

---

---

ОБЗОРНЫЕ  
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

---

---

ЛИЗОСФИНГОЛИПИДЫ КРОВИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С ДИСФУНКЦИЕЙ ЛИЗОСОМ

© 2020 г. Т. С. Усенко<sup>1, 2</sup>, Г. В. Байдакова<sup>3</sup>, Е. Ю. Захарова<sup>3</sup>, С. Н. Пчелина<sup>1, 2, \*</sup>

<sup>1</sup>*Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова  
НИИ “Курчатовский институт”, Гатчина, Россия*

<sup>2</sup>*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва, Россия*

*\*E-mail: sopchelina@hotmail.com*

Поступила в редакцию 07.03.2020 г.

После доработки 16.04.2020 г.

Принята к публикации 30.05.2020 г.

Лизосфинголипиды представляют собой N-деацетилированную форму сфинголипидов и рассматриваются как потенциальные маркеры заболеваний, относящихся к лизосомным болезням накопления (ЛБН), таким как болезнь Гоше, Фабри, Краббе и болезнь Ниманна—Пика, а также крайне редким ЛБН, таким как GM1 и GM2 ганглиозидозов. На сегодняшний день существует разнообразие методов для оценки уровня лизосфинголипидов в плазме крови. Однако наиболее перспективным является метод жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС/МС), который позволяет проведение одновременной оценки концентрации нескольких лизосфинголипидов, таких как HexSph (смесь GlcSph и GalSph), LysoGb3, LysoGM1, LysoGM2, LysoSM и LysoSM509 в плазме, моче, сухих пятнах крови. Несмотря на то, что оценка лизосфинголипидов в плазме крови является золотым стандартом, метод проведения ВЭЖХ/МС/МС при экстракции метаболитов из сухих пятен крови является быстрым и надежным методом для оценки количественного состава лизосфинголипидов, позволяющим идентифицировать ЛБН такие как болезнь Гоше (HexSph), болезнь Фабри (LysoGb3), недостаточность просапозина (HexSph, LysoGb3), болезнь Ниманна—Пика типа A/B и C (LysoSM и LysoSM509). Диагностика ряда ЛБН с оценкой концентрации лизосфинголипидов в крови методом ВЭЖХ/МС/МС проводится в настоящее время в Медико-генетическом научном центре, Москва. Нами данный метод применен для оценки уровня лизосфинголипидов при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутацией в гене лизосомного фермента — глюкоцереброзидазы (GBA-БП). Впервые показано повышение уровня HexSph (галактозилсфингозин — GalSph) и глюкозилсфингозина (GlcSph) в крови у пациентов с GBA-болезни Паркинсона, что позволяет сделать предположение о механизме патогенеза данного заболевания. В настоящем обзоре описаны подходы к диагностике ЛБН с использованием оценки лизосфинголипидов крови, а также обсуждается возможное участие данных метаболитов в стабилизации нейротоксичных форм альфа-синуклеина при болезни Паркинсона.

*Ключевые слова:* лизосфинголипиды, ВЭЖХ/МС/МС, лизосомные болезни накопления, болезнь Паркинсона

DOI: 10.31857/S0869813920080105

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЭЖХ/МС/МС – метод жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией

ЛБН – лизосомные болезни накопления

МС/МС – тандемная масс-спектрометрия

GalCer – галактозилцерамид

GalSph – галактозилсфингозина

GBA-БП – пациенты с болезнью Паркинсона, являющиеся носителями мутаций в гене *GBA*

GCase – глюкоцереброзидазы

GlcCer – глюкозилцерамида

GlcSph – глюкозилсфингозина

HexSph – гексозилсфингозин

LysoGb3 – глоботриазилсфингозина

LysoGM1/ LysoGM2 – лизоганглиозиды

LysoSM – лизосфингомиелин

Сфинголипидозы – это группа заболеваний, относящаяся к классу лизосомных болезней накопления, которые характеризуются снижением активности лизосомных ферментов за счет мутаций в генах, кодирующих эти ферменты, и как следствие, накоплением соответствующих субстратов в лизосоме [1]. Интересно отметить, что мутации в генах *GBA* и *SMPD1*, которые кодируют ферменты глюкоцереброзидазу и кислую сфингомиелиназу соответственно, в гомозиготном состоянии приводят к развитию ЛБН, таких как болезнь Гоше и болезнь Ниманна–Пика соответственно. Эти мутации являются также факторами высокого риска распространенного нейродегенеративного заболевания болезни Паркинсона [2–4].

Диагностика данной группы заболеваний основана, как правило, на использовании биохимических методов, в основном на определении остаточной активности ферментов в клетках крови. В ряде случаев проводятся молекулярно-генетические исследования с целью выявления мутаций, приводящих к развитию заболевания, что позволяет подтвердить диагноз на молекулярном уровне, а также делает доступным проведение пренатальной диагностики плода в семьях. Так, например, при наиболее частой из ЛБН болезни Гоше в результате гомозиготного или компаундного гетерозиготного носительства мутаций в гене *GBA*, кодирующем фермент лизосом глюкоцереброзидазу (GCase), происходит снижение активности фермента до 5–30% (в зависимости от типа мутации) и накопление метаболита глюкозилцерамида (GlcCer), а также его деацелированной формы, глюкозилсфингозина (GlcSph) [5]. Наиболее характерным признаком болезни Гоше является наличие насыщенных субстратов макрофагов, которые многократно увеличиваются в размерах, превращаясь в клетки, называемые клетками Гоше, в печени, селезенке и костном мозге [6]. Более часто болезнь протекает по I типу с поздним началом и отсутствием вовлечения нервной системы. Также описаны нейрональные типы болезни Гоше, тип II и тип III, которые классифицируются как острая и подострая нейропатические формы этого заболевания из-за вовлечения центральной нервной системы. При данных формах болезни поражаются нейроны головного мозга, что приводит к летальному исходу в раннем возрасте [7].

Следует, однако, отметить, что в последнее время активно обсуждается вопрос о том, что оценка накапливающегося субстрата или его модифицированной формы может являться более чувствительным тестом для данной группы заболеваний. Развитие современных методов сделало возможным разработку тестов, направленных на диагностику нескольких ЛБН одновременно. В данном обзоре представлены последние данные о перспективе использования метода жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС/МС) для диагностики ряда ЛБН, а также обсуждается эффективность применения данных методов для

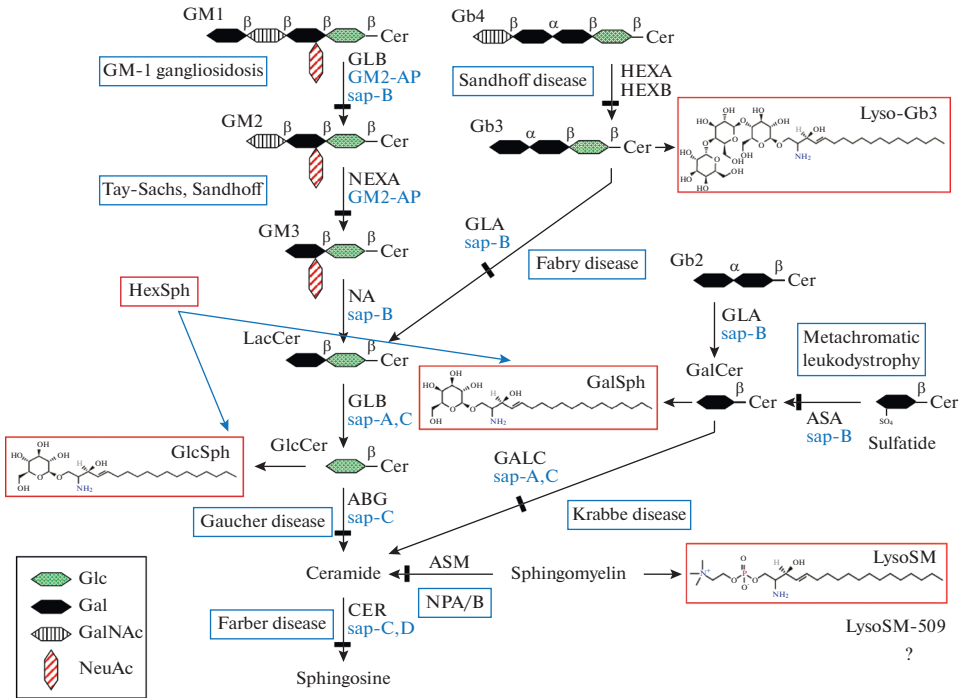
изучения молекулярных основ развития болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в генах ЛБН.

В настоящем обзоре рассмотрен метод, разработанный для диагностики следующих заболеваний: болезней Гоше, Фабри, Краббе, Ниманна–Пика, а также крайне редких ЛБН, GM1 и GM2 ганглиозидозов. Метод основан на одновременной оценке метаболитов: HexSph (смесь GlcSph и галактозилсфингозина (GalSph)), глоботриазилсфингозина (LysoGb3), лизоганглиозиды (LysoGM1, LysoGM2), лизосфингомиелины (LysoSM и LysoSM509). При этом в целях диагностики болезней Гоше и Краббе оценивают концентрацию гексозилсфингозина (HexSph), который представляет собой смесь из двух лизосифголипидов – галактозилсфингозина (GalSph) и глюкозилсфингозина (GlcSph), которые в свою очередь являются продуктами метаболизма глюкоцереброзида (GlcCer) и галактозилцерамида (GalCer) соответственно, поэтому определение их концентрации также служит объективной оценкой накопления лизосфинголипидов при дисфункции GCase. Необходимо отметить, что по отношению друг к другу GlcSph и GalSph являются стереоизомерами и для хроматографического разделения GlcCer и GalCer требуется проведение дополнительного исследования с использованием специальной колонки для хроматографии гидрофильных взаимодействий [8, 9].

## ЛИЗОСФИНГОЛИПИДЫ И ИХ ФУНКЦИИ

Сфинголипиды представляют собой амфифильные соединения, происходящие из сфингоидной основы с длинной цепью (главным образом сфингозина и сфинганина), которые могут быть N-ацилированы различными жирными кислотами с образованием церамидов. Гидрофильная группа связана с гидроксильной группой сфингоидного основания через фосфодиэфирную (фосфосфинголипидную) или гликозидную (гликосфинголипидную) связь [10]. Сфинголипиды являются необходимыми компонентами цитоплазматических мембран эукариотических клеток и важными биологически активными молекулами, которые участвуют в регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток, а также в других биологических процессах, в том числе, могут обладать свойствами вторичных мессенджеров или внеклеточных медиаторов [11]. Основным компонентом молекулы сфинголипида является сфингоидное (сфингозиновое) основание, представляющее собой аминоксирит с длинной алифатической цепью, как правило, сфингозин — (28,3K,4E)-2-амино-4-октадецен-1,3-диол. В группе сфинголипидов можно выделить сфинголипиды со свободной аминогруппой у сфингоидного основания. Эти сфинголипиды называются лизосфинголипидами. Лизосфинголипиды были обнаружены более 30 лет назад, однако, механизм их действия при патологических состояниях изучается до настоящего времени. Лизосфинголипиды рассматривались как “токсичные метаболиты”, участвующие в патогенезе нескольких сфинголипидозов [12, 13], и было показано, что они вовлечены в различные патофизиологические механизмы [14, 15].

Таким образом, эти молекулы принимают участие в многочисленных клеточных биохимических процессах [16] и, как предполагается, непосредственно участвуют в патофизиологических механизмах нейродегенерации [17]. В последние годы благодаря развитию тандемной масс-спектрометрии точность их оценки в биологических жидкостях существенно повысилась, и почти каждый лизосфинголипид стал биомаркером сфинголипидоза [18–20]. Исключением является лизосульфатид, который не выявляется ни в плазме пациентов с метахроматической лейкодиетрофией, ни в плазме здоровых индивидуумов [21].



**Рис. 1.** Метаболические пути деградации сфинголипидов и связанные с ними сфинголипидозы (по Polo et al. [47] с модификациями).

**Fig. 1.** Sphingolipids degradation pathways and related sphingolipidoses (Polo et al., 2017 [47] with modifications).

### СФИНГОЛИПИДОЗЫ И МЕТОД ВЭЖХ/МС/МС ДЛЯ ИХ ДИАГНОСТИКИ

Нарушение деградации сфинголипидов, характеризующейся недостаточностью лизосомных ферментов, приводит к развитию наследственных заболеваний, относящихся к классу ЛБН, называемых сфинголипидозами (рис. 1) [22]. К сфинголипидозам относятся следующие группы болезней: первичные сфинголипидозы, вызванные мутацией в гене, кодирующем лизосомный фермент (например, болезнь Гоше, болезнь Фабри, болезнь Краббе), первичные сфинголипидозы, связанные с нарушениями белков-активаторов, вовлеченных в процесс деградации сфинголипидов (дефекты сапозинов) и вторичные сфинголипидозы, которые характеризуются нарушением транспорта и слипания в эндочитарной системе. Ко вторичным сфинголипидозам относят болезнь Ниманна–Пика типа С, которая характеризуется нарушением внутриклеточного распределения холестерина [1]. Все эти нарушения передаются по аутосомно-рецессивному типу наследования, за исключением X-сцепленной болезни Фабри. Клинические проявления сфинголипидозов могут проявляться в младенчестве и детстве или позже в подростковом/взрослом возрасте (поздние формы), но могут также присутствовать в антенатальном периоде как неиммунная водянка плода [23].

Многие сфинголипидозы имеют сходные фенотипические проявления, это затрудняет диагностику и, как следствие, постановку точного диагноза, что отражается на выборе стратегии терапии. При некоторых ЛБН длительная диагностика может негативно сказываться на эффективности терапии, например, транспланта-

ция гемопоэтических стволовых клеток должна проводиться как можно раньше — до развития необратимого поражения нервной системы при лейкодистрофиях.

Для большинства из ЛБН оценка активности фермента в белых клетках крови (лейкоцитах и лимфоцитах) считается золотым стандартом для диагностики [9]. Однако в последние годы ряд исследований указывает на то, что определение концентрации лизосфинголипидов крови может быть более точным как диагностическим маркером развития ЛБН, так и чувствительным маркером ответа на применяемую терапию, в частности, ферментно-заместительную терапию [9]. В 2001 г. Chamoles и соавт. впервые показали возможность использования сухих пятен крови для определения активности нескольких ферментов с применением флуоресцентно меченного субстрата (4-метилумбеллиферон) [24], нарушение активности этих ферментов приводит к развитию ЛБН.

Оценка активности ферментов, экстрагированных из сухих пятен крови, рассматривается в качестве альтернативы для быстрой диагностики ЛБН, так как у сухих пятен крови существуют особые преимущества по сравнению с использованием обычных биологических образцов: простота взятия, небольшой объем крови, условия хранения и транспортировки (комнатная температура) [25]. Ферментативная активность в сухих пятнах крови сегодня оценивается с помощью tandemной масс-спектрометрии с использованием искусственно синтезированных субстратов, наиболее приближенных к натуральным, и внутренних стандартов, представляющих собой продукты ферментативной реакции, отличающиеся от целевых по молекулярной массе на одну или несколько  $\text{CH}_2$ -групп [26–28]. Универсальность tandemной масс-спектрометрии позволила применять этот метод не только для определения ферментов, но и для обнаружения биомаркеров ЛБН [29]. До настоящего времени диагностика ЛБН заключалась в оценке одного метаболита в различных биологических жидкостях (плазма, моча, сухие пятна крови) методом жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ/МС/МС) для диагностики одного конкретного заболевания [16, 30]. Метод ВЭЖХ/МС/МС является высокоселективным и чувствительным. Основным преимуществом данного метода является возможность идентификации различных классов соединений в биологических образцах. ВЭЖХ/МС/МС, в частности, применяется для выявления оксистеролов, что является отличным примером для диагностики болезни Ниманна–Пика типа С [9]. Методом ВЭЖХ/МС/МС было показано, что гликофинголипиды повышены при сфинголипидозах, однако, эти соединения обладали низкой чувствительностью и специфичностью, таким образом, использование их в качестве маркера было нецелесообразным [31]. В последние годы рядом исследователей было показано, что оценка накопления не прямого субстрата лизосфинголипидов, а его модифицированной формы, является наиболее чувствительным маркером ЛБН. Так, лизосфинголипиды (LysoSL), N-деацетилированные лизоформы гликофинголипидов, заметно увеличиваются у пациентов со сфинголипидозами, это указывает на то, что они потенциально могут быть полезными биомаркерами как для диагностики, так и для мониторинга лечебных эффектов при разработке терапии [32]. На рис. 1 схематически изображены метаболические пути лизосфинголипидов и их ассоциация со сфинголипидозами. Повышенный уровень глоботриазилсфингозина (LysoGb3) в плазме крови и моче наблюдался у мужчин, страдающими болезнью Фабри [30, 33] и женщин, являющихся носителями мутаций в гене *GLA*, приводящих к развитию этого заболевания [34]. Изначально повышенный уровень галактозилсфингозина (психозина) (GalSph) был ранее выявлен в мозге пациентов с болезнью Краббе [35]. В последующих исследованиях было показано увеличение уровня двух изомеров: GalSph у пациентов с болезнью Краббе [36, 37] и глюкозилсфингозина (GlcSph) у пациентов с болезнью Гоше [38]. Для диагностики и мониторинга ответа на терапию при болезни Гоше наиболее чув-

ствительным тестом сегодня является оценка GlcSph [39–41]. Значительное повышение уровня деацетилизованной формы сфингомиелина, лизосфингомиелина (LysoSM), было выявлено в плазме пациентов с болезнью Ниманна–Пика типа А/В и С [20, 41]. Недавно был выявлен новый биомаркер, лизосфингомиелин-509 (LysoSM-509) для первичной диагностики болезни Ниманна–Пика типа С [42]. Более того, соотношение этих метаболитов в плазме крови позволило провести различия между двумя заболеваниями [43, 44]. Chuang с соавт. показали, что у пациентов с болезнью Ниманна–Пика типа А/В LysoSM в сухих пятнах крови повышен приблизительно в пять раз относительно контроля, что делает его потенциальным биомаркером для данного заболевания [20]. Следует отметить, что в более ранних исследованиях предполагалось, что анализы LysoSM и LysoSM509 в образцах сухих пятен крови уступают измерениям в плазме крови и должны проводиться только в тех случаях, когда сухие пятна крови являются единственным доступным материалом [43]. В недавнем исследовании было показано, что для диагностики болезни Ниманна–Пика определение концентрации LysoSM в плазме крови является более чувствительным методом по сравнению с исследованием сухих пятен крови [9]. С другой стороны, лизоганглиозиды LysoGM1 и LysoGM2 могут быть маркерами двух очень редких ЛБН, ганглиозидозов GM1 и GM2. Чувствительность этих маркеров в плазме, как сообщается, является низкой и критической для более поздних форм [20, 44]. Polo и соавт. проанализировали эти биомаркеры у небольшой группы пациентов с ганглиозидозами (GM1  $n = 1$ ; GM2  $n = 2$ ). Было выявлено, что уровень LysoGM2 в плазме и сухих пятнах крови не отличается от уровня пациентов с поздней формой ганглиозидоза GM2, называемой болезнью Сандхоффа. Инфантильные формы ганглиозидозов GM1 и GM2 были правильно диагностированы в сухих пятнах крови [9].

Недавнее исследование на животных также показало, что оценка профиля лизосфинголипидов более эффективна в диагностических целях, чем анализ одного лизосфинголипида [45]. В настоящее время показана эффективность использования метода ВЭЖХ/МС/МС для одновременного количественного определения нескольких лизосфинголипидов в плазме крови: гексозилсфингозина (HexSph), а также LysoGb3 и LysoSM, включая новый биомаркер LysoSM-509, который является карбоксилированным аналогом LysoSM. В ходе исследования был выявлен диапазон концентрации лизосфинголипидов у здоровых детей и взрослых, который необходим для мониторинга пациентов с ЛБН при лечении. Был подтвержден диагностический потенциал HexSph, LysoGb3, LysoSM и LysoSM-509 для определения концентрации данных лизосфинголипидов у пациентов с ЛБН и тех, у кого подозревается ЛБН [9, 46].

В Медико-генетическом научном центре одновременное определение концентрации лизосфинголипидов (HexSph, LysoGb3, LysoSM и LysoSM-509) методом ВЭЖХ/МС/МС проводится с 2017 г. с целью выявления пациентов с болезнями Гоше, Краббе, Фабри и болезнью Ниманна–Пика типа С.

Таким образом, наличие единого теста на множественные недиагностированные лизосомные заболевания позволит максимально повысить рентабельность теста и эффективность лабораторного рабочего процесса.

### РОЛЬ ЛИЗОСФИНГОЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Болезнь Паркинсона – одно из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний, частота встречаемости которого среди лиц старше 65 лет составляет 2–3% населения в мире. В основе патогенеза этого заболевания лежит накопление и агрегация токсичных форм альфа-синуклеина в черной субстанции головного

мозга, приводящее к гибели нейронов в данной области [47]. В основном болезнь Паркинсона носит спорадический характер с отсутствием семейного анамнеза, однако, до 10% от всех пациентов сообщают о случаях этого заболевания в семьях. Из всех выявленных генетических факторов риска развития болезни Паркинсона наиболее распространенным являются мутации в гене *GBA*, который кодирует лизосомный фермент глюкоцереброзидазу. Риск развития болезни Паркинсона среди носителей мутаций в гене *GBA* увеличивает в 7–8 раз в различных популяциях в мире [3, 4]. Впервые предположение о связи мутаций в гене *GBA* и болезнью Паркинсона было сделано в 2004 г. на основании выявления симптомов паркинсонизма у пациентов с болезнью Гоше и гетерозиготных носителей мутаций в гене *GBA* [48]. В основе патогенеза болезни Гоше лежит нарушение катаболизма GlcCer, который является сфинголипидом, до церамида и глюкозы из-за снижения активности лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (GCase, EC.3.2.1.45) по причине генетических дефектов в гене *GBA* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии. После трансляции синтезированный белок GCase подвергается N-гликозироваанию и фолдингу в эндоплазматическом ретикулуме. В эндоплазматическом ретикулуме также происходит взаимодействие GCase с лизосомальным интегральным мембранным белком типа-2 (LIMP-2), откуда дальше в виде комплекса они транспортируются в аппарат Гольджи для упаковки в везикулы с последующей транспортировкой в лизосому [49]. На сегодняшний день у пациентов с болезнью Гоше в гене *GBA* описано более 400 мутаций [50]. К наиболее распространенным мутациям относят N370S, 84GG, L444P и IVS2+1, которые встречаются в более, чем 90% мутантных аллелей [51]. Описаны как “мягкие” мутации (N370S, V394L и R463C), где остаточная ферментативная активность GCase составляет 20–35% от нормального уровня, так и “тяжелые”, при которых остаточная активность составляет 5–10% (мутации L444P, T323I) или отсутствует (84GG, T138N, F216Y, P289L, D409H, D409V, P415R, A456P, N462Q, N462D). Считается, что к 80-ти годам у 9.1% пациентов с болезнью Гоше развивается болезнь Паркинсона [52]. Молекулярный механизм развития болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA*, остается неизвестным, однако, предполагается, что дисфункция лизосом может нарушать катаболизм альфа-синуклеина в клетках. В настоящее время выявлено накопление олигомерных форм альфа-синуклеина в головном мозге пациентов с болезнью Гоше [53]. Необходимо отметить, что альфа-синуклеин деградирует в клетке двумя путями: за счет связывания с убиквитином и последующим гидролизом в протеосомах или посредством шаперон-зависимой аутофагии [54]. Таким образом, дисфункция лизосом, наблюдаемая при болезни Гоше, может приводить к накоплению альфа-синуклеина в цитоплазме клетки, способствуя его накоплению и последующей агрегации. Последние данные позволяют выдвинуть гипотезу, согласно которой повышение и образование олигомеров альфа-синуклеина может ингибировать транспорт GCase в лизосомы, что приводит к накоплению GlcCer, дисфункции лизосомы и, как следствие, увеличению образования олигомеров альфа-синуклеина. У пациентов с *GBA*-болезни Паркинсона в цитоплазме нейронов выявляют тельца Леви, содержащие альфа-синуклеин. Исследование аутопсийного материала у данной группы пациентов показало колокализацию альфа-синуклеина и глюкоцереброзидазы в тельцах Леви [55]. Нами и другими авторами показано, что носители мутации L444P, D408H, RecTL значительно снижающих активность GCase, имеют более высокий риск и более раннее начало болезни Паркинсона по сравнению с носителями “мягких” мутаций (N370S и R496H), уменьшающих активность GCase в меньшей степени [56, 57].

Нужно отметить, что для начала патологического механизма накопления альфа-синуклеина и гибели нейронов при *GBA*-болезни Паркинсона, по-видимому, недостаточно лишь уменьшение активности глюкоцереброзидазы, поскольку не у

всех носителей мутации в гене *GBA* развивается болезнь Паркинсона в течение жизни [58]. Недавнее ассоциативное исследование выявило кумулятивный вклад генов, мутации в которых приводят к ЛБН, в риск развития болезни Паркинсона. Носители мутаций в двух генах ЛБН характеризовались более высоким риском появления этого заболевания по сравнению с носителями всего одной мутации в генах ЛБН. Носители трех мутаций в генах ЛБН встречались только в группе пациентов с болезнью Паркинсона, то есть не были выявлены в контроле [59].

За последние годы нами и другими авторами впервые была проведена оценка активности глюкоцереброзидазы и концентрации нескольких лизосфинголипидов в крови пациентов с болезнью Паркинсона, являющимися носителями мутаций в гене *GBA* (GBA-БП), методом ВЭЖХ-МС/МС. В группе пациентов с GBA-болезни Паркинсона было выявлено снижение ферментативной активности глюкоцереброзидазы и увеличение концентрации HexSph (смесь GlcSph и GalSph) как по сравнению с неврологически здоровыми индивидуумами, так и с пациентами с болезнью Паркинсона с отсутствием семейного анамнеза [8, 55, 60–62]. Интересно отметить, что снижение активности фермента глюкоцереброзидазы и увеличение концентрации HexSph в сухих пятнах крови нами также наблюдалось и в группе бессимптомных носителей мутаций в гене *GBA* (неопубликованные данные). Уровень GlcSph не был проанализирован отдельно от GalSph в нашем исследовании по техническим причинам. Нами также показано повышение концентрации олигомерных форм альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с болезнью Гоше [63, 64] и также в плазме крови пациентов с GBA-болезни Паркинсона [65]. В исследовании зарубежных коллег показано влияние на олигомеризацию альфа-синуклеина GlcSph, а не непосредственного субстрата глюкоцереброзидазы – GlcCer [58]. Было выявлено увеличение уровня моногексозилцерамида, церамида и сфингомиелина. Нами также было показано незначительное увеличение LysoSM, который является специфическим маркером болезни Ниманна–Пика типа А/В [8]. Интересно отметить, что мутации в гене, вызывающем данное заболевание (*SMPD1*), также являются фактором высокого риска развития болезни Паркинсона [2].

Полученные результаты подтверждают патогенетическую взаимосвязь между дисфункцией глюкоцереброзидазы, накоплением лизосфинголипидов и олигомеризацией альфа-синуклеина. Показана связь между тяжестью мутации и снижением активности глюкоцереброзидазы. Наши данные показывают, что высокий риск развития болезни Паркинсона у носителей мутации в гене *GBA* может быть связан со снижением активности глюкоцереброзидазы и повышением нейротоксичных олигомерных форм белка альфа-синуклеина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время показана эффективность анализа ВЭЖХ/МС/МС в сухих пятнах крови для количественной оценки лизосфинголипидов. Сухие пятна крови являются эффективной матрицей для скрининга нескольких сфинголипидозов (болезней Краббе, Гоше, Фабри и дефицит просапозина) с аналитическими показателями, которые сопоставимы с показателями в плазме крови. Показано, что данный метод является наиболее чувствительным в отношении диагностики и терапевтического мониторинга при лечении пациентов с ЛБН. Высокая чувствительность данного метода позволила продемонстрировать повышение лизосфинголипидов у пациентов с болезнью Паркинсона, являющихся носителями мутаций в гене *GBA* в гетерозиготном состоянии. Полученные данные предполагают возможность использования стратегий, направленных на восстановление активности GCase при болезни Гоше, а также для лечения GBA-болезни Паркинсона.



## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-15-00315.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vanier M.T.* Complex lipid trafficking in Niemann-Pick disease type C. *J. Inherit. Metab. Dis.* 38: 187–199. 2014.
2. *Gan-Or Z., Ozelius L.J., Bar-Shira A., Saunders-Pullman R., Mirelman A., Kornreich R., Gana-Weisz M., Raymond D., Rozenkrantz L., Deik A., Gurevich T., Gross S.J., Schreiber-Agus N., Giladi N., Bressman S.B., Orr-Urtreger A.* The p.L302P mutation in the lysosomal enzyme gene SMPD1 is a risk factor for Parkinson disease. *Neurology.* 80: 1606–1610. 2013.
3. *Velayati A., Yu W.H., Sidransky E.* The role of glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease and Lewy body disorders. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 10(3): 190–198. 2010.
4. *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. *Neurobiol. Aging.* 71: 267.e7–267.e10. 2018.
5. *Gegg M.E., Sweet L., Wang B.H., Shihabuddin L.S., Sardi S.P., Schapira A.H.* No evidence for substrate accumulation in Parkinson brains with *GBA* mutations. *Mov. Disord.* 30(8): 1085–1089. 2015.
6. *Beutler E., Kuhl W.* The diagnosis of the adult type of Gaucher's disease and its carrier state by demonstration of deficiency of b-glucosidase activity in peripheral blood leukocytes. *J. Clin. Lab. Med.* V (76): 747–755. 1970.
7. *Pastores G.* Neuropathic Gaucher disease. *Wiener Medizinische Wochenschrift.* 160 (23-24): 605–608. 2010.
8. *Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M., Senkevich K., Emelyanov A., Kopytova A., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Berkovich O., Fedotova E., Illarionovskii S., Zakharova E.* Blood lysosphingolipids accumulation in patients with parkinson's disease with glucocerebrosidase 1 mutations. *Mov. Disord.* 33(8): 1325–1330. 2018.
9. *Polo G., Burlina A.P., Ranieri E., Colucci F., Rubert L., Pascarella A., Duro G., Tummolo A., Padoan A., Plebani M., Burlina A.B.* Plasma and dried blood spot lysosphingolipids for the diagnosis of different sphingolipidoses: a comparative study. *Clin. Chem. Lab. Med.* 57(12): 1863–1874. 2019.
10. *Fahy E., Subramaniam S., Brown H.A., Glass C.K., Merrill A.H. Jr, Murphy R.C., Raetz C.R., Russell D.W., Seyama Y., Shaw W., Shimizu T., Spener F., van Meer G., VanNieuwenhze M.S., White S.H., Witztum J.L., Dennis E.A.* A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.* 46: 839–861. 2005.
11. *Malagarie-Cazenave S., Andrieu-Abadie N., Sügui B., Gouazü V., Tardy C., Cu villier O., Levade T.* Sphingolipid signalling: molecular basis and role in TNF-alpha-induced cell death. *Expert. Rev. Mol. Med.* 20: 1–15. 2002.
12. *Farfel-Becker T., Vitner E.B., Kelly S.L., Bame J.R., Duan J., Shinder V., Merrill A.H. Jr, Dobrenis K., Futerman A.H.* Neuronal accumulation of glucosylceramide in a mouse model of neuronopathic Gaucher disease leads to neurodegeneration. *Hum. Mol. Genet.* 15: 843–854. 2014.
13. *Choi L., Vernon J., Kopach O., Minett M.S., Mills K., Clayton P.T., Meert T., Wood J.N.* The Fabry disease-associated lipid Lyso-Gb3 enhances voltage-gated calcium currents in sensory neurons and causes pain. *Neurosci. Lett.* 594: 163–168. 2015.
14. *Lloyd-Evans E., Pelled D., Riebeling C., Futerman A.H.* Lyso-glycosphingolipids mobilize calcium from brain microsomes via multiple mechanisms. *Biochem. J.* 375: 561–565. 2003.
15. *Igisu H., Hamasaki N., Ito A., Ou W.* Inhibition of cytochrome c oxidase and hemolysis caused by lysosphingolipids. *Lipids.* 23: 345–348. 1988.
16. *Auray-Blais C., Blais C.-M., Ramaswami U., Boutin M., Germain D.P., Dyack S., Bodamer O., Pintos-Morell G., Clarke J.T., Bichet D.G., Warnock D.G., Echevarria L., West M.L., Lavoie P.* Urinary biomarker investigation in children with Fabry disease using tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta.* 438: 195–204. 2015.
17. *Platt F.M.* Sphingolipid lysosomal storage disorders. *Nature.* 510: 68–75. 2014.
18. *Rolf s A., Giese A.K., Grittner U., Mascher D., Elstein D., Zimran A., Buttcher T., Lukas J., Hübner R., Gulniz U., Rühle A., Dudsek A., Meyer W., Wittstock M., Masher H.* Glucosylsphingosine is a highly sensitive and specific biomarker for primary diagnostic and follow-up monitoring in Gaucher disease in a non-Jewish, Caucasian cohort of Gaucher disease patients. *PLoS One.* 8: e79732. 2013.
19. *Turgeon C.T., Orsini J.J., Sanders K.A., Magera M.J., Langan T.J., Escolar M.L., Duffner P., Oglesbee D., Gavrilo v D., Tortorelli S., Rinaldo P., Raymond K., Matern D.* Measurement of psychosine in dried blood spots—a possible improvement to newborn screening programs for Krabbe disease. *J. Inherit. Metab. Dis.* 38: 923–929. 2015.
20. *Chuang W.L., Pacheco J., Cooper S., McGovern M.M., Cox G.F., Keutzer J., Zhang X.K.* Lyso-sphingomyelin is elevated in dried blood spots of Niemann–Pick B patients. *Mol. Genet. Metab.* 111: 209–211. 2014.

21. *Mirzaian M., Kramer G., Poorthuis B.J.* Quantification of sulfatides and lysosulfatides in tissues and body fluids by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Lipid Res.* 56: 936–943. 2015.
22. *Schulze H., Sandhoff K.* Sphingolipids and lysosomal pathologies. *Biochim. Biophys. Acta.* 1841: 799–810. 2014.
23. *Vianey-Saban C., Acquaviva C., Cheillan D., Collardeau-Frachon S., Guibaud L., Pagan C., Pettazzoni M., Piraud M., Lamaziere A., Froissart R.* Antenatal manifestations of inborn errors of metabolism: biological diagnosis. *J. Inherit. Metab. Dis.* 39: 611–624. 2016.
24. *Pettazzoni M., Froissart R., Pagan C., Vanier M.T., Ruet S., Latour P., Guffon N., Fouilhoux A., Germain D.P., Levade T., Vianey-Saban C., Piraud M., Cheillan D.* LC-MS/MS multiplex analysis of lysosphingolipids in plasma and amniotic fluid: A novel tool for the screening of sphingolipidoses and Niemann–Pick type C disease. *PLoS One.* 12(7): e0181700. 2017.
25. *Chamoles N.A., Blanco M., Gaggioli D.* Diagnosis of alpha-L- iduronidase deficiency in dried blood spots on filter paper: the possibility of newborn diagnosis. *Clin. Chem.* 47:780 LP–1. 2001.
26. *Reuser A.J., Verheijen F.W., Bali D., van Diggelen O.P., Germain D.P., Hwu W.L., Lukacs Z., МьһА., Olivova P., Piraud M., Wuyts B., Zhang K., Keutzer J.* The use of dried blood spot samples in the diagnosis of lysosomal storage disorders – current status and perspectives. *Mol. Genet. Metab.* (Elsevier Inc). 104: 144–148. 2011.
27. *Li Y., Scott C.R., Chamoles N.A., Ghavami A., Pinto B.M., Turecek F., Gelb M.H.* Direct multiplex assay of lysosomal enzymes in dried blood spots for newborn screening. *Clin. Chem.* 50: 1785–1796. 2004.
28. *Spacil Z., Tatipaka H., Barcenas M., Scott C.R., Turecek F., Gelb M.H.* High-throughput assay of 9 lysosomal enzymes for newborn screening. *Clin. Chem.* 59: 502–511. 2013.
29. *Piraud M., Pettazzoni M., Lavoie P., Ruet S., Pagan C., Cheillan D., Latour P., Vianey-Saban C., Auray-Blais C., Froissart R.* Contribution of tandem mass spectrometry to the diagnosis of lysosomal storage disorders. *J. Inherit. Metab. Dis.* 41: 457–477. 2018.
30. *Polo G., Burlina A., Furlan F., Kolamunnage T., Cananzi M., Giordano L., Zaninotto M., Plebani M., Burlina A.* High level of oxysterols in neonatal cholestasis: a pitfall in analysis of biochemical markers for Niemann–Pick type C disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 54: 1221–1229. 2016.
31. *Boutin M., Gagnon R., Lavoie P., Auray-Blais C.* LC-MS/MS analysis of plasma lyso-Gb3 in Fabry disease. *Clin. Chim. Acta.* 414: 273–280. 2012.
32. *Dekker N., van Dussen L., Hollak C.E., Overkleeft H., Scheij S., Ghauharali K., van Breemen M.J., Ferraz M.J., Groener J.E., Maas M., Wijburg F.A., Speijer D., Tylki-Szymanska A., Mistry P.K., Boot R.G., Aerts J.M.* Elevated plasma glucosylsphingosine in Gaucher disease: relation to phenotype, storage cell markers, and therapeutic response. *Blood.* 118: e118–127. 2011.
33. *Ferraz M.J., Kallemijn W.W., Mirzaian M., Herrera Moro D., Marques A., Wisse P., Willems L.J., Overkleeft H.S., Aerts J.M.* Gaucher disease and Fabry disease: New markers and insights in pathophysiology for two distinct glycosphingolipidoses. *Biochim. Biophys. Acta.* 1841: 811–825. 2014.
34. *Aerts J.M., Groener J.E., Kuiper S., Donker-Koopman W.E., Strijland A., Ottenhoff R., van Roomen C., Mirzaian M., Wijburg F.A., Linthorst G.E., Vedder A.C., Rombach S.M., Cox-Brinkman J., Somerharju P., Boot R.G., Hollak C.E., Brady R.O., Poorthuis B.J.* Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 2812–2817. 2008.
35. *Gold H., Mirzaian M., Dekker N., Joao Ferraz M., Lugtenburg J., Cod e J.D., Marel G.A., Overkleeft H.S., Linthorst G.E., Groener J.E., Aerts J.M., Poorthuis B.J.* Quantification of globotriaosylsphingosine in plasma and urine of fabry patients by stable isotope ultraperformance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 59: 547–556. 2013.
36. *Miyatake T., Suzuki K.* Globoid cell leukodystrophy: additional deficiency of psychosinegalactosidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 48: 538–543. 1977.
37. *Igisu H., Suzuki K.* Analysis of galactosylsphingosine (psycho-sine) in the brain. *J. Lipid Res.* 25: 1000–1006. 1984.
38. *Chuang W-L., Pacheco J., Zhang X.K., Martin M.M., Biski C.K., Keutzer J.M., Wenger D.A., Caggana M., Orsini J.J.* Determination of psychosine concentration in dried blood spots from newborns that were identified via new-born screening to be at risk for Krabbe disease. *Clin. Chim. Acta.* 419: 73–76. 2013.
39. *Murugesan V., Chuang W.L., Liu J., Lischuk A., Kacena K., Lin H., Pastores G.M., Yang R., Keutzer J., Zhang K., Mistry P.K.* Glucosylsphingosine is a key biomarker of Gaucher disease. *Am. J. Hematol.* 91(11): 1082–1089. 2016.
40. *Elstein D., Mellgard B., Dinh Q., Lan L., Qiu Y., Cozma C., Eichler S., Buttcher T., Zimran A.* Reductions in glucosylsphingosine (lyso-Gb1) in treatment-naive and previously treated patients receiving velaglucerase alfa for type 1 Gaucher disease: Data from phase 3 clinical trials. *Mol. Genet. Metab.* 122(1–2): 113–120. 2017.
41. *Tylki-Szymanska A., Szymanska-Rozek P., Hasiński P., Ługowska A.* Plasma chitotriosidase activity versus plasma glucosylsphingosine in wide spectrum of Gaucher disease phenotypes – A statistical insight. *Mol. Genet. Metab.* 123(4): 495–500. 2018.
42. *Welford R.W., Garzotti M., Marques Lourenzo C., Mengel E., Marquardt T., Reunert J., Amraoui Y., Kolb S.A., Morand O., Groenen P.* Plasma lysosphingomyelin demonstrates great potential as a diag-

- nostic biomarker for Niemann–Pick disease type C in a retrospective study. PLoS One. 9: e114669. 2014.
43. *Giесе А.-К., Mascher H., Grittner U., Eichler S., Kramp G., Lukas J., te Vruchte D., Al Eisa N., Cortina-Borja M., Porter F.D., Platt F.M., Rolfs A.* A novel, highly sensitive and specific biomarker for Niemann–Pick type C1 disease. *Orphanet. J. Rare Dis.* 10: 78. 2015.
  44. *Kuchar L., Sikora J., Gulinello M.E., Poupetova H., Lugowska A., Malinova V., Jahnova H., Asfaw B., Ledvinova J.* Quantitation of plasmatic lysosphingomyelin and lysosphingomyelin-509 for differential screening of Niemann–Pick A/B and C diseases. *Anal. Biochem.* 525: 73–77. 2017.
  45. *Piraud M., Pettazzoni M., Lavoie P., Ruet S., Pagan C., Cheillan D., Latour P., Vianey-Saban C., Auray-Blais C., Froissart R.* Contribution of tandem mass spectrometry to the diagnosis of lysosomal storage disorders. *J. Inherit. Metab. Dis.* 41: 457–477. 2018.
  46. *Ferraz M.J., Marques A.R., Gaspar P., Mirzaian M., van Roomen C., Ottenhoff R., Alfonso P., Irgon P., Geraldo P., Wisse P., S6 Miranda C., Overkleeft H.S., Aerts J.M.* Lysoglycosphingolipid abnormalities in different murine models of lysosomal storage disorders. *Mol. Genet. Metab.* 117: 186–193. 2016.
  47. *Polo G., Burlina A.P., Kolamunnage T.B., Zampieri M., Dionisi-Vici C., Strisciuglio P., Zaninotto M., Plebani M., Burlina A.B.* Diagnosis of sphingolipidoses: a new simultaneous measurement of lysosphingolipids by LC-MS/MS. *Clin. Chem. Lab. Med.* 55(3): 403–414. 2017.
  48. *Poewe W., Seppi K., Tanner C. M., Halliday G. M., Brundin P., Volkman J., Schrag A. E., Lang A.E.* Parkinson disease. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 3: 17013. 2017.
  49. *Velayati A., Yu W.H., Sidransky E.* The role of glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease and Lewy body disorders. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 10(3): 190–198. 2010.
  50. *Blanz J., Groth J., Zachos C., Wehling C., Saftig P., Schwake M.* Disease-causing mutations within the lysosomal integral membrane protein type 2 (LIMP-2) reveal the nature of binding to its ligand beta-glucocerebrosidase. *Hum. Mol. Genet.* 19(4): 563–572. 2010.
  51. *Zampieri S., Cattarossi S., Bembi B., Dardis A.* GBA Analysis in Next Generation Era: Pitfalls, Challenges, and Possible Solutions. *J. Mol. Diagn.* 19(5): 733–741. 2017.
  52. *Dandana A., Ben Khelifa S., Chahed H., Miled A., Ferchichi S.* Gaucher Disease: Clinical, Biological and Therapeutic Aspects. *Pathobiology.* 83: 13–23. 2016.
  53. *Alcalay R.N., Dinur T., Quinn T.* Comparison of Parkinson risk in Ashkenazi Jewish patients with Gaucher disease and GBA heterozygotes. *JAMA Neurol.* 71: 752–757. 2014.
  54. *Lwin A., Orvisky E., Goker-Alpan O., LaMarca M.E., Sidransky E.* Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol. Genet. Metab.* 81: 70–73. 2004.
  55. *Cuervo A.M., Stefanis L., Fredenburg R.* Impaired degradation of mutant asynuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science.* 305: 1292–1295. 2004.
  56. *Alcalay R.N., Levy O.A., Waters C.C., Fahn S., Ford B., Kuo S.H., Mazzoni P., Pauciulo M.W., Nichols W.C., Gan-Or Z., Rouleau G.A., Chung W.K., Wolf P., Oliva P., Keutzer J., Marder K., Zhang X.* Glucocerebrosidase activity in Parkinson’s disease with and without GBA mutations. *Brain J. Neurol.* 138(9): 2648–2658. 2015.
  57. *Gan-Or Z., Amshalom I., Kilarski L.L., Bar-Shira A., Gana-Weisz M., Mirelman A., Marder K., Bressman S., Giladi N., Orr-Urtreger A.* Differential effects of severe vs mild GBA mutations on Parkinson disease. *Neurology.* 84(9): 880–887. 2015.
  58. *Anheim M., Elbaz A., Lesage S., Durr A., Condroyer C., Viallet F., Pollak P., Bonanti B., Bonanti-Pellii C., Brice A., French Parkinson Disease Genetic Group.* Penetrance of Parkinson disease in glucocerebrosidase gene mutation carriers. *Neurology.* 78(6): 417–420. 2012.
  59. *Robak L.A., Jansen I.E., van Rooij J., Uitterlinden A.G., Kraaij R., Jankovic J., International Parkinson’s Disease Genomics Consortium (IPDGC), Heutink P., Shulman J.M.* Excessive burden of lysosomal storage disorder gene variants in Parkinson’s disease. *Brain.* 140: 3193–3203. 2017.
  60. *Pchelina S., Emelyanov A., Baydakova G., Andoskin P., Senkevich K., Nikolaev M., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Fedotova E., Abramychcheva N., Usenko T., Kulabukhova D., Lavrinova A., Kopytova A., Garaeva L., Nuzhnyi E., Illarioshkin S., Zakharova E.* Oligomeric  $\alpha$ -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson’s disease. *Neurosci. Lett.* 636: 70–76. 2017.
  61. *Pchelina S., Baydakova G., Nikolaev M., Senkevich K., Emelyanov A., Kopytova A., Miliukhina I., Yakimovskii A., Timofeeva A., Berkovich O., Fedotova E., Illarioshkin S., Zakharova E.* Blood lysosphingolipids accumulation in patients with parkinson’s disease with glucocerebrosidase 1 mutations. *Mov. Disord.* 33(8): 1325–1330. 2018.
  62. *Guedes L.C., Chan R.B., Gomes M.A., Conceição V.A., Machado R.B., Soares T., Xu Y., Gaspar P., Carrizo J.A., Alcalay R.N., Ferreira J.J., Outeiro T.F., Miltenberger- Miltenyi G.* Serum lipid alterations in GBA-associated Parkinson’s disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* pii: S1353-8020(17)30322. 2017.
  63. *Nuzhnyi E., Emelyanov A., Boukina T., Usenko T., Yakimovskii A., Zakharova E., Pchelina S.* Plasma oligomeric alpha-synuclein is associated with glucocerebrosidase activity in Gaucher disease. *Mov. Disord.* 30(7): 989–991. 2015.
  64. *Pchelina S.N., Nuzhnyi E.P., Emelyanov A.K., Boukina T.M., Usenko T.S., Nikolaev M.A., Sa-logub G.N., Yakimovskii A.F., Zakharova E.Y.* Increased plasma oligomeric alpha-synuclein in patients with lysosomal storage diseases. *Neurosci. Lett.* 583: 188–193. 2014.

65. Taguchi Y.V., Liu J., Ruan J., Pacheco J., Zhang X., Abbasi J., Keutzer J., Mistry P.K., Chandra P.K. Glucosylsphingosine Promotes  $\alpha$ -Synuclein Pathology in Mutant GBA-Associated Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 37(40): 9617–9631. 2017.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1525-17.2017>

### Blood Lysosphingolipids in the Diagnosis of Diseases Associated with Lysosomal Dysfunction

T. S. Usenko<sup>a, b</sup>, G. V. Baydakova<sup>c</sup>, E. Y. Zakharova<sup>c</sup>, and S. N. Pchelina<sup>a, b, \*</sup>

<sup>a</sup>*Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia*

<sup>b</sup>*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*

<sup>c</sup>*Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia*

\**e-mail: sopchelina@hotmail.com*

Lysosphingolipids are an N-deacetylated form of sphingolipids. Lysosphingolipids are considered as potential biomarkers of lysosomal storage disorders (LSD) such as Gaucher disease (GD), Fabry disease (FD), Krabbe disease (KD), and Nimann–Peak disease (NPD) as well as extremely rare LSD as GM1 and GM2 gangliosidoses. To date, there are various methods for assessing lysosphingolipid levels in blood plasma. However, one of the most promising is liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) that allows simultaneous assessment of the concentration of several lysosphingolipids (HexSph, LysoGb3, LysoGM1, LysoGM2, LysoSM and LysoSM509) in plasma, urine, dried blood spots. Despite the fact that the assessment of lysosphingolipids in blood plasma is the gold standard, the LC/MS/MS method in dried blood spots is a fast and reliable method for evaluation of lysosphingolipid profile in patients as a consequence identifying LSDs such as GD (HexSph), FD (LysoGb3), prosaposin deficiency (HexSph, LysoGb3), NPD type A/B and C (LysoSM and LysoSM509). Diagnostics of a number of LSDs by measuring of the lysosphingolipid concentrations in blood by LC/MS/MS is currently being carried out at the Research Center for Medical Genetic in Moscow. We used this method to assess the lysosphingolipid levels in Parkinson's disease associated with a mutations in the gene encoding lysosomal enzyme called glucocerebrosidase (GBA-PD). For the first time, increased level of HexSph (galactosylsphingosine (GalSph) and glucosylsphingosine (GlcSph) in blood of GBA-PD patients was shown that proposes us to make an assumption about the mechanism of GBA-PD pathogenesis. The possible involvement of these metabolites in the stabilization of neurotoxic forms of alpha synuclein in PD is discussed.

*Keywords:* lysosphingolipids, LC/MC/MS, lysosomal storage disorders, Parkinson's disease

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Усенко Т.С., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Пчелина С.Н. Лизосфинголипиды крови в диагностике заболеваний, ассоциированных с дисфункцией лизосом. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 106(8): 952–963.

DOI: 10.31857/S0869813920080105

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Usenko T.S., Baydakova G.V., Zakharova E.Y., Pchelina S.N. Blood Lysosphingolipids in the Diagnosis of Diseases Associated with Lysosomal Dysfunction. *Russian Journal of Physiology.* 106(8): 952–963.

DOI: 10.31857/S0869813920080105