

Метилирование ДНК при болезни Паркинсона

Е.В. Яковенко, Е.Ю. Федотова, С.Н. Иллариошкин

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний в пожилом возрасте, вызывает нарушение моторных функций и развитие немоторных симптомов, снижающих качество жизни и постепенно приводящих к инвалидизации пациентов. Патогенез БП недостаточно ясен. В развитии БП играют роль как генетические, так и средовые факторы. В последнее время большое внимание исследователей привлекают эпигенетические механизмы и их значение для мультифакторных заболеваний. Эпигенетические модификации приводят к изменениям в экспрессии и функционировании генов без изменения последовательности ДНК. К основным эпигенетическим механизмам относятся гистонные модификации, активность некодирующих РНК и метилирование ДНК, при этом большинство исследований по БП сконцентрированы на изучении метилирования различных генов. Дифференциальное метилирование ДНК имеет место в основном в транскрипционно значимых областях генов, способствуя активации экспрессии (при низком уровне метилирования) либо подавлению активности гена (при гиперметилировании). В обзоре приведен анализ большинства имеющихся на последний момент исследований по метилированию ДНК с акцентом на анализ генов, чье участие в развитии БП является подтвержденным во множестве научных работ, — альфа-синуклеина (SNCA) и гена тау-белка (MAPT). Обсуждается возможность использования анализа уровня метилирования различных генов в качестве биомаркеров БП, а также потенциал будущих терапевтических стратегий, основанных на эпигенетических модификациях.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; метилирование ДНК; эпигенетика; альфа-синуклеин; SNCA; MAPT; биомаркер.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-75-20211).

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

Адрес для корреспонденции: 125367, Москва, Волоколамское шоссе, д. 80. ФГБНУ НЦН. E-mail: ekfedotova@gmail.com. Федотова Е.Ю.

Для цитирования: Яковенко Е.В., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. Метилирование ДНК при болезни Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2020; 14(4): 75–81.

DOI: 10.25692/ACEN.2020.4.10

Поступила 12.05.2020 / Принята в печать 08.10.2020

DNA methylation in Parkinson disease

Elena V. Iakovenko, Ekaterina Yu. Fedotova, Sergey N. Illarioshkin

Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Parkinson disease (PD) is one of the most widespread neurodegenerative diseases in the elderly. It causes motor impairment and the development of non-motor symptoms, which reduce the quality of life and gradually lead to patient disability. However, PD pathogenesis remains unclear. Both genetic and environmental factors play a role in PD development. Recently, researchers have focused more on epigenetic mechanisms and their significance in multifactorial diseases. Epigenetic modifications lead to changes in gene expression and function without changing the DNA sequence. The main epigenetic mechanisms include histone modifications, non-coding RNA activity, and DNA methylation, with most studies of PD focusing on the methylation of various genes. Differential DNA methylation occurs mainly in gene regions important for transcription, contributing to either activation of expression (at low methylation levels) or suppression of gene activity (at hypermethylation). This review analyses most of the recent studies on DNA methylation, with an emphasis on analyzing genes whose participation in PD development has been confirmed in numerous research papers, specifically, the alpha-synuclein gene (SNCA) and the Tau protein gene (MAPT). The possible use of this analysis of the methylation level of various genes as biomarkers of PD is discussed, as well as the potential for future therapeutic strategies based on epigenetic modifications.

Keywords: Parkinson disease; DNA methylation; epigenetics; alpha-synuclein; SNCA; MAPT; biomarker.

Acknowledgments. This work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 17-75-20211).

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

For correspondence: 125367, Russia, Moscow, Volokolamskoye shosse, 80. Research Center of Neurology. E-mail: ekfedotova@gmail.com. Fedotova E. Yu.

For citation: Iakovenko E. V., Fedotova E. Yu., Illarioshkin S. N. [DNA methylation in Parkinson disease]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2020; 14(4): 75–81. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2020.4.10

Received 12.05.2020 / Accepted 08.10.2020

Блезнь Паркинсона (БП) является вторым по распространенности возрастзависимым нейродегенеративным заболеванием после болезни Альцгеймера [1]. Эпидемиологические исследования показали, что БП затрагивает 1–2% населения старше 65 лет и 4–5% людей старше 85 лет [2]. Около 10% случаев БП развиваются в более молодой возрастной группе (20–50 лет) и в 1,5 раза чаще встречаются у мужчин [3]. БП клинически проявляется моторными симптомами (тремор, брадикинезия, ригидность, постоуральная неустойчивость) в сочетании с немоторными проявлениями, такими как нарушение поведения в REM-фазе сна, депрессия и тревожность, вегетативная дисфункция и когнитивные расстройства [4]. Нейропатологически БП определяется по наличию в дофаминергических нейронах компактной части черной субстанции (ЧС) белковых агрегатов — телец и нейритов Леви, состоящих преимущественно из белка α -синуклеина в виде фибрилл и сферических структур, приводящих к гибели дофаминергических нейронов [5].

На настоящий момент определено более 20 генов и локусов, нарушения в которых приводят к наследственной форме БП с аутосомно-доминантным, аутосомно-рецессивным и X-сцепленным типами наследования. В целом генетические формы составляют около 10–15% всех случаев БП [6]. Основными генами, мутации в которых приводят к БП, являются *SNCA*, *PARK2* (*Parkin*), *LRRK2*, *DJ-1*, *GBA*, *PINK1* [7]. В остальных (спорадических) случаях причиной БП является сочетание генетических модификаций, эпигенетических механизмов и факторов окружающей среды: длительного воздействия токсинов, пестицидов, тяжелых металлов, травмы, несбалансированного питания и нарушенного режима сон–бодрствование [8, 65].

Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) выявил несколько генов предрасположенности к БП, среди которых необходимо отметить ген α -синуклеин (*SNCA*) и ген таубелка (*MAPT*). По данным GWAS, некоторые однонуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism — SNP), находящиеся в этих генах, увеличивают риск развития БП, причем эффекты этих SNP могут быть как независимыми, так и синергичными [9]. На настоящий момент проведено множество GWAS, по которым были определены локусы и полиморфизмы, повышающие риск развития БП. В одном из последних исследований, включившем 37 688 случаев БП и 1,4 млн здоровых добровольцев, обнаружено 78 локусов «риска БП», при этом 37 их них — новые локусы. Обнаруженные в исследовании 90 однонуклеотидных вариантов могут объяснить 16–36% предрасположенности к БП [10]. Однако даже с учетом этих данных при БП сохраняется феномен «недостающей наследственности», который можно отчасти объяснить влиянием эпигенетических модификаций.

Термин «эпигенетика» впервые был предложен в 1942 г. Конрадом Ваддингтоном для объяснения влияния окружающей среды на гены, что приводит к изменению фенотипа [11]. В отличие от классических мутаций в ДНК, эпигеном в течение жизни может подвергаться изменениям под воздействием факторов окружающей среды, питания, образа жизни, сопутствующей патологии. Однако в ряде случаев эпигенетические изменения могут относиться к устойчивым и наследуемым феноменам, изменяющим экспрессию генов без изменения последовательности ДНК [12, 13]. Наиболее изучено влияние эпигенетических модификаций при онкологических заболеваниях, но в последнее де-

сятилетие существенно возрос интерес к эпигенетике при нейродегенеративных заболеваниях, в том числе при БП [14]. Показано, что в центральной нервной системе эпигенетические процессы оказывают влияние на большинство биологических процессов, в том числе развитие головного мозга, нейрогенез, обучение, синаптическое взаимодействие [15].

На настоящий момент известны несколько видов эпигенетической регуляции: метилирование ДНК, посттрансляционные модификации гистонов и активность некодирующих РНК [16]. Посттрансляционные модификации гистонов приводят к ремоделированию хроматина, изменяя уровень экспрессии генов. Известно множество модификаций, таких как метилирование, ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и сумоилирование, среди которых особенно важно ацетилирование лизиновых остатков. Ацетилирование ассоциировано с открытой структурой хроматина (эухроматин) и активацией транскрипции, в то время как деацетилирование — с компрессией хроматина (гетерохроматин) и ингибированием транскрипции [17].

Дисрегуляция некодирующих РНК все больше оказывается одним из важнейших факторов, связанных с нейродегенерацией при БП. Из некодирующих РНК наиболее изучены микроРНК (миРНК). Они состоят из 21–24 нуклеотидов и связываются с 3'-нетранслируемой областью таргетных мРНК (мРНК-мишеней), тем самым приводя либо к их деградации, либо к ингибированию трансляции [18, 19]. При БП наблюдается дисбаланс разных миРНК. Их уровень может повышаться (миРНК-132, -106a) или, напротив, снижаться (миРНК-133b, -7, -153, -34b, -34c) в клетках головного мозга, в том числе в дофаминергических нейронах [20].

Наиболее изучаемым эпигенетическим механизмом при БП является метилирование ДНК — процесс, при котором метильная группа присоединяется к цитозину с превращением его в 5-метилцитозин. Эта модификация обычно наблюдается в цитозине, находящемся в тандеме с гуанином (так называемые CpG-динуклеотиды или CpG-сайты), и играет важную роль в регуляции многих клеточных процессов [12, 21]. Как правило, метилирование CpG-сайтов промоторных регуляторных областей приводит к подавлению транскрипции соответствующих генов («выключению экспрессии»), в то время как гипометилирование, наоборот, способствует транскрипции («включению экспрессии»). Однако стоит оговориться, что эффект метилирования ДНК зависит от локализации CpG и контекста последовательности ДНК. Остаются не до конца изученными эффекты метилирования CpG-сайтов, располагающихся внутри генов, экзонов и интронов [22].

Для метилирования ДНК необходимо наличие фермента ДНК-метилтрансферазы (DNMT), переносящей метильную группу на углерод, и S-аденозилметионина (SAM) в качестве основного донора метильной группы. У человека обнаружены несколько разновидностей DNMT (1, 2, 3a, 3b), которые являются активными на разных стадиях развития и в процессе репликации ДНК. DNMT1 обеспечивает гемиметилирование последовательности ДНК в процессе репликации ДНК, таким образом способствуя воспроизведению статуса метилирования. DNMT3a и DNMT3b способны метилировать *de novo* неметилированную ДНК. Они активны преимущественно в эмбриональных клетках после первоначального тотального деметилирования ДНК [23].

В метилировании непосредственную роль играют одноуглеродные фрагменты и нутриенты — фолат и метионин. Из метионина с помощью аденозилтрансферазы образуется SAM, а после высвобождения метильной группы метионин метаболизируется сначала в S-аденозилгомоцистеин (SAH), а затем в гомоцистеин [24]. Активность DNMT1 повышает внутриклеточный SAM и снижает SAH. При недостатке фолата гомоцистеин не превращается в метионин, что приводит к повышению уровня гомоцистеина и недостаточности метилирования в связи с низким уровнем SAM. Соотношение SAM/SAH снижается [25]. Низкие уровни фолата, витамина B12 и метионина либо высокий уровень гомоцистеина взаимосвязаны с возрастзависимым снижением активности DNMT1 и приводят к деметилированию и активации генов, прежде подверженных сайленсингу.

Деметилирование происходит с помощью специальных энзимов семейства TET (ten-eleven translocation), которые приводят к окислению 5-метилцитозина в 5-гидроксиметилцитозин, который, в свою очередь, может быть пассивно или активно элиминирован в процессе оксидативных реакций [26].

Основные исследования по метилированию ДНК при БП сфокусированы на гене *SNCA*. α -Синуклеин — пресинаптический протеин, состоящий из 140 аминокислот и участвующий в регуляции уровня синаптических везикул и везикулярном транспорте [27]. Ген *SNCA*, кодирующий белок, локализуется на 4-й хромосоме и состоит из 6 экзонов, при этом экзон 1 является некодирующим, и транскрипционно значимые участки находятся в области 1-го интрона.

Впервые точковая мутация с заменой A53T в α -синуклеине была описана М.Н. Polymeropoulos и соавт. в итальянской и греческой семьях [28]. Вскоре были обнаружены 2 другие точковые мутации на N-конце: A30P и G46L в греческой и испанской выборках, эти мутации приводят к развитию аутосомно-доминантной семейной формы БП с ранним началом [29–31]. Помимо точковых мутаций обнаружены мультипликации (дупликации и трипликации) *SNCA*, которые также приводят к развитию БП с аутосомно-доминантным типом наследования [32–34].

В гене *SNCA* присутствует длинный CpG-островок, занимающий 591 п.о. на 5'-конце гена. Он находится в области сайтов, активирующих транскрипцию в регуляторной области

Исследования метилирования интрона 1 *SNCA* и экспрессии α -синуклеина при БП [42, с изменениями]

Studies of *SNCA* intron 1 methylation and α -synuclein expression in PD [42, with changes

Исследование Study	Метилирование интрона 1 <i>SNCA</i> при БП <i>SNCA</i> intron 1 methylation in PD	Уровень α -синуклеина α -Synuclein level
A. Jowaed <i>et al.</i> , 2010 [35]	Гипометилирование в ЧС, коре и скорлупе Hypomethylation in the substantia nigra, cortex, and putamen	—
L. Matsumoto <i>et al.</i> , 2010 [36]	Гипометилирование в ЧС, но не в поясной коре и не в скорлупе Hypomethylation in the substantia nigra, but not in the cingulate cortex or putamen	—
P. Desplats <i>et al.</i> , 2011 [45]	Гипометилирование в лобной коре Hypomethylation in the frontal cortex	—
J. Richter <i>et al.</i> , 2012 [40]	Нет различий в МК No differences in the MC	—
Y. Tan <i>et al.</i> , 2014 [47]	Гипометилирование в МК Hypomethylation in the MC	Экспрессия увеличена при гипометилировании Increased expression with hypomethylation
Y. Song <i>et al.</i> , 2014 [41]	Нет различий в МК No differences in the MC	—
S. Ai <i>et al.</i> , 2014 [37]	Гипометилирование в МК Hypomethylation in the MC	Нет различий No differences
L. Pihlstrom <i>et al.</i> , 2015 [38]	Гипометилирование в МК, но нет различий по коре ГМ Hypomethylation in the MC, but no differences in the cerebral cortex	Нет различий No differences
I. Schmitt <i>et al.</i> , 2015 [39]	Гипометилирование в МК Hypomethylation in the MC	Экспрессия уменьшается при увеличении метилирования под воздействием леводопы Expression decreases with increased methylation under the influence of levodopa
S. Guhathakurta <i>et al.</i> , 2017 [42]	Нет различий в ГМ No differences in the brain	Нет различий No differences
Y. Funahashi <i>et al.</i> , 2017 [43]	Гипометилирование в ГМ Cerebral hypomethylation	Нет различий No differences

Примечание. МК — мононуклеарные клетки; ГМ — головной мозг; «—» — не исследовался.
Notes. MC — mononuclear cells, «—» — not studied.

гена. Данный островок захватывает как промоторную область, так и некодирующий экзон 1 и интрон 1 гена *SNCA*. В 2010 г. впервые 2 группы исследователей изучили уровень метилирования гена *SNCA* [35, 36]. А. Jowaed с соавт., исследуя CpG-сайты в промоторной области и в интроне 1 гена *SNCA*, обнаружили гипометилирование интрона 1 в ЧС, коре и скорлупе аутопсийного материала головного мозга пациентов с БП. При этом метилирование было сайт-специфически снижено в области связывания с транскрипционными факторами [35]. В работе L. Matsumoto также подтвердилось наличие гипометилирования интрона 1 в ЧС пациентов с БП, при этом анализ уровня экспрессии α -синуклеина выявил обратную корреляцию между уровнем метилирования и экспрессией белка в клетках [36]. Обобщающие данные по метилированию *SNCA* и экспрессии гена, полученные в ряде исследований, приведены в таблице.

В работе S.X. Ai с соавт. показано гипометилирование интрона 1 *SNCA* в лейкоцитах периферической крови в группе пациентов с БП ($n = 100$) по сравнению с контрольной группой ($n = 95$) [37]. Помимо этого было определено, что уровень метилирования *SNCA* ассоциирован с длиной полиморфного аллеля Rep1. Более короткие аллели имели более высокий уровень метилирования интрона 1 *SNCA* по сравнению с более длинными аллелями. Данное исследование демонстрирует связь ранее известного генетического фактора риска БП (Rep1) с эпигенетическими изменениями *SNCA*, которые, в свою очередь, могут объяснить патогенетически значимую повышенную экспрессию α -синуклеина. Однако пока не известен механизм, с помощью которого длинный аллель Rep1 может приводить к гипометилированию регуляторной области *SNCA*.

L. Pihlstrom и соавт. выявили гипометилирование интрона 1 *SNCA* в лейкоцитах крови пациентов с БП, но не в аутопсийном материале головного мозга [38]. Обнаружена взаимосвязь уровня метилирования с полиморфизмом rs3756063 в интроне 1 *SNCA*. G-аллель являлся предиктором более низкого уровня метилирования и преобладал у пациентов с БП. Данные результаты демонстрируют еще один пример связи ранее выявленных генетических факторов риска с гипометилированием *SNCA*.

I. Schmitt и соавт. провели обширное исследование метилирования *SNCA* в периферической крови, включив 490 пациентов с БП и 485 здоровых индивидуумов [39]. Помимо обнаруженного гипометилирования 1 интрона *SNCA*, у пациентов с БП были проведены корреляции с полом, возрастом, наличием различных полиморфизмов в гене *SNCA*, а также принимаемой дозой леводопы. Уровень метилирования *SNCA* был повышен при спорадической форме БП и у пациентов, получающих более высокие дозы леводопы. Кроме того, отдельно было показано, что леводопа специфично повышала уровень метилирования интрона 1 *SNCA* в мононуклеарной культуре клеток, т.е. возможно обсуждение нейропротективного действия леводопы. У здоровых женщин уровень метилирования интрона 1 *SNCA* был выше, чем у здоровых мужчин, что может объяснить некоторый перевес мужчин среди больных БП. Уровень метилирования также положительно коррелировал с возрастом дебюта БП: чем выше был уровень метилирования, тем позже манифестировало заболевание. Средний уровень метилирования во всех исследованных CpG значимо снижался с каждым аллелем G в полиморфизме rs3756063, т.е. была подтверждена связь данного полиморфизма с метилированием *SNCA* [39].

Однако не все исследования показывают существенные отличия в метилировании *SNCA* при БП. В работах J. Richter и Y. Song с соавт. исследователи не смогли обнаружить различия в уровне метилирования *SNCA* в крови пациентов с БП и неврологически здоровых индивидов [40, 41]. При изучении образцов головного мозга S. Guhathakurta с соавт. не удалось обнаружить значимой разницы в статусе метилирования интрона 1 *SNCA* между группами БП ($n = 8$) и неврологически здоровых людей ($n = 8$). Также не обнаружено корреляции между уровнем метилирования интрона 1 и уровнем экспрессии α -синуклеина [42].

Помимо классической формы БП отдельно исследовались пациенты с фенотипом деменции с тельцами Леви (ДТЛ). Y. Funahashi с соавт. исследовали уровень метилирования 10 CpG-сайтов в интроне 1 гена *SNCA* в лейкоцитах периферической крови у 20 пациентов с ДТЛ и в контрольной группе ($n = 20$). Уровень метилирования в CpG-4 и средний уровень метилирования у пациентов с ДТЛ был значимо ниже, чем в контроле. Различия с контролем уровня экспрессии и взаимосвязь с уровнем метилирования не были статистически значимыми [43]. Напротив, L. de Boni с соавт. показали гиперметилирование интрона 1 гена *SNCA* в скорлупе на лимбической стадии по Braak в группе пациентов с ДТЛ. Также было отмечено, что уровень метилирования в различных областях головного мозга (ЧС, скорлупа, поясная извилина, височная кора) значительно различается — это было обнаружено и в группе пациентов, и в контрольной группе [44]. P. Desplats с соавт. также обнаружили гипометилирование интрона 1 в лобной коре пациентов с БП и ДТЛ в сравнении с контролем. Кроме того, в работе изучалась взаимосвязь метилирования с уровнем DNMT1 в ядре нейронов. У пациентов с патологией тельц Леви отмечалась повышенная экспрессия и агрегация α -синуклеина, который связывал DNMT1 в цитоплазме, подвергал фермент секвестрированию и препятствовал его попаданию в ядро, что приводило к глобальному гипометилированию ДНК [45].

Помимо гена *SNCA* — основного изучаемого гена при БП — в работах рассматривались другие гены, ассоциированные с данным заболеванием. Исследовательская группа I.E. Eryilmaz с соавт. изучала уровень метилирования промоторных областей генов *SNCA* и *PARK2* у пациента с БП с ранним началом ($n = 91$) и в контрольной группе ($n = 52$) в лейкоцитах периферической крови. Уровень метилирования в промоторных областях *SNCA* и *PARK2* был значимо ниже у пациентов с БП с ранним началом. Уровень метилирования *SNCA* также был связан с семейным анамнезом БП (у пациентов с наличием семейного анамнеза уровень метилирования был выше). Обнаружено, что низкий уровень метилирования *PARK2* был связан с повышенным уровнем постуральной неустойчивости у пациентов [46].

В работе Y.Y. Tan с соавт. изучали метилирование промоторной области и интрона 1 *SNCA*, а также промоторной области *LRRK2* у 50 пациентов с БП и 49 контролей. Значимое гипометилирование было обнаружено в интроне 1 гена *SNCA*, в то время как в промоторных областях генов *SNCA* и *LRRK2* различия в группах не получено. В подгруппе пациентов с БП уровень метилирования был особенно низким у пациентов с БП с ранним началом (раньше 50 лет) [47].

В работе L. Navarro-Sánchez определяли уровни метилирования CpG-островков в 5 генах (*SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ-1* и *LRRK2*) в постмортальных образцах головного мозга

5 пациентов с БП и 5 контролей в 3 различных областях ГМ (париетальная кора, затылочная кора, ЧС). Было обнаружено гипометилирование отдельных CpG-сайтов в транскрипционно значимых областях (промоторных областях) в генах *SNCA*, *PARK2* и *PINK1*, а также гиперметилирование 1 CpG-сайта в *SNCA* в ЧС пациентов с БП. Показано, что выявленные CpG-сайты располагаются в области связывания транскрипционного фактора Sp1, и изменение их метилирования может менять экспрессию соответствующих генов [48].

У. Тан с соавт. не удалось обнаружить изменений в метилировании гена *DJ-1*, ассоциированного с аутосомно-рецессивной формой БП. В работе сравнивалось метилирование *DJ-1* в лейкоцитах периферической крови в группе пациентов с БП из 40 больных и в контрольной группе из 40 здоровых добровольцев [49].

Ассоциация гена *MAPT* с риском развития БП была выявлена в GWAS в 2009 г. [50]. Наиболее значимыми полиморфизмами считаются SNP, связанные с гаплотипом *MAPT* (H1 или H2). Известно, что гаплотип H1 и некоторые однонуклеотидные полиморфизмы в гене *MAPT* повышают риск развития БП у носителей [51]. Такая зависимость позволила предположить, что эпигенетические модификации гена могут влиять на развитие БП. К.Г. Courland при анализе 28 постмортальных образцов головного мозга и 358 образцов лейкоцитов периферической крови выявили более высокий уровень метилирования гена *MAPT* при гаплотипе H1 в отличие от H2 [52]. Возраст дебюта и пол были связаны с метилированием *MAPT* в лейкоцитах, хотя метилирование не являлось точным предиктором заболевания. Кроме того, гиперметилирование гена *MAPT* было обнаружено в мозжечке, но не в скорлупе пациентов с БП, где ген *MAPT* был гипометилирован в сравнении с контрольной группой. Авторы заключили, что гиперметилирование промотора *MAPT* является нейропротективным фактором, снижая экспрессию *MAPT*.

В ряде работ исследовались гены, вовлеченные в патогенез БП. Так еще в 2008 г. группа немецких ученых представила данные об изменении уровня метилирования промоторной области гена *TNF-alpha*, кодирующего провоспалительный цитокин фактор некроза опухоли- α , в клетках ЧС у пациентов с БП. В нигральных нейронах уровень метилирования промоторной области гена был снижен по сравнению с корковыми нейронами и у пациентов БП, и в контрольной группе. Такое гипометилирование может влиять на большую предрасположенность дофаминергических нейронов к воспалительной реактивности, вызываемой фактором некроза опухоли- α [53].

Q. Lin с коллегами изучали уровень метилирования генов циркадных ритмов «Clock» (*PER1*, *PER2*, *CRY1*, *CRY2*, *CLOCK*, *NAPS2* и *BMAL1*) в лейкоцитах крови 206 пациентов с БП и 180 лиц контрольной группы [54]. При сравнении было показано гипометилирование гена *NAPS2* у пациентов с БП. Это изменение может рассматриваться как эпигенетический фактор, способствующий нарушению цикла сон-бодрствование при этом заболевании.

X. Su и соавт. исследовали метилирование гена коактиватора-1- α рецептора (*PGC-1 α*) в черной субстанции 10 пациентов с БП и в 10 контрольных образцах, при этом было обнаружено гиперметилирование CpG-сайтов в этом гене [55]. *PGC-1 α* рассматривается как связующее звено между митохондриальной дисфункцией и дисрегуляцией транскрипции при нейродегенеративных процессах.

В последнее время на смену анализу профиля метилирования единичных генов приходят новые исследования полногеномного уровня метилирования ДНК [67, 68]. E. Masliah с соавт. провели сравнительное полногеномное исследование профиля метилирования ДНК в головном мозге и в крови пациентов с БП и в контрольной группе [56]. Большинство локусов были гипометилированы при БП как в головном мозге, так и в крови. При этом паттерны метилирования генов в головном мозге и в крови были аналогичными. Таким образом, показано, что образцы периферической крови могут отражать характеристики метилирования головного мозга. Подобное подтверждение крайне важно для дальнейших исследований метилирования ДНК при БП и их интерпретаций.

В работе С. Wang и соавт. изучались полногеномный уровень метилирования ДНК и полногеномный уровень экспрессии генов [57]. В группе пациентов с БП обнаружено 53 значимо гипометилированных гена с повышенной экспрессией по сравнению с контролем. В данной работе показано, что *SNCA* имел более высокий уровень экспрессии в группе БП, однако различия в метилировании между группами не выявлено. Многие выявленные гены связаны с развитием воспаления, активации Т-клеток, формированием телец Леви, эндоцитозом, регуляцией микроглии, митохондриальной функцией, т.е. с теми процессами, которые задействованы в патогенезе БП [57].

Еще одно исследование полногеномного уровня метилирования в различных областях головного мозга пациентов с БП, проведенное J.I. Young и соавт., обнаружило значимые различия в метилировании 234 регионов в моторном ядре блуждающего нерва, 44 регионов в ЧС и 141 региона в поясной извилине у пациентов с БП в сравнении с контролем. Обнаруженные изменения позволяют предположить, что блуждающий нерв играет ключевую роль в патогенезе БП [58].

Интересно близнецовое исследование, в котором проведен полногеномный анализ метилирования у пациентов с БП в сравнении с их здоровыми близнецами (причем 1/3 пациентов были однояйцевыми близнецами). Были обнаружены 62 CpG-сайта в 51 гене (27 гипометилированных и 35 гиперметилированных), имеющие значимое различие в уровне метилирования [59]. Данные свидетельствуют о существенных эпигенетических различиях, которые могут быть ответственны за предрасположенность к развитию заболевания. Оценка метилирования выявленных CpG-сайтов может использоваться как биомаркер БП с высокой диагностической точностью.

Несмотря на большое количество исследований, плохо изученной остается взаимосвязь между метилированием ДНК и клиническими проявлениями БП. R. Obeid и соавт. показали, что уровень метилирования является маркером риска когнитивных нарушений у пациентов с БП [60].

Таргетное лечение, направленное на эпигенетические модификации, может значительно изменить естественное течение заболевания [61, 66, 69]. В настоящее время некоторые виды лекарств, основанных на эпигенетических механизмах, исследуются в рамках новых потенциальных лечебных стратегий, включая метилирование цитозинных оснований и ингибирование деацетилаз гистонов [62, 63]. Интересна работа по эпигенетической коррекции уровня метилирования интрона 1 гена *SNCA*, проведенная

В. Kantog и соавт. [64]. Исследователи ввели в дофаминергические нейроны, полученные из индуцированных плюрипотентных клеток пациента с БП с трипликацией в гене *SNCA*, лентивирусный вектор с молекулярной конструкцией для таргетного изменения метилирования интрона 1 *SNCA*. Это привело к значимому повышению метилирования в интроне 1 гена *SNCA*, снижению уровня мРНК *SNCA* и белка α -синуклеина. В работе отмечены 2 CpG-сайта, которые могут являться кандидатными сайтами для таргетного изменения метилирования *SNCA*, т.к. гиперметилирование именно этих сайтов может приводить к исковой деактивации транскрипции α -синуклеина.

Список литературы / References

1. Ozansoy M., Basak A.N. The central theme of Parkinson's disease: alpha-synuclein. *Mol Neurobiol* 2013; 47: 460–465. DOI: 10.1007/s12035-012-8369-3. PMID: 23180276.

2. Hirsch L., Jette N., Frolkis A. et al. The incidence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neuroepidemiology* 2016; 46: 292–300. DOI: 10.1159/000445751. PMID: 27105081.

3. Karimi-Moghadam A., Charsoeui S., Bell B., Jabalameli M.R. Parkinson disease from mendelian forms to genetic susceptibility: new molecular insights into the neurodegeneration process. *Cell Mol Neurobiol* 2018; 38: 1153–1178. DOI: 10.1007/s10571-018-0587-4. PMID: 29700661.

4. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008; 79: 368–376. DOI: 10.1136/jnnp.2007.131045. PMID: 18344392.

5. Kalia L.V., Kalia S.K., McLean P.J. et al. Alpha-Synuclein oligomers and clinical implications for Parkinson disease. *Ann Neurol* 2013; 73: 155–169. DOI: 10.1002/ana.23746. PMID: 23225525.

6. Verstraeten A., Theuns J., Van Broeckhoven C. Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era. *Trends Genet* 2015; 31: 140–149. DOI: 10.1016/j.tig.2015.01.004. PMID: 25703649.

7. Nuytemans K., Theuns J., Cruts M., Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: A mutation update. *Hum Mutat* 2010; 31: 763–780. DOI: 10.1002/humu.21277. PMID: 20506312.

8. Desplats P., Patel P., Kosberg K. et al. Combined exposure to Maneb and Paraquat alters transcriptional regulation of neurogenesis-related genes in mice models of Parkinson's disease. *Mol Neurodegener* 2012; 7: 49. DOI: 10.1186/1750-1326-7-49. PMID: 23017109.

9. Nalls M.A., Pankratz N., Lill C.M. et al. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2014; 46: 989–993. DOI: 10.1038/ng.3043. PMID: 25064009.

10. Nalls M.A., Blauwendraat C., Vallerga C.L. et al. Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol* 2019; 18: 1091–1102. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30320-5. PMID: 31701892.

11. Waddington C.H. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol* 2012; 41: 10–13. DOI: 10.1093/ije/dyr184. PMID: 22186258.

12. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 1057–1068. DOI: 10.1038/nbt.1685. PMID: 20944598.

13. Hamm C.A., Costa F.F. Epigenomes as therapeutic targets. *Pharmacol Ther* 2015; 151: 72–86. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2015.03.003. PMID: 25797698.

14. Lardenoije R., Iatrou A., Kenis G. et al. The epigenetics of aging and neurodegeneration. *Prog Neurobiol* 2015; 131: 21–64. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2015.05.002. PMID: 26072273.

15. Guo J.U., Ma D.K., Mo H. et al. Neuronal activity modifies the DNA methylation landscape in the adult brain. *Nat Neurosci* 2011; 14: 1345–1351. DOI: 10.1038/nn.2900. PMID: 21874013.

16. Marques S.C.F., Oliveira C.R., Pereira C.M.F., Outeiro T.F. Epigenetics in neurodegeneration: a new layer of complexity. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011; 35: 348–355. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.08.008. PMID: 20736041.

17. Maze I., Noh K-M., Allis C.D. Histone regulation in the CNS: basic principles of epigenetic plasticity. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 3–22. DOI: 10.1038/npp.2012.124. PMID: 22828751.

18. Coppede F. Genetics and epigenetics of Parkinson's disease. *ScientificWorldJournal* 2012; 2012: 489830. DOI: 10.1100/2012/489830. PMID: 22623900.

19. Johnson R., Noble W., Tartaglia G.G., Buckley N.J. Neurodegeneration as an RNA disorder. *Prog Neurobiol* 2012; 99: 293–315. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2012.09.006. PMID: 23063563.

20. Singh A., Sen D. MicroRNAs in Parkinson's disease. *Exp Brain Res* 2017; 235: 2359–2374. DOI: 10.1007/s00221-017-4989-1. PMID: 28526930.

21. Patil V., Ward R.L., Hesson L.B. The evidence for functional non-CpG methylation in mammalian cells. *Epigenetics* 2014; 9: 823–828. DOI: 10.4161/epi.28741. PMID: 24717538.

Таким образом, эпигенетические изменения, в частности, нарушение метилирования ДНК, могут выступать как в качестве диагностических биомаркеров и новых мишеней для терапевтических вмешательств. Концепция синергического действия токсинов, факторов окружающей среды, генетических вариантов и эпигенетических модификаций на индивидуальную предрасположенность к БП сможет в будущем помочь в разработке стратегий доклинической диагностики БП и инициации этиопатогенетических методов терапии, в том числе до развития клинической картины заболевания с целью предотвращения гибели дофаминергических нейронов ЧС.

22. Moore L.D., Le T., Fan G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 23–38. DOI: 10.1038/npp.2012.112. PMID: 22781841.

23. Jurkowska R.Z., Jurkowski T.P., Jeltsch A. Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *ChemBiochem* 2011; 12: 206–222. DOI: 10.1002/cbic.201000195. PMID: 21243710.

24. Li Y., Liu Y., Strickland F.M., Richardson B. Age-dependent decreases in DNA methyltransferase levels and low transmethylation micronutrient levels synergize to promote overexpression of genes implicated in autoimmunity and acute coronary syndromes. *Exp Gerontol* 2010; 45: 312–322. DOI: 10.1016/j.exger.2009.12.008. PMID: 20035856.

25. Feng Y., Jankovic J., Wu Y-C. Epigenetic mechanisms in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2015; 349: 3–9. DOI: 10.1016/j.jns.2014.12.017. PMID: 25553963.

26. Pastor W.A., Aravind L., Rao A. TETonic shift: biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 341–356. DOI: 10.1038/nrm3589. PMID: 23698584.

27. Maroteaux L., Campanelli J.T., Scheller R.H. Synuclein: a neuron-specific protein localized to the nucleus and presynaptic nerve terminal. *J Neurosci* 1988; 8: 2804–2815. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.08-08-02804.1988. PMID: 3411354.

28. Polymeropoulos M.H., Lavedan C., Leroy E. et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045–2047. DOI: 10.1126/science.276.5321.2045. PMID: 9197268.

29. Kruger R., Vieira-Saecker A.M., Kuhn W. et al. Increased susceptibility to sporadic Parkinson's disease by a certain combined alpha-synuclein/apolipoprotein E genotype. *Ann Neurol* 1999; 45: 611–617. DOI: 10.1002/1531-8249(199905)45:5<611::aid-ana9>3.0.co;2-x. PMID: 10319883.

30. Zarranz J.J., Alegre J., Gomez-Esteban J.C. et al. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol* 2004; 55: 164–173. DOI: 10.1002/ana.10795. PMID: 14755719.

31. Gallegos S., Pacheco C., Peters C. et al. Features of alpha-synuclein that could explain the progression and irreversibility of Parkinson's disease. *Front Neurosci* 2015; 9: 59. DOI: 10.3389/fnins.2015.00059. PMID: 25805964.

32. Chartier-Harlin M-C., Kachergus J., Roumier C. et al. Alpha-synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet* 2004; 364: 1167–1169. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)17103-1. PMID: 15451224.

33. Singleton A.B., Farrer M., Johnson J. et al. Alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003; 302: 841. DOI: 10.1126/science.1090278. PMID: 14593171.

34. Miller D.W., Hague S.M., Clarimon J. et al. Alpha-synuclein in blood and brain from familial Parkinson disease with SNCA locus triplication. *Neurology* 2004; 62: 1835–1838. DOI: 10.1212/01.wnl.0000127517.33208.f4. PMID: 15159488.

35. Jowaed A., Schmitt I., Kaut O., Wullner U. Methylation regulates alpha-synuclein expression and is decreased in Parkinson's disease patients' brains. *J Neurosci* 2010; 30: 6355–6359. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6119-09.2010. PMID: 20445061.

36. Matsumoto L., Takuma H., Tamaoka A. et al. CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis of Parkinson's disease. *PLoS One* 2010; 5: e15522. DOI: 10.1371/journal.pone.0015522. PMID: 21124796.

37. Ai S., Xu Q., Hu Y. et al. Hypomethylation of SNCA in blood of patients with sporadic Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 2014; 337: 123–128. DOI: 10.1016/j.jns.2013.11.033. PMID: 24326201.

38. Pihlstrom L., Berge V., Rengmark A., Toft M. Parkinson's disease correlates with promoter methylation in the alpha-synuclein gene. *Mov Disord* 2015; 30: 577–580. DOI: 10.1002/mds.26073. PMID: 25545759.

39. Schmitt I., Kaut O., Khazneh H. et al. L-dopa increases alpha-synuclein DNA methylation in Parkinson's disease patients in vivo and in vitro. *Mov Disord* 2015; 30: 1794–1801. DOI: 10.1002/mds.26319. PMID: 26173746.

40. Richter J., Appenzeller S., Ammerpohl O. et al. No evidence for differential methylation of alpha-synuclein in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Mov Disord* 2012; 27: 590–591. DOI: 10.1002/mds.24907. PMID: 22262231.

41. Song Y., Ding H., Yang J. et al. Pyrosequencing analysis of SNCA methylation levels in leukocytes from Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett* 2014; 569: 85–88. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.03.076. PMID: 24721670.
42. Guhathakurta S., Evangelista B.A., Ghosh S. et al. Hypomethylation of intron1 of α -synuclein gene does not correlate with Parkinson's disease. *Mol Brain* 2017; 10: 6. DOI: 10.1186/s13041-017-0285-z. PMID: 28173842.
43. Funahashi Y., Yoshino Y., Yamazaki K. et al. DNA methylation changes at SNCA intron 1 in patients with dementia with Lewy bodies. *Psychiatry Clin Neurosci* 2017; 71: 28–35. DOI: 10.1111/pcn.12462. PMID: 27685250.
44. de Boni L., Tierling S., Roeber S. et al. Next-generation sequencing reveals regional differences of the alpha-synuclein methylation state independent of Lewy body disease. *Neuromolecular Med* 2011; 13: 310–320. DOI: 10.1007/s12017-011-8163-9. PMID: 22042430.
45. Desplats P., Spencer B., Coffee E. et al. Alpha-synuclein sequesters Dnmt1 from the nucleus: a novel mechanism for epigenetic alterations in Lewy body diseases. *J Biol Chem* 2011; 286: 9031–9037. DOI: 10.1074/jbc.C110.212589. PMID: 21296890.
46. Eryilmaz I.E., Cecener G., Erer S. et al. Epigenetic approach to early-onset Parkinson's disease: lowmethylation status of SNCA and PARK2 promoter regions. *Neuro Res* 2017; 39: 965–972. DOI: 10.1080/01616412.2017.1368141. PMID: 28830306.
47. Tan Y., Wu L., Zhao Z. et al. Methylation of alpha-synuclein and leucine-rich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2014; 20: 308–313. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2013.12.002. PMID: 24398085.
48. Navarro-Sánchez L., Águeda-Gómez B., Aparicio S., Pérez-Tur J. Epigenetic study in Parkinson's disease: a pilot analysis of DNA methylation in candidate genes in brain. *Cells* 2018; 7: 150. DOI: 10.3390/cells7100150. PMID: 30261625.
49. Tan Y., Wu L., Li D. et al. Methylation status of DJ-1 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Transl Neurodegener* 2016; 5: 5. DOI: 10.1186/s40035-016-0052-6. PMID: 27034775.
50. Simón-Sánchez J., Schulte C., Bras J. et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009; 41: 1308–1312. DOI: 10.1038/ng.487. PMID: 19915575.
51. Kwok J.B.J., Teber E.T., Loy C. et al. Tau haplotypes regulate transcription and are associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2004; 55: 329–334. DOI: 10.1002/ana.10826. PMID: 14991810.
52. Coupland K.G., Mellick G.D., Silburn P.A. et al. DNA methylation of the MAPT gene in Parkinson's disease cohorts and modulation by vitamin E in vitro. *Mov Disord* 2014; 29: 1606–1614. DOI: 10.1002/mds.25784. PMID: 24375821.
53. Pieper H.C., Evert B.O., Kaut O. et al. Different methylation of the TNF- α promoter in cortex and substantia nigra: implications for selective neuronal vulnerability. *Neurobiol Dis* 2008; 32: 521–527. DOI: 10.1016/j.nbd.2008.09.010. PMID: 18930140.
54. Lin Q., Ding H., Zheng Z. et al. Promoter methylation analysis of seven clock genes in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 2012; 507: 147–150. DOI: 10.1016/j.neulet.2011.12.007. PMID: 22193177.
55. Su X., Chu Y., Kordower J.H. et al. PGC-1 α promoter methylation in Parkinson's disease. *PLoS One* 2015; 28: 10: e0134087. DOI: 10.1371/journal.pone.0134087. PMID: 26317511.
56. Masliah E., Dumaop W., Galasko D., Desplats P. Distinctive patterns of DNA methylation associated with Parkinson disease: identification of concordant epigenetic changes in brain and peripheral blood leukocytes. *Epigenetics* 2013; 8: 1030–1038. DOI: 10.4161/epi.25865. PMID: 23907097.
57. Wang C., Chen L., Yang Y. et al. Identification of potential bloodbiomarkers for Parkinson's disease by gene expression and DNA methylation dataintegration analysis. *Clin Epigenetics* 2019; 11: 24. DOI: 10.1186/s13148-019-0621-5. PMID: 30744671.
58. Young J.L., Sivasankaran S.K., Wang L. et al. Genome-wide brain DNA methylation analysis suggests epigenetic reprogramming in Parkinson disease. *Neurol Genet* 2019; 5: e342. DOI: 10.1212/NXG.0000000000000342. PMID: 31403079.
59. Kaut O., Schmitt I., Tost J. et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis in siblings and monozygotic twins discordant for sporadic Parkinson's disease revealed different epigenetic patterns in peripheral blood mononuclear cells. *Neurogenetics* 2017; 18: 7–22. DOI: 10.1007/s10048-016-0497-x. PMID: 27709425.
60. Obeid R., Schadt A., Dillmann U. et al. Methylation status and neurodegenerative markers in Parkinson disease. *Clin Chem* 2009; 55: 1852–1860. DOI: 10.1373/clinchem.2009.125021. PMID: 19679632.
61. Konsoula Z., Barile F.A. Epigenetic histone acetylation and deacetylation mechanisms in experimental models of neurodegenerative disorders. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2012; 66: 215–220. DOI: 10.1016/j.vascn.2012.08.001. PMID: 22902970.
62. Xu Z., Li H., Jin P. Epigenetics-based therapeutics for neurodegenerative disorders. *Curr Transl Geriatr Exp Gerontol Rep* 2012; 1: 229–236. DOI: 10.1007/s13670-012-0027-0. PMID: 23526405.
63. Narayan P., Dragunow M. Pharmacology of epigenetics in brain disorders. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 285–303. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00526.x. PMID: 20015091.
64. Kantor B., Tagliaferro L., Gu J. Downregulation of SNCA Expression by Targeted Editing of DNA Methylation: a potential strategy for precision therapy in PD. *Mol Ther* 2018; 26: 2638–2649. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.08.019. PMID: 30266652.

Информация об авторах

Яковенко Елена Владимировна — аспирант 5-го неврологического отделения ФГБНУ НЦН, Москва, Россия
 Федотова Екатерина Юрьевна — д.м.н., рук. 5-го неврологического отделения ФГБНУ НЦН, Москва, Россия
 Иллариошкин Сергей Николаевич — д.м.н., проф., член-корр. РАН, рук. отдела исследований мозга, зам. директора по научной работе ФГБНУ НЦН, Москва, Россия

Information about the authors

Elena V. Yakovenko — PhD student, 5th Neurology department, Research Center of Neurology, Moscow, Russia
 Ekaterina Yu. Fedotova — D. Sci. (Med.), Head, 5th Neurology department, Research Center of Neurology, Moscow, Russia
 Sergey N. Illarionovskiy — D. Sci. (Med.), Prof., Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Department for brain research, Deputy Director, Research Center of Neurology, Moscow, Russia