратную зависимость с темпами прогрессирования заболевания, что дает возможность его использования как прогностического маркера [53].

Заключение

Как было показано в статье, на сегодняшний момент уже известен широкий спектр биомаркеров БАС. Однако они пока не используются в повседневной клинической практике. Некоторые из них обладают достаточно высокой специфичностью и чувствительностью, что может позволить ставить диагноз на более ранних стадиях. Ряд мар-

керов позволяет спрогнозировать темпы прогрессирования заболевания. Комплексная панель биомаркеров может обладать более значимым диагностическим и прогностическим потенциалом. Вероятно, некоторые из биомаркеров войдут в диагностические критерии БАС, что улучшит их чувствительность.

Применение биомаркеров на всех этапах разработки лекарственных препаратов, безусловно, позитивно отразится на рандомизированных клинических исследованиях, так как позволит включать в них пациентов на ранних, а возможно, и на досимптомной стадиях болезни, а также формировать менее гетерогенные выборки пациентов. Биомаркеры также могут стать дополнительным инструментом исследования фармакодинамики лекарственных препаратов.

Несмотря на то что в последнее десятилетие работы по обнаружению биомаркеров БАС были весьма успешными, необходимы дальнейшие исследования для надежной валидации потенциальных биомаркеров и методов, используемых для их измерения.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) №19-15-00329.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Bendotti C, Bonetto V, Pupillo E, et al. Focus on the heterogeneity of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener.* 2020;21(7-8):485-495. <https://doi.org/10.1080/21678421.2020.1779298>
- Masrori P, Van Damme P. Amyotrophic lateral sclerosis: a clinical review. *Eur J Neurol.* 2020;27(10):1918-1929. <https://doi.org/10.1111/ene.14393>
- Brown RH, Al-Chalabi A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *N Engl J Med.* 2017;377(2):162-172. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1603471>
- Peters OM, Ghasemi M, Brown RH. Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS. *J Clin Invest.* 2015;125(5):1767-1779. <https://doi.org/10.1172/JCI171601>
- Ghasemi M, Brown RH. Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8(5): 45-51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5932579>
- Al-Chalabi A, Hardiman O, Kiernan MC, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: moving towards a new classification system. *Lancet Neurol.* 2016;15(11):1182-1194. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30199-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30199-5)
- Mitsumoto H, Brooks BR, Silani V. Clinical trials in amyotrophic lateral sclerosis: why so many negative trials and how can trials be improved? *Lancet Neurol.* 2014;13(11):1127-1138. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70129-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70129-2)
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69(3):89-95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
- Lee MK, Marszalek JR, Cleveland DW. A mutant neurofilament subunit causes massive, selective motor neuron death: implications for the pathogenesis of human motor neuron disease. *Neuron.* 1994;13(4):975-988. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90263-1](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90263-1)
- Reijn TS, Abdo WF, Schelhaas HJ, Verbeek MM. CSF neurofilament protein analysis in the differential diagnosis of ALS. *J Neurol.* 2009;256(4):615-619. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-0131-z>
- Schaepdryver MD, Goossens J, Meyer SD, et al. Serum neurofilament heavy chains as early marker of motor neuron degeneration. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(10):1971-1979. <https://doi.org/10.1002/acn3.50890>
- Владыкина А.В., Назаров В.Д., Краснов В.С. и др. Исследование диагностической значимости тяжелых цепей нейрофиламентов в цереброспинальной жидкости при боковом амиотрофическом склерозе. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2021;15(1):43-50. Vladykina AV, Nazarov VD, Krasnov VS, et al. The diagnostic significance of neurofilament heavy chains in cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis. *Annaly Klinicheskoy I Eksperimental'noj Nevrologii.* 2021;15(1):43-50. (In Russ.). <https://doi.org/10.25692/ACEN.2021.1.5>
- Vu LT, Bowser R. Fluid-Based Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2017;14(1):119-134. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0503-x>
- Ganesalingam J, An J, Bowser R, Andersen PM, Shaw CE. pNfH is a promising biomarker for ALS. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener.* 2013;14(2):146-149. <https://doi.org/10.3109/21678421.2012.729596>
- Boylan KB, Glass JD, Crook JE, et al. Phosphorylated neurofilament heavy subunit (pNF-H) in peripheral blood and CSF as a potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013;84(4):467-472. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2012-303768>
- Chen K, Rajewsky N. The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nat Rev Genet.* 2007;8(2):93-103. <https://doi.org/10.1038/nrg1990>
- Emde A, Eitan C, Liou L, et al. Dysregulated miRNA biogenesis downstream of cellular stress and ALS-causing mutations: a new mechanism for ALS. *EMBO J.* 2015;34(21):2633-2651. <https://doi.org/10.15252/embj.201490493>
- Ma G, Wang Y, Li Y, et al. MiR-206, a Key Modulator of Skeletal Muscle Development and Disease. *Int J Biol Sci.* 2015;11(3):345-352. <https://doi.org/10.7150/ijbs.10921>

19. Dobrowolny G, Martone J, Lepore E, et al. A longitudinal study defined circulating microRNAs as reliable biomarkers for disease prognosis and progression in ALS human patients. *Cell Death Discov.* 2021 Jan 11;(1):4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7801652>
20. Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes. *Annu Rev Biochem.* 2019;88:487-514. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-013118-111902>
21. Banack SA, Dunlop RA, Cox PA. An miRNA fingerprint using neural-enriched extracellular vesicles from blood plasma: towards a biomarker for amyotrophic lateral sclerosis/motor neuron disease. *Open Biol.* 2020;10(6):24-29. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7333885>
22. Ricci C, Marzocchi C, Battistini S. MicroRNAs as Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells.* 2018;7(11):219. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6262636>
23. McGeer PL, McGeer EG. Inflammatory processes in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 2002;26(4):459-470. <https://doi.org/10.1002/mus.10191>
24. Mitchell RM, Freeman WM, Randazzo WT, et al. A CSF biomarker panel for identification of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 2009;72(1):14-19. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000333251.36681.a5>
25. Olesen MN, Wuolikainen A, Nilsson AC, et al. Inflammatory profiles relate to survival in subtypes of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol — Neuroimmunol Neuroinflammation.* 2020;7(3):e697. <https://doi.org/10.1212/NXI.0000000000000697>
26. Yan Q, Johnson EM. An immunohistochemical study of the nerve growth factor receptor in developing rats. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 1988;8(9):3481-3498. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-09-03481.1988>
27. Seeburger JL, Tarras S, Natter H, Springer JE. Spinal cord motoneurons express p75^NNGFR and p145^{trkB} mRNA in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Res.* 1993;621(1):111-115. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90304-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90304-6)
28. Shephard SR, Chataway T, Schultz DW, Rush RA, Rogers M-L. The Extracellular Domain of Neurotrophin Receptor p75 as a Candidate Biomarker for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS ONE.* 2014;9(1):e87398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087398>
29. DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in non-coding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Neuron.* 2011;72(2):245-256. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.011>
30. Balendra R, Isaacs AM. C9orf72-mediated ALS and FTD: multiple pathways to disease. *Nat Rev Neurol.* 2018;14(9):544-558. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0047-2>
31. Ash PE, Bieniek KF, Gendron TF, et al. Unconventional translation of C9ORF72 GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. *Neuron.* 2013;77:639-646. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.004>
32. Su Z, Zhang Y, Gendron TF, et al. Discovery of a Biomarker and Lead Small Molecules to Target r(GGGGCC)-Associated Defects in c9FTD/ALS. *Neuron.* 2014;83(5):1043-1050. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.041>
33. Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;351(3):602-611. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.10.093>
34. Goossens J, Vanmechelen E, Trojanowski JQ, et al. TDP-43 as a possible biomarker for frontotemporal lobar degeneration: a systematic review of existing antibodies. *Acta Neuropathol Commun.* 2015;3:23-29. <https://doi.org/10.1186/s40478-015-0195-1>
35. Bunton-Stasyshyn RK, Saccon RA, Fratta P, Fisher E.M. SOD1 Function and Its Implications for Amyotrophic Lateral Sclerosis Pathology: New and Renascent Themes. *The Neuroscientist.* 2015;21:519-529. <https://doi.org/10.1177/1073858414561795>
36. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature.* 1993;362(6415):59-62. <https://doi.org/10.1038/362059a0>
37. Frutiger K, Lukas TJ, Gorrie G, Ajroud-Driss S, Siddique T. Gender difference in levels of Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) in cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler.* 2008;9(3):184-187. <https://doi.org/10.1080/17482960801984358>
38. Winer L, Srinivasan D, Chun S, et al. Cerebrospinal Fluid Defines SOD1 as a Pharmacodynamic Marker for Antisense Oligonucleotide Therapy. *JAMA Neurol.* 2013;70(2):201-207. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.593>
39. Nagai A, Terashima M, Sheikh AM, et al. Involvement of cystatin C in pathophysiology of CNS diseases. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2008;13:3470-3479. <https://doi.org/10.2741/2941>
40. Okamoto K, Hirai S, Amari M, Watanabe M, Sakurai A. Bunina bodies in amyotrophic lateral sclerosis immunostained with rabbit anti-cystatin C serum. *Neurosci Lett.* 1993;162(1-2):125-128. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90576-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90576-7)
41. Ryberg H, An J, Darko S, et al. Discovery and Verification of Amyotrophic Lateral Sclerosis Biomarkers by Proteomics. *Muscle Nerve.* 2010;42(1):104-111. <https://doi.org/10.1002/mus.21683>
42. Wilson ME, Boumaza I, Lacomis D, Bowser R. Cystatin C: a candidate biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One.* 2010;5(12):e15133. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015133>
43. Festoff BW, Fernandez HL. Plasma and red blood cell acetylcholinesterase in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 1981;4(1):41-47. <https://doi.org/10.1002/mus.880040108>
44. Rasool CG, Chad D, Bradley WG, Connolly B, Baruah JK. Acetylcholinesterase and ATPases in motor neuron degenerative diseases. *Muscle Nerve.* 1983;6(6):430-435. <https://doi.org/10.1002/mus.880060606>
45. Niebroj-Dobosz I, Hausmanowa-Petrusewicz I. Serum cholinesterase activity in infantile and juvenile spinal muscular atrophy. *Acta Neurol Scand.* 1989;80(3):208-214. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1989.tb03864.x>
46. Sayer R, Law E, Connelly PJ, Breen KC. Association of a salivary acetylcholinesterase with Alzheimer's disease and response to cholinesterase inhibitors. *Clin Biochem.* 2004;37(2):98-104. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.10.007>
47. Fedorova T, Knudsen CS, Mouridsen K, Nexø E, Borghammer P. Salivary Acetylcholinesterase Activity Is Increased in Parkinson's Disease: A Potential Marker of Parasympathetic Dysfunction. *Park Dis.* 2015;2015:1-7. <https://doi.org/10.1155/2015/156479>
48. Рускевич Ю.Н., Пашковская И.Д., Лихачев С.А. Нейроспецифические белки в цереброспинальной жидкости и сыворотке крови пациентов с боковым амиотрофическим склерозом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2018;118(5):75-80. Rushkevich YN, Pashkouskaya ID, Likhachev SA. Neurospecific proteins in cerebrospinal fluid and in the bloodserum of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii im. S.S. Korsakova.* 2018;118(5):75-80. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/jnevro201811815175>
49. Isgrò MA, Bottoni P, Scatena R. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects. In: Scatena R, ed. *Advances in Cancer Biomarkers.* Vol 867. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer Netherlands; 2015:125-143. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7215-0_9
50. Khosla R, Rain M, Sharma S, Anand A. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) prediction model derived from plasma and CSF biomarkers. *PLoS ONE.* 2021;16(2):e0247025. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247025>
51. Ono S, Shimizu N, Imai T, Rodriguez GP. Urinary collagen metabolite excretion in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve.* 2001;24(6):821-825. <https://doi.org/10.1002/mus.1075>
52. Ono S, Imai T, Matsubara S, et al. Decreased urinary concentrations of type IV collagen in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 1999;100(2):111-116. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1999.tb01048.x>
53. Mitsumoto H, Santella RM, Liu X, et al. Oxidative stress biomarkers in sporadic ALS. *Amyotroph Lateral Scler Off Publ World Fed Neurol Res Group Mot Neuron Dis.* 2008;9(3):177-183. <https://doi.org/10.1080/17482960801933942>

Поступила 09.07.2021

Received 09.07.2021

Принята к печати 12.08.2021

Accepted 12.08.2021