



© CC BY Коллектив авторов, 2022
УДК [616.858-02 :577.088] : 575.117.2
DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45

А. И. Безрукова^{1*}, К. С. Башарова¹, И. В. Милюхина^{2,3}, А. А. Тимофеева²,
К. А. Сенкевич², С. Н. Пчелина^{1,2}, Т. С. Усенко^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра „Курчатовский институт“», г. Гатчина, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт мозга человека имени Н. П. Бехтерева» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

СНИЖЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ НЕЙРОГЕНЕЗА КАК БИОМАРКЕР БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *GBA*: ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИЗА ДАННЫХ ТРАНСКРИПТОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Поступила в редакцию 04.03.2022 г.; принята к печати 27.04.2022 г.

Резюме

Цель исследования — проведение валидации результатов, полученных нами ранее в ходе анализа транскриптома первичной культуры макрофагов периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене лизосомного фермента глюкоцереброзидазы *GBA* (*GBA*-БП), в котором была выявлена сниженная экспрессия генов нейрогенеза *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) у пациентов с *GBA*-БП.

Методы и материалы. В исследование включены 14 пациентов с *GBA*-БП, 15 *GBA*-носителей, 30 пациентов с болезнью Паркинсона (БП) и 44 индивидуума контрольной группы. Оценка относительного уровня мРНК генов нейрогенеза *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* в мононуклеарах периферической крови проводилась методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием флуоресцентных зондов TaqMan или флуоресцентного ДНК-красителя EvaGreen.

Результаты. Относительный уровень мРНК гена *JUNB* в мононуклеарах периферической крови был понижен в группе пациентов с *GBA*-БП по сравнению с контрольной группой ($p = 0,034$). Также было выявлено, что относительный уровень мРНК гена *NR4A2* в мононуклеарах периферической крови был повышен среди *GBA*-носителей, по сравнению с пациентами с *GBA*-БП, пациентами с БП и контролем ($p = 0,0029$, $p = 0,00045$, $p = 0,0024$ соответственно). Статистически значимых различий в уровне мРНК гена *EGR1* между всеми исследуемыми группами выявлено не было ($p > 0,05$).

Заключение. *GBA*-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *JUNB* по сравнению с контролем и гена *NR4A2* относительно *GBA*-носителей.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, экспрессия генов, нейрогенез, мононуклеары периферической крови

Для цитирования: Безрукова А. И., Башарова К. С., Милюхина И. В., Тимофеева А. А., Сенкевич К. А., Пчелина С. Н., Усенко Т. С. Сниженная экспрессия генов нейрогенеза как биомаркер болезни Паркинсона у носителей мутаций в гене *GBA*: валидация анализа данных транскриптомного исследования. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2022;29(1):37–45. DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45.

* **Автор для связи:** Анастасия Игоревна Безрукова, НИЦ Курчатовский институт, 123182, Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1. E-mail: bz.nastya96@gmail.com.

Anastasia I. Bezrukova^{1*}, Katerina S. Basharova¹, Irina V. Miliukhina^{2,3},
Alla A. Timofeeva², Konstantin A. Senkevich², Sofya N. Pchelina^{1,2}, Tatiana S. Usenko^{1,2}

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

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

³ N. P. Bekhtereva Institute of the Human Brain, Saint Petersburg, Russia

REDUCED EXPRESSION OF NEUROGENESIS GENES AS BIOMARKERS OF PARKINSON'S DISEASE ASSOCIATED WITH MUTATIONS IN THE *GBA* GENE: VALIDATION OF THE DATA ANALYSIS OF TRANSCRIPTOME STUDY

Received 04.03.2022; accepted 27.04.2022

Summary

The **objective** of the study was to validate our previous results obtained during the transcriptome analysis of the primary culture of peripheral blood macrophages in patients with Parkinson's disease associated with mutations in the *GBA* gene (GBA-PD) in that reduced expression of the neurogenesis genes *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) in patients with GBA-PD.

Methods and materials. The study included 14 patients with GBA-PD, 15 GBA-carriers, 30 patients with Parkinson's disease (PD) and 44 persons of the control group. The assessment of relative mRNA level of neurogenesis genes *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* in peripheral blood mononuclear cells were carried out by real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) using TaqMan fluorescent probes or EvaGreen fluorescent DNA dye.

Results. Relative mRNA level of the *JUNB* gene in peripheral blood mononuclears was decreased in the group of patients with GBA-PD compared to controls ($p = 0.034$). We found out that the relative mRNA level of the *NR4A2* gene in peripheral blood mononuclears was increased in the group of patients with GBA-carriers compared to GBA-PD, patients with PD and controls ($p = 0.0029$, $p = 0.00045$, $p = 0.0024$ respectively). There were no statistically significant differences in the mRNA level of the *EGR1* gene between all the study groups ($p > 0.05$).

Conclusion. GBA-PD is characterized by reduced expression of the *JUNB* gene compared to control and of the *NR4A2* gene compared to GBA-carriers.

Keywords: Parkinson's disease, gene expression, neurogenesis, peripheral blood mononuclear cells

For citation: Bezrukova A. I., Basharova K. S., Miliukhina I. V., Timofeeva A. A., Senkevich K. A., Pchelina S. N., Usenko T. S. Reduced expression of neurogenesis genes as biomarkers of Parkinson's disease associated with mutations in the *GBA* gene: validation of the data analysis of transcriptome study. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2022;29(1):37–45. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2022-29-1-37-45.

* **Corresponding author:** Anastasia I. Bezrukova, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, 123182, Russia. E-mail: bz.nastya96@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное мультифакторное нейродегенеративное заболевание, в основе патогенеза которого лежит гибель дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга [1]. На сегодняшний день выявлено более 90 локусов, которые ассоциированы с риском БП [2]. Мутации в гене *GBA*, кодирующем лизосомный фермент β -глюкоцереброзидаза (GCase), являются фактором высокого риска БП с частотой встречаемости среди всех случаев БП от 5 до 20 % в зависимости от популяции [3]. В гомозиготном и гетерозиготном состоянии в компаунде мутации в гене *GBA* приводят к развитию самой распространенной лизосомной болезни накопления (ЛБН), болезни Гоше (БГ), за счет снижения активности лизосомного фермента GCase, и, как следствие, к накоплению его субстратов в лизосоме и последующей лизосомной дисфункции. БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA* (GBA-БП), является самой распространенной формой БП с известной этиологией. Но, несмотря на высокую частоту мутаций в гене *GBA* среди пациентов с БП, мутации в данном гене обладают низкой пенетрантностью. БП развивается только у 10 %

носителей мутаций в гене *GBA* в возрасте 60 лет, у 16 % в возрасте 70 лет и у 19 % в возрасте 80 лет [4]. Молекулярные механизмы GBA-БП остаются неизвестными. Актуальность поиска триггера развития данной формы заболевания обусловлена сложностью проведения медико-генетического консультирования носителей мутаций. Особенно важна ранняя диагностика развития БП у носителей мутаций в гене *GBA* в связи с разработкой таргетной терапии GBA-БП, которая в настоящее время проходит стадию клинических исследований [5].

Ранее мы впервые провели анализ транскриптома первичной культуры макрофагов у пациентов с GBA-БП и бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (GBA-носители), а также в контроле с целью выявления потенциальных биомаркеров БП в группе носителей мутаций в гене *GBA* [6]. В результате данного анализа нами было выявлено снижение дифференциальной экспрессии генов, вовлеченных в поддержание функций нейронов, в группе пациентов с GBA-БП, по сравнению с контрольной группой.

Цель исследования заключалась в проведении валидации результатов, полученных нами ранее в ходе анализа транскриптома первичной культуры

Таблица 1

Клинические и демографические характеристики исследуемых групп

Table 1

Clinical and demographic characteristics of study groups

Группа	Мутации в гене <i>GBA</i>	(Средний возраст ± стандартное отклонение), лет	(Средний возраст начала ± стандартное отклонение), лет	Пол (мужчины:женщины)
GBA-БП (N = 14)	10 L444P/N 5 N370S/N	(60,1 ± 10,5)	(54,8 ± 10,2)	5:9
GBA-носители (N = 15)	5 L444P/N 6 N370S/N 1 R159W 1 N227S 1 M124T 1 L327P	(49,1 ± 7,5)	—	5:10
БП (N = 30)	—	(59,0 ± 10,0)	(54,2 ± 11,4)	18:12
Контроль (N = 44)	—	(62,1 ± 8,2)	—	16:28

макрофагов периферической крови пациентов с GBA-БП, GBA-носителей и в контроле, а именно — в оценке уровня экспрессии генов транскрипционных факторов, принимающих участие в нейрогенезе, *EGR1* (early growth response protein 1), *NR4A2* (nuclear receptor 4A2), *JUNB* (transcription factor jun-B) — в группах пациентов с GBA-БП, пациентов с БП, в группе GBA-носителей и контроле.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Характеристики групп, включенных в исследование. В исследование вошли 14 пациентов с GBA-БП, 15 GBA-носителей, 30 пациентов с БП и 44 индивидуума контрольной группы. Клинические и демографические характеристики групп, включенных в исследование, приведены в табл. 1. Все пациенты с БП набраны на базе клиники ФГБНУ «Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой» Российской академии наук (ИМЧ РАН). Пациенты с GBA-БП ранее были выявлены путем скрининга группы пациентов с БП на две мажорные мутации в гене *GBA* (L444P и N370S) [7]. Группа GBA-носителей составлена при обследовании родственников первого родства пациентов с БП на базе Медико-генетического научного центра (Москва). Мутации в гене *GBA* в данной выборке определяли методом прямого секвенирования. 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 и GBA-носители обследовались у невролога.

Оценка уровня экспрессии генов нейрогенеза в мононуклеарах периферической крови. У каждого индивидуума был взят образец свежей венозной периферической крови, из которой была получена мононуклеарная фракция методом градиентного

центрифугирования в градиенте плотности раствора Фиколл (Ficoll-Paque PLUS, *GE Healthcare*) при 400 g в течение 40 мин по методике, описанной ранее [8], и дважды отмыта PBS («Биолот», Санкт-Петербург) с последующим центрифугированием при 3000 об./мин в течение 10 мин. Тотальная РНК была выделена из мононуклеаров периферической крови с использованием 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). Уровень экспрессии генов нейрогенеза (*EGR1*, *NR4A2*, *JUNB*) был оценен методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе CFX96 (*BioRad*, США) с использованием зондов TaqMan для генов *JUNB*, *NR4A2* и флуоресцентного ДНК-красителя EvaGreen для гена *EGR1*. В качестве референсных генов были использованы конститутивно экспрессирующиеся в клетках ген *RPLP0*, а также ген *ACTB*. Последовательность праймеров и зондов, разработанных с помощью программы «Primer3 v. 0.4.0» (<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>), приведена в табл. 2. Относительный уровень мРНК для каждого гена рассчитывали методом сравнения пороговых уровней амплификации $\Delta\Delta Ct$ [9].

Статистическую обработку данных проводили с использованием встроенных пакетов «R» (версия 4.1.2). Для оценки различий между группами использовали тест Манна — Уитни. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми. Клинические характеристики представлены в виде (среднее значение ± стандартное отклонение). Экспериментальные данные представлены в виде медиана (min — max).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования нами была оценена относительная экспрессия генов нейрогенеза (*EGR1*,

Таблица 2

Последовательность праймеров и зондов для генов, включенных в исследование

Table 2

Sequence of primers and probes for genes included in the study

Ген	Нуклеотидная последовательность праймеров		
	прямой	обратный	зонд
<i>JUNB</i>	5'-CCCTTCTACCAC GACGACTC-3'	5'-AGGCTCGGTTTCAGG AGTTT-3'	5' (FAM)-CCTGGTGGCCTC TCTCTACACG-3' (BHQ1)
<i>NR4A2</i>	5'-ACCAAGACCTG CTTTTTGAATC-3'	5'-CCCATTGCAAAAAGAT GAGTTTA-3'	5' (FAM)-AGCATACAGGTC CAACCCAGTG-3' (BHQ1)
<i>EGR1</i>	5'-CAGCACCTTCA ACCCTCAG-3'	5'-CAGCACCTTCTCGTT GTTCA-3'	—
<i>RPLP0</i>	5'-GATCAGGGACA TGTTGCTGG-3'	5'-GACTTCACATGGGG CAATGG-3'	5' (ROX)-CAATAAGGTGCC AGCTGCTGC-3' (BHQ2)
<i>ACTB</i>	5'-CGTGCTGCTGA CCGAGG-3'	5'-ACAGCCTGGATAGCA ACGTACA-3'	5' (HEX)-CCAACCGCGAGA AGATGACCCAGAT-3' (BHQ2)

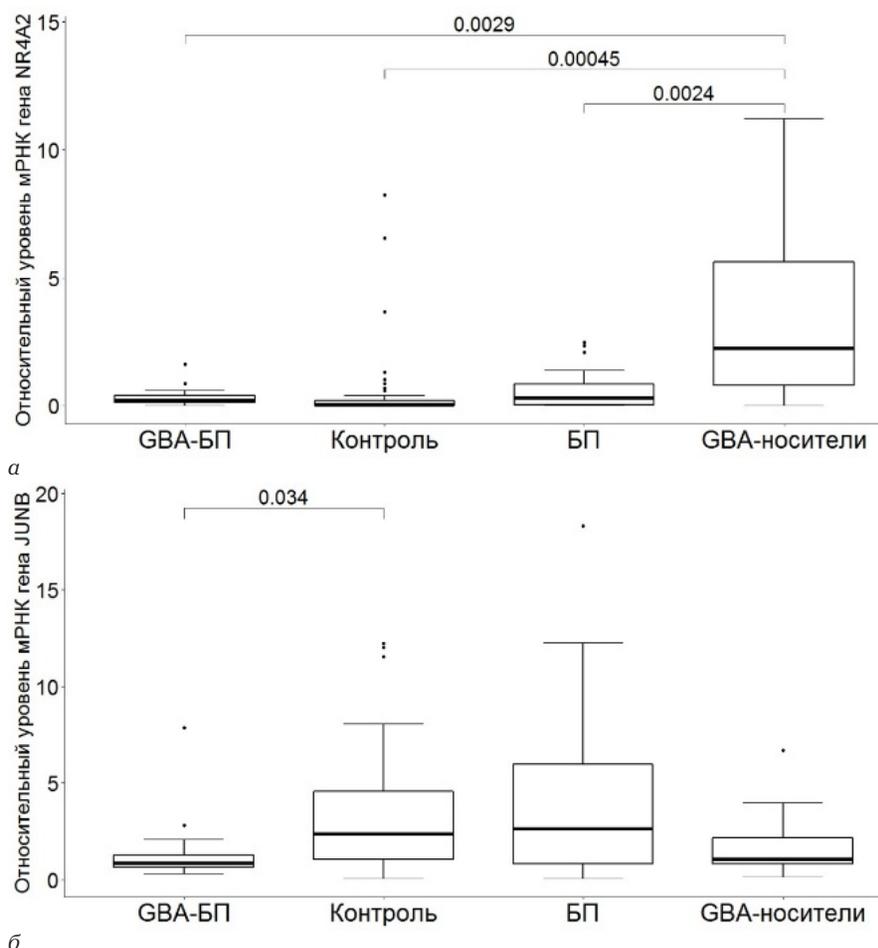
NR4A2, *JUNB*) в мононуклеарах периферической крови в группе пациентов с ГВА-БП, ГВА-носителей, пациентов с БП и в контроле. Экспрессия данных генов была снижена по результатам ранее проведенного нами анализа транскриптома первичной культуры макрофагов в группе пациентов с ГВА-БП по сравнению с контролем.

В нашем исследовании уровень экспрессии гена *EGR1* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 1,87 (0,18–4,92), ГВА-носителей – 0,65 (0,05–15,74), пациентов с БП – 1,06 (0,16–12,02) и в контрольной группе – 0,61 (0,04–10,79). Статистически значимых различий в экспрессии гена *EGR1* между всеми исследуемыми группами выявлено не было ($p > 0,05$). Уровень экспрессии гена *NR4A2* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 0,22 (0,01–1,61), ГВА-носителей – 2,25 (0,01–11,22), пациентов с БП – 0,30 (0,01–2,49) и в контрольной группе – 0,05 (0,01–8,23). Интересно отметить, что относительный уровень экспрессии гена *NR4A2* был повышен в группе ГВА-носителей, по сравнению с группой пациентов с ГВА-БП, группой пациентов с БП и контрольной группой ($p = 0,0029$, $p = 0,00045$, $p = 0,0024$ соответственно) (рисунок, а). В то же время статистически значимых различий в уровне мРНК гена *NR4A2* между пациентами с ГВА-БП и пациентами с БП и контролем, а также между пациентами с БП и контролем выявлено не было ($p > 0,05$). Также нами было выявлено, что уровень экспрессии гена *JUNB* в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ГВА-БП составил 0,85 (0,28–7,86), ГВА-носителей – 1,04 (0,11–6,68), пациентов с БП – 2,64 (0,06–18,31) и в контрольной группе – 2,36 (0,04–12,24) (рисунок, б). Уровень экспрессии гена *JUNB* был снижен в группе пациентов с ГВА-БП по сравнению с контрольной группой ($p = 0,034$). В то же время статистически значимых различий

в относительном уровне мРНК гена *JUNB* между ГВА-носителями и пациентами с БП, ГВА-БП и контролем, а также между пациентами с ГВА-БП и пациентами с БП выявлено не было ($p > 0,05$). Также не было выявлено статистически значимых различий в уровне экспрессии гена *JUNB* в группе пациентов с БП по сравнению с контролем.

Гены *EGR1*, *NR4A2*, *JUNB* кодируют регуляторы транскрипции, участвующие в поддержании функции дофаминергических нейронов, дифференцировке нейронов и нейрогенезе. Так, ген *EGR1* кодирует белок EGR1, представляющий собой транскрипционный фактор, участвующий в регуляции ряда клеточных функций, включая пролиферацию клеток, апоптоз, рост клеток и передачу сигнала и воспалении [10]. Ранее мутации в этом гене были ассоциированы с заболеваниями, связанными с дисфункцией дофаминергической системы (БП, шизофрения) [11]. На мышинной модели БП, индуцированной 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МРТП), было показано повышение уровня EGR1, который, в свою очередь, был ассоциирован с нейровоспалением и гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции [12]. В то же время мы показали тенденцию к увеличению уровня экспрессии гена *EGR1* в группе пациентов с ГВА-БП и БП по сравнению с контролем. Однако данные результаты не были статистически значимыми.

Ген *NR4A2* кодирует белок NR4A2, также известный как Nurr1, который, в свою очередь, является членом надсемейства генов орфанных ядерных рецепторов и фактором транскрипции. В ядрах клеток центральной нервной системы он широко экспрессируется и необходим для развития, функционирования и нейротрансмиссии, выживания, дифференцировки и поддержания дофаминергических нейронов [13, 14]. NR4A2 также влияет на экспрессию нескольких ключевых



Относительный уровень мРНК в моноцитах периферической крови:
 а – гена *NR4A2*; б – гена *JUNB*

Relative mRNA level in peripheral blood monocytes: а – *NR4A2* gene; б – *JUNB* gene

белков дофаминергических нейронов, включая тирозингидроксилазу, переносчик дофамина, а также на переносчик везикулярных моноаминов (*SCL18A2/VMAT*) [15]. Предыдущие исследования показали связь между вариантами гена *NR4A2* и риском и ранним возрастом начала БП [16–18]. Также было показано, что пациенты с БП характеризуются сниженной экспрессией гена *NR4A2* [19]. В нашем исследовании мы также показали, что пациенты с GBA-БП характеризовались пониженной экспрессией гена *NR4A2*, по сравнению с неврологически здоровыми бессимптомными носителями мутаций в гене *GBA*.

Ген *JUNB* кодирует белок JUNB, принадлежащий к семейству транскрипционных факторов активатора белка-1 (AP-1). AP-1 регулирует экспрессию генов в ответ на различные факторы, включая секрецию цитокинов, факторы роста, стресс, бактериальные и вирусные инфекции, пролиферацию, а также апоптоз [20]. JUNB экспрессируется в головном мозге в различных популяциях нейронов и необходим для дифференцировки нейронов [21]. Ранее было показано, что гиперэкспрессия JUNB может способствовать защите от гибели клеток нейронов [22]. Также в предыдущих исследованиях была показана сни-

женная экспрессия гена *JUNB* в моноцитах пациентов с БП в сравнении с контрольной группой [23]. Однако в нашем исследовании различий в уровне мРНК гена *JUNB* в группе пациентов с БП и контролем выявлено не было. Но мы показали снижение уровня экспрессии гена *JUNB* в группе пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем, предполагая роль *JUNB* в патогенезе БП в группе носителей мутаций в гене *GBA*.

Таким образом, результаты анализа транскриптома первичной культуры макрофагов не были подтверждены в отношении генов *EGR1* и *NR4A2* в группе пациентов с GBA-БП, по сравнению с контролем, в ходе валидации результатов на популяции мононуклеаров периферической крови, что, возможно, связано с проведением анализа на другой популяции клеток, которая не подвергалась культивированию в присутствии колонии стимулирующего фактора роста макрофагов, и также со статистически значимым, но относительно невысоким значением кратности изменения экспрессии между группами и малочисленностью выборок исследуемых групп, включенных в анализ транскриптома. В ходе текущего исследования была показана активация экспрессии гена *NR4A2* в группе GBA-носителей, по сравнению как с пациентами

с GBA-БП, так и БП и контролем, что может свидетельствовать о вовлеченности данного гена в протективный механизм, препятствующий запуску патологических механизмов БП у носителей мутаций в гене *GBA*.

В то же время нами были подтверждены результаты анализа транскриптома первичной культуры макрофагов периферической крови в отношении гена *JUNB* в группе пациентов с GBA-БП по сравнению с контролем. Как было сказано выше, молекулярные механизмы GBA-БП остаются неизвестными. Однако результаты, опубликованные ранее [24], позволили выдвинуть несколько гипотез о возможных путях развития GBA-БП. Так, нами было показано, что пациенты с GBA-БП характеризуются сниженной активностью фермента GCase в крови с одновременным увеличением уровня соответствующего субстрата лизосфинголипида гексозилсфингозина (HexSph) (смесь глюкозилсфингозина (GlcSph) и галактозилсфингозина (GalSph)). В аналогичном исследовании также было продемонстрировано снижение активности GCase в крови у пациентов с GBA-БП по сравнению с GBA-носителями и пациентами с БП [25]. Также ранее нами было показано увеличение концентрации олигомерного белка альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с GBA-БП, по сравнению как с пациентами с БП, так и с контролем [26]. Интересно отметить, что *JUNB* и *NR4A2* относятся к классу генов, называемых генами немедленного раннего развития, которые скоординированно активируются в ответ на нейрональные повреждения [27]. Последние данные показали, что гиперэкспрессия гена альфа-синуклеина (*SNCA*) может влиять на изменение уровня экспрессии генов немедленного раннего развития [28]. Ранее нами была показана повышенная экспрессия гена *SNCA* у пациентов с GBA-БП, по сравнению с пациентами с БП и контролем, в CD45+ -клетках крови [29]. Изменения уровней экспрессии генов немедленного раннего развития, в частности, *JUNB* и *NR4A2*, у пациентов с GBA-БП могут быть связаны, в том числе, и с активацией экспрессии гена *SNCA*. Таким образом, можно предположить о существовании дополнительных триггеров, которые приводят к запуску патологического механизма БП у GBA-носителей. Возможно, сниженная экспрессия генов, продукты которых контролируют нейрогенез, может способствовать нейродегенерации дофаминергических нейронов у носителей мутаций в гене *GBA*.

Резюмируя полученные данные, можем предположить, что снижение экспрессии гена *JUNB* и *NR4A2* может играть роль в патогенезе GBA-БП. Для подтверждения роли сниженной экспрессии данных генов нейрогенеза в развитии БП у носителей мутаций в гене *GBA* необходимы исследования на расширенных группах носителей мутаций с наличием диагноза БП и его отсутствием.

ВЫВОДЫ

1. GBA-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *JUNB* по сравнению с контролем.
2. GBA-БП характеризуется пониженной экспрессией гена *NR4A2* относительно GBA-носителей.

Финансирование

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).

Работа в части анализа данных и неврологического осмотра группы пациентов, проходивших лечение в Институте мозга человека им. Н. П. Бехтерева РАН, осуществлялась в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации (регистрационный номер № 122041500044-1).

Financing

The work was carried out within the state assignment «Study of the molecular and cellular components of the pathogenesis of socially significant diseases for the development of methods for early diagnosis and treatment» (registration number № 121060200125-2).

The work in terms of data analysis and neurological examination of a group of patients treated at the Institute of the Human Brain RAS was carried out within the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (registration number № 122041500044-1).

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

ЛИТЕРАТУРА

1. Balestrino R., Schapira A. H. V. Parkinson disease // *European Journal of Neurology*. – 2020. – Vol. 27, № 1. – P. 27–42. Doi: 10.1111/ene.14108.
2. Blauwendraat C., Nalls M. A., Singleton A. B. The genetic architecture of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. – 2020. – Vol. 19, № 2. – P. 170–178. Doi: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X.
3. Sidransky E., Lopez G. The link between the GBA gene and parkinsonism // *The Lancet Neurology*. – 2012. – Vol. 11, № 11. – P. 986–998. 4. Doi: 10.1016/S1474-4422(12)70190-4.
4. Balestrino R., Tunesi S., Tesesi S. et al. Penetrance of Glucocerebrosidase (GBA) Mutations in Parkinson's Disease:

A Kin Cohort Study // *Journal of Movement Disorder*. – 2020. – Vol. 35, № 11. – P. 2111–2114. Doi: 10.1002/mds.28200.

5. Senkevich K., Rudakou U., Gan-Or Z. New therapeutic approaches to Parkinson's disease targeting GBA, LRRK2 and Parkin // *Neuropharmacology*. – 2022. – Vol. 202. – P. 108822. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108822.

6. 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, № 10. – P. 1545. Doi: 10.3390/genes12101545.

7. Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C. et al. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set // *Neurobiology of Aging*. – 2018. – Vol. 71. – P. 267.e7–267.e10. Doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027.

8. 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 // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementary*. – 1968. – Vol. 97. – P. 77–89.

9. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method // *Methods*. – 2001. – Vol. 25, № 4. – P. 402–408. Doi: 10.1006/meth.2001.1262.

10. Wang B., Guo H., Yu H. et al. The Role of the Transcription Factor EGR1 in Cancer // *Frontiers in Oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 642547. Doi: 10.3389/fonc.2021.642547.

11. Ляшенко Е. А., Полуэктов М. Г., Левин О. С. Расстройство поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз // *Неврология и психиатрия. Спецвып.: Сон и его расстройства* – 2. – 2014. – Т. 22. – С. 58–63.

12. Yu Q., Huang Q., Du X. et al. Early activation of Egr-1 promotes neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in an experimental model of Parkinson's disease // *Experimental Neurology*. – 2018. – Vol. 302. – P. 145–154. Doi: 10.1016/j.expneurol.2018.01.009.

13. Saucedo-Cardenas O., Quintana-Hau J. D., Le W. D. et al. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1998. – Vol. 95, № 7. – P. 4013–4018. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4013.

14. Zetterström R. H., Solomin L., Jansson L. et al. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice // *Science*. – 1997. – Vol. 276, № 5310. – P. 248–250. Doi: 10.1126/science.276.5310.248.

15. Jankovic J., Chen S., Le W. D. The role of Nurr1 in the development of dopaminergic neurons and Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. – 2005. – Vol. 77, № 1–2. – P. 128–138. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.09.001.

16. Liu H., Liu H., Li T. et al. NR4A2 genetic variation and Parkinson's disease: Evidence from a systematic review and meta-analysis // *Neuroscience Letters*. – 2017. – Vol. 650. – P. 25–32. Doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.062.

17. Le W.-D., Xu P., Jankovic J. et al. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease // *Nature Genetics*. – 2003. – Vol. 33, № 1. – P. 85–89. Doi: 10.1038/ng1066.

18. Sleiman P. M. A., Healy D. G., Muqit M. M. K. et al. Characterisation of a novel NR4A2 mutation in Parkinson's disease brain // *Neuroscience Letters*. – 2009. – Vol. 457, № 2. – P. 75–79. Doi: 10.1016/j.neulet.2009.03.021.

19. Ruiz-Sánchez E., Yescas P., Rodríguez-Violante M. et al. Association of polymorphisms and reduced expression levels of the NR4A2 gene with Parkinson's disease in a Mexican population // *Journal of the Neurological Sciences*. – 2017. – Vol. 379. – P. 58–63. Doi: 10.1016/j.jns.2017.05.029.

20. Gazon H., Barbeau B., Mesnard J.-M. et al. Hijacking of the AP-1 Signaling Pathway during Development of ATL // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 2686. Doi: 10.3389/fmicb.2017.02686.

21. Schlingensiepen K. H., Wollnik F., Kunst M. et al. The role of Jun transcription factor expression and phosphorylation in neuronal differentiation, neuronal cell death, and plastic adaptations in vivo // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 1994. – Vol. 14, № 5. – P. 487–505. Doi: 10.1007/BF02088833.

22. Winter C., Weiss C., Martin-Villalba A. et al. JunB and Bcl-2 overexpression results in protection against cell death of nigral neurons following axotomy // *Brain research. Molecular brain research*. – 2002. – Vol. 104, № 2. – P. 194–202. Doi: 10.1016/s0169-328x(02)00378-9.

23. Grozdanov V., Bliederaeuser C., Ruf W. P. et al. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients // *Acta Neuropathologica*. – 2014. – Vol. 128, № 5. – P. 651–663. Doi: 10.1007/s00401-014-1345-4.

24. Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M. et al. Blood lysophingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations // *Journal of Movement Disorder*. – 2018. – Vol. 33, № 8. – P. 1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.

25. Ortega R. A., Torres P. A., Swan M. et al. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease // *Journal of clinical neuroscience*. – 2016. – Vol. 28. – P. 185–186. Doi: 10.1016/j.jocn.2015.12.004.

26. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G. et al. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease // *Neuroscience Letters*. – 2017. – Vol. 636. – P. 70–76. Doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.039.

27. Zukin R., Jover-Mengual T., Yokota H. et al. Molecular and Cellular Mechanisms of Ischemia-Induced Neuronal Death // *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. – 2004. – P. 829–854. Doi: 10.1016/B0-44-306600-0/50049-3.

28. Wassouf Z., Hentrich T., Samer S. et al. Environmental Enrichment Prevents Transcriptional Disturbances Induced by Alpha-Synuclein Overexpression // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2018. – Vol. 12. – P. 112. Doi: 10.3389/fncel.2018.00112.

29. Basharova K., Bezrukova A., Bogdanova D. et al. P.114 Contribution of the SNCA gene and genes involved in autophagy in the pathogenesis of GBA-associated parkinson's disease // *European Neuropsychopharmacology*. – 2021. – Vol. 44. – P. S10–S11. Doi: 10.1016/j.euroneuro.2021.01.021

REFERENCES

- Balestrino R., Schapira A. H. V. Parkinson disease // *European Journal of Neurology*. 2020;27(1):27–42. Doi: 10.1111/ene.14108.
- Blauwendraat C., Nalls M. A., Singleton A. B. The genetic architecture of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. 2020;19(2):170–178. Doi: 10.1016/S1474-4422(19)30287-X.
- Sidransky E., Lopez G.. The link between the GBA gene and parkinsonism // *The Lancet Neurology*. 2012;11(11):986–998. Doi: 10.1016/S1474-4422(12)70190-4.
- Balestrino R., Tunesi S., Tesesi S., Lopiano L., Zecchinelli A. L., Goldwurm S. Penetrance of Glucocerebrosidase (GBA) Mutations in Parkinson's Disease: A Kin Cohort Study // *Journal of Movement Disorder*. 2020;35(11):2111–2114. Doi: 10.1002/mds.28200.
- Senkevich K., Rudakou U., Gan-Or Z. New therapeutic approaches to Parkinson's disease targeting GBA, LRRK2 and Parkin. *Neuropharmacology*. 2022;(202):108822. Doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108822.

6. Usenko T., Bezrukova A., Basharova K., Panteleeva A., Nikolaev M., Kopytova A., Miliukhina I., Emelyanov A., Zakharova E., Pchelina S. 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.
7. Emelyanov A. K., Usenko T. S., Tesson C., Senkevich K. A., Nikolaev M. A., Miliukhina I. V., Kopytova A. E., Timofeeva A. A., Yakimovsky A. F., Lesage S., Brice A., Pchelina S. N. Mutation analysis of Parkinson's disease genes in a Russian data set // *Neurobiology of Aging*. 2018;(71):267.E7-267.E10. Doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.027.
8. 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 // *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation Supplementary*. 1968;(97):77–89.
9. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method // *Methods*. 2001;25(4):402–408. Doi: 10.1006/meth.2001.1262.
10. Wang B., Guo H., Yu H., Chen Y., Xu H., Zhao G. The Role of the Transcription Factor EGR1 in Cancer // *Frontiers in Oncology*. 2021;(11):642547. Doi: 10.3389/fonc.2021.642547.
11. Lyashenko Ye.A., Poluektov M.G., Levin O. S. REM sleep behavior disorder // *Nevrologiya i psikiatriya. Spetsvyv.: Son i ego rasstroystva – 2 = Neurology and psychiatry. Special issue «Sleep and its disorders – 2»*. 2014;22:58–63. (In Russ.).
12. Yu Q., Huang Q., Du X., Xu S., Li M., Ma S. Early activation of Egr-1 promotes neuroinflammation and dopaminergic neurodegeneration in an experimental model of Parkinson's disease // *Experimental Neurology*. 2018;(302):145–154. Doi: 10.1016/j.expneurol.2018.01.009.
13. Saucedo-Cardenas O., Quintana-Hau J. D., Le W. D., Smidt M. P., Cox J. J., De Mayo F., Burbach J. P., Conneely O. M. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(7):4013–4084. Doi: 10.1073/pnas.95.7.4013.
14. Zetterström R. H., Solomin L., Jansson L., Hoffer B. J., Olson L., Perlmann T. Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice // *Science*. 1997;276(5310):248–250. Doi: 10.1126/science.276.5310.248.
15. Jankovic J., Chen S., Le W. D. The role of Nurr1 in the development of dopaminergic neurons and Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. 2005;77(1–2):128–138. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.09.001.
16. Liu H., Liu H., Li T., Cui J., Fu Y., Ren J., Sun X., Jiang P., Yu S., Li C. NR4A2 genetic variation and Parkinson's disease: Evidence from a systematic review and meta-analysis // *Neuroscience Letters*. 2017;(650):25–32. Doi: 10.1016/j.neulet.2017.01.062.
17. Le W-D., Xu P., Jankovic J., Jiang H., Appel S. H., Smith R. G., Vassilatis D. K. Mutations in NR4A2 associated with familial Parkinson disease // *Nature Genetics*. 2003;33(1):85–89. Doi: 10.1038/ng1066.
18. Sleiman P. M. A., Healy D. G., Muqit M. M. K., Yang Y. X., Van Der Brug M., Holton J. L., Revesz T., Quinn N. P., Bhatia K., Diss J. K. J., Lees A. J., Cookson M. R., Latchman D. S., Wood N. W. Characterisation of a novel NR4A2 mutation in Parkinson's disease brain // *Neuroscience Letters*. 2009;457(2):75–79. Doi: 10.1016/j.neulet.2009.03.021.
19. Ruiz-Sánchez E., Yescas P., Rodríguez-Violante M., Martínez-Rodríguez N., Díaz-López J. N., Ochoa A., Valdes-Rojas S. S., Magos-Rodríguez D., Rojas-Castañeda J. C., Cervantes-Arriaga A., Canizales-Quinteros S., Rojas P. Association of polymorphisms and reduced expression levels of the NR4A2 gene with Parkinson's disease in a Mexican population // *Journal of the Neurological Sciences*. 2017;(379):58–63. Doi: 10.1016/j.jns.2017.05.029.
20. Gazon H., Barbeau B., Mesnard J-M., Peloponese J-M. J. Hijacking of the AP-1 Signaling Pathway during Development of ATL // *Frontiers in Microbiology*. 2017;(8):2686. Doi: 10.3389/fmicb.2017.02686.
21. Schlingensiepen K. H., Wollnik F., Kunst M., Schlingensiepen R., Herdegen T., Brysch W. The role of Jun transcription factor expression and phosphorylation in neuronal differentiation, neuronal cell death, and plastic adaptations in vivo // *Cellular and Molecular Neurobiology*. 1994;14(5):487–505. Doi: 10.1007/BF02088833.
22. Winter C., Weiss C., Martin-Villalba A., Zimmermann M., Schenkel J. JunB and Bcl-2 overexpression results in protection against cell death of nigral neurons following axotomy // *Brain research. Molecular brain research*. 2002;104(2):194–202. Doi: 10.1016/s0169-328x(02)00378-9.
23. Grozdanov V., Bliederauser C., Ruf W.P., Roth V., Fundel-Clemens K., Zondler L., Brenner D., Martin-Villalba A., Hengerer B., Kassubek J., Ludolph A. C., Weishaupt J. H., Danzer K. M. Inflammatory dysregulation of blood monocytes in Parkinson's disease patients // *Acta Neuropathologica*. 2014;128(5):651–663. Doi: 10.1007/s00401-014-1345-4.
24. 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 // *Journal of Movement Disorder*. 2018;33(8):1325–1330. Doi: 10.1002/mds.27393.
25. Ortega R. A., Torres P. A., Swan M., Nichols W., Boschung S., Raymond D., Barrett M. J., Johannes B. A., Severt L., Shanker V., Hunt A. L., Bressman S., Pastores G. M., Saunders-Pullman, R. Glucocerebrosidase enzyme activity in GBA mutation Parkinson's disease // *Journal of clinical neuroscience*. 2016;(28):185–186. Doi: 10.1016/j.jocn.2015.12.004.
26. Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G., Andoskin P., Senkevich K., Nikolaev M., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Fedotova E., Abramycheva N., Usenko T., Kulabukhova D., Lavrinova A., Kopytova A., Garaeva L., Nuzhnyi E., Illarioshkin S., Zakharova E. Oligomeric α -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease // *Neuroscience Letters*. 2017;(636):70–76. Doi: 10.1016/j.neulet.2016.10.039.
27. Zukin R., Jover-Mengual T., Yokota H., Calderone A., Simionescu M., Lau C.G. Molecular and Cellular Mechanisms of Ischemia-Induced Neuronal Death // *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. 2004:829–854. Doi: 10.1016/B0-44-306600-0/50049-3.
28. Wassouf Z., Hentrich T., Samer S., Rotermund C., Kahle P.J., Ehrlich I., Riess O., Casadei N., Schulze-Hentrich J.M. Environmental Enrichment Prevents Transcriptional Disturbances Induced by Alpha-Synuclein Overexpression // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2018;(12):112. Doi: 10.3389/fncel.2018.00112.
29. Basharova K., Bezrukova A., Bogdanova D., Senkevich K., Gracheva E., Miliukhina I., Emelyanov A., Pchelina S., Usenko T. P.114 Contribution of the SNCA gene and genes involved in autophagy in the pathogenesis of GBA-associated parkinson's disease // *European Neuropsychopharmacology*. 2021;(44):S10–S11. Doi: 10.1016/j.euroneuro.2021.01.021.

Информация об авторах

Безрукова Анастасия Игоревна, аспирант лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3939-0758; **Башарова Катерина Сергеевна**, аспирант лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0003-3078-3918; **Милухина Ирина Валентиновна**, кандидат медицинских наук, врач-невролог, младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), руководитель Научно-клинического центра нейродегенеративных заболеваний и ботулинотерапии, Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-6433-542X; **Тимофеева Алла Аркадьевна**, кандидат медицинских наук, врач-невролог, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-1661-7753; **Сенкевич Константин Алексеевич**, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-3407-5716; **Пчелина Софья Николаевна**, доктор биологических наук, зав. Отделом молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), зав. лабораторией молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0001-7431-6014; **Усенко Татьяна Сергеевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Отдела молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Гатчина, Россия), ORCID: 0000-0002-5132-2283.

Information about authors

Bezrukova Anastasia I., Postgraduate Student of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-3939-0758; **Basharova Katerina S.**, Postgraduate Student of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B. P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0003-3078-3918; **Miliukhina Irina V.**, Cand. of Sci. (Med.), Neurologist, Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Head of the Scientific and Clinical Center for Neurodegenerative Diseases and Botulinum Therapy, N. P. Bekhtereva Institute of the Human Brain (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-6433-542X; **Timofeeva Alla A.**, Cand. of Sci. (Med.), Neurologist, Associate Professor of the Department of Neurology and Neurosurgery, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-1661-7753; **Senkevich Konstantin A.**, Cand. of Sci. (Med.), Junior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-3407-5716; **Pchelina Sofya N.**, Dr. of Sci. (Biol.), Head of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Head of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID:0000-0001-7431-6014; **Usenko Tatiana S.**, Cand. of Sci. (Biol.), Senior Research Fellow of the Department of Molecular, Genetic, and Nanobiological Technologies, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), Senior Research Fellow of the Laboratory of Human Molecular Genetics, Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute» (Gatchina, Russia), ORCID: 0000-0002-5132-2283.