

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-301

**ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА СИНУКЛЕИНОПАТИЙ.
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНГИБИТОРОВ КИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ LRRK2
ДЛЯ ПРЕЦИЗИОННОЙ ТЕРАПИИ СИНУКЛЕИНОПАТИЙ***

**DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF SYNUCLEINOPATHIES. PERSPECTIVE OF LRRK2 KINASE ACTIVITY
INHIBITION FOR THE PRECISION THERAPY OF SYNUCLEINOPATHIES**

К. С. Башарова¹, А. И. Безрукова^{1,2}, Г. В. Байдакова³, А. Э. Копытова^{1,2},
М. А. Николаев^{1,2}, И. В. Милухина^{2,4}, Е. Ю. Захарова³, С. Н. Пчелина^{1,2}, Т. С. Усенко^{1,2}

¹Петербургский институт ядерной физики

им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

³Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москва

⁴Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург

K. S. Basharova¹, A. I. Bezrukova^{1,2}, G. V. Baydakova³, A. E. Kopytova^{1,2},
M. A. Nikolaev^{1,2}, I. V. Miliukhina^{2,4}, E. Yu. Zakharova³, S. N. Pchelina^{1,2}, T. S. Usenko^{1,2}

¹Petersburg Nuclear Physics Institute named after B. P. Konstantinov
of National Research Centre “Kurchatov Institute”, Gatchina

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University

³Research Center for Medical Genetics, Moscow

⁴Institute of Human Brain RAS, Saint Petersburg

✉ kbasharova@yandex.ru

Аннотация

Молекулярные механизмы синуклеинопатий неизвестны, как следствие, не существует биомаркеров и нейропротекторной терапии. Ранее было показано, что синуклеинопатии характеризуются нарушением активности лизосомных гидролаз, а киназа LRRK2 влияет на активность лизосомных гидролаз. В данном исследовании предложен биомаркер для дифференциальной диагностики синуклеинопатий и оценена возможность использования ингибитора LRRK2 для их терапии.

Abstract

The molecular mechanisms of synucleinopathies are unknown; as a result, there are no biomarkers or neuroprotective therapies. Previous studies have shown that synucleinopathies are characterized by activity lysosomal hydrolases activity, and kinase LRRK2 affects lysosomal hydrolases activity. In this study, we propose a biomarker for the differential diagnosis of synucleinopathies and evaluate the potential use of an LRRK2 inhibitor for their treatment.

Введение

Синуклеинопатии — группа нейродегенеративных заболеваний, характеризующихся накоплением и агрегацией белка альфа-синуклеина. Наиболее распространенной синуклеинопатией является болезнь Паркинсона (БП). БП, ассоциированная с мутациями в генах *LRRK2* и *GBA1*, которые кодируют обогащенную лейциновыми повторами киназу 2 (LRRK2) и лизосомную гидролазу глюкоцереброзидазу (GCase), соответственно, являются самыми распространенными формами БП с известной этиологией. К синуклеинопатиям также относят деменцию с тельцами Леви (ДТЛ) и множественную системную атрофию (МСА) — наиболее злокачественную среди всех синуклеинопатий. Молекулярные механизмы и биомаркеры синуклеинопатий остаются неизвестными. Более того, на ранних стадиях синуклеинопатии имеют схожую клиническую картину. Ранее нами было показано, что синуклеинопатии характеризуются нарушением активности лизосомных гидролаз [1]. Также было продемонстрировано влияние ингибирования киназной активности LRRK2 на активность лизосомных гидролаз [2].

Цель — выявление биомаркера для дифференциальной диагностики синуклеинопатий на основе оценки активности лизосомных гидролаз и концентрации сфинголипидов и оценка возможности применения ингибитора киназной активности LRRK2 (MLi-2) для терапии различных форм синуклеинопатий.

* Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 1023031500037-7-1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3).

© К. С. Башарова, А. И. Безрукова, Г. В. Байдакова, А. Э. Копытова, М. А. Николаев, И. В. Милухина, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина, Т. С. Усенко, 2024

Материалы и методы

Были получены макрофаги пациентов со сБП (N = 10), GBA1-БП (N = 9), LRRK2-БП (N = 4), МСА (N = 10), ДТЛ (N = 6) и индивидуумов контрольной группы (N = 8). Макрофаги культивировали без и в присутствии MLI-2 (Abscam, Англия). Активность лизосомных гидролаз (GCase, альфа-галактозидаза (GAL), кислая сфингомиелиназа (ASMase), галактозилцереброзидазы (GALC)) и концентрацию сфинголипидов (глоботриаозилсфингозин (LysoGb3), сфингомиелин (LysoSM), гексозилсфингозин (HexSph)) оценивали в трех повторах методом ВЭЖХ-МС/МС.

Результаты

Пациенты с GBA1-БП характеризовались снижением активности GCase в макрофагах по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Пациенты с LRRK2-БП характеризовались снижением активности GALC по сравнению с пациентами с GBA1-БП, а пациенты со сБП — снижением активности ASMase по сравнению с контролем ($p < 0,05$). В свою очередь пациенты с МСА характеризовались сниженной активностью GCase, GALC и ASMase по сравнению с пациентами с БП и контролем ($p < 0,05$). Различий в активности лизосомных гидролаз в группе пациентов с ДТЛ выявлено не было ($p > 0,05$). Интересно, что все пациенты с синуклеинопатиями характеризовались повышенной концентрацией HexSph по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Пациенты со сБП и LRRK2-БП характеризовались повышенной концентрацией LysoGb3 по сравнению со всеми исследуемыми группами, а пациенты с МСА — только по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Пациенты с LRRK2-БП характеризовались повышенной концентрацией LysoSM по сравнению с пациентами с GBA1-БП и контролем ($p < 0,05$).

В ходе работы были выявлены пороговые значения исследуемых параметров для дифференциальной диагностики синуклеинопатий с помощью построения ROC кривых. При концентрации HexSph и LysoGb3 выше 1,37 нг/мл (AUC = 0,705, $p < 0,05$) и 6,2 нг/мл (AUC = 0,769, $p < 0,01$), соответственно, и активности GCase, GALC и ASMase выше 3,93 мМ/л/ч (AUC = 0,788, $p < 0,001$), 1,2 мМ/л/ч (AUC = 0,741, $p < 0,01$) и 0,71 мМ/л/ч (AUC = 0,708, $p < 0,05$), соответственно, диагностируют БП. В противоположном случае диагностируют МСА.

Ингибирование киназной активности LRRK2 увеличивало активность GCase в макрофагах пациентов с GBA1-БП ($p < 0,05$) до уровня наблюдаемого в макрофагах контроля без MLI-2 ($p > 0,05$), но не влияло на активность лизосомных гидролаз и концентрацию сфинголипидов в макрофагах пациентов со сБП, LRRK2-БП, МСА и ДТЛ ($p > 0,05$).

Выводы

Полученные данные подтверждают роль дисфункции лизосом в патогенезе синуклеинопатий. Все синуклеинопатии характеризуются повышенной концентрацией HexSph в макрофагах. Предложена дифференциальная диагностика БП и МСА, основанная на комплексной оценке активности GCase, GALC и ASMase и концентрации HexSph и LysoGb3 в макрофагах. Ингибирование киназной активности LRRK2 наиболее эффективно в отношении восстановления активности GCase в макрофагах пациентов с GBA1-БП, что открывает новые перспективы для терапии GBA1-БП, но не для других синуклеинопатий.

Литература

1. Usenko T. S. et al. Impaired Sphingolipid Hydrolase Activities in Dementia with Lewy Bodies and Multiple System Atrophy // *Mol Neurobiol.* 2022. Vol. 59(4). P. 2277–2287.
2. Усенко Т. С. с соавт. Селективное ингибирование киназной активности LRRK2 как подход к терапии болезни Паркинсона // *Медицинская генетика.* 2022. Т. 21(12). С. 26–29.