

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2025.07.109-111>

Первичная культура макрофагов периферической крови как модель для скрининга таргетных препаратов для терапии болезни Паркинсона

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

- 1 – ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» 188350, Ленинградская обл., г. Гатчина, Россия, микрорайон Орлова Роща, д.1
- 2 – ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Минздрава России 197101, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Льва Толстого, д. 6/8
- 3 – ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова 115522, г. Москва, Россия, ул. Москворечье, д. 1

Наиболее перспективной для разработки таргетной терапии формой болезни Паркинсона (БП), является БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA1* (GBA1-БП). Ген *GBA1* кодирует лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase). Дисфункция фермента GCase приводит к накоплению субстратов глюкозилцерамида (GlcCer) и его производного глюкозилсфингозина (GlcSph). Ранее нами была показана перспективность использования первичной культуры макрофагов периферической крови для поиска таргетных мишеней и препаратов, направленных на восстановление активности GCase, при GBA1-БП. Так, на основе анализа транскриптома первичной культуры макрофагов периферической крови было показано нарушение пути PI3K/AKT/mTOR и индукция путей, связанных с воспалением, у пациентов с GBA1-БП. В данном исследовании оценен потенциал сочетанного действия ингибиторов mTOR, ключевого регулятора аутофагии, и STING, ключевого регулятора иммунного ответа, как перспективной терапевтической стратегии для GBA1-БП, направленной на снижение уровня субстратов GCase в первичной культуре макрофагов периферической крови.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, активность ферментов, лизосфинголипиды, первичная культура макрофагов.

Для цитирования: Усенко Т.С., Безрукова А.И., Башарова К.С., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н. Первичная культура макрофагов периферической крови как модель для скрининга таргетных препаратов для терапии болезни Паркинсона. *Медицинская генетика* 2025; 24(7): 109-111.

Автор для корреспонденции: Усенко Т.С.; e-mail: usenko_ts@pnpi.nrcki.ru

Финансирование. Исследование поддержано грантом РНФ №24-25-00212.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.07.2025

Принята: 30.07.2025

Primary culture of peripheral blood macrophages as a model for screening targeted therapeutics for Parkinson's disease

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

- 1 – Petersburg Nuclear Physics Institute named after B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» 1, Mkr. Orlova Rostcha, Gatchina, Leningradskaya Oblast, 188300, Russian Federation
- 2 – Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University 6/8, L.Tolstogo st., St. Petersburg, 197101, Russian Federation
- 3 – Research Centre for Medical Genetics 1, Moskvorechie st., Moscow, 115522, Russian Federation

Parkinson's disease (PD) associated with mutations in the *GBA1* gene (GBA1-PD) represents a promising target for the development of disease-modifying therapies. The *GBA1* gene encodes the lysosomal enzyme glucocerebrosidase (GCase), whose dysfunction leads to the accumulation of its substrates, glucosylceramide (GlcCer) and glucosylsphingosine (GlcSph). Previously, we demonstrated the feasibility of using primary cultures of peripheral blood macrophages as a model for identifying therapeutic targets and compounds aimed at restoring GCase activity. Transcriptomic analysis of these macrophages revealed dysregulation of the PI3K/AKT/mTOR pathway and inflammatory processes in GBA1-PD patients. In this study, we evaluated the potential of mTOR inhibitors, key regulators of autophagy, and STING inhibitors, central mediators of the immune response, as promising therapeutic strategies for reducing GCase substrate accumulation in primary peripheral blood macrophage cultures.

Keywords: Parkinson's disease, enzyme activity, lysosphingolipids, primary macrophage culture.

For citation: Usenko T.S., Bezrukova A.I., Basharova K.S., Baydakova G.V., Zakharova E.Yu., Pchelina S.N. Primary culture of peripheral blood macrophages as a model for screening targeted therapeutics for Parkinson's disease. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2025; 24(7): 109-111. (In Russian).

Corresponding author: Usenko T.S.; **e-mail:** usenko_ts@pnpi.nrcki.ru

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-25-00212.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.07.2025

Accepted: 30.07.2025

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) — это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции и накоплением агрегатов белка α -синуклеина. Одной из наиболее распространенных генетических форм БП является болезнь, ассоциированная с мутациями в гене *GBA1* (GBA1-БП). Ген *GBA1* кодирует лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), дефицит которого приводит к накоплению глюкозилцерамида (GlcCer) и его производного глюкозилфингозина (GlcSph). Ранее нами было показано, что первичная культура макрофагов периферической крови может быть использована для скрининга фармакологических шаперонов GCase для пациентов с GBA1-БП. Также в данной культуре, но не в периферической крови, был выявлен повышенный уровень субстратов GCase по сравнению с бессимптомными носителями мутаций в гене *GBA1* (RU 2750357 C1). Это сопровождается гиперактивацией пути mTOR и воспалительных сигнальных каскадов, что было показано нами в ходе анализа транскриптома первичной культуры макрофагов пациентов с GBA1-БП и бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA1* [1]. mTOR является ключевым регулятором аутофагии — процесса деградации белков, включая α -синуклеин [2]. Недавние исследования подтверждают корреляцию между уровнем субстрата GCase и активацией mTOR, а также выявляют дозозависимое усиление воспаления, опосредованное активацией STING, ключевого регулятора врожденного иммунного ответа [3,4]. Кроме того, нами продемонстрировано, что у пациентов с GBA1-БП наблюдается повышенная секреция провоспалительных цитокинов в плазме крови [5]. Полученные данные позволяют предположить, что накопление субстратов GCase запускает активацию mTOR и воспалительных процессов, играя ключевую роль в патогенезе БП. В данном исследовании оценен потенциал комбинированного ингибирования mTOR (регулятор аутофагии) и STING (регулятор воспаления) как перспективной терапевтической стратегии для GBA1-БП, направленной на снижение уровня субстратов GCase.

Цель исследования: оценить влияние ингибирования процессов воспаления путем подавления активности STING ингибитором H-151 и процессов аутофагии путем подавления активности mTOR ингибитором Торин 1 на активность GCase и концентрацию гексазилсфингозина (HexSph) в первичной культуре макрофагов периферической крови человека.

Методы

В исследование были включены 10 здоровых добровольцев (3 мужчин, 7 женщин, средний возраст $27,3 \pm 9$ лет), наблюдаемых в консультативно-диагностическом центре Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета. Мононуклеарные клетки были выделены из 18 мл цельной крови методом градиентного центрифугирования и культивированы в среде RPMI с добавлением M-CSF. После 4 дней инкубации в первичную культуру макрофагов были добавлены ингибиторы STING (H-151, $1 \mu\text{M}$) и mTOR (Торин 1, 100 nM) на 24 часа. Эффективность ингибиторов оценивали методом вестерн-блоттинга по уровням белков STING, TBK1, mTOR и RPS6, нормализуя на белок GAPDH. Активность GCase и концентрацию HexSph (смесь GlcSph и галактозилсфингозина (GalSph)) измеряли по модифицированному протоколу. Статистическая обработка проводилась с использованием R (версия 4.3.2), для оценки различий применяли тест Вилкоксона ($p < 0,05$).

Результаты

Торин 1 в концентрации 100 nM не влиял на активность GCase и концентрацию HexSph, также как и H-151 в концентрации $1,0 \text{ mM}$ в первичной культуре макрофагов периферической крови человека. Сочетанное действие 100 nM Торин 1 и $1,0 \text{ mM}$ H-151 также не приводило к статистически значимому изменению активности GCase, однако приводило к статистически значимому снижению концентрации субстрата GCase, HexSph ($p < 0,05$).

Заключение

Сочетанное воздействие ингибиторов STING и mTOR приводит к снижению HexSph, лизосфинголипида, который на данный момент рассматривается как один из триггеров агрегации α -синуклеина [6]. Полученные результаты открывают новые перспективы для разработки терапевтических стратегий для пациентов с GBA1-БП. Однако для более точной оценки эффективности и безопасности предложенного подхода необходимы дальнейшие исследования на пациент-специфичных клетках.

Литература/References

1. 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 (Basel)* **2021**; 12(10):1545. doi:10.3390/genes12101545.
2. Sarkar S. Regulation of Autophagy by MTOR-Dependent and MTOR-Independent Pathways: Autophagy Dysfunction in Neurodegenerative Diseases and Therapeutic Application of Autophagy Enhancers. *Biochem Soc Trans* **2013**; 41(5):1103-30. doi:10.1042/BST20130134.
3. Srikanth M.P., Jones J.W., Kane M., R. et al. Elevated Glucosylsphingosine in Gaucher Disease Induced Pluripotent Stem Cell Neurons Deregulates Lysosomal Compartment through Mammalian Target of Rapamycin Complex 1. *Stem Cells Transl Med* **2021**; 10(7):1081-1094. doi:10.1002/sctm.20-0386.
4. Wang R., Sun H., Cao Y., et al. Glucosylceramide Accumulation in Microglia Triggers STING-Dependent Neuroinflammation and Neurodegeneration in Mice. *Sci Signal* **2024**; 17(829):eadk8249. doi:10.1126/scisignal.adk8249.
5. Miliukhina I. V., Usenko T.S., Senkevich K.A., et al. Plasma Cytokines Profile in Patients with Parkinson's Disease Associated with Mutations in GBA Gene. *Bull Exp Biol Med* **2020**; 168(4): 423-426. doi:10.1007/s10517-020-04723-x.