

Экспрессия генов мембранных белков лизосом при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*)

Т.С. Усенко^{1,2}, А.И. Безрукова¹, Д.А. Богданова¹, М.А. Николаев^{1,2}, И.В. Милюхина^{1,2,3}, Е.В. Грачева³,
К.А. Сенкевич^{1,2}, Е.Ю. Захарова⁴, А.К. Емельянов^{1,2}, С.Н. Пчелина^{1,2,3}

¹ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия;

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

Введение. Известно, что у носителей мутаций в гене лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (*GBA*) риск развития болезни Паркинсона (*БП*) возрастает в 7–8 раз. Однако не у всех носителей мутаций в данном гене в течение жизни развивается *БП*. Мы предполагаем, что дисфункция мембранных белков лизосом, участвующих в аутофагии и транспорте глюкоцереброзидазы в лизосому, может способствовать развитию *БП* у носителей мутаций в гене *GBA*.

Цель исследования — оценить вклад экспрессии генов *LAMP2* и *SCARB2* в *CD45*⁺-клетках периферической крови в развитии *GBA-БП*.

Материалы и методы. Обследованы 9 пациентов с *GBA-БП*, 9 бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA*, 37 пациентов с *БП* и 56 лиц контрольной группы. Относительный уровень мРНК генов *LAMP2* и *SCARB2* в *CD45*⁺-клетках крови, полученных с использованием магнитного сортирования, проводилось методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием флуоресцентных зондов TaqMan.

Результаты. Относительный уровень мРНК гена *LAMP2* и гена *SCARB2* в *CD45*⁺-клетках крови был снижен у пациентов с *GBA-БП* относительно пациентов со *БП* и контроля (*LAMP2*: $p < 0,0001$, $p = 0,01$ соответственно; *SCARB2*: $p = 0,01$, $p < 0,05$ соответственно) и бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* по сравнению с пациентами со *БП* (*LAMP2*: $p = 0,021$; *SCARB2*: $p < 0,05$) и а также контроля (*LAMP2*: $p = 0,029$). Выявлен пониженный уровень мРНК гена *LAMP2* ($p = 0,024$) и отсутствие различий в уровне мРНК гена *SCARB2* ($p < 0,05$) в *CD45*⁺-клетках крови у пациентов *GBA-БП* по сравнению с группой бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA*.

Заключение. Показано, что *GBA-БП* характеризуется выраженной экспрессией гена *LAMP2* в *CD45*⁺-клетках периферической крови, что может свидетельствовать о вовлеченности снижения экспрессии гена *LAMP2* в патогенез *GBA-БП*.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; *CD45*⁺-клетки крови; *GBA*; *LAMP2*; *SCARB2*.

Источник финансирования. Исследование поддержано грантом РФФ № 19-15-00315.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 188300, Россия, Ленинградская область, г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт». E-mail: usenko_ts@npfi.nrcki.ru. Усенко Т.С.

Для цитирования: Усенко Т.С., Безрукова А.И., Богданова Д.А., Николаев М.А., Милюхина И.В., Грачева Е.В., Сенкевич К.А., Захарова Е.Ю., Емельянов А.К., Пчелина С.Н. Экспрессия генов мембранных белков лизосом при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*). *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2020; 14(2): 43–49.

DOI: 10.25692/ACEN.2020.2.6

Поступила 02.12.2019 / Принята в печать 17.02.2020

Gene Expression of Lysosomal Membrane Proteins in Parkinson Disease, Associated with Mutations in the Glucocerebrosidase Gene (*GBA*)

Tatiana S. Usenko^{1,2}, Anastasia I. Bezrukova¹, Darya A. Bogdanova¹, Mikhail A. Nikolaev^{1,2}, Irina V. Miliukhina³, Elizaveta V. Gracheva³,
Konstantin A. Senkevich^{1,2,3}, Ekaterina Y. Zakharova⁴, Anton K. Emelyanov^{1,2}, Sofya N. Pchelina^{1,2,3}

¹Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia;

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia;

³Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia;

⁴Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

Introduction. In carriers of a mutation in the lysosomal enzyme glucocerebrosidase (*GBA*) gene, the risk of Parkinson disease (PD) is increased by 7–8 times. However, not all carriers of the *GBA* gene mutations develop PD during their lifetime. We hypothesize that the dysfunction in the lysosomal membrane proteins involved in autophagy and transport of *GBA* into the lysosomes can contribute to the development of PD in carriers of mutations in the *GBA* gene.

The aim of the study was to assess the contribution of *LAMP2* and *SCARB2* genes expression in CD45⁺ peripheral blood cells to the development of *GBA*-PD.

Materials and methods. We examined 9 patients with *GBA*-PD, 9 asymptomatic *GBA* gene mutations carriers, 37 patients with PD, and 56 people in the control group. The relative mRNA level of *LAMP2* and *SCARB2* genes in CD45⁺ blood cells, obtained using magnetic sorting, was measured by quantitative real-time polymerase chain reaction using fluorescent probes.

Results. The relative mRNA level of *LAMP2* and *SCARB2* genes in CD45⁺ blood cells was reduced in patients with *GBA*-PD in comparison to patients with PD and to controls (*LAMP2*: $p < 0.0001$, $p = 0.01$ respectively; *SCARB2*: $p = 0.01$, $p < 0.05$, respectively) and in asymptomatic carriers of *GBA* gene mutations compared to patients with PD (*LAMP2*: $p = 0.021$; *SCARB2*: $p < 0.05$) and controls (*LAMP2*: $p = 0.029$). We also found decreased mRNA levels of the *LAMP2* gene ($p = 0.024$) and the absence of differences in the mRNA levels of the *SCARB2* gene ($p < 0.05$) in CD45⁺ blood cells in patients with *GBA*-PD when compared to the group of asymptomatic carriers of *GBA* gene mutations.

Conclusion. *GBA*-PD is characterized by a pronounced expression of the *LAMP2* gene in the CD45⁺ peripheral blood cells, which may indicate a role of the decreased *LAMP2* gene expression in the pathogenesis of *GBA*-PD.

Keywords: Parkinson disease; CD45⁺ blood cells; *GBA*; *LAMP2*; *SCARB2*.

Acknowledgments. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 19-15-00315.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 188300, Russia, Leningrad Region, Gatchina, Orlova Roscha, 1. Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute. E-mail: usenko_ts@pnpi.nrcki.ru. Usenko T.S.

For citation: Usenko T.S., Bezrukova A.I., Bogdanova D.A., Nikolaev M.A., Miliukhina I.V., Gracheva E.V., Senkevich K.A., Zaharova E.Y., Emelyanov A.K., Pchelina S.N. [Gene expression of lysosomal membrane proteins in Parkinson disease, associated with mutations in the glucocerebrosidase gene (*GBA*)]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2020; 14(2): 43–49. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2020.2.6

Received 02.12.2019 / Accepted 17.02.2020

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) — распространённое нейродегенеративное заболевание, в основе патогенеза которого лежит агрегация и накопление белка α -синуклеина в дофаминергических нейронах головного мозга [1]. Из генетических факторов риска развития БП наиболее распространёнными являются мутации в гене *GBA*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (ГЦ). Риск БП среди носителей мутаций в гене *GBA* увеличен в 7–8 раз в различных популяциях [2–4]. В гомозиготном состоянии мутации в гене *GBA* являются причиной развития аутосомно-рецессивного заболевания — болезни Гоше, относящейся к классу лизосомных болезней накопления (ЛБН) [3]. Снижение активности данного фермента приводит к накоплению субстрата в лизосомах с последующей дисфункцией клеток и развитием неврологической симптоматики в случае болезни Гоше типов 2 и 3 [5]. Следует отметить, что не у всех носителей мутаций в гене *GBA*, а также пациентов с болезнью Гоше типа 1 развивается БП. Молекулярный механизм развития БП, ассоциированной с мутациями в гене *GBA* (*GBA*-БП), остаётся неизвестным, как и триггеры начала развития БП у носителей мутаций в гене *GBA*.

Предполагается, что в нарушении катаболизма α -синуклеина в клетках ключевую роль может играть дисфункция лизосом [6]. Недавнее исследование выявило кумулятивный вклад генов ЛБН в риск БП. Носители мутаций

в 2 генах ЛБН имели более высокий риск БП, чем носители 1 мутации. Носители 3 мутаций в генах ЛБН встречались только в группе пациентов с БП и не были выявлены в контроле [7].

Мы предполагаем, что развитие БП у носителей мутаций в гене *GBA* может быть связано не только со снижением активности и, как следствие, нарушением функции фермента ГЦ, а также со снижением активности других ферментов лизосом или же недостаточностью мембранных белков лизосом.

В настоящем исследовании мы оценили уровень экспрессии генов, кодирующих лизосомно-ассоциированный мембранный белок 2 (*LAMP2*) и интегральный белок лизосомных мембран 2 (*LIMP2/SCARB2*), в CD45⁺-клетках крови у пациентов с *GBA*-БП, а также у бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (БНМ-*GBA*).

Материалы и методы

В исследование были включены:

- носители наиболее распространённых мутаций в гене *GBA* (L444P, N370S) в гетерозиготном состоянии — 9 пациентов (5 мужчин и 4 женщины, средний возраст 60,6 ± 12,4 года) с *GBA*-БП (средний возраст начала болезни 57,1 ± 11,2 года);

- БНМ-*GBA* — 9 человек (4 мужчины и 5 женщин, средний возраст $49,6 \pm 11,7$ года);
- пациенты с БП — 37 человек (15 мужчин и 22 женщины, средний возраст $64,3 \pm 9,9$ года, средний возраст начала болезни $61,0 \pm 10,3$ года);
- группа контроля — 56 неврологически здоровых индивидумов (23 мужчины и 33 женщины, средний возраст $64,2 \pm 10,2$ года).

Набор пациентов проводился на базе Научно-клинического центра нейродегенеративных заболеваний клини-

ки ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» и ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Группа пациентов с *GBA*-БП описана ранее [8].

Выявление мутации L444P в гене *GBA* у пациентов с БП осуществлялось методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом, а мутации N370S — методом аллель-специфичной ПЦР [9, 10]. Группа БНМ-*GBA* составлена при обследовании родственников первого родства пациентов с болезнью Гоше. Мутации в гене *GBA* в данной выборке определяли методом прямого секвенирования. Клиниче-

Таблица 1. Клинические характеристики исследуемых групп (M ± SD)

Table 1. Clinical characteristics of the study groups (M±SD)

Группа Group	n	Мутации в гене <i>GBA</i> Mutations in the <i>GBA</i> gene	Средний возраст, годы Mean age, years	Средний возраст начала, годы Mean age at onset, years	Пол (мужчины:женщины) Gender (men:women)
GBA-БП GBA-PD	9	7 L444P/N 2 N370S/N	$60,6 \pm 12,4$	$57,1 \pm 11,2$	5:4
БНМ- <i>GBA</i> Asymptomatic carriers of <i>GBA</i> gene mutations	9	4 N370S/N 1 N409S/N 3 L444P/N 1 L327P/N	$49,6 \pm 11,7$	—	4:5
БП PD	37	—	$64,3 \pm 9,9$	$61,0 \pm 10,3$	15:22
Контроль Control	56	—	$64,2 \pm 10,2$	—	23:33

Таблица 2. Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов

Table 2. Nucleotide sequences of primers and probes

Ген Gene	Праймер Primer	Последовательность Sequence
<i>LAMP2</i>	Прямой Forward	5'-CTGGTGTTCAGCTGTTGTT-3'
	Обратный Reverse	5'-AAGGCAAGTGGCATTTCCTG-3'
	Зонд Probe	5'-(FAM)-CTGCCTAGTCCTGGGAGCTGTGC-(BHQ1)-3'
<i>SCARB2</i>	Прямой Forward	5'-GGGTCTCCAGAAGGCTGTA-3'
	Обратный Reverse	5'-GGGTCTCCAGAAGGCTGTA-3'
	Зонд Probe	5'-FAM-CGAGAAGCACTCAGGCAGACCCT-(BHQ1)-3'
<i>ACTB</i>	Прямой Forward	5'-CGTGCTGCTGACCGAGG-3'
	Обратный Reverse	5'-ACAGCCTGGATAGCAACGTACA-3'
	Зонд Probe	5'-(HEX)-CCAACCGCGAGAAGATGACCCAGAT-(BHQ2)-3'
<i>GNB2L1</i>	Прямой Forward	5'-ATCAAGCTATGGAATACCCTGG-3'
	Обратный Reverse	5'-GGAGACGATGATAGGGTTGC-3'
	Зонд Probe	5'-(R6G)-CTCAGAGTGGGTGTCTTGTGTCCGC-(BHQ1)-3'

ские и демографические характеристики групп, вошедших в исследование, представлены в табл. 1.

Мононуклеары выделены из 8 мл периферической крови пациентов с БП, *GBA*-БП, БНМ-*GBA* и индивидуумов контрольной группы методом центрифугирования на градиенте плотности Ficoll-Paque PLUS («GE Healthcare») при 400g в течение 40 мин. Для очистки лимфоцитарной фракции от других типов клеток крови проведено магнитное сепарирование лимфоцитарной смеси с использованием магнитного ручного сепаратора MACS («Miltenyi Biotec»), колонок miniMACS типа MS («Miltenyi Biotec») и специфических магнитных микрочастиц для селективного отбора CD45⁺-клеток («Miltenyi Biotec»).

Тотальная РНК была выделена из CD45⁺-клеток крови участников исследования с использованием набора для выделения РНК «RNeasy Mini Kit» («Qiagen»). кДНК была получена методом обратной транскрипции с использованием набора «Revert Aid First cDNA Synthesis kit» (K1622, «Thermo Scientific») в соответствии с инструкцией производителя. Концентрация мРНК детектировалась при длине волны 260 нм. Чистоту полученной РНК оценивали как отношение оптической плотности при 260 и 280 нм (критерий чистоты 1,8). Для оценки экспрессии генов *LAMP2* и *SCARB2* нами был разработан метод количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием флуоресцентных зондов TaqMan на приборе «CFX896 Touch» («Bio-Rad»). Последовательности праймеров и зондов TaqMan были разработаны с помощью программы Primer3 v. 0.4.0 и представлены в табл. 2. В качестве референсных генов были использованы конститутивно экспрессирующиеся в клетках гены *GNB2L1* (guanine nucleotide binding protein (G protein), beta polypeptide 2-like) и *ACTB* (beta-actin). Относительный уровень мРНК исследуемых генов определяли методом сравнения пороговых уровней амплификации $\Delta\Delta C_t$ [11].

Статистическую обработку и графическое представление данных проводили с использованием встроенных пакетов R версии 3.5.1. Для оценки отличий относительного уровня мРНК гена *LAMP2* и *SCARB2* в CD45⁺-клетках периферической крови между группами использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы (min–max).

Результаты

Относительный уровень мРНК гена *LAMP2* в CD45⁺-клетках крови в группе пациентов с *GBA*-БП составил 0,17 (0,05–0,54), у БНМ-*GBA* — 0,47 (0,25–1,61), у пациентов с БП — 1,20 (0,02–4,42), в контрольной группе — 1,36 (0,12–21,49). Относительный уровень мРНК гена *LAMP2* в CD45⁺-клетках крови пациентов с *GBA*-БП, у БНМ-*GBA* был статистически значимо снижен как по сравнению с контрольной группой ($p < 0,0001$, $p = 0,029$ соответственно), так и с БП ($p < 0,0001$, $p = 0,021$ соответственно; рис. 1). Выявлено также достоверно значимое снижение уровня мРНК гена *LAMP2* в CD45⁺-клетках крови у пациентов *GBA*-БП по сравнению с группой БНМ-*GBA* ($p = 0,024$).

Относительный уровень экспрессии гена *SCARB2* в CD45⁺-клетках крови составил у пациентов с *GBA*-БП 1,44 (0,09–22,08), у БНМ-*GBA* — 3,39 (0,06–58,86), у пациентов с БП —

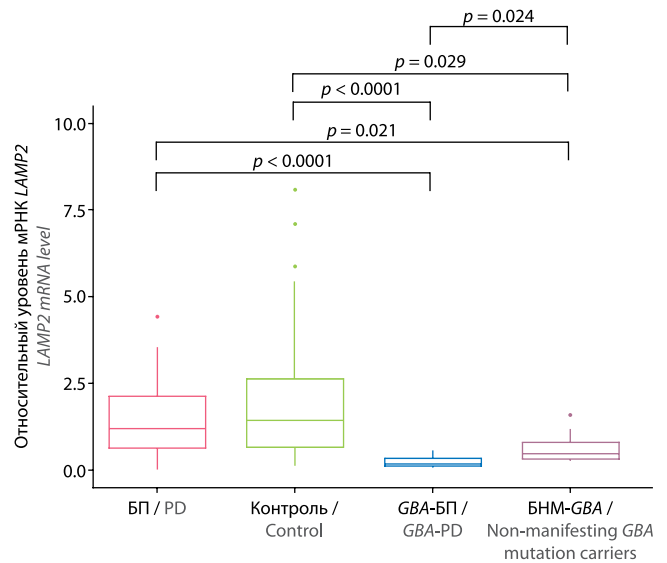


Рис. 1. Относительный уровень мРНК гена *LAMP2* в CD45⁺-клетках периферической крови в исследуемых группах

Fig. 1. Relative mRNA levels of the *LAMP2* gene in CD45⁺ peripheral blood cells

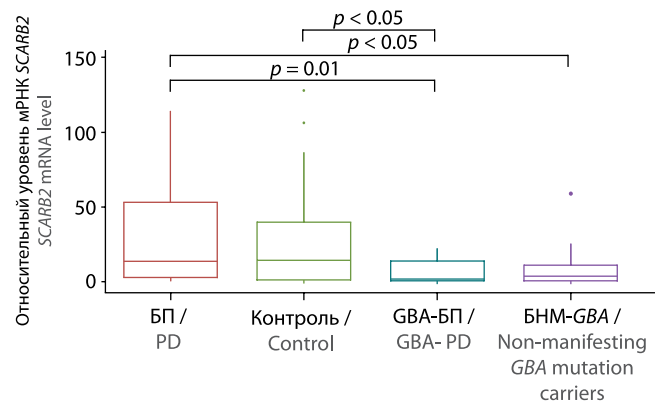


Рис. 2. Относительный уровень мРНК гена *SCARB2* в CD45⁺-клетках периферической крови в исследуемых группах

Fig. 2. Relative mRNA levels of the *SCARB2* gene in CD45⁺ peripheral blood cells

13,48 (0,51–147,43), в контроле — 16,48 (0,16–128,13). Относительный уровень мРНК гена *SCARB2* в CD45⁺-клетках крови пациентов с *GBA*-БП был достоверно снижен относительно как группы пациентов с БП ($p = 0,01$), так и контрольной группы ($p = 0,046$; рис. 2). Относительный уровень мРНК гена *SCARB2* был статистически значимо ниже в группе БНМ-*GBA* по сравнению с пациентами с БП ($p = 0,045$). Уровень мРНК гена *SCARB2* в CD45⁺-клетках крови статистически значимо не отличался между группой БНМ-*GBA* и контролем. Не выявлено достоверных отличий в уровне экспрессии гена *SCARB2* между группой БНМ-*GBA* и группой пациентов с *GBA*-БП. Уровень экспрессии генов *LAMP2* и *SCARB2* между группой пациентов с БП и контрольной группой достоверно не отличался.

Обсуждение

Данное исследование посвящено поиску триггера развития *GBA*-БП и заключалось в оценке экспрессии генов мембранных белков лизосом (*SCARB2*, *LAMP2*) в CD45⁺-

клетках периферической крови в группе пациентов с *GBA*-БП и БНМ-*GBA*. В исследование также вошли группы пациентов с БП и лица с отсутствием неврологических заболеваний (контроль).

Молекулярный механизм, а также триггеры начала развития *GBA*-БП остаются неизвестными. Ранее нами и другими авторами показано снижение ферментативной активности ГЦ и накопление лизосфинголипидов в крови пациентов с *GBA*-БП [12–15]. Ранее нами показано повышение концентрации олигомерных форм α -синуклеина в плазме крови пациентов с болезнью Гоше и *GBA*-БП по сравнению с контрольной группой [13, 16]. Известно, что около половины α -синуклеина деградирует в клетке путем шаперон-опосредованной аутофагии [17–19]. Полученные данные позволили высказать предположение о том, что дисфункция ГЦ может приводить к накоплению нейротоксичных форм α -синуклеина [20]. *In vitro* показана стабилизация нейротоксичных форм α -синуклеина лизосфинголипидами, в частности глюкозилсфингозином [21].

При этом единичные исследования по оценке ферментативной активности ГЦ на небольших выборках БНМ-*GBA* противоречивы. В исследовании R.A. Ortega и соавт. [22] не выявлено снижение активности ГЦ в крови БНМ-*GBA*, в то время как в исследованиях R.N. Alcalay и соавт. [12] и нами (неопубликованные данные) показано снижение активности фермента ГЦ и накопления лизосфинголипидов у неврологически здоровых носителей мутаций *GBA*. В отличие от БНМ-*GBA* в аутоптатах мозга пациентов с *GBA*-БП отмечено формирование олигомерных форм α -синуклеина [23].

Мы предполагаем, что снижение активности ГЦ и накопление лизосфинголипидов не является достаточным для развития БП у носителей мутаций в гене *GBA*. Формирование нейротоксичных форм α -синуклеина у носителей мутаций в гене *GBA* может происходить, если помимо нарушения функции ГЦ наблюдается снижение активности других лизосомных ферментов или дисфункции мембранных белко-транспортёров, участников процесса аутофагии.

Проведенное исследование показало снижение уровня мРНК *LAMP2* и *SCARB2* в клетках крови пациентов с *GBA*-БП относительно группы с БП и контроля. Ген *LAMP2* кодирует лизосомно-ассоциированный мембранный белок 2. Данный белок выполняет функцию лизосомного рецептора, вовлеченного в процесс шаперон-опосредованной аутофагии, осуществляя направленный транспорт частично денатурированных белков, в том числе α -синуклеина, из цитоплазмы сквозь мембрану лизосомы в ее полость с последующей их деградацией [17]. Нарушение шаперон-опосредованной аутофагии и дисфункция лизосом рассматриваются как составляющие патогенеза БП [24]. Продукт гена *SCARB2* — интегральный белок лизосомных мембран 2 (*LIMP2*) — является специфическим рецептором для фермента ГЦ и участвует в транспорте данного фермента от эндоплазматиче-

ского ретикулума через аппарат Гольджи в лизосому [25, 26]. Недавно показано, что ген *SCARB2* может рассматриваться как ген-модификатор клинического течения БГ [27] и возможный модификатор развития БП [28], в частности *GBA*-БП [29].

Учитывая статистически значимое снижение экспрессии гена *LAMP2* у пациентов с *GBA*-БП по сравнению с группой БНМ-*GBA*, можно предположить, что выраженное снижение экспрессии гена *LAMP2* может быть триггером развития *GBA*-БП. Интересно, что ранее было сообщено о тенденции уровня экспрессии гена *LAMP2* в клетках головного мозга пациентов с *GBA*-БП [30] и выявлена высокая корреляция экспрессии генов *GBA* и *SCARB2*. Это указывает на возможное взаимодействие этих генов на транскрипционном уровне.

В настоящем исследовании в группе БНМ-*GBA* также показано снижение экспрессии гена *LAMP2* и тенденция к снижению экспрессии гена *SCARB2* по сравнению с контролем, что может говорить о влиянии дисфункции ГЦ на экспрессию генов мембранных белков лизосом. Несмотря на выдвинутое предположение о влиянии сниженной экспрессии гена *LAMP2* на развитие БП у носителей мутации в гене *GBA*, нельзя исключать обратной возможности, что развитие БП, накопление олигомерного α -синуклеина может приводить к более выраженному снижению экспрессии гена *LAMP2*. На модели МФТП-индуцированного паркинсонизма на мышах нами ранее выявлено снижение уровня экспрессии гена *LAMP2* в тканях головного мозга модельных животных [31].

Снижение уровня белка *LAMP2* в спинномозговой жидкости, лимфоцитах периферической крови, а также в тканях головного мозга пациентов с БП выявлено разными авторами [32–34]. Однако мы не отметили изменений экспрессии гена *LAMP2* в клетках крови у пациентов с БП и в контроле. Аналогично не было различий в уровне экспрессии гена *SCARB2* между группой пациентов с БП и контролем. Данные по оценке ферментативной активности ГЦ, полученные на репрезентативных когортах пациентов с БП в крови, противоречивы. Так, R.N. Alcalay и соавт. [12] отмечают снижение активности ГЦ у пациентов с БП по сравнению с контролем, в то время как нами и другими авторами данных различий не описано [13, 22, 35]. Таким образом, роль дисфункции лизосом в патогенезе сБП при отсутствии мутаций в гене *GBA* остается не ясной.

Заключение

Нами впервые была оценена экспрессия генов мембранных белков лизосом *SCARB2* и *LAMP2* в группе пациентов с *GBA*-БП, а также в группе БНМ-*GBA* в лимфоцитах периферической крови. Полученные результаты подтверждают обсуждаемую ранее взаимосвязь дисфункции ГЦ с уровнем экспрессии генов мембранных белков лизосом *LAMP2* и *SCARB2*, а также позволяют предположить вовлеченность снижения экспрессии гена *LAMP2* в развитие *GBA*-БП.

Список литературы

1. Лепори Л.Р. Болезнь Паркинсона. Мини-атлас. М., 2011.
2. Emelyanov A.K., Usenko T.S., Tesson C. et al. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set. *Neurobiol Aging* 2017; 71: 267.e7–267.e10. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027. PMID: 30146349

References

1. Lepori L.R. [Parkinson's disease. Miniatlas]. Moscow, 2011. (in Russ.).
2. Emelyanov A.K., Usenko T.S., Tesson C. et al. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set. *Neurobiol Aging* 2017; 71: 267.e7–267.e10. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027. PMID: 30146349.

3. O'Regan G., deSouza R.M., Balestrino R., Schapira A.H. Glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease. *J Parkinsons Dis* 2017; 7: 411–422. DOI: 10.3233/JPD-171092. PMID: 28598856.
4. Schapira A.H. Glucocerebrosidase and Parkinson disease: recent advances. *Mol Cell Neurosci* 2015; 66: 37–42. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.03.013. PMID: 25802027.
5. Chen X., Wang Y. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: a systematic review and meta-regression analysis. *Circulation* 2008; 117: 3171–3180. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.730366. PMID: 18559702.
6. Klein A.D., Mazzulli J.R. Is Parkinson's disease a lysosomal disorder? *Brain* 2018; 141: 2255–2262. DOI: 10.1093/brain/awy147. PMID: 29860491.
7. Robak L.A., Jansen I.E., van Rooij J. et al. Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease. *Brain* 2017; 140: 3193–3203. DOI: 10.1093/brain/awx285. PMID: 29140481.
8. Сенкевич К.А., Милуихина И.В., Белецкая М.В. и др. Клинические особенности болезни Паркинсона у пациентов с мутациями и полиморфными вариантами гена GBA. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2017; 117(10): 81–86. DOI: 10.17116/jneuro201711710181-86. PMID: 29171494.
9. Aharon-Peretz J., Rosenbaum H., Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi jews. *N Engl J Med* 2004; 351: 1972–1977. DOI: 10.1056/NEJMoa033277. PMID: 15525722.
10. Siebert M., Bock H., Michelin-Tirelli K. et al. Novel mutations in the glucocerebrosidase gene of brazilian patients with Gaucher disease. *JIMD Rep* 2013; 9: 7–16. DOI: 10.1007/8904_2012_174. PMID: 23430543.
11. Livak K., Schmittgen T. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.
12. Alcalay R.N., Levy O.A., Waters C.C. et al. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain* 2015; 138: 2648–2658. DOI: 10.1093/brain/awv179. PMID: 26117366.
13. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G. et al. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2017; 636: 70–76. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.10.039. PMID: 27780739.
14. Guedes L.C., Chan R.B., Gomes M.A. et al. Serum lipid alterations in GBA-associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2017; 44: 58–65. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.08.026. PMID: 28890071.
15. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al. Blood lysosphingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations. *Mov Disord* 2018; 33: 1325–1330. DOI: 10.1002/mds.27393. PMID: 30192031.
16. Nuzhnyi E., Emelyanov A., Boukina T. et al. Plasma oligomeric alpha-synuclein is associated with glucocerebrosidase activity in Gaucher disease. *Mov Disord* 2015; 30: 989–991. DOI: 10.1002/mds.26200. PMID: 25962734.
17. Cuervo A.M., Stefanis L., Fredenburg R. et al. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004; 305: 1292–1295. DOI: 10.1126/science.1101738. PMID: 15333840.
18. Vogiatzi T., Xilouri M., Vekrellis K., Stefanis L. Wild type alpha-synuclein is degraded by chaperone-mediated autophagy and macroautophagy in neuronal cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 23542–23556. DOI: 10.1074/jbc.M801992200. PMID: 18566453.
19. Sala G., Marini D., Arosio A., Ferrarese C. Role of chaperone-mediated autophagy dysfunctions in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Front Mol Neurosci* 2016; 9: 157. DOI: 10.3389/fnmol.2016.00157. PMID: 28066181.
20. Mazzulli J.R., Xu Y.H., Sun Y. et al. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 2011; 146: 37–52. DOI: 10.1016/j.cell.2011.06.001. PMID: 21700325.
21. Mazzulli J.R., Zunke F., Isacson O. et al. α -Synuclein-induced lysosomal dysfunction occurs through disruptions in protein trafficking in human midbrain synucleinopathy models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 1931–1936. DOI: 10.1073/pnas.1520335113. PMID: 26839413.
22. Ortega R.A., Torres P.A., Swan M. et al. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2016; 28: 185–186. DOI: 10.1016/j.jocn.2015.12.004. PMID: 26857292.
23. Choi J.H., Stubblefield B., Cookson M.R. et al. Aggregation of α -synuclein in brain samples from subjects with glucocerebrosidase mutations. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 185–188. DOI: 10.1016/j.ymgme.2011.06.008. PMID: 21742527.
24. Cerri S., Blandini F. Role of autophagy in Parkinson's disease. *Curr Med Chem* 2019; 26: 3702–3718. DOI: 10.2174/0929867325666180226094351. PMID: 29484979.
25. Gonzalez A., Valeiras M., Sidransky E., Tayebi N. Lysosomal integral membrane protein-2: a new player in lysosome-related pathology. *Mol Genet Metab* 2014; 111: 84–91. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.12.005. PMID: 24389070.
26. Alcalay R.N., Levy O.A., Wolf P. et al. *SCARB2* variants and glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 2016; 2: pii: 1600. DOI: 10.1038/npjparkd.2016.4. PMID: 27110593.
27. Velayati A., DePaolo J., Gupta N. et al. A mutation in *SCARB2* is a modifier in Gaucher disease. *Hum Mutat* 2011; 32: 1232–1238. DOI: 10.1002/humu.21566. PMID: 21796727.
28. Liou B., Haffey W.D., Greis K.D., Grabowski G.A. The LIMP-2/SCARB2 binding motif on acid β -glucosidase: basic and applied implications for Gaucher disease and associated neurodegenerative diseases. *J Biol Chem* 2014; 289: 30063–30074. DOI: 10.1074/jbc.M114.593616. PMID: 25202012.
3. O'Regan G., deSouza R.M., Balestrino R., Schapira A.H. Glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease. *J Parkinsons Dis* 2017; 7: 411–422. DOI: 10.3233/JPD-171092. PMID: 28598856.
4. Schapira A.H. Glucocerebrosidase and Parkinson disease: recent advances. *Mol Cell Neurosci* 2015; 66: 37–42. DOI: 10.1016/j.mcn.2015.03.013. PMID: 25802027.
5. Chen X., Wang Y. Tracking of blood pressure from childhood to adulthood: a systematic review and meta-regression analysis. *Circulation* 2008; 117: 3171–3180. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.730366. PMID: 18559702.
6. Klein A.D., Mazzulli J.R. Is Parkinson's disease a lysosomal disorder? *Brain* 2018; 141: 2255–2262. DOI: 10.1093/brain/awy147. PMID: 29860491.
7. Robak L.A., Jansen I.E., van Rooij J. et al. Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson's disease. *Brain* 2017; 140: 3193–3203. DOI: 10.1093/brain/awx285. PMID: 29140481.
8. Senkevich K.A., Miliukhina I.V., Beletskaya M.V. et al. [The clinical features of Parkinson's disease in patients with mutations and polymorphic variants of GBA gene]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* 2017; 117(10): 81–86. DOI: 10.17116/jneuro201711710181-86. PMID: 29171494.
9. Aharon-Peretz J., Rosenbaum H., Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi jews. *N Engl J Med* 2004; 351: 1972–1977. DOI: 10.1056/NEJMoa033277. PMID: 15525722.
10. Siebert M., Bock H., Michelin-Tirelli K. et al. Novel mutations in the glucocerebrosidase gene of brazilian patients with Gaucher disease. *JIMD Rep* 2013; 9: 7–16. DOI: 10.1007/8904_2012_174. PMID: 23430543.
11. Livak K., Schmittgen T. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262. PMID: 11846609.
12. Alcalay R.N., Levy O.A., Waters C.C. et al. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain* 2015; 138: 2648–2658. DOI: 10.1093/brain/awv179. PMID: 26117366.
13. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G. et al. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2017; 636: 70–76. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.10.039. PMID: 27780739.
14. Guedes L.C., Chan R.B., Gomes M.A. et al. Serum lipid alterations in GBA-associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2017; 44: 58–65. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2017.08.026. PMID: 28890071.
15. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al. Blood lysosphingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations. *Mov Disord* 2018; 33: 1325–1330. DOI: 10.1002/mds.27393. PMID: 30192031.
16. Nuzhnyi E., Emelyanov A., Boukina T. et al. Plasma oligomeric alpha-synuclein is associated with glucocerebrosidase activity in Gaucher disease. *Mov Disord* 2015; 30: 989–991. DOI: 10.1002/mds.26200. PMID: 25962734.
17. Cuervo A.M., Stefanis L., Fredenburg R. et al. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science* 2004; 305: 1292–1295. DOI: 10.1126/science.1101738. PMID: 15333840.
18. Vogiatzi T., Xilouri M., Vekrellis K., Stefanis L. Wild type alpha-synuclein is degraded by chaperone-mediated autophagy and macroautophagy in neuronal cells. *J Biol Chem* 2008; 283: 23542–23556. DOI: 10.1074/jbc.M801992200. PMID: 18566453.
19. Sala G., Marini D., Arosio A., Ferrarese C. Role of chaperone-mediated autophagy dysfunctions in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Front Mol Neurosci* 2016; 9: 157. DOI: 10.3389/fnmol.2016.00157. PMID: 28066181.
20. Mazzulli J.R., Xu Y.H., Sun Y. et al. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell* 2011; 146: 37–52. DOI: 10.1016/j.cell.2011.06.001. PMID: 21700325.
21. Mazzulli J.R., Zunke F., Isacson O. et al. α -Synuclein-induced lysosomal dysfunction occurs through disruptions in protein trafficking in human midbrain synucleinopathy models. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 1931–1936. DOI: 10.1073/pnas.1520335113. PMID: 26839413.
22. Ortega R.A., Torres P.A., Swan M. et al. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2016; 28: 185–186. DOI: 10.1016/j.jocn.2015.12.004. PMID: 26857292.
23. Choi J.H., Stubblefield B., Cookson M.R. et al. Aggregation of α -synuclein in brain samples from subjects with glucocerebrosidase mutations. *Mol Genet Metab* 2011; 104: 185–188. DOI: 10.1016/j.ymgme.2011.06.008. PMID: 21742527.
24. Cerri S., Blandini F. Role of autophagy in Parkinson's disease. *Curr Med Chem* 2019; 26: 3702–3718. DOI: 10.2174/0929867325666180226094351. PMID: 29484979.
25. Gonzalez A., Valeiras M., Sidransky E., Tayebi N. Lysosomal integral membrane protein-2: a new player in lysosome-related pathology. *Mol Genet Metab* 2014; 111: 84–91. DOI: 10.1016/j.ymgme.2013.12.005. PMID: 24389070.
26. Alcalay R.N., Levy O.A., Wolf P. et al. *SCARB2* variants and glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis* 2016; 2: pii: 1600. DOI: 10.1038/npjparkd.2016.4. PMID: 27110593.
27. Velayati A., DePaolo J., Gupta N. et al. A mutation in *SCARB2* is a modifier in Gaucher disease. *Hum Mutat* 2011; 32: 1232–1238. DOI: 10.1002/humu.21566. PMID: 21796727.
28. Liou B., Haffey W.D., Greis K.D., Grabowski G.A. The LIMP-2/SCARB2 binding motif on acid β -glucosidase: basic and applied implications for Gaucher disease and associated neurodegenerative diseases. *J Biol Chem* 2014; 289: 30063–30074. DOI: 10.1074/jbc.M114.593616. PMID: 25202012.

29. Gan-Or Z., Dion P.A., Rouleau G.A. Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. *Autophagy* 2015; 11: 1443–1457. DOI: 10.1080/15548627.2015.1067364. PMID: 26207393.
30. Moors T.E., Paciotti S., Ingrassia A. et al. Characterization of brain lysosomal activities in GBA-related and sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Mol Neurobiol* 2019; 56: 1344–1355. DOI: 10.1007/s12035-018-1090-0. PMID: 29948939.
31. Руденок М.М., Алиева А.Х., Николаев М.А. и др. Возможная роль генов, связанных с лизосомными болезнями накопления, в патогенезе болезни Паркинсона. *Молекулярная биология* 2019; 53: 81–86. DOI: 10.1134/s0026898419010142.
32. Murphy K.E., Gysbers A.M., Abbott S.K. et al. Lysosomal-associated membrane protein 2 isoforms are differentially affected in early Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015; 30: 1639–1647. DOI: 10.1002/mds.26141. PMID: 25594542.
33. Alvarez-Erviti L., Rodríguez-Oroz M.C., Cooper J.M. et al. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains. *Arch Neurol* 2010; 67: 1464–1472. DOI: 10.1001/archneurol.2010.198. PMID: 20697033.
34. Wu G., Wang X., Feng X. et al. Altered expression of autophagic genes in the peripheral leukocytes of patients with sporadic Parkinson's disease. *Brain Res* 2011; 1394: 105–111. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.04.013. PMID: 21514572.
35. Kim H.J., Jeon B., Song J. et al. Leukocyte glucocerebrosidase and β -hexosaminidase activity in sporadic and genetic Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2016; 23: 99–101. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.12.002. PMID: 26705847.

Информация об авторах

Усенко Татьяна Сергеевна — к.б.н., н.с. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина, Россия; с.н.с. лаб. нанотехнологий ОМГНТ НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Безруклова Анастасия Игоревна — старший лаборант лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

Богданова Дарья Алексеевна — студент, лаб. молекулярной генетики человека Отделеним молекулярной и радиационной биофизики ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

Николаев Михаил Андреевич — м.н.с. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; м.н.с. лаб. медицинской генетики ОМГНТ НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Грачева Елизавета Викторовна — врач-невролог ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Милохина Ирина Валентиновна — к.м.н., рук. научно-клинического центра нейродегенеративных заболеваний ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия; м.н.с. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; с.н.с. лаборатории нанотехнологий ОМГНТ НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Сенкевич Константин Алексеевич — к.б.н., н.с. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; м.н.с. лаб. медицинской генетики ОМГНТ НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Захарова Екатерина Юрьевна — д.м.н., зав. лаб. наследственных болезней обмена веществ ФГБУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова», Москва, Россия

Емельянов Антон Константинович — к.б.н., с.н.с. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; с.н.с. лаб. медицинской генетики ОМГНТ НИЦ ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Пехелина Софья Николаевна — д.б.н., зав. лаб. молекулярной генетики человека ОМРБ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия; рук. отд. молекулярно-генетических и нанобиологических технологий НИЦ (ОМГНТ НИЦ) ПСПБГМУ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; с.н.с. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

29. Gan-Or Z., Dion P.A., Rouleau G.A. Genetic perspective on the role of the autophagy-lysosome pathway in Parkinson disease. *Autophagy* 2015; 11: 1443–1457. DOI: 10.1080/15548627.2015.1067364. PMID: 26207393.
30. Moors T.E., Paciotti S., Ingrassia A. et al. Characterization of brain lysosomal activities in GBA-related and sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Mol Neurobiol* 2019; 56: 1344–1355. DOI: 10.1007/s12035-018-1090-0. PMID: 29948939.
31. Rudenok M.M., Alieva A.Kh., Nikolaev M.A. et al. Possible involvement of genes related to lysosomal storage disorders in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mol Biol* 2019; 53(1):81–86. DOI: 10.1134/s0026898419010142.
32. Murphy K.E., Gysbers A.M., Abbott S.K. et al. Lysosomal-associated membrane protein 2 isoforms are differentially affected in early Parkinson's disease. *Mov Disord* 2015; 30: 1639–1647. DOI: 10.1002/mds.26141. PMID: 25594542.
33. Alvarez-Erviti L., Rodríguez-Oroz M.C., Cooper J.M. et al. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains. *Arch Neurol* 2010; 67: 1464–1472. DOI: 10.1001/archneurol.2010.198. PMID: 20697033.
34. Wu G., Wang X., Feng X. et al. Altered expression of autophagic genes in the peripheral leukocytes of patients with sporadic Parkinson's disease. *Brain Res* 2011; 1394: 105–111. DOI: 10.1016/j.brainres.2011.04.013. PMID: 21514572.
35. Kim H.J., Jeon B., Song J. et al. Leukocyte glucocerebrosidase and β -hexosaminidase activity in sporadic and genetic Parkinson disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2016; 23: 99–101. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.12.002. PMID: 26705847.

Information about the authors

Tatiana S. Usenko, PhD (Biol.), researcher, Laboratory of molecular human genetics MRBD, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia; senior researcher, Laboratory of nanotechnology, Department of molecular genetics and nanobiological technologies, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia; *Anastasia I. Bezrukova*, senior assistant, Laboratory of molecular human genetics, Department of molecular and radiation biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia;

Darya A. Bogdanova, student, Laboratory of molecular human genetics, Department of molecular and radiation biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia;

Mikhail A. Nikolaev, junior researcher, Laboratory of molecular human genetics, Department of molecular and radiation biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia; junior researcher, Laboratory of medical genetics, Department of molecular genetics and nanobiological technologies, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Irina V. Miliukhina, PhD (Med.), Head, Clinical research center of neurodegenerative disorders, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia; junior researcher, Laboratory of human molecular genetics, Department of molecular and radiation biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia; senior researcher, Laboratory nanotechnology, Department of molecular genetics and nanobiological technologies, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Elizaveta V. Gracheva, neurologist, Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

Konstantin A. Senkevich, PhD (Biol.), researcher, Laboratory of human molecular genetics, Department of molecular and radiation biophysics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC Kurchatov Institute, Gatchina, Russia; junior researcher, Laboratory of medical genetics, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Ekaterina Y. Zakharova, D. Sci. (Med.), Head of the Hereditary metabolic diseases laboratory, Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia;

Anton K. Emelyanov, PhD (Biol.), senior researcher, Laboratory of human molecular genetics MRBD, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia; senior researcher, Laboratory of medical genetics of Department of Molecular Genetics and Nanobiological Technologies, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

Sofya N. Pchelina, D.Sci (Biol.), Head of the Laboratory of molecular human genetics MRBD Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of NRC «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia; Head of Department of Molecular Genetics and Nanobiological Technologies, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia; senior researcher, Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», Saint Petersburg, Russia