

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-308

**ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНГИБИТОРОВ LRRK2 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЙ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ НАРУШЕНИЕМ ФУНКЦИИ ЛИЗОСОМНОЙ ГИДРОЛАЗЫ
ГЛЮКОЦЕРЕБРОЗИДАЗЫ, НА ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧНЫХ КЛЕТКАХ^{*}**

**EVALUATION OF THE THERAPEUTIC POTENTIAL OF LRRK2 INHIBITORS
IN DISEASES ASSOCIATED WITH LYSOSOMAL GLUCOCEREBROSIDASE DEFICIENCY
USING PATIENT-SPECIFIC CELLS**

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

¹*Петербургский институт ядерной физики*

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

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

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

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

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

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

²*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University*

³*N. P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Moscow*

⁴*N. P. Bekhtereva Institute of the Human Brain RAS, Saint Petersburg*

✉ kbasharova@yandex.ru

Аннотация

Болезнь Гоше (БГ) и GBA1-ассоциированная болезнь Паркинсона (GBA1-БП) обусловлены мутациями в GBA1 и сопровождаются изменением активности лизосомных гидролаз. В ходе исследования было оценено влияние ингибитора киназы LRRK2 на активность лизосомных гидролаз в макрофагах пациентов. Наиболее выраженный эффект наблюдался у пациентов с GBA1-БП с тяжелой мутацией p.L444P, что подчеркивает важность учета типа мутации при разработке таргетной терапии.

Abstract

Gaucher disease (GD) and GBA1-associated Parkinson’s disease (GBA1-PD) are caused by mutations in the GBA1 gene and are accompanied by altered activity of lysosomal hydrolases. This study evaluated the effect of LRRK2 kinase inhibition on lysosomal hydrolase activity in patient-derived macrophages. The most pronounced effect was observed in GBA1-PD patients carrying the severe p.L444P mutation, highlighting the importance of considering mutation type when developing targeted therapies.

Введение

Болезнь Гоше (БГ) — наиболее распространенная лизосомная болезнь накопления, вызываемая биаллельными мутациями в гене *GBA1*, кодирующем лизосомную гидролазу глюкоцереброзидазу (GCase). Дефицит GCase ведет к накоплению глюкоцереброзида в макрофагах и нарушению лизосомного биогенеза. Гетерозиготные мутации в гене *GBA1* ассоциированы с развитием GBA1-ассоциированной болезни Паркинсона (GBA1-БП) — самой частой формы БП с известной генетической этиологией. Носительство мутаций в *GBA1* увеличивает риск БП в среднем в 8 раз. Мутации *GBA1* принято делить на «тяжелые» (например, p.L444P, p.R120W, p.Leu29fs (84GG)) и «легкие» (p.N370S, p.V394L, p.R463C) в зависимости от остаточной активности GCase. В настоящее время активно исследуются подходы к восстановлению активности GCase, включая фармакологические шапероны — малые молекулы, способствующие правильному фолдингу фермента. Кроме того, было показано, что ингибирование киназной активности LRRK2 может опосредованно повышать активность GCase, предположительно за счет улучшения ее транспорта в лизосомы [1, 2].

Цель — оценить влияние селективного ингибитора LRRK2 (MLi-2) на активность различных лизосомных гидролаз и концентрацию лизосфинголипидов, являющихся их субстратами, в первичной культуре макрофагов пациентов с БГ и GBA1-БП в зависимости от тяжести мутаций в гене *GBA1*.

^{*} Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-15-00177).

© К. С. Башарова, А. И. Безрукова, Г. В. Байдакова, И. В. Милюхина, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина, Т. С. Усенко, 2025

Материалы и методы

В исследование включены пациенты с БГ ($n = 7$), GBA1-БП ($n = 10$: 6 — p.N370S, 4 — p.L444P) и контроль ($n = 12$). Все пациенты с БГ являлись компаундными гетерозиготами «легкой» (p.N370S) и одной из «тяжелых» мутаций. Макрофаги периферической крови культивировали без и в присутствии MLi-2 (Abcam). Активность лизосомных гидролаз (GCase, альфа-галактозидаза (GLA), кислая сфингомиелиназа (ASMase), галактозилцереброзидазы (GALC)) и концентрацию сфинголипидов (глоботриаозилсфингозин (LysoGb3), сфингомиелин (LysoSM), гексозилсфингозин (HexSph)) оценивали в трех повторах методом ВЭЖХ-МС/МС.

Результаты

Первичная культура макрофагов пациентов с БГ и GBA1-БП характеризовалась снижением активности GCase и увеличением концентрации HexSph по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Среди пациентов с GBA1-БП наиболее выраженное снижение активности GCase и повышение концентрации HexSph выявлено у носителей «тяжелой» мутации p.L444P по сравнению с носителями «легкой» мутации p.N370S.

Впервые показано, что первичная культура макрофагов пациентов с БГ характеризовалась также снижением концентрации LysoSM по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Ингибиование LRRK2 не влияло на активность GCase и других лизосомных гидролаз в макрофагах пациентов с БГ, но приводило к увеличению концентрации LysoSM. В свою очередь, культивирование макрофагов пациентов с GBA1-БП в присутствии ингибитора LRRK2 приводило к увеличению активности не только GCase ($p < 0,05$), но и других гидролаз — GLA и ASMase ($p > 0,05$). Стоит отметить, что выявленный эффект был более выражен для пациентов с «тяжелой» мутацией p.L444P.

Выводы

Ингибиование LRRK2 не влияло на активность исследуемых гидролаз в макрофагах пациентов с БГ, вероятно, из-за отсутствия функциональной копии гена GBA1, но влияло на концентрацию LysoSM.

В то же время ингибиование киназной активности LRRK2 оказывает влияние на активность лизосомных ферментов (GCase, GLA, ASMase) у пациентов с GBA1-БП. Данный эффект преимущественно наблюдается при наличии «тяжелых» мутаций, таких как p.L444P, которая локализована вне катализитического центра фермента. Предполагается, что усиление транспорта посредством ингибиции LRRK2 способствует доставке нестабильного, но потенциально активного фермента в лизосомы, что приводит к частичному восстановлению активности GCase, а также активации других лизосомных гидролаз в макрофагах пациентов.

Полученные данные подтверждают перспективность ингибиции LRRK2 как таргетной терапии GBA1-БП, при этом эффективность такого подхода может зависеть от типа мутации в гене GBA1 и особенностей лизосомного метаболизма.

Литература

1. Ysselstein D. et al. LRRK2 kinase activity regulates lysosomal glucocerebrosidase in neurons derived from Parkinson's disease patients // Nat. Commun. 2019. Vol. 10 (1). P. 5570.
2. Усенко Т. С. и др. Селективное ингибиование киназной активности LRRK2 как подход к терапии болезни Паркинсона // Медицинская генетика. 2022. Т. 21 (12). С. 26–29.