

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623253>

Геномные исследования механизмов нейродегенерации при болезни Паркинсона, ассоциированной с дисфункцией глюкоцереброзидазы на клеточных и животных моделях

С.Н. Пчелина^{1,2*}, А.И. Безрукова¹, М.М. Руденок¹, А.С. Журавлев¹, И.Н. Рыболовлев¹, Г.В. Байдакова³, М.С. Нестеров⁴, Д.А. Абаймов⁵, Т.С. Усенко¹, Е.Ю. Захарова³, А.К. Емельянов^{1,2}, М.И. Шадрина¹, П.А. Сломинский¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Российская Федерация;

² Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ Медико-генетический научный центр, Москва, Российская Федерация;

⁴ Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России, Московская область, Российская Федерация;

⁵ Научный центр неврологии, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Мутации в гене глюкоцереброзидазы (*GBA1*), кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), являются причиной развития аутосомно-рецессивного заболевания, болезни Гоше и фактором высокого риска болезни Паркинсона (БП). Риск развития БП у носителей гомо- и гетерозиготных мутаций гена *GBA1* возрастает в 8–10 раз, однако не у всех носителей мутаций развивается БП в течение жизни. В то же время *GBA*-ассоциированная форма БП (*GBA*-БП) составляет от 10 до 30% от всех форм паркинсонизма. Механизм развития *GBA*-БП остаётся неизвестными. Нами и другими авторами было показано снижение активности GCase и накопление лизосфинголипидов у пациентов с *GBA*-БП как в периферической крови, так и клетках мозга [1, 2]. Предполагается, что дисфункция GCase может приводить к нарушению аутофагии и накоплению белка альфа-синуклеина, олигомеризация которого является ключевым процессом нейродегенерации при БП.

С целью изучения влияния дисфункции глюкоцереброзидазы (GCase) на нейродегенерацию дофаминергических нейронов (ДА-нейроны) используются различные подходы, сочетающие моделирование паркинсонизма с дисфункцией GCase на мышах [3, 4]. В настоящем исследовании нами впервые проведена оценка активности GCase, уровня лизосфинголипидов, степени нейродегенерации нейронов чёрной субстанции (ЧС) компактной (ЧСкч) и ретикулярной (ЧСрч) частей, уровня дофамина и альфа-синуклеина (общего, олигомерного) в мозге модельных мышей с пресимптоматической стадией паркинсонизма, которым вводился нейротоксин 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МРТР) (МРТР-индуцированная пресимптоматическая стадия паркинсонизма (двукратное введение в дозе 12 мг/кг с интервалом в 2 часа)) в сочетании с однократным введением селективного ингибитора GCase кондуритол-В-эпоксида (СВЕ) (100 мг/кг). Также нами проведено сопоставление транскриптома первичной культуры макрофагов пациентов с *GBA*-БП [5] и транскриптома ЧС головного мозга мышей двойной нейротоксической модели.

Исследование показало, что однократная инъекция СВЕ приводит к 50% снижению активности GCase и повышению уровня лизосфинголипидов в мозге мышей. Введение как МРТР, так и СВЕ приводило к увеличению уровня олигомерных форм альфа-синуклеина в стриатуме. При этом уровень нейродегенерации ДА нейронов ЧСкч, оценённый через 14 дней после инъекции путём иммуногистохимического окрашивания на тирозингидроксилазу (TH), был сопоставим при введении МРТР и СВЕ — падение до 50 и 60%, соответственно. Двойная нейротоксическая модель характеризовалась более выраженным снижением концентрации дофамина, накоплением общего альфа-синуклеина в стриатуме и более выраженной нейродегенерацией ДА нейронов в ЧСрч (70% vs 45% при введении МРТР). Сопоставление дифференциальной экспрессии генов в первичной культуре макрофагов пациентов с *GBA*-БП по сравнению с контролем выявило снижение экспрессии таких генов, связанных с нейрогенезом, как *JUNB*, *NR4A2*, *EGR1*. В то же время как в группе пациентов с *GBA*-БП (*TRIM13*, *BCL6*), так и в группе мышей с МРТР-индуцированным паркинсонизмом с дисфункцией GCase была выявлена активация генов, вовлечённых в PI3K-Akt-mTOR сигнальный путь, участвующий в регуляции аутофагии (*Pdk4*, *Sgk*, *Ppp2r3d*).

Рукопись получена: 13.05.2023

Рукопись одобрена: 26.11.2023

Опубликована online: 20.01.2024

Полученные данные показывают, что дисфункция глюкоцереброзидазы, обусловленная введением животным СВЕ, может приводить к накоплению нейротоксических форм альфа-синуклеина и дейродегенерации ДА-нейронов, сопоставима с вариантом введения с небольшими дозами МРТР, при этом увеличивая накопление альфа-синуклеина и степень дисфункции нигростриарной стимемы при сочетанном введении. Сопоставление результатов транскриптомного анализа, проведённого в клетках пациентов с GBA-БП и мозга двойной нейротоксической мышинной модели (СВЕ+МРТР) выявило изменение экспрессии генов, вовлечённых в регуляцию процесса аутофагии. Подходы, направленные на увеличение активности GCase и аутофагии, могут быть эффективны при разработке нейропротекторных средств.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона; глюкоцереброзидаза; кондуриitol-В-эпоксид (СВЕ); РНК-профайлинг; МФТП; мышинная модель.

Как цитировать:

Пчелина С.Н., Безрукова А.И., Руденок М.М., Журавлев А.С., Рыболовлев И.Н., Байдакова Г.В., Нестеров М.С., Абаимов Д.А., Усенко Т.С., Захарова Е.Ю., Емельянов А.К., Шадрин М.И., Сломинский П.А. Геномные исследования механизмов нейродегенерации при болезни Паркинсона, ассоциированной с дисфункцией глюкоцереброзидазы на клеточных и животных моделях // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 528–531. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623253>

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме: «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения» (регистрационный номер № 121060200125-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kopytova A.E., Usenko T.S., Baydakova G.V., et al. Could Blood Hexosylsphingosine Be a Marker for Parkinson's Disease Linked with GBA1 Mutations? // *Movement Disorders*. 2022. Vol. 37, N 8. P. 1779–1781. doi: 10.1002/mds.29132
2. Menozzi E., Schapira A.H.V. Exploring the Genotype-Phenotype Correlation in GBA-Parkinson Disease: Clinical Aspects, Biomarkers, and Potential Modifiers // *Frontiers in Neurology*. 2021. Vol. 12. P. 694764. doi: 10.3389/fneur.2021.694764
3. Yun S.P., Kim D., Kim S., et al. α -Synuclein accumulation and GBA deficiency due to L444P GBA mutation contributes to MPTP-induced parkinsonism // *Molecular Neurodegeneration*. 2018. Vol. 13, N 1. P. 1. doi: 10.1186/s13024-017-0233-5
4. Mus L., Siani F., Giuliano C., et al. Development and biochemical characterization of a mouse model of Parkinson's disease bearing defective glucocerebrosidase activity // *Neurobiology of Disease*. 2019. Vol. 124. P. 289–296. doi: 10.1016/j.nbd.2018.12.001
5. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K., et al. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease // *Genes*. 2021. Vol. 12, N 10. P. 1545. doi: 10.3390/genes12101545

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* С.Н. Пчелина; адрес: Российская Федерация, 350180, Гатчина, Орлова роща, д. 1; e-mail: sopchelina@hotmail.com

DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623253>

Genomic studies of neudegeneration in Parkinson's disease associated with glucocerebrosidase dysfunction on cell and animals models

S.N. Pchelina^{1,2*}, A.I. Bezrukova¹, M.M. Rudenok¹, A.S. Zhuravlev¹, I.N. Rybolovlev¹,
G.V. Baydakova³, M.S. Nesterov⁴, D.A. Abaimov⁵, T.S. Usenko¹, E.Yu. Zakharova³,
A.K. Emelyanov^{1,2}, M.I. Shadrina¹, P.A. Slominsky¹

¹ National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russian Federation;

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation;

³ Research Center for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation;

⁴ Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow Region, Russian Federation;

⁵ Research Centre of Neurology, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Mutations in the glucocerebrosidase gene (*GBA1*), which encodes the lysosomal enzyme glucocerebrosidase (GCase), can cause Gaucher disease, an autosomal recessive disease, and increase the risk of Parkinson's disease (PD). The risk of developing PD for carriers of homozygous and heterozygous *GBA1* mutations increases by 8–10 times, but not all carriers develop PD during their lifetime. Additionally, GBA-associated PD (GBA-PD) represents 10 to 30% of all forms of parkinsonism. The development mechanism of GBA-PD remains unknown. A decrease in GCase activity and accumulation of lysosphingolipids in patients with GBA-PD was shown by us and other researchers [1, 2]. GCase dysfunction is thought to result in impaired autophagy and accumulation of the alpha-synuclein protein, which is a crucial process in neurodegeneration in PD.

Several techniques based on modeling parkinsonism in mice with GCase dysfunction were used to study the impact of GCase dysfunction on DA neuron neurodegeneration [3, 4]. In this study, we evaluated GCase activity, lysosphingolipids level, and the degree of neurodegeneration in DA-neurons of the substantia nigra's compact (SNc) and reticular part (SNr), as well as the levels of dopamine and alpha-synuclein (total and oligomeric) in the brains of mice with a double "soft" neurotoxic model induced by the introduction of the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1. This is the first time such an evaluation has been made. The presymptomatic stage of parkinsonism induced by 2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) involved the double administration of 12 µg/kg at a 2-hour interval, in combination with a single injection of the selective GCase inhibitor conduritol-B-epoxide (CBE) at a dose of 100 mg/kg. Additionally, we compared the transcriptomes of primary macrophage cultures from GBA-PD patients [5] with the transcriptome of SN brain tissue in model mice.

We demonstrated that a singular injection of CBE resulted in a 50% decrease in GCase activity in the mouse brain and an elevation in lysosphingolipid levels. Additionally, the introduction of both MPTP and CBE led to an increase in the level of oligomeric forms of alpha-synuclein in the striatum. Simultaneously, degeneration of DA neurons in SNc, assessed by tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry 14 days after injection, was comparable to MPTP and CBE (decreasing to 50 and 60%, respectively). The neurotoxic model, when combined, demonstrates a significantly greater reduction in dopamine concentration, accumulation of total alpha-synuclein in the striatum, and more severe neurodegeneration of DA neurons in SNr (70% compared to 45% with MPTP administration).

A comparison of differential gene expression in primary macrophage cultures from patients with GBA-PD and controls revealed a reduction in the expression of genes associated with neurogenesis, such as *JUNB*, *NR4A2*, and *EGR1*. In both the GBA-PD patient group (*TRIM13*, *BCL6*) and the MPTP-induced parkinsonism mouse group with GCase dysfunction (MPTP+CBE), genes related to the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway, which regulates autophagy, were found to be activated. These genes include *Pdk4*, *Sgk*, and *Ppp2r3d*.

The data obtained indicates that dysfunctional GCase leads to the accumulation of toxic forms of alpha-synuclein and degeneration of DA neurons, similar to the effects of small doses of MPTP. Combining neurotoxins (MPTP+CBE) causes a greater accumulation of alpha-synuclein and a higher degree of neuron degeneration. Transcriptomic analysis conducted on GBA-PD patients' cells and a combined neurotoxic mouse model (MPTP+CBE) brain revealed modifications in gene expression of autophagy regulation. Approaches focused on enhancing GCase activity and autophagy exhibit potential in developing neuroprotective agents.

Received: 13.05.2023

Accepted: 26.11.2023

Published online: 20.01.2024

Keywords: Parkinson's disease; glucocerebrosidase; CBE; RNA profiling; MPTP; mouse model.

To cite this article:

Pchelina SN, Bezrukova AI, Rudenok MM, Zhuravlev AS, Rybolovlev IN, Baydakova GV, Nesterov MS, Abaimov DA, Usenko TS, Zakharova EYu, Emelyanov AK, Shadrina MI, Slominsky PA. Genomic studies of neurodegeneration in parkinson's disease associated with glucocerebrosidase dysfunction on cell and animals models. *Genes & Cells*. 2023;18(4):528–531. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc623253>

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. The study was conducted within the context of the state assignment on “Investigating the molecular and cellular components of pathogenesis of socially significant diseases to develop methods for early diagnosis and treatment” (registration No. 121060200125-2).

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

1. Kopytova AE, Usenko TS, Baydakova GV, et al. Could Blood Hexosylsphingosine Be a Marker for Parkinson's Disease Linked with GBA1 Mutations? *Movement Disorders*. 2022;37(8):1779–1781. doi: 10.1002/mds.29132
2. Menozzi E, Schapira AHV. Exploring the Genotype-Phenotype Correlation in GBA-Parkinson Disease: Clinical Aspects, Biomarkers, and Potential Modifiers. *Frontiers in Neurology*. 2021;12:694764. doi: 10.3389/fneur.2021.694764
3. Yun SP, Kim D, Kim S, et al. α -Synuclein accumulation and GBA deficiency due to L444P GBA mutation contributes to MPTP-induced parkinsonism. *Molecular Neurodegeneration*. 2018;13(1):1. doi: 10.1186/s13024-017-0233-5
4. Mus L, Siani F, Giuliano C, et al. Development and biochemical characterization of a mouse model of Parkinson's disease bearing defective glucocerebrosidase activity. *Neurobiology of Disease*. 2019;124:289–296. doi: 10.1016/j.nbd.2018.12.001
5. Usenko T, Bezrukova A, Basharova K, et al. Comparative Transcriptome Analysis in Monocyte-Derived Macrophages of Asymptomatic GBA Mutation Carriers and Patients with GBA-Associated Parkinson's Disease. *Genes*. 2021;12(10):1545. doi: 10.3390/genes12101545

AUTHORS' CONTACT INFO

* S.N. Pchelina; address: 1 Orlova Roscha, 188350 Gatchina, Russian Federation; e-mail: sopchelina@hotmail.com