

doi 10.18699/vjgb-25-89

Ассоциация варианта rs823144 гена *RAB29* с активностью лизосомных гидролаз в клетках крови и риском болезни Паркинсона

К.С. Башарова ^{1,2} , А.И. Безрукова ^{1,2}, К.А. Сенкевич ³, Г.В. Байдакова ⁴, А.В. Рыбаков⁵,
И.В. Милыхина ^{1,5}, А.А. Тимофеева ², Е.Ю. Захарова^{1,4}, С.Н. Пчелина ^{1,2}, Т.С. Усенко ^{1,2} 

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

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

³ Монреальский неврологический институт при Университете Макгилла, Монреаль, Канада

⁴ Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва, Россия

⁵ Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

 kbasharova@yandex.ru; basharova_ks@pnpi.nrcki.ru; usenko_ts@pnpi.nrcki.ru

Аннотация. Геномные исследования последних лет выявили ассоциацию гена *RAB29* с болезнью Паркинсона (БП). Белок Rab29, кодируемый геном *RAB29*, – один из регуляторов богатой лейциновыми повторами киназы 2 (LRRK2). Мутации в гене *LRRK2* ассоциированы с увеличением киназной активности LRRK2 и приводят к развитию аутосомно-доминантных форм БП. Недавно показано, что изменение киназной активности LRRK2 может быть связано с изменением активности лизосомных гидролаз и концентрации лизосфинголипидов. Цель данного исследования заключалась в оценке ассоциации rs823144 в промоторе гена *RAB29* с БП с экспрессией гена *RAB29*, активностью лизосомных гидролаз и концентрацией лизосфинголипидов в крови при БП. В ходе исследования проведены скрининг варианта rs823144 гена *RAB29* в группе пациентов с БП ($N = 903$) и в контроле ($N = 618$) с использованием методов массового параллельного секвенирования и полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом. Экспрессия гена *RAB29* оценивалась в мононуклеарах периферической крови методом ПЦР в режиме реального времени. Активности лизосомных гидролаз (глюкоцереброзидаза (GCase), альфа-галактозидаза (GLA), кислая сфингомиелиназа (ASMase), галактозилцереброзидаза (GALC)) и концентрации лизосфинголипидов (глоботриаозилсфингозин (LysoGb3), сфингомиелин (LysoSM), гексозилсфингозин (HexSph)) оценивались в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Аллель С rs823144 гена *RAB29* ассоциирован с пониженным риском БП в северо-западной популяции Российской Федерации (ОШ: 0.7806, 95 % ДИ: 0.6578–0.9263, $p = 0.0046$), что соответствует мировым данным. Однако в ходе работы не выявлено ассоциации аллеля С rs823144 гена *RAB29* с уровнем мРНК гена *RAB29* в мононуклеарах периферической крови. В то же время носительство аллеля С rs823144 было ассоциировано с повышенной активностью GLA и сниженной концентрацией LysoGb3 в крови при БП. Таким образом, нами впервые показана ассоциация аллеля С rs823144 гена *RAB29* с пониженным риском БП в северо-западной популяции Российской Федерации. Аллель С rs823144 ассоциирован с повышенной активностью GLA и сниженной концентрацией LysoGb3 в крови при БП. Полученные результаты позволяют предположить ассоциацию гена *RAB29* с метаболизмом сфинголипидов.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; *RAB29*; лизосомные гидролазы; лизосфинголипиды; LRRK2

Для цитирования: Башарова К.С., Безрукова А.И., Сенкевич К.А., Байдакова Г.В., Рыбаков А.В., Милыхина И.В., Тимофеева А.А., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н., Усенко Т.С. Ассоциация варианта rs823144 гена *RAB29* с активностью лизосомных гидролаз в клетках крови и риском болезни Паркинсона. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(6):819-827. doi 10.18699/vjgb-25-89

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения) и государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (тема № 123030200067-6 Разработка генетических панелей для диагностики синуклеинопатий по результатам геномных исследований).

Благодарности. Мы выражаем глубокую благодарность всем пациентам, принявшим участие в данном исследовании.

Association of the rs823144 variant of the *RAB29* gene with the activity of lysosomal hydrolases in blood cells and risk of Parkinson's disease

K.S. Basharova ^{1,2} , A.I. Bezrukova ^{1,2}, K.A. Senkevich ³, G.V. Baydakova ⁴, A.V. Rybakov⁵,
I.V. Miliukhina ^{1,5}, A.A. Timofeeva ², E.Yu. Zakharova^{1,4}, S.N. Pchelina ^{1,2}, T.S. Usenko ^{1,2} 

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

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

³ Montreal Neurological Institute, McGill University, Montreal, Canada

⁴ Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

⁵ N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

 kbasharova@yandex.ru; basharova_ks@npni.nrcki.ru; usenko_ts@npni.nrcki.ru

Abstract. Recent genome-wide association studies have identified a link between the *RAB29* gene and Parkinson's disease (PD). The Rab29 protein encoded by *RAB29* regulates leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2). Mutations in the *LRRK2* gene increase its kinase activity and contribute to autosomal dominant forms of PD. Previous research has shown that altered LRRK2 kinase activity may correlate with the activity of lysosomal hydrolases and the concentration of sphingolipids. This study aimed to assess the association of the rs823144 variant in the promoter region of the *RAB29* gene with PD risk, and to evaluate *RAB29* expression, lysosomal hydrolase activity, and sphingolipid concentrations in the blood of PD patients. We screened the rs823144 variant of the *RAB29* gene in a cohort of PD patients ($N = 903$) and controls ($N = 618$) using next-generation sequencing (NGS) and polymerase chain reaction (PCR) followed by restriction fragment length polymorphism analysis. The expression of the *RAB29* gene was measured in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) using qPCR. We assessed the activities of lysosomal hydrolases (glucocerebrosidase (GCase), alpha-galactosidase (GLA), acid sphingomyelinase (ASMase), and galactosylcerebrosidase (GALC)) and the concentrations of sphingolipids (globotriaosylsphingosine (LysoGb3), sphingomyelin (LysoSM), and hexosylsphingosine (HexSph)) in blood using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The *RAB29* rs823144 C allele was associated with a reduced risk of PD in the Northwestern Russian population (OR = 0.7806, 95 % CI: 0.6578–0.9263, $p = 0.0046$), which is consistent with global data. However, no significant association was observed between the rs823144 C allele and *RAB29* mRNA expression in PBMCs. Notably, the C allele was associated with increased GLA activity and decreased concentrations of LysoGb3 and LysoSM in the blood of PD patients. In conclusion, we demonstrate for the first time an association between the *RAB29* rs823144 C allele and a reduced risk of PD in the Northwestern Russian population. Moreover, the *RAB29* rs823144 C allele is associated with altered lysosomal enzyme activity and sphingolipid profiles, suggesting a potential role of *RAB29* in sphingolipid metabolism relevant to PD pathogenesis.

Key words: Parkinson's disease; *RAB29*; lysosomal hydrolases; lysosphingolipids; LRRK2

For citation: Basharova K.S., Bezrukova A.I., Senkevich K.A., Baydakova G.V., Rybakov A.V., Miliukhina I.V., Timofeeva A.A., Zakharova E.Yu., Pchelina S.N., Usenko T.S. Association of the rs823144 variant of the *RAB29* gene with the activity of lysosomal hydrolases in blood cells and risk of Parkinson's disease. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(6):819-827. doi 10.18699/vjgb-25-89

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное медленно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции (ЧС) головного мозга (Lill, 2016). В основе патогенеза БП лежат накопление и агрегация белка альфа-синуклеина в ЧС головного мозга. В основном заболевание носит спорадический характер, однако около 15 % пациентов с БП имеют отягощенный семейный анамнез. Молекулярные механизмы БП неизвестны. Однако все больше данных свидетельствует о дисфункции лизосом как о ключевом звене патогенеза БП (Nechushtai et al., 2023). В частности, нами и другими исследователями показаны нарушение активности лизосомных гидролаз и изменение уровня сфинголипидов в периферических жидкостях пациентов с идиопатической формой БП (Alcalay et al., 2015; Galper et al., 2022; Usenko et al., 2022). А также обнаружено изменение активности лизосомных гидролаз и уровня сфинголипидов при БП, ассоциированной с

мутациями в гене *LRRK2*, которая является одной из наиболее распространенных форм БП с известной этиологией (Alcalay et al., 2015; Usenko et al., 2023, 2024).

Ген *LRRK2* кодирует обогащенную лейциновыми повторами киназу 2 (LRRK2) (Zimprich et al., 2004). Основные субстраты LRRK2 – малые ГТФазы семейства Rab (Steger et al., 2016), участвующие в регуляции везикулярного, в частности эндолизосомного, транспорта (Wang et al., 2014). Изменение киназной активности LRRK2 приводит к нарушению эндолизосомного транспорта гидролаз к сайту их действия в лизосомы (MacLeod et al., 2013; Ysselstein et al., 2019; Rivero-Ríos et al., 2020; Kedariti et al., 2022).

Среди субстратов LRRK2 особый интерес представляет белок Rab29, кодируемый геном *RAB29* (Steger et al., 2016). Одна из функций Rab29 заключается в активации киназы LRRK2 (Liu et al., 2018; Madero-Pérez et al., 2018; Purlyte et al., 2018; Kuwahara, Iwatsubo, 2020). Белок Rab29 связывается с мембранами лизосом и аппарата Гольджи, где рекрутирует неактивные цитоплазматические мономеры

LRRK2, инициируя их олигомеризацию, в ходе которой образуются активные димеры или тетрамеры LRRK2 (Purlyte et al., 2018; Zhu et al., 2023). Ген *RAB29* расположен в локусе PARK16, который ранее был ассоциирован с риском БП (Satake et al., 2009; Pihlström et al., 2015; Nalls et al., 2019). В 2024 г. с помощью мультипризнакового анализа полногеномных ассоциаций была подтверждена ранее обнаруженная ассоциация гена *RAB29* с БП как на транскриптомном, так и на протеомном уровнях (Shi et al., 2024).

В ряде исследований выявлена ассоциация вариантов, расположенных в промоторной области гена *RAB29*, со сниженным риском БП. Предполагается, что такие варианты могут влиять на уровень экспрессии гена *RAB29* (Gan-Or et al., 2012; Khaligh et al., 2017; Sun et al., 2021) и, возможно, приводить к изменению степени активации LRRK2, что, в свою очередь, может быть связано с нарушением активности лизосомных гидролаз при болезни Паркинсона.

Цель исследования заключалась в оценке ассоциации rs823144 в промоторе гена *RAB29* с риском БП, уровнем экспрессии гена *RAB29*, активностью лизосомных гидролаз (глюкоцереброзидазы (GCase), α -галактозидазы (GLA), галактоцереброзидазы (GALC) и сфингомиелиназы (ASMase)) и концентрацией лизосфинголипидов (гексацилсфингозина, HexSph (смесь гликозилсфингозина (GlcSph) и галактозилсфингозина (GalSph), лизосфингомиелина (LysoSM), лизоглоботриаозилсфингозина (LysoGb3)) в крови пациентов с БП и контроля.

Материалы и методы

Характеристики исследуемых групп. В исследование вошли 903 пациента со спорадической БП и 618 индивидуумов контрольной группы, сопоставимые по полу и возрасту. Все пациенты были набраны на базе клиники ФГБУН «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтерева» Российской академии наук. Контрольная группа составлена из индивидуумов, наблюдавшихся в консультативно-диагностическом центре Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. С целью исключения диагноза БП и других нейродегенеративных заболеваний все индивидуумы контрольной группы были обследованы неврологом. Клинические и демографические характеристики исследуемых групп приведены в табл. 1. Участники в исследуемых группах не отличались по полу и возрасту ($p > 0.05$).

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изме-

нениям или сопоставимым нормам этики. От каждого включенного в исследование участника получено информированное добровольное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (протокол № 275 от 04.09.2023).

Генетический анализ. Для скрининга варианта rs823144 гена *RAB29* применено два метода: массовое параллельное секвенирование (NGS) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом. От всех индивидуумов, включенных в исследование, получены образцы периферической крови и выделена геномная ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции, как описано ранее (Маниатис и др., 1984).

В исследование по скринингу варианта rs823144 гена *RAB29* методом NGS, с молекулярными инверсионными зондами, как описано ранее (Rudakou et al., 2021), были включены 521 пациент с БП и 420 индивидуумов контрольной группы. Секвенирование проводили на платформе Illumina NovaSeq 6000 SP PE100. Прочтения выравнивали на референсный геном hg19 с помощью алгоритма Burrows–Wheeler Aligner (Li, Durbin, 2009). Для идентификации генетических вариантов (variant calling) и поствыравнивающего контроля качества применяли Genome Analysis Toolkit (GATK, v3.8). (McKenna et al., 2010). После вызова вариантов использовали фильтры по глубине покрытия и качеству. В анализ включали только варианты с глубиной покрытия более 30 прочтений и оценкой качества выше 20.

В дополнение к NGS-анализу скрининг варианта rs823144 проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. В исследование вошли 473 пациента с БП и 384 индивидуума контрольной группы. Последовательности праймеров были подобраны с помощью программы Primer3 v0.4.0 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>) (FOR: 5'-CCCTGCACGTGACGCTTG-3', REV: 5'-GAATCCCAGTCAGCTCCTTACA-3'). Для последующего рестрикционного анализа с использованием программы NEBCutter (Vincze et al., 2003) была подобрана эндонуклеаза рестрикции BstAC I (рис. 1).

Девяносто один пациент с БП и 186 индивидуумов контрольной группы были проскринированы на носительство варианта rs823144 гена *RAB29* с применением как ПЦР с последующим рестрикционным анализом, так и NGS-секвенирования, что было учтено в ходе дальнейшего анализа.

Результаты скрининга двумя методами подтверждены с помощью секвенирования по Сэнгеру на генетическом анализаторе Нанофор-05 («Синтол», Россия). Визуализация результатов секвенирования по Сэнгеру осуществля-

Таблица 1. Клинические и демографические характеристики исследуемых групп

Группа	Пол (мужчины:женщины)	Возраст, годы	Возраст начала заболевания, годы	Длительность заболевания, годы
БП ($N = 903$)	378:525	65 (25–90)	59 (20–88)	3 (1–36)
Контроль ($N = 618$)	228:390	64 (40–96)	–	–

Примечание. БП – болезнь Паркинсона; данные представлены как медиана (мин–макс).

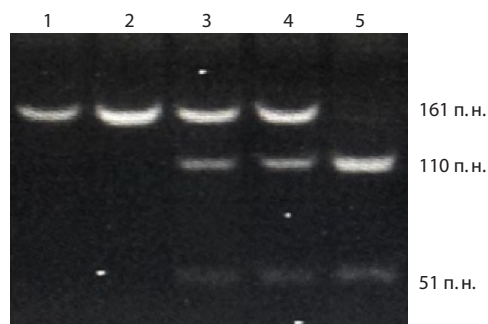


Рис. 1. Электрофореграмма, отображающая результаты генотипирования варианта rs823144 в гене *RAB29*.

1, 2 – гомозигота по аллелю А (генотип АА); 3, 4 – гетерозигота (генотип АС); 5 – гомозигота по аллелю С (генотип СС).

лась с помощью программного обеспечения Tracy (Rausch et al., 2020) (рис. 2).

Оценка относительного уровня экспрессии гена *RAB29* в мононуклеарах периферической крови пациентов с БП и контроля. Из образцов свежей венозной периферической крови пациентов с БП ($N=30$) и контроля ($N=43$) получена мононуклеарная фракция методом центрифугирования в градиенте плотности раствора Фиколл (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare) при 400g в течение 40 мин по методике, описанной ранее (Вёрум, 1968), и дважды промыта PBS («Биолот», Санкт-Петербург) с последующим центрифугированием при 3000 об./мин в течение 10 мин. Тотальная РНК была выделена из мононуклеаров периферической крови с помощью набора для выделения РНК RNeasy Mini Kit (Qiagen, 74104, США). кДНК была получена методом обратной транскрипции с использованием набора Revert Aid First cDNA Synthesis kit (K1622, Thermo Scientific, Литва).

Относительный уровень экспрессии гена *RAB29* в мононуклеарной фракции клеток периферической крови пациентов с БП ($N=30$) и группы контроля ($N=43$) оценивали методом ПЦР в режиме реального времени с применением интеркалирующего красителя SYBR Green I.

В качестве референсных генов использованы конститутивно экспрессирующиеся в клетках гены *RPLP0* и *GAPDH*. Последовательности праймеров разработаны с помощью программы “Primer3 v. 0.4.0” (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0>) (FOR: 5'-CGGTTTCACAGGTTGGA CAG-3', REV: 5'-CCCTTGGGTGGACAAAGACA-3'). Относительный уровень мРНК для каждого гена рассчитывали методом сравнения пороговых уровней амплификации $\Delta\Delta Ct$ (Livak, Schmittgen, 2001).

Оценка активности лизосомных гидролаз и концентрации лизосфинголипидов в периферической крови пациентов с БП и контроля. От пациентов с БП и индивидуумов контрольной группы были получены образцы периферической венозной крови в пробирки с ЭДТА. Для подготовки сухих пятен крови 40 мкл цельной крови наносили на каждое пятно на тест-бланке из фильтровальной бумаги, после чего пятнам давали высохнуть на открытом воздухе при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем хранили при +4 °C до экстракции. Активность четырех лизосомных гидролаз, глюкоцереброзидазы (GCase), α -галактозидазы (GLA), галактоцереброзидазы (GALC), сфингомиелиназы (ASMase), и концентрацию трех лизосфинголипидов, гексацилсфингозина (HexSph) (смесь гликозилсфингозина (GlcSph) и галактозилсфингозина (GalSph)), лизосфингомиелина (LysoSM) и лизоглоботриацилсфингозина (LysoGb3), оценивали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) по ранее опубликованному нами протоколу (Pchelina et al., 2018).

Статистическую обработку данных проводили в среде программирования R версии 4.0.5. Отношение шансов (ОШ) было рассчитано с 95 % доверительным интервалом (ДИ) с помощью логистического анализа с поправкой на пол и возраст. Для оценки отличий относительного уровня экспрессии гена *RAB29*, активности лизосомных гидролаз и концентрации лизосфинголипидов между исследуемыми группами использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для оценки ассоциации rs823144 гена *RAB29* с активностью лизосомных гидролаз применяли

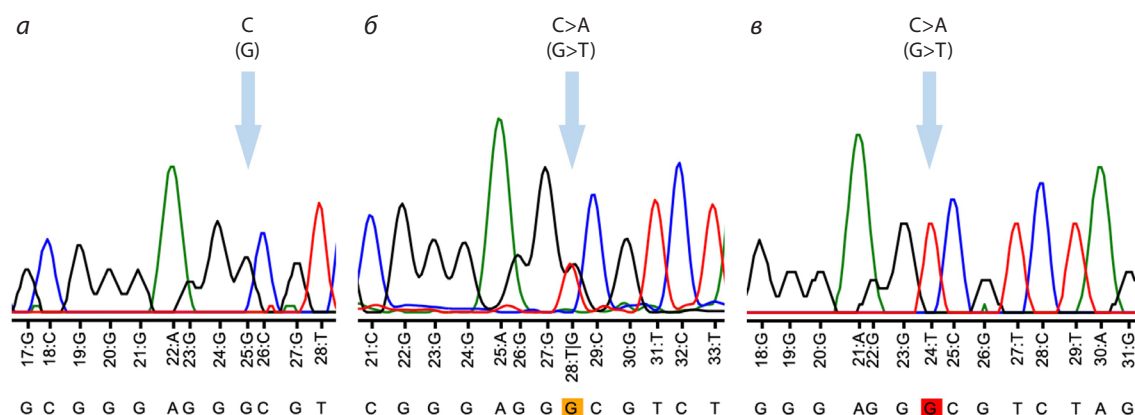


Рис. 2. Электрофореграмма, полученная в ходе секвенирования по Сэнгеру, отображающая результаты генотипирования rs823144 гена *RAB29*.

а – гомозигота по аллелю С (генотип СС); б – гетерозигота (генотип АС); в – гомозигота по аллелю А (генотип АА).

метод множественной линейной регрессии с поправкой на пол, возраст и длительность заболевания. Различия признавали статистически значимыми при $p < 0.05$. Данные представлены как медиана (мин–макс).

Результаты

Оценка ассоциации rs823144 гена *RAB29* с риском БП

В результате скрининга rs823144 гена *RAB29* среди пациентов с БП и в контрольной группе обнаружено, что для популяции Северо-Западного региона России мажорным является аллель А. Нами проведена проверка равновесия Харди–Вайнберга для rs823144 гена *RAB29* в исследуемых группах. Показано, что данное равновесие соблюдается ($p > 0.05$). Полученное распределение генотипов в исследуемых группах представлено в табл. 2. В результате нами выявлена ассоциация rs823144 гена *RAB29* со сниженным риском БП в Северо-Западном регионе России (ОШ: 0.7806, 95 % ДИ: 0.6578–0.9263, $p = 0.0046$).

Оценка относительного уровня мРНК гена *RAB29* в мононуклеарной фракции клеток периферической крови пациентов с БП и контроля

В ходе данного исследования впервые проведена оценка ассоциации rs823144 с относительным уровнем мРНК гена *RAB29* в мононуклеарной фракции клеток периферической крови пациентов с БП и контроля. Относительный уровень мРНК гена *RAB29* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с БП составил 1.0 (0.22–1.75), а в контрольной группе – 0.96 (0.13–1.79). Статистически значимых различий в относительном уровне мРНК гена *RAB29* в мононуклеарной фракции клеток периферической крови пациентов с БП и контроля не выявлено ($p > 0.05$). При делении исследуемых групп по генотипам rs823144 гена *RAB29* относительный уровень мРНК гена *RAB29* составил в группе пациентов с БП: АА – 1.09 (0.55–1.68), АС+СС – 1.13 (0.36–1.75); в контрольной группе: АА – 1.05 (0.58–1.28), АС+СС – 0.97 (0.55–1.33). При делении исследуемых групп по генотипам rs823144 гена *RAB29* относительный уровень мРНК гена *RAB29* был в группе пациентов с БП: АА – 1.09 (0.55–1.68), АС+СС – 1.13 (0.36–1.75); в контрольной группе: АА – 1.05 (0.58–1.28), АС+СС – 0.97 (0.55–1.33). Ассоциации

rs823144 гена *RAB29* с относительным уровнем мРНК гена *RAB29* во всех исследуемых группах не выявлено ($p > 0.05$).

Ассоциация rs823144 гена *RAB29* с активностью лизосомных гидролаз и концентрацией лизосфинголипидов в периферической крови пациентов с БП и контроля

В ходе данной работы впервые в мире проведено ассоциативное исследование rs823144 гена *RAB29* и активности лизосомных гидролаз, а также концентрации лизосфинголипидов в крови пациентов с БП и контроля.

Пациенты с БП характеризовались повышенной активностью GALC и сниженной концентрацией LysoSM по сравнению с контролем ($p = 0.008$, $p = 0.01$ соответственно) (табл. 3). При делении групп по генотипам rs823144 гена *RAB29* было показано, что носительство аллеля С rs823144 гена *RAB29* ассоциировано с повышением активности GLA и снижением концентрации LysoGb3, который является субстратом гидролазы GLA, в крови в группе пациентов с БП ($p = 0.038$, $p = 0.022$ соответственно) (см. табл. 3). Обнаруженные ассоциации были подтверждены регрессионным анализом с поправкой на пол, возраст и длительность заболевания (GLA: $\beta = 1.11$, $p = 0.024$; LysoGb3: $\beta = -0.23$, $p = 0.015$ соответственно) (табл. 4). Статистически значимых различий в активности GCase, GLA и ASMase, а также в концентрации HexSph и LysoGb3 в объединенных группах контроля и пациентов с БП не найдено. Аналогично при делении групп по генотипам rs823144 гена *RAB29* различий в активности GCase, ASMase, GALC и концентрации HexSph не выявлено.

Показано также, что носители аллеля С среди пациентов с БП характеризовались снижением концентрации LysoGb3 и LysoSM в крови по сравнению с объединенной группой контроля ($p = 0.045$, $p = 0.015$ соответственно). В то же время пациенты с БП с генотипом АА rs823144 гена *RAB29* характеризовались повышением концентрации LysoSM по сравнению с объединенной группой контроля ($p = 0.022$). Примечательно, что повышение активности GLA и снижение концентрации ее субстрата, LysoGb3, в крови были характерны для носителей аллеля С rs823144 гена *RAB29* только в группе пациентов с БП, но не в контроле.

Таблица 2. Частоты генотипов и аллелей rs823144 в исследуемых группах

Генотипы и аллели	БП, % (N = 903)	Контроль, % (N = 618)	ОШ (95 % ДИ), p-value
АА	63.3 (N = 572)	57 (N = 352)	АС+СС vs АА: 0.7658 (0.6213–0.9438), $p = 0.0123$; СС vs АА+АС: 0.6671 (0.4392–1.0132), $p = 0.0576$
АС	31.5 (N = 284)	35.4 (N = 219)	
СС	5.2 (N = 47)	7.6 (N = 47)	
АС+СС	36.7 (N = 331)	43 (N = 266)	С vs А: 0.7806 (0.6578–0.9263), $p = 0.0046$
АА+АС	94.8 (N = 856)	92.4 (N = 571)	
А	79.1 (N = 1428)	74.7 (N = 923)	
С	20.9 (N = 378)	25.3 (N = 313)	

Примечание. БП – болезнь Паркинсона; ОШ – отношение шансов.

Таблица 3. Активность лизосомных гидролаз и концентрации лизосфинголипидов в периферической крови пациентов с БП и контроля

Генотип	Активность лизосомных гидролаз, мМ/л/ч				Концентрация лизосфинголипидов, нг/мл		
	GCase	GLA	ASMase	GALC	HexSph	LysoGb3	LysoSM
Объединенные группы							
БП (N = 211)	6.78 (2.07–23.08)	4.8 (1.33–36.39)	4.54 (1.53–13.25)	2.13 (0.21–12.68) *p = 0.008	2.63 (0.49–13.23)	0.8 (0.04–40.77)	3.62 (0.72–16.08) *p = 0.01
Контроль (N = 179)	6.29 (1.55–32.13)	4.18 (1.03–14.81)	4.14 (1.4–12.39)	1.86 (0.24–9.35)	2.97 (0.57–15.36)	0.78 (0.03–2.31)	3.98 (0.59–11.6)
Группы, разделенные по генотипам rs823144 гена RAB29							
БП AA (N = 91)	5.67 (2.07–19.52)	4.05 (1.2–13.93)	4.28 (1.67–11.83)	2.17 (0.12–12.68)	2.55 (0.5–13.81)	0.93 (0.02–2.49)	3.84 (1.65–16.08) *p = 0.022
БП AC+CC (N = 55)	5.78 (2.42–23.08)	5.39 (1.61–13.72) **p = 0.038	4.76 (1.53–9.31)	2.2 (0.52–7.28)	2.89 (0.87–13.08)	0.61 (0.04–3.73) *p = 0.045 **p = 0.022	3.45 (0.72–15.34) *p = 0.015
Контроль AA (N = 52)	6.92 (1.55–32.13)	4.23 (1.86–12.94)	4.35 (1.5–10.99)	2.19 (0.58–9.35)	2.37 (0.57–12.11)	0.77 (0.16–2.27)	4.37 (0.59–14.87)
Контроль AC+CC (N = 40)	8.11 (3.9–17.23)	4.42 (2.17–12.6)	4.4 (1.82–12.03)	2.19 (0.96–8.37)	2.54 (0.69–9.87)	0.86 (0.03–2.31)	4.44 (2.03–11.75)

Примечание. БП – болезнь Паркинсона; GCase – глюкоцереброзидаза; GLA – α-галактозидаза; GALC – галактоцереброзидаза; ASMase – сфингомиелиназа; HexSph – гексазилсфингозин; LysoSM – лизосфингомиелин; LysoGb3 – лизоглоботриаозилсфингозин.
* По сравнению с объединенной группой контроля; ** по сравнению с пациентами с БП с генотипом AA. Данные представлены в виде медианы (мин–макс).

Обсуждение

Ген *RAB29* – один из пяти генов, расположенных в ранее ассоциированном с риском БП локусе PARK16, локализованном на длинном плече хромосомы 1, сегмент 1q32 (Simón-Sánchez et al., 2009; Tucci et al., 2010). В ассоциативных исследованиях показано, что носительство минорного аллеля C rs823144, расположенного в промоторной области гена *RAB29*, ассоциировано со снижением риска БП в различных популяциях (Gan-Or et al., 2012; Xia et al., 2015; Khaligh et al., 2017; Sun et al., 2021). Предполагается, что аллель C rs823144 гена *RAB29* может влиять на сайт связывания транскрипционных факторов (Gan-Or et al., 2012; Khaligh et al., 2017).
In silico предсказано, что аллель C rs823144 гена *RAB29* потенциально может устранять сайт связывания для транскрипционного фактора c-Ets-1 и добавлять сайты связывания для трех других: p300, GATA-1 и Sp1, что может приводить к увеличению экспрессии гена *RAB29* (Gan-Or et al., 2012). С использованием базы данных GTeX (<https://www.gtexportal.org/>) показана связь генотипа CC rs823144 со снижением уровня экспрессии *RAB29* в цельной крови и в головном мозге ($p < 0.0001$). В свою очередь, увеличение экспрессии гена *RAB29*, одного из основных регуляторов киназы LRRK2, потенциально может нарушать ее активацию. Киназа LRRK2, фосфорилируя белки семейства Rab, регулирует эндолизосомный транспорт (Reczek et al., 2007; Wei et al., 2023). Таким образом, нарушение процесса активации киназы LRRK2 может вызывать дисфункцию транспорта лизосомных гидролаз и, как следствие, нарушение их активности.

В данном исследовании выявлена ассоциация аллеля C rs823144 гена *RAB29* со сниженным риском БП в Северо-Западном регионе России, что согласуется с мировыми данными (Gan-Or et al., 2012; Khaligh et al., 2017; Sun et al., 2021). В то же время нами не обнаружено ассоциации аллеля C rs823144 гена *RAB29* с уровнем мРНК гена *RAB29* как в группе пациентов с БП, так и в контроле.
Дисфункция лизосом считается одним из ключевых звеньев, лежащих в основе патогенеза БП. Ранее нами и другими исследователями были продемонстрированы изменения активности лизосомных гидролаз и уровня сфинголипидов в периферических жидкостях, а также в посмертных образцах черной субстанции и височной коры мозга пациентов с БП (Alcalay et al., 2018; Nelson et al., 2018; Huebecker et al., 2019; Chang et al., 2022; Usenko et al., 2022, 2024). Так, нами показаны увеличение активности GALC и снижение концентрации LysoSM, являющегося субстратом ASMase, вовлеченных в метаболизм лизосфинголипидов, в периферической крови пациентов с БП (Usenko et al., 2022, 2024). В свою очередь, нарушение метаболизма лизосфинголипидов, в том числе посредством изменения активности лизосомных гидролаз, может способствовать агрегации белка альфа-синуклеина (Mazzulli et al., 2011; Marie et al., 2015).
Обсуждается, что накапливающиеся лизосфинголипиды в нейронах могут напрямую стабилизировать нейротоксичные олигомеры альфа-синуклеина (Battis et al., 2023). Ранее в аутоптатах головного мозга пациентов с БП были найдены прямая корреляция концентрации изоформ лизосфинголипида LysoGb3 и обратная корреляция

Таблица 4. Активность лизосомных гидролаз и концентрации лизосфинголипидов в периферической крови пациентов с БП (регрессионный анализ)

Гидролазы/лизо- сфинголипиды	Генотип/ другие характеристики	БП			Контроль		
		β	95 % ДИ	<i>p</i> -value	β	95 % ДИ	<i>p</i> -value
GCase	АС+СС	-0.95	-2.32–0.43	0.17	1.44	-0.25–3.14	0.09
	Пол (мужчины:женщины)	0.55	-0.81–1.90	0.43	0.12	-1.61–1.85	0.89
	Возраст, годы	-0.03	-0.094–0.028	0.29	-0.06	-0.17–0.05	0.30
	Длительность заболевания, годы	0.004	-0.042–0.049	0.87	–	–	–
GLA	АС+СС	1.11	0.15–2.07	0.02	-0.29	-1.52–0.95	0.64
	Пол (мужчины:женщины)	0.03	-0.93–0.98	0.96	0.93	-0.33–2.18	0.14
	Возраст, годы	-0.03	-0.07–0.01	0.16	-0.00001	-0.080–0.080	1
	Длительность заболевания, годы	-0.002	-0.03–0.03	0.93	–	–	–
ASMase	АС+СС	0.23	-0.53–0.98	0.55	0.31	-0.85–1.46	0.60
	Пол (мужчины:женщины)	0.05	-0.69–0.80	0.87	-0.20	-1.38–0.97	0.73
	Возраст, годы	0.06	0.03–0.09	0.0005	-0.021	-0.096–0.054	0.58
	Длительность заболевания, годы	0.025	0.0005–0.050	0.046	–	–	–
GALC	АС+СС	0.080	-0.57–0.72	0.81	0.07	-0.64–0.77	0.85
	Пол (мужчины:женщины)	0.16	-0.48–0.80	0.62	-0.15	-0.87–0.57	0.67
	Возраст, годы	-0.017	-0.046–0.012	0.25	-0.011	-0.057–0.035	0.63
	Длительность заболевания, годы	-0.0051	-0.027–0.016	0.64	–	–	–
HexSph	АС+СС	-0.014	-0.92–0.90	0.97	0.12	-0.80–1.04	0.80
	Пол (мужчины:женщины)	0.35	-0.55–1.24	0.45	0.49	-0.44–1.43	0.30
	Возраст, годы	-0.028	-0.069–0.013	0.18	0.011	-0.048–0.071	0.71
	Длительность заболевания, годы	-0.028	-0.058–0.0022	0.069	–	–	–
LysoGb3	АС+СС	-0.23	-0.41–0.044	0.015	0.039	-0.16–0.24	0.70
	Пол (мужчины:женщины)	-0.08	-0.26–0.10	0.39	-0.043	-0.25–0.16	0.67
	Возраст, годы	-0.007	-0.015–0.0016	0.11	-0.0039	-0.017–0.009	0.55
	Длительность заболевания, годы	-0.001	-0.007–0.004	0.66	–	–	–
LysoSM	АС+СС	-0.17	-1.18–0.84	0.74	-0.25	-1.51–1.014	0.70
	Пол (мужчины:женщины)	-0.82	-1.82–0.17	0.10	-0.63	-1.91–0.65	0.33
	Возраст, годы	-0.064	-0.11–0.018	0.006	0.070	-0.011–0.15	0.089
	Длительность заболевания, годы	-0.028	-0.061–0.0056	0.10	–	–	–

Примечание. БП – болезнь Паркинсона; GCase – глюкоцереброзидаза; GLA – α -галактозидаза; GALC – галактоцереброзидаза; ASMase – сфингомиелиназа; HexSph – гексацилсфингозин; LysoSM – лизосфингомиелин; LysoGb3 – лизоглоботриаозилсфингозин.

активности GLA с уровнем белка альфа-синуклеина, фосфорилированного по серину 129 – патологической форме белка, преобладающей в белковых агрегатах при БП (Nelson et al., 2018). В данном исследовании обнаруженная нами впервые в мире в крови у пациентов с БП ассоциация аллеля C rs823144 гена *RAB29* с повышением активности GLA и снижением концентрации LysoGb3, а также выявленное повышение концентрации LysoSM у носителей генотипа AA rs823144 гена *RAB29* позволяют предположить роль гена *RAB29* в метаболизме сфинголипидов при болезни Паркинсона.

Следует отметить, что выраженное снижение активности GLA вследствие мутаций в гене *GLA* приводит к редкой лизосомной болезни накопления – болезни Фабри.

Примечательно, что повышенная концентрация LysoGb3 – фактор риска поражения белого вещества головного мозга при болезни Фабри (Rombach et al., 2010). Нами показано, что накопление LysoGb3 может происходить не строго специфично при болезни Фабри, а наблюдаться также при нейронопатических формах мукополисахаридозов (Baydakova et al., 2020). Можно предположить, что выявленная нами ассоциация аллеля C rs823144 гена *RAB29* с повышением активности GLA и снижением ее субстрата LysoGb3 в крови при БП также может влиять на клиническое течение заболевания.

Настоящее исследование имеет несколько ограничений. Размер выборок пациентов с БП и контрольной группы, включенных в эксперимент по оценке ассоциации вариан-

та rs823144 гена *RAB29* с уровнем мРНК гена *RAB29*, был ограничен. Сравнимые группы были гетерогенными по популяционному составу. Кроме того, в рамках этого исследования не оценена ассоциация изучаемого генетического варианта с активностью киназы LRRK2.

Заключение

Таким образом, в ходе данного исследования нами впервые в мире показана ассоциация аллеля С rs823144 гена *RAB29*, ранее охарактеризованного как протективного в отношении БП в других популяциях, со сниженным риском БП и в Северо-Западном регионе России. Впервые продемонстрировано, что носительство аллеля С rs823144 ассоциировано с повышенной активностью GLA и сниженной концентрацией LysoGb3 в крови при болезни Паркинсона.

Полученные данные указывают на возможную роль гена *RAB29* в метаболизме лизосфинголипидов и позволяют предположить, что rs823144 может влиять на клиническое течение БП. Необходимы дальнейшие исследования, посвященные изучению ассоциации локуса *PARK16* и гена *RAB29* с метаболизмом лизосфинголипидов и клиническим течением болезни Паркинсона.

Список литературы / References

Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984
[Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Methods of Genetic Engineering. Molecular Cloning. Moscow: Mir Publ., 1984 (in Russian)]
Alcalay R.N., Levy O.A., Waters C.C., Fahn S., Ford B., Kuo S.H., Mazzoni P., ... Wolf P., Oliva P., Keutzer J., Marder K., Zhang X. Glucocerebrosidase activity in Parkinson's disease with and without GBA mutations. *Brain*. 2015;138(9):2648-2658. doi 10.1093/brain/awv179
Alcalay R.N., Wolf P., Levy O.A., Kang U.J., Waters C., Fahn S., Ford B., ... Chung W.K., Oliva P., Keutzer J., Marder K., Zhang X.K. Alpha galactosidase A activity in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2018;112:85-90. doi 10.1016/j.nbd.2018.01.012
Battis K., Xiang W., Winkler J. The bidirectional interplay of α -synuclein with lipids in the central nervous system and its implications for the pathogenesis of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(17):13270. doi 10.3390/ijms241713270
Baydakova G., Ilyushkina A., Gaffke L., Pierzynowska K., Bychkov I., Ługowska A., Węgrzyn G., Tylki-Szymanska A., Zakharova E. Elevated LysoGb3 concentration in the neuronopathic forms of mucopolysaccharidoses. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(3):155. doi 10.3390/diagnostics10030155
Böyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1968;97:77-89
Chang K.H., Cheng M.L., Tang H.Y., Huang C.Y., Wu H.C., Chen C.M. Alterations of sphingolipid and phospholipid pathways and ornithine level in the plasma as biomarkers of Parkinson's disease. *Cells*. 2022;11(3):395. doi 10.3390/cells11030395
Galper J., Dean N.J., Pickford R., Lewis S.J.G., Halliday G.M., Kim W.S., Dzakmo N. Lipid pathway dysfunction is prevalent in patients with Parkinson's disease. *Brain*. 2022;145(10):3472-3487. doi 10.1093/brain/awac176
Gan-Or Z., Bar-Shira A., Dahary D., Mirelman A., Kedmi M., Gurevich T., Giladi N., Orr-Urtreger A. Association of sequence alterations in the putative promoter of *RAB7L1* with a reduced Parkinson disease risk. *Arch Neurol*. 2012;69(1):105-110. doi 10.1001/archneurol.2011.924

Huebecker M., Moloney E.B., Van Der Spoel A.C., Priestman D.A., Isacson O., Hallett P.J., Platt F.M. Reduced sphingolipid hydrolase activities, substrate accumulation and ganglioside decline in Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*. 2019;14(1):40. doi 10.1186/s13024-019-0339-z
Kedariti M., Frattini E., Baden P., Cogo S., Civiero L., Ziviani E., Zilio G., ... Di Fonzo A., Alcalay R.N., Rideout H., Greggio E., Ploteher N. LRRK2 kinase activity regulates GCase level and enzymatic activity differently depending on cell type in Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis*. 2022;8(1):92. doi 10.1038/s41531-022-00354-3
Khaligh A., Goudarzian M., Moslem A., Mehrtash A., Jamshidi J., Darvish H., Emamalizadeh B. RAB7L1 promoter polymorphism and risk of Parkinson's disease; a case-control study. *Neurol Res*. 2017; 39(5):468-471. doi 10.1080/01616412.2017.1297558
Kuwahara T., Iwatsubo T. The emerging functions of LRRK2 and Rab GTPases in the endolysosomal system. *Front Neurosci*. 2020;14: 227. doi 10.3389/fnins.2020.00227
Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*. 2009;25(14):1754-1760. doi 10.1093/bioinformatics/btp324
Lill C.M. Genetics of Parkinson's disease. *Mol Cell Probes*. 2016; 30(6):386-396. doi 10.1016/j.mcp.2016.11.001
Liu Z., Bryant N., Kumaran R., Beilina A., Abeliovich A., Cookson M.R., West A.B. LRRK2 phosphorylates membrane-bound Rabs and is activated by GTP-bound Rab7L1 to promote recruitment to the trans-Golgi network. *Hum Mol Genet*. 2018;27(2):385-395. doi 10.1093/hmg/ddx410
Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. doi 10.1006/meth.2001.1262
MacLeod D.A., Rhinn H., Kuwahara T., Zolin A., Di Paolo G., MacCabe B.D., Marder K.S., Honig L.S., Clark L.N., Small S.A., Abeliovich A. Rab7L1 interacts with LRRK2 to modify intraneuronal protein sorting and Parkinson's disease risk. *Neuron*. 2013; 77(3):425-439. doi 10.1016/j.neuron.2012.11.033
Madero-Pérez J., Fdez E., Fernández B., Lara Ordóñez A.J., Blanca Ramírez M., Gómez-Suaga P., Waschbüsch D., ... Beilina A., Gonnelli A., Cookson M.R., Greggio E., Hilfiker S. Parkinson disease-associated mutations in LRRK2 cause centrosomal defects via Rab8a phosphorylation. *Mol Neurodegener*. 2018;13(1):3. doi 10.1186/S13024-018-0235-y
Marie G., Dunning C.J., Gaspar R., Grey C., Brundin P., Sparr E., Linse S. Acceleration of α -synuclein aggregation by exosomes. *J Biol Chem*. 2015;290(5):2969. doi 10.1074/jbc.M114.585703
Mazzulli J.R., Xu Y.H., Sun Y., Knight A.L., McLean P.J., Caldwell G.A., Sidransky E., Grabowski G.A., Krainc D. Gaucher disease glucocerebrosidase and α -synuclein form a bidirectional pathogenic loop in synucleinopathies. *Cell*. 2011;146(1):37-52. doi 10.1016/j.cell.2011.06.001
McKenna A., Hanna M., Banks E., Sivachenko A., Cibulskis K., Kernytsky A., Garimella K., Altshuler D., Gabriel S., Daly M., DePristo M.A. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*. 2010;20(9):1297-1303. doi 10.1101/gr.107524.110
Nalls M.A., Blauwendraat C., Vallerga C.L., Heilbron K., Bandres-Ciga S., Chang D., Tan M., ... Silburn P.A., Vallerga C.L., Wallace L., Wray N.R., Zhang F. Identification of novel risk loci, causal insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-genome wide association study. *Lancet Neurol*. 2019;18(12):1091-1102. doi 10.1016/S1474-4422(19)30320-5
Nechushtai L., Frenkel D., Pinkas-Kramarski R. Autophagy in Parkinson's disease. *Biomolecules*. 2023;13(10):1435. doi 10.3390/biom13101435
Nelson M.P., Boutin M., Tse T.E., Lu H., Haley E.D., Ouyang X., Zhang J., Auray-Blais C., Shacka J.J. The lysosomal enzyme alpha-Galactosidase A is deficient in Parkinson's disease brain in associa-

- tion with the pathologic accumulation of alpha-synuclein. *Neurobiol Dis.* 2018;110:68-81. doi 10.1016/j.nbd.2017.11.006
- Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M., Senkevich K., Emelyanov A., Kopytova A., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Berkovich O., Fedotova E., Illarioshkin S., Zakharova E. Blood lysosphingolipids accumulation in patients with Parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations. *Mov Disord.* 2018;33(8):1325-1330. doi 10.1002/mds.27393
- Pihlström L., Rengmark A., Björnå K.A., Dizdar N., Fardell C., Forsgren L., Holmberg B., Larsen J.P., Linder J., Nissbrandt H., Tysnes O.B., Dietrichs E., Toft M. Fine mapping and resequencing of the PARK16 locus in Parkinson's disease. *J Hum Genet.* 2015; 60(7):357-362. doi 10.1038/jhg.2015.34
- Purlyte E., Dhekne H.S., Sarhan A.R., Gomez R., Lis P., Wightman M., Martinez T.N., Tonelli F., Pfeffer S.R., Alessi D.R. Rab29 activation of the Parkinson's disease-associated LRRK2 kinase. *EMBO J.* 2018;37(1):1-18. doi 10.15252/EMBJ.201798099
- Rausch T., Fritz M.H.Y., Untergasser A., Benes V. Tracy: basecalling, alignment, assembly and deconvolution of sanger chromatogram trace files. *BMC Genomics.* 2020;21(1):230. doi 10.1186/S12864-020-6635-8
- Reczek D., Schwake M., Schröder J., Hughes H., Blanz J., Jin X., Brondyk W., Van Patten S., Edmunds T., Saftig P. LIMP-2 is a receptor for lysosomal mannose-6-phosphate-independent targeting of beta-glucocerebrosidase. *Cell.* 2007;131(4):770-783. doi 10.1016/j.cell.2007.10.018
- Rivero-Rios P., Romo-Lozano M., Fernández B., Fdez E., Hilfiker S. Distinct roles for Rab10 and Rab29 in pathogenic LRRK2-mediated endolysosomal trafficking alterations. *Cells.* 2020;9(7):1719. doi 10.3390/cells9071719
- Rombach S.M., Dekker N., Bouwman M.G., Linthorst G.E., Zwinderman A.H., Wijburg F.A., Kuiper S., vd Bergh Weerman M.A., Groener J.E., Poorthuis B.J., Hollak C.E., Aerts J.M. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestations of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1802(9): 741-748. doi 10.1016/j.bbadis.2010.05.003
- Rudakou U., Yu E., Krohn L., Ruskey J.A., Asayesh F., Dauvilliers Y., Spiegelman D., ... Rouleau G.A., Hassin-Baer S., Fon E.A., Alcalay R.N., Gan-Or Z. Targeted sequencing of Parkinson's disease loci genes highlights *SYT11*, *FGF20* and other associations. *Brain.* 2021;144(2):462-472. doi 10.1093/brain/awaa401
- Satake W., Nakabayashi Y., Mizuta I., Hirota Y., Ito C., Kubo M., Kawaguchi T., ... Yamamoto M., Hattori N., Murata M., Nakamura Y., Toda T. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2009;41(12):1303-1307. doi 10.1038/ng.485
- Shi J.J., Mao C.Y., Guo Y.Z., Fan Y., Hao X.Y., Li S.J., Tian J., ... Zuo C.Y., Liang Y.Y., Xu Y.M., Yang J., Shi C.H. Joint analysis of proteome, transcriptome, and multi-trait analysis to identify novel Parkinson's disease risk genes. *Aging.* 2024;16(2):1555-1580. doi 10.18632/aging.205444
- Simón-Sánchez J., Schulte C., Bras J.M., Sharma M., Gibbs J.R., Berg D., Paisan-Ruiz C., ... Chen H., Riess O., Hardy J.A., Singleton A.B., Gasser T. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2009;41(12):1308-1312. doi 10.1038/ng.487
- Steger M., Tonelli F., Ito G., Davies P., Trost M., Vetter M., Wachter S., ... Fell M.J., Morrow J.A., Reith A.D., Alessi D.R., Mann M. Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases. *eLife.* 2016;5:e12813. doi 10.7554/eLife.12813.001
- Sun J., Deng L., Zhu H., Liu M., Lyu R., Lai Q., Zhang Y. Meta-analysis on the association between rs11868035, rs823144, rs3851179 and Parkinson's disease. *Meta Gene.* 2021;30:100949. doi 10.1016/j.mgene.2021.100949
- Tucci A., Nalls M.A., Houlden H., Revesz T., Singleton A.B., Wood N.W., Hardy J., Paisán-Ruiz C. Genetic variability at the PARK16 locus. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(12):1356-1359. doi 10.1038/ejhg.2010.125
- Usenko T.S., Senkevich K.A., Basharova K.S., Baydakova G.V., Basharova K.S., Zhuravlev A.S., Gracheva E.V., ... Palchikova E.I., Zalutskaya N.M., Emelyanov A.K., Zakharova E.Y., Pchelina S.N. Impaired sphingolipid hydrolase activities in dementia with Lewy bodies and multiple system atrophy. *Mol Neurobiol.* 2022;59(4): 2277-2287. doi 10.1007/S12035-021-02688-0
- Usenko T.S., Senkevich K.A., Basharova K.S., Bezrukova A.I., Baydakova G.V., Tyurin A.A., Beletskaya M.V., Kulabukhova D.G., Grunina M.N., Emelyanov A.K., Miliukhina I.V., Timofeeva A.A., Zakharova E.Y., Pchelina S.N. LRRK2 exonic variants are associated with lysosomal hydrolase activities and lysosphingolipid alterations in Parkinson's disease. *Gene.* 2023;882:147639. doi 10.1016/j.gene.2023.147639
- Usenko T.S., Timofeeva A., Beletskaya M., Basharova K., Baydakova G., Bezrukova A., Grunina M., Emelyanov A., Miliukhina I., Zakharova E., Pchelina S. The effect of p.G2019S mutation in the *LRRK2* gene on the activity of lysosomal hydrolases and the clinical features of Parkinson's disease associated with p.N370S mutation in the *GBA1* gene. *J Integr Neurosci.* 2024;23(1):16. doi 10.31083/jjin2301016
- Vince T., Posfai J., Roberts R.J. NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res.* 2003;31(13):3688-3691. doi 10.1093/nar/gkg526
- Wang S., Ma Z., Xu X., Wang Z., Sun L., Zhou Y., Lin X., Hong W., Wang T. A role of Rab29 in the integrity of the trans-golgi network and retrograde trafficking of mannose-6-phosphate receptor. *PLoS One.* 2014;9(5):e96242. doi 10.1371/journal.pone.0096242
- Wei Y., Awan M.U.N., Bai L., Bai J. The function of Golgi apparatus in LRRK2-associated Parkinson's disease. *Front Mol Neurosci.* 2023; 16:1097633. doi 10.3389/fnmol.2023.1097633
- Xia H., Luo Q., Li X.X., Yang X.L. Association between PARK16 gene polymorphisms and susceptibility of Parkinson's disease in a Chinese population. *Genet Mol Res.* 2015;14(2):2978-2985. doi 10.4238/2015.april.10.7
- Ysselstein D., Nguyen M., Young T.J., Severino A., Schwake M., Merchant K., Krainc D. LRRK2 kinase activity regulates lysosomal glucocerebrosidase in neurons derived from Parkinson's disease patients. *Nat Commun.* 2019;10(1):5570. doi 10.1038/s41467-019-13413-w
- Zhu H., Tonelli F., Turk M., Prescott A., Alessi D.R., Sun J. Rab29-dependent asymmetrical activation of leucine-rich repeat kinase 2. *Science.* 2023;382(6677):1404-1411. doi 10.1126/science.adi9926
- Zimprich A., Biskup S., Leitner P., Lichtner P., Farrer M., Lincoln S., Kachergus J., Hulihan M., Uitti R.J., Calne D.B., Stoessl A.J. Mutations in *LRRK2* cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron.* 2004;44(4):601-607. doi 10.1016/j.neuron.2004.11.005

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 07.11.2024. После доработки 31.01.2025. Принята к публикации 30.06.2025.