

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

АССОЦИАЦИИ ГЕНОВ СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

РЕЗЮМЕ

Бабушкина Н.П.¹,
Никитина М.А.²,
Брагина Е.Ю.¹,
Алифирова В.М.²,
Постригань А.Е.¹,
Девяткина Е.А.²,
Гомбоева Д.Е.¹,
Назаренко М.С.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10, Россия)

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бабушкина Надежда Петровна,
e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru

Актуальность. Примерно 5–10 % случаев болезни Паркинсона (БП) являются моногенными, в остальных случаях патология имеет многофакторную природу. Одним из признанных патогенетических путей БП является митохондриальная дисфункция, в частности накопление поврежденных в митохондриальной ДНК. Соответственно, гены белков систем репарации ДНК являются перспективными генами-кандидатами для многофакторных форм БП.

Цель исследования. Пилотное изучение вовлеченности генов белков систем репарации ДНК в развитие болезни Паркинсона.

Материалы и методы. Ассоциативный анализ проведен при сравнении группы пациентов с БП ($n = 133$) с популяционной выборкой г. Томска ($n = 344$). Методом SNaPshot-анализа изучены 8 SNP в генах белков систем репарации ДНК (*rs560191* (*TP53BP1*); *rs1805800* и *rs709816* (*NBN*); *rs473297* (*MRE11A*); *rs1189037* и *rs1801516* (*ATM*); *rs1799977* (*MLH1*); *rs1805321* (*PMS2*)).

Результаты. К развитию БП предрасполагают частые аллели и гомозиготные по ним генотипы *rs1801516* в гене *ATM* (отношение шансов (*OR*, *odds ratio*) – 3,27 ($p = 0,000004$) и *OR = 3,46* ($p = 0,00008$) для рискованных аллеля и генотипа соответственно) и *rs1799977* в гене *MLH1* (*OR = 1,88* ($p = 0,0004$) и *OR = 2,42* ($p = 0,00007$) соответственно); гетерозиготы обладают протективным эффектом (*OR = 0,33* ($p = 0,0007$) и *OR = 0,46* ($p = 0,0007$) для *ATM* и *MLH1* соответственно). Также к БП предрасполагают редкий аллель *rs1805800* в гене *NBN* (*OR = 1,62* ($p = 0,019$)) и гомозиготный по нему генотип (*OR = 2,28* ($p = 0,016$)). Ассоциации с БП генов *ATM*, *MLH1*, *NBN* выявлены впервые.

Заключение. Нарушение функционирования митохондрий является одним из ключевых в патогенезе БП; при этом по меньшей мере два из трёх белковых продукта ассоциированных генов вовлечены в развитие дисфункции митохондрий. Соответственно, можно предположить вовлеченность ассоциированных генов в патогенез БП именно через митохондриальную дисфункцию.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, SNP, гены систем репарации ДНК, митохондриальная дисфункция

Для цитирования: Бабушкина Н.П., Никитина М.А., Брагина Е.Ю., Алифирова В.М., Постригань А.Е., Девяткина Е.А., Гомбоева Д.Е., Назаренко М.С. Ассоциации генов систем репарации ДНК с болезнью Паркинсона. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.2

Статья поступила: 20.05.2022

Статья принята: 23.11.2022

Статья опубликована: 29.12.2022

ASSOCIATIONS OF GENES OF DNA REPAIR SYSTEMS WITH PARKINSON'S DISEASE

Babushkina N.P.¹,
 Nikitina M.A.²,
 Bragina E.Yu.¹,
 Alifirova V.M.²,
 Postrigan A.E.¹,
 Deviatkina Ye.A.²,
 Gomboeva D.E.¹,
 Nazarenko M.S.^{1,2}

¹ Research Institute of Medical Genetics,
 Tomsk National Research Medical Center,
 Russian Academy of Sciences
 (Ushaika embankment 10, Tomsk 634050,
 Russian Federation)

² Siberian State Medical University
 (Moskovsky tract 2, Tomsk 634050,
 Russian Federation)

Corresponding author:

Nadezhda P. Babushkina,

e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru

ABSTRACT

Background. Approximately 5–10 % of cases of Parkinson's disease (PD) are monogenic, in other cases the pathology has a multifactorial etiology. One of recognized pathogenetic pathways of PD is mitochondrial dysfunction, in particular the accumulation of damage in mitochondrial DNA. Hence, the genes of DNA repair proteins are promising candidate genes for multifactorial forms of PD.

The aim. To study the involvement of genes of DNA repair proteins in the development of Parkinson's disease.

Materials and methods. The associative analysis was carried out while comparing a group of patients with PD ($n = 133$) with a Tomsk population sample ($n = 344$). SNaPshot analysis was used to study 8 SNPs in genes of DNA repair proteins (*rs560191 (TP53BP1); rs1805800 and rs709816 (NBN); rs473297 (MRE11A); rs1189037 and rs1801516 (ATM); rs1799977 (MLH1); rs1805321 (PMS2)*).

Results. Common alleles and homozygous *rs1801516* genotypes in the *ATM* gene predispose the development of PD (odds ratio (OR) – 3.27 ($p = 0.000004$) and OR = 3.46 ($p = 0.00008$) for risk alleles and genotype respectively) and *rs1799977* in the *MLH1* gene (OR = 1.88 ($p = 0.0004$) and OR = 2.42 ($p = 0.00007$) respectively); heterozygotes have a protective effect (OR = 0.33 ($p = 0.0007$) and OR = 0.46 ($p = 0.0007$) for *ATM* and *MLH1*, respectively). The rare *rs1805800* allele in the *NBN* gene (OR = 1.62 ($p = 0.019$)) and a homozygous genotype for it (OR = 2.28 ($p = 0.016$)) also predispose to PD. Associations with PD of the *ATM*, *MLH1*, *NBN* genes were revealed for the first time.

Conclusion. Mitochondrial dysfunction is one of the key factors in the pathogenesis of PD, while at least two of the three protein products of associated genes are involved in the development of mitochondrial dysfunction. Accordingly, it can be assumed that associated genes are involved in the pathogenesis of PD precisely through mitochondrial dysfunction.

Key words: Parkinson's disease, SNP, DNA repair systems genes, mitochondrial dysfunction

Received: 20.05.2022

Accepted: 23.11.2022

Published: 29.12.2022

For citation: Babushkina N.P., Nikitina M.A., Bragina E.Yu., Alifirova V.M., Postrigan A.E., Deviatkina Ye.A., Gomboeva D.E., Nazarenko M.S. Associations of genes of DNA repair systems with Parkinson's disease. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.2

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) является вторым по распространённости нейродегенеративным заболеванием, при котором происходит гибель нейронов, секретирующих дофамин в чёрной субстанции головного мозга, что проявляется асимметричной брадикинезией, ригидностью и тремором покоя. Хотя моторные симптомы БП можно контролировать с помощью заместительной дофаминергической терапии, в настоящее время нет способов, которые могли бы предотвратить заболевание, замедлить его прогрессию, избежать развития немоторных симптомов. Причиной этому является ограниченное понимание основополагающих причин БП и их биохимических последствий [1].

Исследования генетических факторов развития БП ведутся в течение нескольких десятилетий, что привело к лучшему осознанию её гетерогенности. Примерно в 5–10 % случаев можно говорить о моногенных формах БП, поскольку у пациентов выявляются мутации в ряде хромосомных локусов (к настоящему моменту их описано более 18), причём во многих случаях непосредственно причинные гены ещё неизвестны. Однако у большинства пациентов с БП мутации в этих генах отсутствуют [2–4]. Даже полногеномное секвенирование позволяет выявить генетическую причину не более чем у 11 % пациентов [5]. Интересно, что спектр генов с мутациями *de novo*, являющимися причиной развития БП с ранним началом, широк и этноспецифичен [6–8]. Помимо этого, выявлен ряд генов, ассоциированных с БП [9].

Большинство мутаций, описанных при моногенных формах БП, находятся в генах, белковые продукты которых регулируют окислительный стресс и митохондриальную функцию [10]. Нарушение клеточного гомеостаза, в поддержании которого активно участвуют митохондрии, и особенно накопление активных форм кислорода (АФК), в производстве которых митохондриям отводится ведущая роль, могут вызывать гибель нейронов. Считается, что все нейродегенеративные заболевания на определённых стадиях патогенеза связаны с митохондриальной дисфункцией [11, 12]. Митохондриальная дисфункция может приводить к снижению активности электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), избыточному образованию АФК, накоплению Ca^{2+} в митохондриальном матриксе, нарушению взаимодействий между митохондриями и другими органеллами, активации механизмов апоптоза, некроптоза, аутофагии [13–16]. Помимо производства АТФ, митохондрии в нейронах участвуют в нейротрансмиссии и синаптической пластичности, в дифференцировке нейронов [12, 17]. Несмотря на то, что нарушение функционирования митохондрий является критическим фактором в развитии БП, точный механизм реализации этого процесса до настоящего времени неизвестен. Вместе с тем накапливаются факты, подтверждающие её роль на всех стадиях патогенеза [18–20]. Например, давно известно о сниженной активности комплекса I ЭТЦ в чёрной субстанции больных БП [21]. В экспериментах *in vivo* показано, что воздействие ингибиторов комплекса I приводит к накоплению гиперфосфорилированного τ -белка и α -синуклеина

[12, 22]. Сами по себе являясь основными нейропатологическими компонентами БП, олигомеры α -синуклеина накапливаясь, усугубляют ситуацию, нарушая функционирование других компонентов ЭТЦ [23, 24]. Кроме того, у пациентов с БП отмечаются нарушения морфологии и митохондриальной динамики, фрагментация митохондрий, дефицит деградации дисфункциональных митохондрий посредством аутофагии (митофагии) [25–28].

Факторы, вызывающие митохондриальную дисфункцию, разнообразны; среди них возраст, генетическая предрасположенность, нездоровый образ жизни, стресс и т. д. [12, 29]. Одним из таких факторов является накопление повреждений в митохондриальной ДНК. Вследствие физической близости к источникам АФК и отсутствия гистонов скорость мутагенеза в митохондриях в 10–20 раз выше, чем в ядерном геноме [30, 31]. Окислительные повреждения ДНК устраняются с помощью различных репарационных систем: эксцизионной репарации как оснований, так и нуклеотидов (BER, base excision repair и NER, nucleotide excision repair); мисматч-репарации (MMR, mismatch repair), а также репарации двуцепочечных разрывов ДНК. Предполагается, что все эти ферментативные системы не полностью аналогичны ядерным, но степень различий обсуждается [31–33]. Для ряда белков систем репарации ДНК доказана их локализация в митохондриях и их вовлечённость в развитие митохондриальной дисфункции. Так, на моделях *in vivo* и *in vitro* показано, что потеря активности АТМ (член семейства P13/P14 киназ, контролирует наличие двуцепочечных разрывов ДНК через индуцированные ими изменения в структуре хроматина, имеет сотни мишеней) приводит к быстрым изменениям в митохондриальном гомеостазе, что свидетельствует о дополнительной, не связанной с репарацией ДНК, роли АТМ в функционировании митохондрий. В то же время показано, что в результате нокаута гена *ATM* у мышей наблюдается повышение уровней митохондриальных АФК, возможно, из-за сниженной активности комплекса I ЭТЦ [34]. Снижение активности комплекса I наблюдается также при дефиците в клетке белков комплекса MMR – MLH1 и MSH2 (основные компоненты пост-репликативной мисматч-репарации ДНК, вовлечённые также и в другие пути репарации ДНК). При потере MLH1, кроме того, существенно снижается количество копий мтДНК в клетке [35, 36]. Роль BRCA1 (ядерный фосфопротеин, играющий важную роль в поддержании геномной стабильности в целом) в поддержании стабильности как ядерного, так и митохондриального геномов считается универсальной [37]. Участие в функционировании MMEJ показано для продуктов генов *MRE11*, *RAD50*, *NBN*, *BLM*, однако экспериментальные доказательства присутствия и функциональной значимости в митохондриях в настоящее время получены только для *MRE11* и *RAD50* (участвуют в репарации двуцепочечных разрывов ДНК, формировании теломер, проверке повреждений ДНК) [31, 38, 39]. На наличие важной роли белков репарационных систем ДНК в митохондриях также указывает тот факт, что нарушения в ультраструктуре и функциях митохондрий, повышенная продукция митохондриальных АФК характерны для моногенных заболеваний, вызываемых мута-

циями в ряде генов белков данных систем (атаксии-телеангиоэктазии и подобного ей заболевания (ATLD, ataxia-telangiectasia-like disorder), синдромов Блума, Ниймегена, Кокейна и пигментной ксеродермы) [40, 41].

Исходя из вышесказанного, мы предположили, что гены белков систем репарации ДНК являются перспективными генами-кандидатами для многофакторных или олигогенных форм БП.

Цель настоящего исследования заключалась в проведении пилотного исследования вовлеченности генов белков систем репарации ДНК в развитие болезни Паркинсона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группа пациентов с БП была сформирована на кафедре неврологии СибГМУ; диагноз устанавливался в соответствии с Клиническими диагностическими критериями болезни Паркинсона Общества двигательных расстройств (Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson’s Disease) [42]. В исследование включено 133 пациента с БП, средний возраст – 63,7 года (37 % мужчин, средний возраст – 65,2 года; 63 % женщин, средний возраст – 62,8 года). Размер выборок предварительно не рассчитывался.

В качестве контрольной группы привлечена популяционная выборка г. Томска (387 индивидов; средний возраст – 47,0 лет), равномерно представленная по полу (51 % мужчин, средний возраст – 46,7 года; 49 % женщин, средний возраст – 48,0 лет), сформированная из образцов ДНК «Биобанка населения Северной Евразии» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. Сравнение пациентов с популяционным контролем даёт ряд преимуществ, поскольку в таком контроле присутствуют индивиды с различными заболеваниями, доля которых определяется распространённостью данных патологий в обследуемой популяции. Поэтому при проведении ассоциативного анализа вероятность получить ложноположительные результаты значительно меньше, чем при сравнении выбо-

рок больных со здоровыми в отношении изучаемых патологий индивидами, хотя вероятность получения ложноотрицательных результатов выше.

Молекулярно-генетическое исследование выполнено на базе и с использованием научно-исследовательского оборудования и экспериментального биологического материала Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

План и проведение исследования соответствуют принципам Надлежащей клинической практики (GCP, Good Clinical Practice) и Хельсинкской декларации. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом (ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; регистрационный номер № 7813 от 27.05.2019). Обследование и забор венозной крови всех лиц проводились только после подписания информированного согласия.

Проанализировано 8 полиморфных вариантов (SNP, single-nucleotide polymorphism) (табл. 1): rs560191 гена *TP53BP1*; rs1805800 и rs709816 гена *NBN*; rs473297 гена *MRE11A*; rs1189037 и rs1801516 гена *ATM*; rs1799977 гена *MLH1*; rs1805321 гена *PMS2*. Используемые в исследовании праймеры и пробы приведены в таблице 2.

Генотипирование маркеров в генах белков систем репарации ДНК проводили с помощью SNaPshot-анализа на платформе ABI Genetic Analyzer 3730 (Thermo Fisher Scientific, США), согласно протоколу фирмы-производителя [43].

SNaPshot-анализ представляет собой вариант минисеквенирования, основанный на однонуклеотидном удлинении проб и позволяющий проводить мультиплексное исследование. Данный анализ состоит из нескольких этапов: амплификация с последующей ферментативной очисткой; реакция минисеквенирования (в которой пробы гибридизуются с ПЦР-продуктом, а затем удлиняются на один ди-дезоксинуклеотид (ddNTP, «терминатор»)) с последующей ферментативной очисткой; разделение в полимере с помощью капиллярного гель-электрофореза на генетическом анализаторе. В мульти-

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОАНАЛИЗИРОВАННЫХ SNP

Гены	Полиморфные варианты	Типы замены и локализация
<i>ATM</i>	rs189037	5'UTR
	rs1801516	несинонимичная (Asp1853Asn)
<i>NBN</i>	rs1805800	рядом с 5'UTR
	rs709816	синонимичная (Asp399)
<i>TP53BP1</i>	rs560191	несинонимичная (Asp353Glu)
<i>MRE11A</i>	rs473297	5'UTR
<i>MLH1</i>	rs1799977	несинонимичная (Ile219Val)
<i>PMS2</i>	rs1805321	несинонимичная (Pro364Ser)

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF THE ANALYZED SNPs

ТАБЛИЦА 2
ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ АНАЛИЗА ПРАЙМЕРЫ
И ПРОБЫ

TABLE 2
PRIMERS AND PROBES USED FOR ANALYSIS

Маркеры	Олигонуклеотиды
<i>NBN</i> rs709816	F: TCTGATGGAGTTGGTCTGCTG R: GAGTTGCTTTCTTGGGATGG Z: GACTGACTGACTGACTCAGGACTCCTTTACAGTGGGTGC
<i>MRE11A</i> rs473297	F: TTCCAAGGGTGTCTCTGA R: GACTTAGGTATCAAGAAATCAGTATCTTGGGG Z: GACTTAGGTATCAAGAAATCAGTATCTTGGGG
<i>PMS2</i> rs1805321	F: GTCCTGAACTCCTAGCCTC R: GCTCTGTCGGTAGGGTCACT Z: GACTTTTCAAGTGCCATCTCTGACAAAGGCGTCCTGAGA
<i>TP53BP1</i> rs560191	F: GCGAACCTCTTGGCCCTA R: GGCAGCTCAGTAGTGTCAATCT Z: GACTGACTGACTGACTATTTTAGGCTTACTTACGTGGAAAGACT
<i>NBN</i> rs1805800	F: TATGTAGTTTCGTGCGTTTGC R: TTGAGACAGGTGGAAGTGGA Z: GACTGACTGACTATAATGCCACACTTTCAGCTAATCACATG
<i>ATM</i> rs1801516	F: TTTAGCAGTATGTTGAGTTTATGGC R: GGCAACTTTTATCTCCATTCCA Z: TTCCATACTTGATTCATGATATTTACTCCAA
<i>ATM</i> rs189037	F: CTGCTTGGCGTTGCTTCTTC R: TGGAGTGAGGAGAGGGAGGA Z: TAACGGAGAAAAGAAGCCGTGGCC
<i>MLH1</i> rs1799977	F: ATAGTTTGCTGGTGGAGATA R: ATGTGATGGAATGATAAAC Z: GACTGACTGACTGCCTCAACCGTGGACAATATTCGCTCC

Примечание. F (forward) – прямой праймер; R (reverse) – обратный праймер; Z – SNaPshot-праймер (зонд).

плексной реакции пробы для каждого маркера, гибридизующиеся с ПЦП-продуктами, различаются по длине; «терминаторы» (с помощью которых определяется генотип) помечены флуоресцентными красителями разного цвета. В наборе SNaPhot Multiplex Ready Reaction Mix (Thermo Fisher Scientific, США), согласно спецификации фирмы-производителя, ddATP помечен красителем dR6G (зелёный цвет), ddCTP – dTAMRA (жёлтый цвет), ddUTP – dROX (красный цвет), ddGTP – dR110 (синий цвет). В результате для каждого SNP в зависимости от гетерозиготного или гомозиготного генотипа регистрировались 1 или 2 пика (накладывающихся или пространственно разнесённых), окрашенных в разные цвета (рис. 1).

Анализ полученных результатов проводился с помощью программного обеспечения GeneMapper Software v. 4.1 (Applied Biosystems, США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных подходов (критерий χ^2 Пирсона; отношение шансов (OR, odds ratio) с 95%-м доверительным интервалом (95% CI, confidence interval)). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были проанализированы 8 однонуклеотидных полиморфных вариантов в 6 генах различных систем репарации ДНК: гены *NBN*, *MRE11*, *ATM*, *TP53BP1* кодируют белки, относящиеся к системам репарации двуцепочечных разрывов ДНК; гены *MLH1*, *PMS2* – белки системы mismatch-репарации. Выбранные маркеры либо локализованы в регуляторных регионах (5' UTR), либо представ-

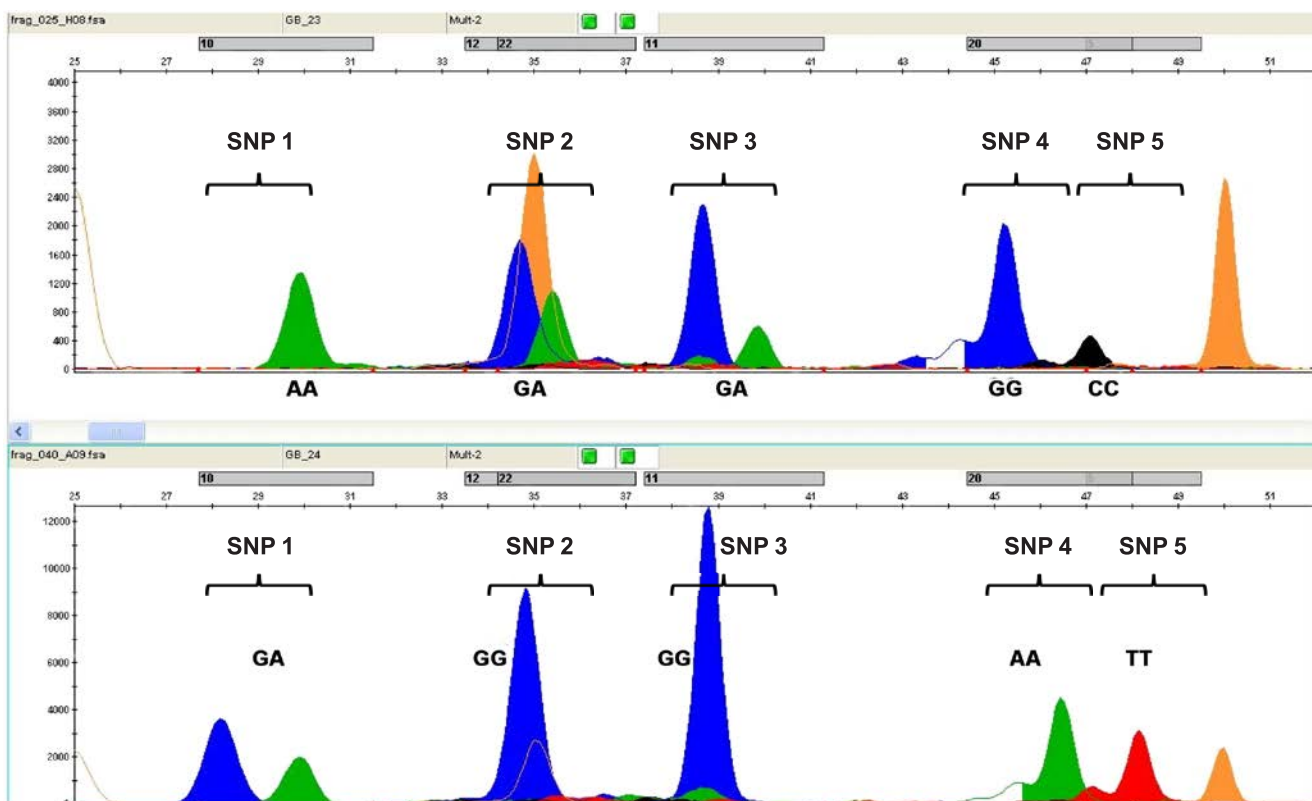


РИС. 1. SNaPshot-анализ: хроматограмма 5 SNP для двух образцов ДНК. Каждому маркеру соответствует определённое положение относительно размерного стандарта (оранжевые пики). Для каждого SNP регистрируются 1 или 2 пика (накладывающихся или пространственно разнесённых), окрашенных в разные цвета

FIG. 1. SNaPshot analysis: chromatogram of 5 SNPs for two DNA samples. Each marker corresponds to a certain position relative to the size standard (orange peaks). For each SNP, 1 or 2 peaks (overlapping or spatially separated) painted in different colors are registered

ляют собой замены в кодирующей последовательности генов (см. табл. 1).

Все изученные SNP полиморфны в проанализированных выборках, для всех маркеров соблюдается равновесие Харди – Вайнберга.

При сравнении выборки пациентов с БП с популяционной выборкой зарегистрированы статистически значимые различия по частотам как аллелей, так и генотипов трёх из изученных SNP (табл. 3; рис. 2).

Так, различия выявляются для rs1805800 – одного из двух исследованных маркеров в гене *NBN* ($p = 0,019$ и $p = 0,028$ по частотам аллелей и генотипов соответственно). Рисктивный эффект редкого аллеля T (OR = 1,62 (95% CI: 1,08–2,43); $\chi^2 = 5,48$; $p = 0,019$) реализован через гомозиготный генотип TT (OR = 2,28 (95% CI: 1,15–4,50); $\chi^2 = 5,72$; $p = 0,016$), частота которого в группе больных БП в 1,9 раза выше, чем в контроле (27,87 % и 14,5 % соответственно) (см. табл. 3; рис. 2).

В гене *ATM* различия также выявлены только по одному из изученных маркеров – экзонному варианту rs1801516 ($p = 0,00004$ и $p = 0,0002$ по частотам аллелей и генотипов соответственно). К развитию патологии предрасполагает частый аллель G (OR = 3,27 (95% CI: 1,79–6,10); $\chi^2 = 16,88$; $p = 0,000004$) и генотип GG (OR = 3,46 (95% CI: 1,79–6,81); $\chi^2 = 15,61$; $p = 0,00008$). Выраженным

протективным эффектом обладает гетерозиготный генотип (OR = 0,33 (95% CI: 0,16–0,65); $\chi^2 = 11,4$; $p = 0,0007$), встречающийся в контрольной группе в 2,5 раза чаще, чем у больных БП (см. табл. 3; рис. 2).

Различия между исследованными группами выявляются также по rs1799977 в гене *MLH1* ($p = 0,0004$ и $p = 0,0002$ для частот аллелей и генотипов соответственно). Риск-эффект определяется для аллеля A (OR = 1,88 (95% CI: 1,31–2,70); $\chi^2 = 12,38$; $p = 0,0004$) и генотипа AA (OR = 2,42 (95% CI: 1,54–3,80); $\chi^2 = 15,85$; $p = 0,00007$). Гетерозиготный генотип AG является протективным (OR = 0,46 (95% CI: 0,29–0,73); $\chi^2 = 11,50$; $p = 0,0007$) (см. рис. 2).

Для двух из трёх генов, ассоциированных в настоящем исследовании с БП, показана вовлечённость в функционирование митохондрий. Так, известно, что киназа ATM непосредственно задействована в модуляции митохондриального гомеостаза при генотоксическом стрессе, хотя этот механизм до конца не ясен [44, 45]. Уже это обстоятельство может объяснять ассоциированность полиморфизма гена *ATM* с БП. Помимо этого, известно, что при атаксии-телеангиэктазии (вызываемой мутациями в гене *ATM*) наблюдаются нейродегенеративные изменения в мозжечке, а также амилоидные агрегаты [46]. Данный факт может служить косвенным свидетельством того, что продукт гена *ATM* вовле-

ТАБЛИЦА 3
 ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ
 ПРОАНАЛИЗИРОВАННЫХ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ

 TABLE 3
 ALLELE AND GENOTYPE FREQUENCIES OF THE ANALYZED
 POLYMORPHIC VARIANTS

Гены и полиморфные варианты	Генотипы	Популяционная выборка г. Томска		Группа пациентов с БП		Достигнутый уровень статистической значимости различий между группами
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
<i>TP53BP1</i> rs56091	G/G	201	56,62	57	65,52	0,319
	G/C	127	35,77	25	28,74	
	C/C	27	7,61	5	5,75	
	редкий аллель: C	181	25,49	35	20,11	0,167
<i>NBN</i> rs1805800	C/C	126	38,07	17	27,87	0,028
	C/T	157	47,43	27	44,26	
	T/T	48	14,50	17	27,87	
	редкий аллель: T	281	38,22	61	50,00	0,019
<i>NBN</i> rs709816	A/A	114	32,76	23	27,6	0,323
	A/G	164	47,13	39	45,88	
	G/G	70	20,11	23	27,06	
	редкий аллель: G	304	43,68	85	50	0,162
<i>MRE11A</i> rs473297	T/T	87	25,07	23	23,96	0,964
	T/G	184	53,03	51	53,12	
	G/G	76	21,9	22	22,92	
	редкий аллель: G	336	48,41	95	49,48	0,858
<i>ATM</i> rs189037	A/A	131	34,38	27	32,93	0,968
	A/G	187	49,08	41	50	
	G/G	63	16,54	14	17,07	
	редкий аллель: G	313	41,08	69	42,07	0,882
<i>ATM</i> rs1801516	G/G	222	69,38	102	88,70	0,0002
	G/A	84	26,25	12	10,43	
	A/A	14	4,38	1	0,87	
	редкий аллель: A	112	17,50	6,09	7,14	0,00004
<i>MLH1</i> rs1799977	A/A	143	41,69	76	63,33	0,0002
	A/G	169	49,27	37	30,83	
	G/G	31	9,04	7	5,83	
	редкий аллель: G	231	33,67	51	21,25	0,0004
<i>PMS2</i> rs1805321	C/C	108	31,3	24	31,17	0,999
	C/T	166	48,12	37	48,05	
	T/T	71	20,58	16	20,78	
	редкий аллель: T	308	44,64	69	44,81	0,959

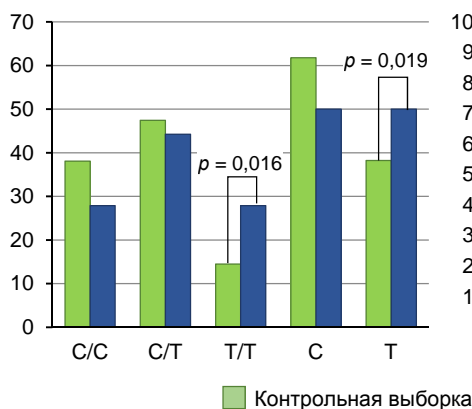


РИС. 2.

Ассоциированные с болезнью Паркинсона полиморфные варианты: rs1805800 в гене NBN, rs1801516 в гене ATM и rs1799977 в гене MLH1

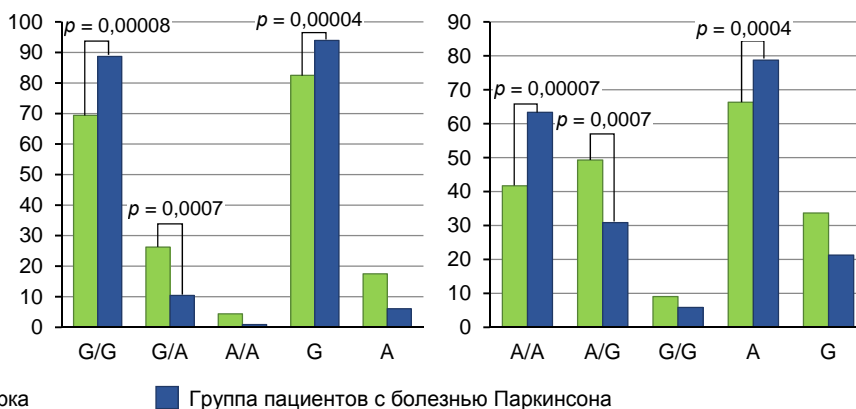


FIG. 2.

Parkinson's disease associated polymorphic variants: rs1805800 in the NBN gene, rs1801516 in the ATM gene, and rs1799977 in the MLH1 gene

чѐн в механизмы нейродегенерации через потерю функции активации ATM в ответ на окислительный стресс. Действительно, согласно литературным данным, отсутствие активации ATM вследствие окислительного стресса приводит к формированию агрегатов широкого спектра белков [47]. Вышесказанное позволяет предполагать, что данный феномен может оказывать модулирующее воздействие на агрегацию α -синуклеина и, таким образом, объяснять вовлечѐнность ATM в патогенез БП.

Имеющиеся в настоящее время данные указывают на то, что MLH1 оказывает своё влияние на функционирование митохондрий, главным образом, через своевременное устранение повреждений ДНК; существуют экспериментальные доказательства присутствия MLH1 в митохондриях [36, 48]. Однако также показано, что наличие MLH1 критично для работы комплекса I в дыхательной цепи митохондрий и (через неизвестный пока механизм) определяет копийность мтДНК в клетке [36, 49]. Есть предположение, что дисфункция митохондрий, вызываемая нарушением работы белков системы мисматч-репарации, может быть опосредована нарушением взаимодействия MLH1/ATM [36]. Это взаимодействие критично при сборке белкового комплекса при репарационном ответе на мисматчи ДНК [49]. В то же время дисфункция митохондрий в ответ на дефицит ферментов систем мисматч-репарации может реализовываться через неизвестный пока механизм.

Информации о вовлечѐнности в развитие митохондриальной дисфункции продукта гена NBN в доступной литературе не удалось обнаружить. Тем не менее, известно, у пациентов с синдромом Ниймегена (вызываемом мутациями в гене NBN) характерной чертой является хронический окислительный стресс [40]. Кроме того, нибрин (кодированный геном NBN) функционирует в составе белкового комплекса MRN (MRE11-RAD50-NBN); в каноническом пути репарации ДНК этот комплекс необходим для активации ATM. Комплекс MRN вовлечѐн, в том числе, в процессы микрогомологически опосредованного сшивания концов – пути репарации поврежденной ДНК, наличие которого в митохондриях доказано [31, 38, 39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в проведенном исследовании впервые выявлены ассоциации с БП генов ATM, MLH1, NBN. Предрасполагают к развитию БП частые аллели и гомозиготные по ним генотипы несинонимичных замен rs1801516 в гене ATM и rs1799977 в гене MLH1, при этом гетерозиготы по обоим маркерам обладают протективным эффектом. Кроме того, с БП ассоциирована промоторная замена в гене NBN (rs1805800); редкий аллель и гомозиготный генотип по рисковому аллелю predispose к развитию заболевания. Поскольку, с одной стороны, нарушение функционирования митохондрий является одним из ключевых в патогенезе БП, а с другой – по меньшей мере два из трёх белковых продуктов ассоциированных генов вовлечены в развитие дисфункции митохондрий, то с высокой долей вероятности можно предположить, что ассоциированные гены вовлечены в патогенез БП именно через митохондриальную дисфункцию.

Финансирование

Исследование выполнено при частичной грантовой поддержке научно-исследовательских проектов, выполняемых молодыми учеными («Роль генов репарации в патогенезе болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и нормального (здорового) старения», 2021–2023 гг.)

Работа выполнена при частичном финансировании Государственного задания Министерства науки и высшего образования № 122020300041-7.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2016; 172(1): 14-26. doi: 10.1016/j.neurol.2015.09.012

2. Siitonen A, Nalls MA, Hernandez D, Gibbs JR, Ding J, Ylikotila P, et al. Genetics of early-onset Parkinson's disease in Finland: Exome sequencing and genome-wide association study. *Neurobiol Aging*. 2017; 53: 195.e7-195.e10. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.01.019
3. Cherian A, Divya KP. Genetics of Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg*. 2020; 120(6): 1297-1305. doi: 10.1007/s13760-020-01473-5
4. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet*. 2021; 397(10291): 2284-2303. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00218-X
5. Schormair B, Kemlink D, Mollenhauer B, Fiala O, Machetzanz G, Roth J, et al. Diagnostic exome sequencing in early-onset Parkinson's disease confirms VPS13C as a rare cause of autosomal-recessive Parkinson's disease. *Clin Genet*. 2018; 93(3): 603-612. doi: 10.1111/cge.13124
6. Puschmann A. New genes causing hereditary Parkinson's disease or Parkinsonism. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017; 17(9): 66. doi: 10.1007/s11910-017-0780-8
7. Lin CH, Chen PL, Tai CH, Lin HI, Chen CS, Chen ML, et al. A clinical and genetic study of early-onset and familial parkinsonism in Taiwan: An integrated approach combining gene dosage analysis and next-generation sequencing. *Mov Disord*. 2019; 34(4): 506-515. doi: 10.1002/mds.27633
8. Li N, Wang L, Zhang J, Tan EK, Li J, Peng J, et al. Whole-exome sequencing in early-onset Parkinson's disease among ethnic Chinese. *Neurobiol Aging*. 2020; 90: 150.e5-150.e11. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.12.023
9. OMIM. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> [date of access: 16.05.2022].
10. Wu YY, Kuo HC. Functional roles and networks of non-coding RNAs in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *J Biomed Sci*. 2020; 27(1): 49. doi: 10.1186/s12929-020-00636-z
11. Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: From physiology to neurodegeneration. *FEBS Lett*. 2018; 592(5): 692-702. doi: 10.1002/1873-3468.12964
12. Vodickova A, Koren SA, Wojtovich AP. Site-specific mitochondrial dysfunction in neurodegeneration. *Mitochondrion*. 2022; 64: 1-18. doi: 10.1016/j.mito.2022.02.004
13. Celsi F, Pizzo P, Brini M, Leo S, Fotino C, Pinton P, et al. Mitochondria, calcium and cell death: A deadly triad in neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1787(5): 335-344. doi: 10.1016/j.bbabi.2009.02.021
14. Subramaniam SR, Chesselet MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2013; 106-107: 17-32. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.04.004
15. Paillusson S, Gomez-Suaga P, Stoica R, Little D, Gissen P, Devine MJ, et al. α -Synuclein binds to the ER-mitochondria tethering protein VAPB to disrupt Ca^{2+} homeostasis and mitochondrial ATP production. *Acta Neuropathol*. 2017; 134(1): 129-149. doi: 10.1007/s00401-017-1704-z
16. Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol*. 2020; 15: 235-259. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032711
17. Iwata R, Casimir P, Vanderhaeghen P. Mitochondrial dynamics in postmitotic cells regulate neurogenesis. *Science*. 2020; 369(6505): 858-862. doi: 10.1126/science.aba9760
18. Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2016; 139(Suppl 1): 216-231. doi: 10.1111/jnc.13731
19. Franco R, Rivas-Santisteban R, Navarro G, Pinna A, Reyes-Resina I. Genes implicated in familial Parkinson's disease provide a dual picture of nigral dopaminergic neurodegeneration with mitochondria taking center stage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(9): 4643. doi: 10.3390/ijms22094643
20. Flonas IH, Tzoulis C. Mitochondrial respiratory chain dysfunction – A hallmark pathology of idiopathic Parkinson's disease? *Front Cell Dev Biol*. 2022; 10: 874596. doi: 10.3389/fcell.2022.874596
21. Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, Jenner P, Clark JB, Marsden CD. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet*. 1989; 1(8649): 1269. doi: 10.1016/s0140-6736(89)92366-0
22. Höglinger GU, Lannuzel A, Khondiker ME, Michel PP, Duyckaerts C, Feger J, et al. The mitochondrial complex I inhibitor rotenone triggers a cerebral tauopathy. *J Neurochem*. 2005; 95(4): 930-939. doi: 10.1111/j.1471-4159.2005.03493.x
23. Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2018; 109(Pt B): 249-257. doi: 10.1016/j.nbd.2017.04.004
24. Zambon F, Cherubini M, Fernandes HJR, Lang C, Ryan BJ, Volpato V, et al. Cellular α -synuclein pathology is associated with bioenergetic dysfunction in Parkinson's iPSC-derived dopamine neurons. *Hum Mol Genet*. 2019; 28(12): 2001-2013. doi: 10.1093/hmg/ddz038
25. Liu J, Liu W, Li R, Yang H. Mitophagy in Parkinson's disease: From pathogenesis to treatment. *Cells*. 2019; 8(7): 712. doi: 10.3390/cells8070712
26. Van Laar VS, Berman SB. Mitochondrial dynamics in Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2009; 218(2): 247-256. doi: 10.1016/j.expneurol.2009.03.019
27. Trimmer PA, Swerdlow RH, Parks JK, Keeney P, Bennett JP Jr, Miller SW, et al. Abnormal mitochondrial morphology in sporadic Parkinson's and Alzheimer's disease cybrid cell lines. *Exp Neurol*. 2000; 162(1): 37-50. doi: 10.1006/exnr.2000.7333
28. Malpartida AB, Williamson M, Narendra DP, Wade-Martins R, Ryan BJ. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's disease: From mechanism to therapy. *Trends Biochem Sci*. 2021; 46(4): 329-343. doi: 10.1016/j.tibs.2020.11.007
29. Ra D, Sa B, Si B, Js M, Sj M, Da D, et al. Is exposure to BMAA a risk factor for neurodegenerative diseases? A response to a critical review of the BMAA hypothesis. *Neurotox Res*. 2021; 39(1): 81-106. doi: 10.1007/s12640-020-00302-0
30. Song S, Pursell ZF, Copeland WC, Longley MJ, Kunkel TA, Mathews CK. DNA precursor asymmetries in mammalian tissue mitochondria and possible contribution to mutagenesis through reduced replication fidelity. *PNAS USA*. 2005; 102: 4990-4995. doi: 10.1073/pnas.0500253102
31. Vasileiou PVS, Mourouzis I, Pantos C. Principal aspects regarding the maintenance of mammalian mitochondrial genome integrity. *Int J Mol Sci*. 2017; 18: 1821. doi: 10.3390/ijms18081821
32. Storr SJ, Woolston CM, Martin SG. Base excision repair, the redox environment and therapeutic implications. *Curr Mol Pharmacol*. 2012; 5: 88-101.
33. Zinovkina LA. Mechanisms of mitochondrial DNA repair in mammals. *Biochemistry (Mosc)*. 2018; 83(3): 233-249. doi: 10.1134/S0006297918030045
34. Valentin-Vega YA, Maclean KH, Tait-Mulder J, Milasta S, Steeves M, Dorsey FC, et al. Mitochondrial dysfunction in ataxia-telangiectasia. *Blood*. 2012; 119: 1490-1500. doi: 10.1182/blood-2011-08-373639
35. Rashid S. *Targeting the mitochondria for the treatment of MLH1-deficient disease*: Thesis. 2017. URL: <http://qmro.qmul.ac.uk/xmlui/handle/123456789/30924> [date of access: 16.05.2022].

36. Rashid S, Freitas MO, Cucchi D, Bridge G, Yao Z, Gay L, et al. MLH1 deficiency leads to deregulated mitochondrial metabolism. *Cell Death Dis.* 2019; 10(11): 795. doi: 10.1038/s41419-019-2018-y
37. Coene ED, Hollinshead MS, Waeytens AA, Schelfhout VR, Eechaute WP, Shaw MK, et al. Phosphorylated BRCA1 is predominantly located in the nucleus and mitochondria. *Mol Biol Cell.* 2005; 16: 997-1010. doi: 10.1091/mbc.e04-10-0895
38. Tadi SK, Sebastian R, Dahal S, Babu RK, Choudhary B, Raghavan SC. Microhomology-mediated end joining is the principal mediator of double-strand break repair during mitochondrial DNA lesions. *Mol Biol Cell.* 2016; 27: 223-235. doi: 10.1091/mbc.E15-05-0260
39. Seol JH, Shim EY, Lee SE. Microhomology-mediated end joining: Good, bad and ugly. *Mutat Res.* 2018; 809: 81-87. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2017.07.002
40. Maciejczyk M, Mikoluc B, Pietrucha B, Heropolitanska-Pliszka E, Pac M, Motkowski R, et al. Oxidative stress, mitochondrial abnormalities and antioxidant defense in Ataxia-telangiectasia, Bloom syndrome and Nijmegen breakage syndrome. *Redox Biol.* 2017; 11: 375-383. doi: 10.1016/j.redox.2016.12.030
41. Choy KR, Watters DJ. Neurodegeneration in ataxia-telangiectasia: Multiple roles of ATM kinase in cellular homeostasis. *Dev Dyn.* 2018; 247: 33-46. doi: 10.1002/dvdy.24522
42. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2015; 30(12): 1591-601. doi: 10.1002/mds.26424
43. *Manual guide. Applied Biosystems user bulletin: Using the SNaP-shot® Multiplex System.* 2005. URL: https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cms_041203.pdf [date of access: 20.05.2022].
44. Resseguie EA, Stavinsky RJ, Brookes PS, O'Reilly MA. Hyperoxia activates ATM independent from mitochondrial ROS and dysfunction. *Redox Biol.* 2015; 5: 176-185. doi: 10.1016/j.redox.2015.04.012
45. Shimura T. ATM-mediated mitochondrial radiation responses of human fibroblasts. *Genes (Basel).* 2021; 12(7): 1015. doi: 10.3390/genes12071015
46. Lee JH, Paull TT. Cellular functions of the protein kinase ATM and their relevance to human disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021; 22(12): 796-814. doi: 10.1038/s41580-021-00394-2
47. Lee JH, Mand MR, Kao CH, Zhou Y, Ryu SW, Richards AL, et al. ATM directs DNA damage responses and proteostasis via genetically separable pathways. *Sci Signal.* 2018; 11(512): eaan5598. doi: 10.1126/scisignal.aan5598
48. Mootha VK, Bunkenborg J, Olsen JV, Hjerrild M, Wisniewski JR, Stahl E, et al. Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria. *Cell.* 2003; 115(5): 629-640. doi: 10.1016/s0092-8674(03)00926-7
49. Brown KD, Rathi A, Kamath R, Beardsley DI, Zhan Q, Manino JL, et al. The mismatch repair system is required for S-phase checkpoint activation. *Nat Genet.* 2003; 33: 80-84. doi: 10.1038/ng1052

Сведения об авторах

Бабушкина Надежда Петровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6133-8986>

Никитина Мария Анатольевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: nikitina_ma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2614-207X>

Брагина Елена Юрьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: elena.bragina@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1103-3073>

Алифрова Валентина Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: v_alifrova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4140-3223>

Постригань Анна Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории геномики орфанных болезней, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: postriган.anna@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5144-001X>

Девяткина Екатерина Алексеевна – студентка, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mailto:271297rfnz@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1905-3324>

Гомбоева Дээнэма Евгеньевна – ординатор, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: Gombo-D@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7882-2093>

Назаренко Мария Сергеевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»; профессор кафедры медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0673-4094>

Information about the authors

Nadezhda P. Babushkina – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: nad.babushkina@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6133-8986>

Maria A. Nikitina – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Siberian State Medical University, e-mail: nikitina_ma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2614-207X>

Elena Yu. Bragina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Population Genetics Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: elena.bragina@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1103-3073>

Valentina M. Alifrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Neurology and Neurosurgery, Siberian State Medical University, e-mail: v_alifrova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4140-3223>

Anna E. Postriган – Junior Research Officer at the Laboratory of Orphan Diseases Genomics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: postriган.anna@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5144-001X>

Yekaterina A. Deviatkina – Student, Siberian State Medical University, e-mail: mailto:271297rfnz@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1905-3324>

Densema E. Gomboeva – Clinical Resident, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, e-mail: Gombo-D@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7882-2093>

Maria S. Nazarenko – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Medical Genetics, Siberian State Medical University, e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0673-4094>