
ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ НАРУШЕНИЙ ЦНС
ПРИ РАЗВИТИИ БОЛЕЗНЕЙ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ

© 2023 г. А. С. Лебедев^{1, 2, 3}, М. М. Котова², Т. О. Колесникова²,
Д. С. Галстян^{1, 3, 4}, А. В. Калусев^{1, 2, 3, 4, 5, 6, *}

¹Научный центр мирового уровня “Центр персонализированной медицины”,
Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ,
Санкт-Петербург, Россия

²Направление “Нейробиология”, Научный центр генетики и наук о жизни,
Научно-технологический университет “Сириус”, Федеральная территория Сириус, Россия

³Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

⁴Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
им. акад. А.М. Гранова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁵Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁶НИИ нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

*E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 27.03.2023 г.

После доработки 09.08.2023 г.

Принята к публикации 09.08.2023 г.

Болезни лизосомального накопления (БЛН) представляют собой группу орфанных заболеваний, вызванных недостаточностью ферментов лизосом, в результате чего происходит накопление непереваренного материала в клетках и повреждаются ткани. Различаясь по типу накопленного материала (белки, липиды или углеводы), БЛН также чрезвычайно разнообразны по своей клинической картине. При этом наиболее частым проявлением БЛН является повреждение мозга, приводящее к различным неврологическим дисфункциям. К настоящему моменту известно более 70 БЛН, для которых практически не существует эффективной терапии. Настоящий обзор посвящен обсуждению существующих БЛН, их последствий для мозга, а также значению экспериментальных (животных) моделей для выяснения механизмов их патогенеза и поиска новых средств терапии.

Ключевые слова: болезни лизосомального накопления, лизосомы, ферментопатии, нарушения ЦНС, животные модели

DOI: 10.31857/S0869813923110080, **EDN:** GNDEZV

ВВЕДЕНИЕ

Болезни лизосомального накопления (БЛН) представляют собой группу редких генетических заболеваний (табл. 1), вызванных дисфункцией лизосомальных ферментов клетки [1]. В результате этих дисфункций нарушается аутофагия и происходит накопление непереваренного клеточного материала (белков, углеводов или липидов), вызывая повреждение различных тканей, в том числе центральной нервной системы (ЦНС) [2]. БЛН представляют собой обширный кластер заболеваний, объединенных общей этиологией (нарушением работы клеточных лизосом), которые классифицируются в зависимости от природы накапливаемого ве-

Таблица 1. Отдельные болезни лизосомального накопления (БЛН) и их встречаемость в общей популяции

Заболевания	Частота встречаемости
Болезнь Гоше	1 : 40 000—1 : 60 000
Болезнь Фабри	1 : 40 000—1 : 120 000
Метахроматическая лейкодиistroфия	1 : 40 000—1 : 160 000
Болезнь Помпе	1 : 60 000—1 : 140 000
Нейрональные цероидные липофуцинозы	1 : 100 000
Болезнь Краббе	1 : 100 000
Синдром Германски—Пудлака	1 : 500 000
Аспартилглюкозаминурия	Менее 1 : 500 000

щества на мукополисахаридозы, сфинголипидозы, ганглиозидозы, гликогенозы, липофуцинозы и гликопротеинозы [1]. К настоящему моменту известно более 70 БЛН, для которых практически не существует эффективной терапии. При этом возраст манифестации заболевания, тяжесть его течения и типичная клиническая картина могут меняться в зависимости от типа болезни. Практически для всех БЛН характерны органомегалия (особенно селезенки и печени), акромегалия, проблемы с опорно-двигательной системой, а также нарушения функционирования почек, органов пищеварения, сердца и проблемы со зрением [3, 4]. В целом, для БЛН характерна крайне высокая степень инвалидизации пациентов, а также высокая смертность (часто в раннем возрасте) и прогрессирующее течение заболевания [1].

Несмотря на то, что БЛН различаются по природе накапливающихся продуктов обмена и имеют различные клинические проявления, у них также есть множество общих симптомов. Например, при БЛН часто наблюдаются нарушения ЦНС разной степени тяжести, а также проблемы в психоэмоциональной сфере, деменция и моторные дефициты [3, 4]. Частыми признаками пациентов с БЛН являются также задержка психомоторного развития, умственная отсталость, а также различные неврологические симптомы, в том числе судороги, гипотония, атаксии и гиперрефлексия [4]. В совокупности, эти данные указывают на то, что ЦНС является важной мишенью при патогенезе БЛН, и что на нее также может быть направлена терапия данных заболеваний.

КЛИНИКА И МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА БЛН

Болезнь Гоше является наиболее распространенной БЛН, и вызвана мутацией гена *GBA*, кодирующего β -глюкоцереброзидазу, что приводит к неконтрольному накоплению глюкоцереброзида и вызывает органомегалию, поражение почек и легких, а также прогрессирующее поражение ЦНС [2]. Болезнь Гоше является наследственным заболеванием, передающимся по аутосомно-рецессивному типу. Тип 1 болезни — самый распространенный и тяжелый, характеризуется полным дефицитом данного фермента и вызывает увеличение печени и селезенки, костные деформации, нарушение нервной системы и задержку развития [5]. Тип 2 болезни Гоше характеризуется преждевременным летальным исходом и связан с дефицитом фермента. Его симптомы развиваются в раннем возрасте и прогрессируют быстро, обычно приводя к смерти в возрасте до двух лет [6]. Тип 3 болезни также

имеет раннее начало, характеризуется частичным дефицитом глюкоцереброзидазы и вызывает задержку развития, костные деформации, нарушение двигательных функций, атаксии и слабоумие [5].

При болезни Краббе происходит поражение миелиновой оболочки нервных клеток, приводя к прогрессирующей демиелинизации, что, в свою очередь, вызывает когнитивные и психомоторные нарушения, проблемы со зрением, гиперактивность и снижение интеллекта [7]. Болезнь Краббе вызвана мутацией гена *GALC*, кодирующего цереброзид- β -галактозидазу, фермент синтеза цереброзидов [2]. В результате в клетке накапливается галактозилцерамид, моногалактозилдиглицерид и галактозилсфингозин, что приводит к демиелинизации, нейротоксичности, гибели олигодендроцитов и появлению глобоидных клеток в нейроглии. Также из-за отсутствия фермента и неконтролируемого накопления в лизосомах клеток белого вещества неразрушенных молекул, возрастает количество лизосом, что приводит к разрушению и смерти клеток ЦНС [7]. Симптомы болезни Краббе могут варьировать в зависимости от формы заболевания и возраста его появления. Основные признаки данной БЛН включают задержку психомоторного развития, проблемы с двигательными функциями, мышечную слабость, спастичность мышц, нарушения зрения и слуха, а также прогрессирующую потерю когнитивных способностей [2, 7]. У некоторых пациентов симптомы могут начаться уже в раннем детстве и быстро прогрессируют, приводя к смерти в течение первых нескольких лет жизни (ранняя инфантильная форма). У других симптомы болезни могут начаться позже и прогрессировать медленнее, что позволяет им жить дольше (поздняя инфантильная или ювенильная форма) [2, 7]. На данный момент отсутствуют эффективные методы лечения болезни Краббе.

Болезнь Фабри представляет собой гликофинголипидоз, наследуемый сцепленно с X-хромосомой, и вызванный дефицитом кодируемой геном *GLA* α -галактозидазы А. Это приводит к прогрессирующему накоплению глоботриаозилцерамида внутри лизосом, неспецифически повреждая различные системы органов [2, 8]. Симптомы болезни Фабри варьируют в зависимости от формы заболевания и возраста ее манифестации и обычно включают хроническую боль, нарушения функции почек и сердечно-сосудистой системы, изменения в нервной системе, а также прогрессирующую потерю когнитивных способностей. На данный момент для болезни Фабри нет терапии, хотя определенную пользу приносит заместительная терапия α -галактозидазой А [9].

Болезнь Помпе (гликогеноз типа II) является редким наследственным заболеванием, вызванным мутацией *GAA* и дефицитом α -глюкозидазы, необходимой для разрушения гликогена, в результате чего он накапливается в лизосомах клеток различных тканей и органов [2]. Симптомы болезни Помпе могут быть различными. У новорожденных детей с ранней формой болезни Помпе наблюдаются серьезные проблемы с дыханием, мышечная гипотония, нарушения пищеварения и сердечной деятельности. У пациентов с поздней формой болезни симптомы могут начаться позже в жизни и прогрессировать медленнее [10]. При данной болезни применяется заместительная терапия α -глюкозидазой, помогающая частично метаболизировать патологически отложенный гликоген [11].

Нейрональные цероидные липофусцинозы (НЦЛ) представляют собой группу редких генетических заболеваний, которые характеризуются накоплением токсичного пигмента липофусцина в клетках различных органов, включая нервную систему [12]. НЦЛ вызваны мутациями в генах, кодирующих различные (как гидролитические, так и структурные) лизосомальные белки. Общим для всех расстройств данной группы является атрофия тканей и неврологические нарушения [12]. У паци-

ентов с НЦЛ также отмечают судорожные припадки эпилептического типа, снижение зрения, атаксию, микроцефалию, галлюцинации и психомоторную дегенерацию [2]. НЦЛ обычно проявляются в детском или подростковом возрасте и прогрессируют со временем. Как и для других БЛН, в настоящее время отсутствуют эффективные методы лечения данных заболеваний.

Мукополисахаридозы являются редкими генетическими заболеваниями, вызванные мутациями генов ферментов метаболизма мукополисахаридов [4]. При этом происходит накопление мукополисахаридов в различных тканях и органах, особенно в ЦНС [2]. Все формы мукополисахаридозов являются хроническими и прогрессирующими заболеваниями, которые могут оказывать серьезное воздействие на качество жизни пациентов. Лечение данных расстройств включает поддерживающую терапию и управление симптомами. Некоторые формы мукополисахаридозов также могут корректироваться специфической ферментной заместительной терапией или трансплантацией костного мозга [13, 14].

Метахроматическая лейкодистрофия представляет собой наследственное заболевание, вызванное дефицитом арилсульфатазы А, который приводит к накоплению цереброзид-3-сульфата в миелиновых оболочках нервных волокон. Это способствует разрушению миелина и ухудшению функционирования нервной системы [15]. Симптомы болезни могут начаться в детском или взрослом возрасте и включают в себя изменения поведения, задержку психомоторного развития, потерю моторных навыков и проблемы со зрением и слухом [16]. Лечение метахроматической лейкодистрофии включает в себя трансплантацию костного мозга и генетическую терапию [15].

Болезнь Данона затрагивает различные системы органов в результате мутации гена *LAMP2*, необходимого для нормальной работы клеток [17]. Болезнь Данона проявляется у мужчин в раннем детстве и может привести к задержке психомоторного развития, мышечной слабости, сердечной недостаточности, повышенному содержанию ферментов печени и другим проблемам. У женщин с мутацией гена *LAMP2* болезнь может проявляться в более легкой или асимптоматичной форме [17]. Лечение болезни Данона преимущественно направлено на устранение симптомов. При болезни Санфилиппо, в силу нехватки специфических лизосомальных ферментов, в организме повышается концентрация продуктов распада гепарансульфата, оказывающих токсическое воздействие на ЦНС. Метаболиты накапливаются в нейронах мозга, приводя к увеличению размеров лизосом, дистрофии отростков и истончению миелиновой оболочки нейронов [27]. При болезни Ниманна–Пика (тип С) пациенты (а также мыши с нокаутом гена *NPC1*, ассоциированного с данной БЛН) формируют лизосомальные запасы холестерина и других липидов, а также мембраны с измененным липидным составом. Динамика содержания липидов в мембранах при болезни Ниманна–Пика может способствовать изменению функционирования рецепторов глутамата, поскольку холестерин играет важную роль в организации и функционировании липидных рафтов [32, 33].

Некоторые БЛН, особенно мукополисахаридозы и гликогенозы, имеют относительно высокую встречаемость (табл. 1). В целом, на каждые 5000–8000 новорожденных в мире приходится примерно один случай БЛН. Однако частота возникновения каждой отдельной БЛН сильно варьирует [1, 8]. Распространенность БЛН (например, болезни Фабри) может также различаться по полу – 1 : 40 000 у мужчин и 1 : 20 000 у женщин [8, 9, 18]. Болезнь Гоше встречается у 1 : 40 000–1 : 60 000 новорожденных, а у евреев-ашкенази ее частота встречаемости – 1 : 800 [5]. В США частота болезни Краббе составляет 1 случай на 100 000 [19], в скандинавских странах – на 50 000 [20], а среди палестинских арабов – на 6000 новорожденных [7, 21].

Метахроматическая лейкодистрофия встречается с частотой 1 : 40000–160000, однако среди евреев-хаббанитов — на порядок чаще [15]. Частота встречаемости болезни Помпе — 1 : 60000 с поздним началом, и 1 : 140000 у пациентов с классической инфантильной формой [22]. Распространенность различных НЦЛ также варьирует в зависимости от популяции и этноса, глобально оцениваясь как 1 : 100000 [1], 1.6–2.4 в США и 2–7 в Скандинавии [12], см. также [23, 24] и табл. 1. Обычно БЛН наследуются по аутосомно-рецессивному механизму [2], за исключением сцепленных с X-хромосомой БЛН (болезни Данона [17], Фабри [25] и синдром Хантера [26]). Одной из главных особенностей всех БЛН является выраженная мультисистемность наносимого ими повреждения, почти всегда затрагивающая ЦНС [3].

НАРУШЕНИЯ ЦНС ПРИ БЛН

Следствием мультисистемности влияния БЛН на организм пациента является поражение ЦНС (в результате накопления токсичных веществ в нейронах или нейроглии), нарушение нейротрансмиссии, либо опосредованное воздействие на ЦНС. Например, при болезни Санфилиппо прогрессирующее накопление продуктов распада гепарансульфата провоцирует не только гибель нейронов, но и другие патологические процессы в ЦНС, в том числе нейровоспаление, нейродегенерацию и окислительный стресс [27]. При этом также наблюдаются нарушения и в работе нейромедиаторных систем: например, в модели данной БЛН у мышей наблюдается аксональная дистрофия дофамин- и холинергических, а также содержащих гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК) нейронов [28]. Наконец, дефицит или недостаточная активность определенного лизосомального фермента при БЛН также может вызвать вторичные повреждения и дисфункцию ЦНС [2]. Наиболее часто поражаются базальные ядра головного мозга, гипофиз, а также нервы глаз и спинного мозга, вызывая задержку психомоторного развития, судороги, мотосенсорные нарушения, проблемы с координацией и множественные другие неврологические дисфункции [7].

Поскольку лизосомный аппарат нейронов прямым образом вовлечен в оборот нейромедиаторов при проведении нервного импульса, БЛН влияют и на этот аспект ЦНС. В частности, дисфункция лизосом приводит к повреждению нейронов за счет дисбаланса нейромедиаторов в сторону эксайтотоксичности [29]. Лизосомы также играют роль в транспорте нейромедиаторов внутри нейрона, доставляя их к дендритам шипиков в нейронах, а также в деградации рецепторов, например ГАМК [29, 30]. Нарушение работы лизосомного аппарата нервной клетки может нарушить глутаматергическую нейротрансмиссию, оказывая влияние и на астроциты, которые также являются важным звеном в нейротрансмиссии. Это приводит к нарушению гомеостаза глутамата в астроцитах, и негативно сказывается на астроцитарных переносчиках глутамата [31], например, при болезни Ниманна–Пика [32, 33].

Наконец, влияние БЛН на ЦНС также характеризуется косвенным воздействием патологических процессов в обход метаболических путей самих нейронов, вместо которых страдают клетки и ткани, обеспечивающие их деятельность (например, эпителиальные клетки сосудов мозга при болезни Фабри, при которой нарушается мозговое кровообращение и возникают инсульты и ишемия мозга) [25]. Нарушения ЦНС при этом во многом связаны с сильными болями, которые часто приводят к развитию депрессии и тревоги у пациентов. Эффективность утилизации глюкозы нейронами мозга также снижена у пациентов с болезнью Фабри, позволяя

предположить, что нарушение энергетического обмена способствует неврологическим нарушениям при данной БЛН [34].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БЛН

Модели на животных широко используются для изучения БЛН. Так, число исследований БЛН с использованием грызунов с каждым годом стремительно растет благодаря возможности создания нокаутов по известным таргетным генам-ортологам. Например, существуют многочисленные модели болезни Гоше на основе генетически модифицированных мышей. В частности, мутанты по гену *GBA* при рождении демонстрируют недостаточную массу тела, цианоз, аномальное дыхание, проблемы с питанием и сниженную двигательную активность, умирая в течение 24 ч после рождения [35]. У животных с генетически сниженной активностью глюкоцереброзидазы в мозге (до 25%) в разных органах и тканях появляются клетки Гоше (макрофаги, насыщенные липидами) и отмечается прогрессирующее накопление глюкозилцерамида [36, 37].

Подобные подходы применяются и для моделирования болезни Краббе, одной из лучших моделей которой являются мыши линии “Twitcher”, демонстрирующие практически идентичные неврологические проявления, наблюдаемые у людей с данным заболеванием. В тканях мозга и печени этих мышей наблюдается недостаток активности галактозилцерамидазы и лактозилцерамидазы I, как и при болезни Краббе человека [38]. И хотя они фенотипически нормальны при рождении, уже к 3 неделям эти мыши развивают генерализованный тремор и ослабление мышечного тонуса, приводящее к истощению и смерти (к 3 месяцам) в связи с прогрессирующей демиелинизацией нейронов [39], представляя собой биохимически и клинически валидный аналог болезни Краббе человека [38].

Как и при метахроматической лейкодиетрофии человека, линия мышей с дефицитом цереброзидсульфатазы накапливает сфинголипиды в различных тканях организма, включая нервную [16]. Хотя у больных людей наблюдаются сходные характеристики накопления, грубые дефекты белого вещества не выявлялись до достижения двухлетнего возраста. При этом годовалые мыши демонстрируют астроглиоз, уменьшение поперечного сечения аксонов, а также изменение морфологии дендритов клеток Пуркинье на фоне нарушений нейромоторной координации [16].

Для создания экспериментальной модели болезни Помпе у мышей нокаутирован ген кислой α -глюкозидазы в эмбриональных стволовых клетках [40]. Гомозиготные мыши с нокаутом по этому гену демонстрируют лизосомы, содержащие гликоген, вскоре после рождения в клетках сердечной ткани, печени и скелетных мышц. К возрасту 13 нед. у них формируются крупные очаговые отложения гликогена, а вакуолярные пространства окрашиваются положительно на кислую фосфатазу, что является характерным признаком лизосомальной патологии [40]. При нокауте к возрасту трех с половиной недель наблюдается значительное снижение подвижности и мышечной силы, развивающиеся позже в атрофию [41]. Для моделирования модели Данона создана линия мышей-нокаутов по гену, кодирующему LAMP2, из-за дефицита которого и обусловлена данная БЛН у человека [42]. Отсутствие LAMP2 в мышечном мозге вызывает реакции нейровоспаления, психомоторные нарушения и снижение обучения, что указывает на нарушение функционирования гиппокампа, вызванное неправильной работой лизосом и патологическим накоплением липидных молекул в его клетках [42].

НЦЛ также успешно смоделированы на грызунах. Например, в качестве модели НЦЛ первого типа используют мышей с нокаутом гена пальмитоил-протеин тиоэстеразы 1 — фермента, отсутствие которого обуславливает данный подтип НЦЛ у человека. Полученные нокаутные мыши повторяют многие патологические признаки, наблюдаемые у пациентов — накопление аутофлуоресцентных отложений в нейронах, тяжелые и прогрессирующие нейродегенеративные процессы в мозге, психомоторные нарушения, судороги и короткая продолжительность жизни [43]. Для создания моделей НЦЛ типов 2 и 3 используются линии мышей, нокаутные по генам *CLN2* и *CLN3*, ответственные за синтез ферментов, недостаток которых ассоциирован с данными подтипами БЛН человека. Например, мыши, нокаутные по гену *CLN3*, проявляют патологические признаки, которые имеют сходство с клиническими проявлениями НЦЛ: нарушение поведения, накопление лизосомных аутофлуоресцентных запасающих телец, повреждения сетчатки и сокращение продолжительности жизни [44]. У мышей-нокаутов по гену *CLN3*, также наблюдаются характерные аутофлуоресцентные отложения в тканях, отклонения неврологического характера, прогрессирующие со временем, снижение двигательной активности и судороги [45].

Использование грызунов в исследованиях БЛН, несомненно, имеет свои ограничения, которые могут повлиять на общую интерпретацию результатов. Например, не все БЛН могут быть полностью смоделированы у грызунов, поскольку некоторые аспекты патологии и симптомы, характерные для конкретной формы БЛН, могут быть недоступными для воссоздания у крыс и мышей или проявляться недостаточно четко. Функциональные и метаболические характеристики лизосом грызунов также могут отличаться от человеческих лизосом, влияя на метаболические пути и обработку молекул внутри клеток. Несмотря на это, грызуны являются ценными модельными организмами для исследования БЛН, способствуя развитию как фундаментальных знаний о механизмах этих заболеваний, так и разработке более эффективных методов диагностики и терапии.

МОДЕЛИРОВАНИЕ БЛН НА РЫБАХ ЗЕБРАДАНИО

Важным лабораторным животным для эффективного моделирования болезней ЦНС является зебраданио (*Danio rerio*) — вид пресноводных рыб, который широко используется в биомедицинских исследованиях [46]. Имея лизосомную систему, сходную с системой лизосом человека, зебраданио также подвержены различным заболеваниям, связанными с дисфункцией лизосом, что делает их потенциально ценным модельным организмом для изучения БЛН [47]. Например, на зебраданио можно изучать как генетические факторы, так и факторы окружающей среды, влияющие на функционирование лизосом, а также обнаруживать новые гены и биомаркеры БЛН. В частности, моделируя модель Гоше на зебраданио, нокаутируют ген *GBA*, частичная или полная утрата функций которого нарушает дифференцировку остеобластов и минерализацию костей [48], но при этом не наблюдаются неврологические нарушения.

Для создания модели болезни Краббе на рыбах созданы линии, нокаутные по генам, аналогичным человеческому гену *GALC*. У данных рыб отмечен повышенный апоптоз в нервной ткани, но не замечено накопления галактозилцерамида, что отличается от данных, полученных на человеке и грызунах, и позволяет изучать патогенез болезни Краббе в обход неконтролируемого накопления галактозилцерамида и вытекающей из этого нейротоксичности [49]. Модель болезни Помпе на зебраданио использует мутацию гена кислой α -глюкозидазы, что приводит к избыточному

накоплению гликогена в клетках печени, мозга и мышц, в целом напоминая клинический фенотип болезни [45, 50].

При моделировании болезни Данона у рыб с нокаутом по гену *LAMP2* описан кардиологический фенотип, в том числе нарастание плотности вакуолей в клетках сердечной мышцы (характерный признак аутофагии), сердечная недостаточность (снижение переносимости физической нагрузки, увеличение размеров предсердий и притупление β -адренергической сократительной реакции), а также ряд неврологических нарушений (нервно-мышечные дефекты, выражающиеся в учащенном поворачивании и кружении) [51]. Модель НЦЛ второго типа базируется на нехватке пальмитоил-протеинтиоэстеразы 1 в организме зебрании. Рыбы-мутанты по гену данного фермента демонстрируют выраженную нейродегенерацию, микроцефалию, апоптоз в сетчатке и мозжечке, сокращением продолжительности жизни и аномальным увеличением лизосом [52]. Аналогично, для создания модели НЦЛ типа 3 на зебрании использован нокаут гена *CLN3*, воспроизводящий патологические признаки этого заболевания человека — снижение продолжительности жизни, аксонопатию, моторные нарушения вплоть до полной потери подвижности, смерть нервных клеток, ретинопатию, и судороги [53].

В целом, зебрания являются привлекательным модельным объектом для изучения БЛН. Дополнительным их преимуществом являются прозрачные эмбрионы, которые позволяют легко визуализировать процессы развития организма и повреждение отдельных органов и тканей. Также к настоящему моменту существует широкий спектр поведенческих и токсикологических тестов как на взрослых особях зебрании, так и на личинках. Существуют также валидированные цитотоксические тесты на эмбрионах, которые позволяют оценить целостность лизосомальных мембран [54]. Все это является основой, позволяющей проводить высокоэффективный скрининг различных препаратов на модели зебрании, в частности при поиске терапевтических средств. Так, к настоящему моменту уже существует ряд молекул, изученных на зебрании и дошедших до стадии клинических испытаний. К таким веществам относятся модификация молекулы PROTO-1 (которая может использоваться для профилактики ототоксичности), клемизол (потенциальный терапевтический препарат при генетической эпилепсии) и вемурафениб (который может использоваться при артериовенозной малформации) [55]. Данные примеры иллюстрируют успешное применение модели зебрании при поиске потенциальных терапевтических препаратов, что особенно актуально для БЛН.

В модели сфинголипидоза на зебрании показано, что потеря миелина сопровождается нейровоспалением и усилением передачи через NF κ B и Jak-Stat путь. Таким образом, ингибиторы NF κ B/Jak-Stat могут рассматриваться в качестве потенциальных терапевтических агентов при данных патологиях [56]. Релевантность моделей БЛН на зебрании в целом подтверждается воспроизведением симптоматики болезней, наблюдаемой у человека. Так, например, гепатомегалию и нарушение работы почек можно проследить в модели синдрома Чедиака—Хигаси, в которой нокаутируется ген регулятора переноса лизосом. Также гепатомегалия и нарушение опорно-двигательной системы наблюдаются в модели мукополисахаридоза, а нарушения в работе зрительной системы в модели муколипидоза типа IV. При этом, как и в клинике, большинство экспериментальных моделей БЛН демонстрируют нарушение развития нервной системы и поведения зебрании [57].

Модель зебрании также подходит для изучения метаболизма липидов, поскольку у рыб наблюдается экспрессия консервативных генов метаболизма липидов, например, кодирующих микросомальный белок-переносчик триглицери-

дов, липопротеина, холестерина и аполипопротеина С2 [58–60]. Кроме того, существуют модели нарушений обмена липидов у зебраданио, в частности раннего атеросклероза [61]. Тот факт, что зебраданио является хорошей моделью для изучения метаболизма липидов увеличивает применимость данного модельного объекта и при изучении БЛН, так как значительная часть этих болезней связана с нарушением липидного обмена, в частности при сфинголипидозах, муколипидозах и НЦЛ [57].

Зебраданио также успешно применяются для изучения роли микроглии в патогенезе ЛБН, например, муколипидоза IV типа, который при окрашивании мозга пациентов проявляется гистологически как аномальная морфология микроглии. Интересно, что другие модельные объекты не всегда подходят для исследования данного феномена. В частности, у мутантных мышей с моделью муколипидоза, которым трансплантировали клетки костного мозга дикого типа, отмечается уменьшение выраженности симптомов (двигательной недостаточности), но эффективность восстановления микроглии оказалась низкой [62]. Подобные работы проводились и на плодовых мушках, однако отсутствие у них микроглии осложняет интерпретацию полученных фенотипов [63]. Наоборот, у зебраданио модель муколипидоза обнаруживает не только фенотипы патологии, но и ухудшение взаимодействия между микроглией и нейронами [64].

Интересным вопросом при моделировании БЛН является функционирование митохондриально-лизосомальной оси. Известно, что лизосомы участвуют в аутофагии, необходимой для избавления от дисфункциональных митохондрий, при нарушении которой в клетке происходит накопление дефектных митохондрий [65]. При БЛН наблюдается изменение не только числа, но и морфологии митохондрий, в частности, их фрагментация или удлинение, а также нарушение функционирования мембраны и дыхательной цепи, что, в свою очередь, приводит к нарушению синтеза АТФ [66]. Подобные изменения показаны в модели нокаута сульфатазо-модифицирующего фактора 1 [67] и в модели ганглиозидоза на мышах [68]. При болезни Гоше у человека также наблюдается нарушение работы электрон-транспортной цепи митохондрий и снижение синтеза АТФ [69]. Соответственно восстановление митохондриальной функции уменьшает дефекты β -глюкоцереброзидазы при болезни Гоше [69]. Зебраданио могут успешно использоваться в качестве модельного объекта при изучении функционирования митохондриально-лизосомной оси. Например, существует модель трансгенных зебраданио с флуоресцентно помеченными митохондриями (MitoFish), что позволяет визуализировать митохондриальную динамику [70].

Тем не менее, изучение БЛН на зебраданио имеет свои ограничения. Например, при коморбидности заболеваний мозга, поскольку часто мутации в генах, ассоциированных с БЛН, параллельно могут быть связаны и с нейродегенеративными расстройствами. В частности, болезнь Гоше часто ассоциирована с болезнью Паркинсона, которая проявляется не только у людей, страдающих БЛН, но и у бессимптомных носителей [71]. С одной стороны, подобное неспецифическое перекрывание патогенеза и признаков различных БЛН также может осложнить моделирование отдельных заболеваний на зебраданио. С другой стороны, не исключена возможность изучения клинически важных и потенциально синергичных процессов при коморбидности БЛН и нейродегенеративных расстройств ЦНС.

Еще одной биологической особенностью зебраданио является высокий уровень нейрогенеза и нейрорегенерации, и преобладание радиальной глии [72], что может создать определенные проблемы при моделировании БЛН у рыб и интерпретации полученных результатов. Тем не менее, ряд коморбидных заболеваний модель зеб-

раданию успешно воспроизводит, например, при нокауте генов ортологов, ассоциированных с болезнями Гоше, Тея—Сакса и метахроматической лейкодистрофии, получается фенотип, который имеет повышенную чувствительность к *Mycobacterium marinum*, возбудителю туберкулезо-подобной инфекции у рыб. Такая чувствительность объясняется снижением миграции макрофагов и микроглии вследствие дисфункции лизосом и накопления в них непереваренного материала. Возможно, этот механизм связан и с патогенезом других заболеваний при БЛН, включая нейродегенерацию и злокачественные образования [73].

Данный пример поднимает еще одну проблему — важность создания валидированных фармакологических моделей БЛН в дополнение к генетическим. Например, повышение вакуализированности макрофагов и их аномальной миграции может быть достигнуто инъекцией непереваренных лизосомами гранул [73]. Создание фармакологических моделей возможно и для болезни Гоше. Так, воздействие ксилозида циклофеллитолла на эмбрионы зебраданию вызывает накопление глюкозилсфингозина, что является признаком данной БЛН [74]. Тем не менее необходимость создания таких моделей остается дискуссионной. С одной стороны, фармакологические модели сильно экономят время, затрачиваемое на создание генетической модели [57]. С другой стороны, генетические модели лучше подходят как для изучения механизмов, так и для подбора терапии БЛН, поскольку причины их возникновения у человека носят генетический характер и присутствуют с самого рождения.

Дополнительно необходимо отметить дупликацию генома, специфичную для костистых рыб, благодаря которой 6 из 23 генов, ассоциированных с БЛН у зебраданию, представлены несколькими ортологами [57]. Например, для экспериментального муколипидоза, тяжелая патология на зебраданию наблюдается только в случае двойной мутации [75]. Таким образом, с одной стороны, процесс создания моделей таких БЛН усложняется, поскольку необходимо понимать биологическую роль ко-ортологов гена, ассоциированного с БЛН в организме зебраданию, чтобы определить какой мутант, одиночный или двойной, будет наиболее точно воспроизводить патологию. С другой стороны, это может стать и уникальным преимуществом моделей БЛН на зебраданию, позволяющим подробнее изучить патологию в широком диапазоне проявлений, в том числе в более мягких ее формах — например, если у двойных мутантов наблюдается летальность или высокая токсичность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существующие экспериментальные модели БЛН на животных, прежде всего основанные на создании нокаутов у мышей, успешно воспроизводят патологию ряда БЛН, в том числе вызываемые ими нарушения ЦНС. Новые альтернативные модельные организмы, например, рыбы зебраданию, являются перспективным объектом для высокоэффективного фармакологического скрининга и уже используются для поиска потенциальных лекарственных агентов. Их дальнейшее более широкое применение позволит улучшить трансляционную значимость изучения патологии и подбора терапии БЛН, а также новые эффективные генетические (нокаутные или трансгенные) модели данных заболеваний. Наконец, многие из существующих открытых вопросов в области изучения центральных механизмов патогенеза БЛН (табл. 2) могут быть успешно решены при помощи широкого использования экспериментальных моделей данных патологий.

Таблица 2. Отдельные открытые вопросы, связанные с изучением патогенеза и моделированием патогенеза болезней лизосомального накопления (БЛН)

	Вопросы
•	Почему при БЛН так сильно варьирует возраст начала заболевания [1]?
•	Так как фенотип болезней варьирует у близнецов, предполагается участие не только генетических факторов [76]. Какой вклад вносят эпигенетические факторы в патогенез БЛН?
•	Какой вклад вносят экологические факторы в патогенез БЛН?
•	Высокий уровень нейрорегенерации у зебраданио является плюсом, который помогает изучать патологии нервной системы, или мешающим фактором при изучении состояний, ассоциированных с нейрорегенерацией?
•	Создание генетических моделей зебраданио занимает около 6 месяцев, что сопоставимо с созданием генетических моделей грызунов [57]. Каким образом можно увеличить скорость создания генетических моделей БЛН на зебраданио?
•	Как можно выявить генетические детерминанты именно <i>траектории</i> протекания БЛН?
•	Можно ли создать дополнительные фармакологические модели БЛН на грызунах и зебраданио?
•	При изменении уровня экспрессии NMDA-рецептора изменяется продолжительность жизни грызунов в модели болезни Гоше [77]. Какова роль глутаматергической системы в патогенезе болезни Гоше?
•	Каким образом можно преодолеть ограничения, связанные с коморбидностью заболеваний в модели БЛН на зебраданио?
•	Какую роль при развитии БЛН играют нейровоспаление и нейроапоптоз?
•	Уменьшаются ли симптомы патологии при БЛН в случае снижения нейровоспаления в результате терапевтического воздействия?
•	Можно ли скорректировать БЛН путем воздействия на микроглию, учитывая ее активацию при патологиях ЦНС?
•	Показано, что астроглиоз может играть важную роль при развитии ганглиозидозов [78]. Может ли воздействие на астроциты рассматриваться в качестве перспективной терапевтической стратегии этой и других БЛН?
•	Можно ли на модели зебраданио изучить генную терапию в качестве терапевтического подхода при БЛН?
•	Какой из терапевтических подходов при БЛН имеет наибольшую перспективу: ферментозаместительная или генная терапия?
•	Быстрое обнаружение заболевания играет важную роль, особенно в случае болезней ассоциированных с нейрорегенерациями [79]. Какие новые маркеры можно использовать для наиболее раннего обнаружения заболевания?
•	На грызунах показано, что изменение аутофагии при БЛН может быть тканеспецифичным, в одних тканях нарушаясь, а в других усиливаясь [80]. Присутствует ли аналогичное тканеспецифичное изменение аутофагии в организме грызунов и зебраданио?
•	Каким образом можно подобрать терапию БЛН при нарушении аутофагии в одних тканях и усилении в других?
•	Можно ли на модели зебраданио изучить трансплантации гемопоэтических стволовых клеток в качестве терапевтического подхода при БЛН?
•	Могут ли ингибиторы путей NFκB/Jak-Stat использоваться в качестве терапевтических агентов при сфинголипидозах?
•	Каким образом разработать новые антитела, специфичные к белкам аутофагии у зебраданио [81]?
•	Можно ли уменьшить симптомы БЛН путем воздействия на мишень рапамицина млекопитающих (mTOR) и mTOR-сигналинг?
•	Какие методы можно использовать, чтобы исследовать состояние лизосом отдельного человека?

Таблица 2. Окончание

	Вопросы
•	Лизосомы гетерогенны по составу и активности в нормальных условиях. Каким образом разные лизосомы вовлечены в процесс аутофагии?
•	Аналогична ли гетерогенность лизосом у человека гетерогенности лизосом у зебраданио?
•	Каким образом регулируется экспрессия лизосомальных белков-переносчиков и есть ли в данном процессе особенности у зебраданио? Если они есть, могут ли они повлиять на механизмы БЛН или действие терапевтических факторов?
•	Каким образом можно преодолеть доставку лекарств через гемато-энцефалический барьер при терапии БЛН, ассоциированных с нейродегенерацией?
•	Существует ли взаимосвязь между аномальной миграцией макрофагов и возникновением нейродегенераций при БЛН?
•	Болезнь Ниманна–Пика типа С вызвана мутациями в генах лизосомальных белков NPC1 или NPC2, которые участвуют в оттоке холестерина из лизосомального компартмента. В моделях зебраданио мутации этого белка приводят к снижению экспрессии <i>notch3</i> [82]. Какова связь между биодоступностью холестерина и нарушением передачи <i>notch3</i> и может ли <i>notch3</i> быть терапевтической мишенью?
•	LAMP2PA – белок, который перемещает целевые белки цитоплазмы через мембрану при шаперон-опосредованной аутофагии, дефект которого приводит к лизосомальной дисфункции и может являться целью для терапии [83]. Каким образом регулируется работа этого белка в организме зебраданио?

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана субсидией Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2021-301 от 20.04.2022. Коллаборация А.В.К. поддержана Санкт-Петербургским государственным университетом (проект 93020614).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Общая идея работы (А.В.К.), написание и редактирование манускрипта (А.В.К., А.С.Л., М.М.К., Т.О.К., Д.С.Г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffet CJ (2018) Lysosomal storage diseases. Nat Rev Dis Primer 4: 27. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0025-4>
2. Marques ARA, Saffitig P (2019) Lysosomal storage disorders – challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases. J Cell Sci 132: jcs221739. <https://doi.org/10.1242/jcs.221739>
3. Martina JA, Raben N, Puertollano R (2020) SnapShot: Lysosomal Storage Diseases. Cell 180: 602–602. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.017>
4. McKenna MC, Schuck PF, Ferreira GC (2019) Fundamentals of CNS energy metabolism and alterations in lysosomal storage diseases. J Neurochem 148: 590–599. <https://doi.org/10.1111/jnc.14577>
5. Stirmemann J, Belmatoug N, Camou F, Serratrice C, Froissart R, Caillaud C, Levade T, Astudillo L, Serratrice J, Brassier A, Rose C, Billette de Villemeur T, Berger MG (2017) A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. Int J Mol Sci 18: 441. <https://doi.org/10.3390/ijms18020441>

6. *Rosenbloom BE, Weinreb NJ* (2013) Gaucher disease: a comprehensive review. *Crit Rev Oncog* 18: 163–175.
<https://doi.org/10.1615/critrevoncog.2013006060>
7. *Bradbury AM, Bongarzoni ER, Sands MS* (2021) Krabbe disease: New hope for an old disease. *Neurosci Lett* 752: 135841.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135841>
8. *Chan B, Adam DN* (2018) A Review of Fabry Disease. *Skin Ther Lett* 23: 4–6.
9. *Mahmud HM* (2014) Fabry's disease – a comprehensive review on pathogenesis, diagnosis and treatment. *J Pak Med Assoc* 64: 189–194.
10. *Dasouki M, Jawdat O, Almadhoun O, Pasnoor M, McVey AL, Abuzinadah A, Herbelin L, Barohn RJ, Dimachkie MM* (2014) Pompe disease: literature review and case series. *Neurol Clin* 32: 751–776.
<https://doi.org/10.1016/j.ncl.2014.04.010>
11. *Kohler L, Puertollano R, Raben N* (2018) Pompe Disease: From Basic Science to Therapy. *Neurother J* 15: 928–942.
<https://doi.org/10.1007/s13311-018-0655-y>
12. *Nita DA, Mole SE, Minassian BA* (2016) Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Epileptic Disord Int Epilepsy J* 18: 73–88.
<https://doi.org/10.1684/epd.2016.0844>
13. *Parini R, Deodato F* (2020) Intravenous Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidoses: Clinical Effectiveness and Limitations. *Int J Mol Sci* 21: 2975.
<https://doi.org/10.3390/ijms21082975>
14. *Tomatsu S, Alméciga-Díaz CJ, Montañó AM, Yabe H, Tanaka A, Dung VC, Giugliani R, Kubaski F, Mason RW, Yasuda E, Sawamoto K, Mackenzie W, Suzuki Y, Orii KE, Barrera LA, Sly WS, Orii T* (2015) Therapies for the bone in mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab* 114: 94–109.
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.12.001>
15. *van Rappard DF, Boelens JJ, Wolf NI* (2015) Metachromatic leukodystrophy: Disease spectrum and approaches for treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 29: 261–273.
<https://doi.org/10.1016/j.beem.2014.10.001>
16. *Hess B, Saftig P, Hartmann D, Coenen R, Lüllmann-Rauch R, Goebel HH, Evers M, von Figura K, D'Hooge R, Nagels G, De Deyn P, Peters C, Gieselmann V* (1996) Phenotype of arylsulfatase A-deficient mice: relationship to human metachromatic leukodystrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 14821–14826.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14821>
17. *Cenacchi G, Papa V, Pegoraro V, Marozzo R, Fanin M, Angelini C* (2020) Review: Danon disease: Review of natural history and recent advances. *Neuropathol Appl Neurobiol* 46: 303–322.
<https://doi.org/10.1111/nan.12587>
18. *Mehta A, Ricci R, Widmer U, Dehout F, Garcia de Lorenzo A, Kampmann C, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Ries M, Beck M* (2004) Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey. *Eur J Clin Invest* 34: 236–242.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2004.01309.x>
19. *Lantos JD* (2011) Dangerous and expensive screening and treatment for rare childhood diseases: the case of Krabbe disease. *Dev Disabil Res Rev* 17: 15–18.
<https://doi.org/10.1002/ddrr.133>
20. *Hult M, Darin N, von Döbeln U, Månsson J-E* (2014) Epidemiology of lysosomal storage diseases in Sweden. *Acta Paediatr* (103): 1258–1263.
<https://doi.org/10.1111/apa.12807>
21. *Zlotogora J* (1997) Autosomal recessive diseases among Palestinian Arabs. *J Med Genet* 34: 765–766.
<https://doi.org/10.1136/jmg.34.9.765>
22. *Ausems MG, Verbiest J, Hermans MP, Kroos MA, Beemer FA, Wokke JH, Sandkuijl LA, Reuser AJ, van der Ploeg AT* (1999) Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. *Eur J Hum Genet* 7: 713–716.
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200367>
23. *De Jesus Rojas W, Young LR* (2020) Hermansky-Pudlak Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med* 41: 238–246.
<https://doi.org/10.1055/s-0040-1708088>
24. *Aronson NN* (1999) Aspartylglycosaminuria: biochemistry and molecular biology. *Biochim Biophys Acta* 1455: 139–154.
[https://doi.org/10.1016/s0925-4439\(99\)00076-9](https://doi.org/10.1016/s0925-4439(99)00076-9)
25. *Chan B, Adam DN* (2018) A Review of Fabry Disease. *Skin Ther Lett* 23: 4–6.
26. *Tylki-Szymańska A* (2014) Mucopolysaccharidosis type II, Hunter's syndrome. *Pediatr Endocrinol Rev* 12 Suppl 1: 107–113.
27. *Andrade F, Aldámiz-Echevarría L, Llerena M, Couce ML* (2015) Sanfilippo syndrome: Overall review. *Pediatr Int* 57: 331–338.
<https://doi.org/10.1111/ped.12636>

28. *Beard H, Luck AJ, Hassiotis S, King B, Trim PJ, Snel MF, Hopwood JJ, Hemsley KM* (2015) Determination of the role of injection site on the efficacy of intra-CSF enzyme replacement therapy in MPS IIIA mice. *Mol Genet Metab* 115: 33–40.
<https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2015.03.002>
29. *Zemoura K, Ralvenius WT, Malherbe P, Benke D* (2016) The positive allosteric GABAB receptor modulator rac-BHFF enhances baclofen-mediated analgesia in neuropathic mice. *Neuropharmacology* 108: 172–178.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.04.028>
30. *Goo MS, Sancho L, Slepak N, Boassa D, Deerinck TJ, Ellisman MH, Bloodgood BL, Patrick GN* (2017) Activity-dependent trafficking of lysosomes in dendrites and dendritic spines. *J Cell Biol* 216: 2499–2513.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201704068>
31. *Sidoryk-Wegrzynowicz M, Wegrzynowicz M, Lee E, Bowman AB, Aschner M* (2011) Role of astrocytes in brain function and disease. *Toxicol Pathol* 39: 115–123.
<https://doi.org/10.1177/0192623310385254>
32. *D'Arcangelo G, Grossi D, De Chiara G, de Stefano MC, Cortese G, Citro G, Rufini S, Tancredi V, Merlo D, Frank C* (2011) Glutamatergic neurotransmission in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. *Brain Res* 1396: 11–19.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.04.020>
33. *Vance JE* (2006) Lipid imbalance in the neurological disorder, Niemann-Pick C disease. *FEBS Lett* 580: 5518–5524.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.06.008>
34. *Lou HO, Reske-Nielsen E* (1971) the central nervous system in Fabry's disease. A clinical, pathological, and biochemical investigation. *Arch Neurol* 25: 351–359.
<https://doi.org/10.1001/archneur.1971.00490040077009>
35. *Tybulewicz VL, Tremblay ML, LaMarca ME, Willemsen R, Stubblefield BK, Winfield S, Zablocka B, Sidransky E, Martin BM, Huang SP* (1992) Animal model of Gaucher's disease from targeted disruption of the mouse glucocerebrosidase gene. *Nature* 357: 407–410.
<https://doi.org/10.1038/357407a0>
36. *Xu Y-H, Quinn B, Witte D, Grabowski GA* (2003) Viable mouse models of acid beta-glucosidase deficiency: the defect in Gaucher disease. *Am J Pathol* 163: 2093–2101.
[https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63566-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63566-3)
37. *Enquist IB, Lo Bianco C, Ooka A, Nilsson E, Månsson J-E, Ehinger M, Richter J, Brady RO, Kirik D, Karlsson S* (2007) Murine models of acute neuronopathic Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 17483–17488.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0708086104>
38. *Kobayashi T, Yamanaka T, Jacobs JM, Teixeira F, Suzuki K* (1980) The Twitcher mouse: an enzymatically authentic model of human globoid cell leukodystrophy (Krabbe disease). *Brain Res* 202: 479–483.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90159-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90159-6)
39. *Duchen LW, Eicher EM, Jacobs JM, Scaravilli F, Teixeira F* (1980) Hereditary leucodystrophy in the mouse: the new mutant twitcher. *Brain J Neurol* 103: 695–710.
<https://doi.org/10.1093/brain/103.3.695>
40. *Bijvoet AG, van de Kamp EH, Kroos MA, Ding JH, Yang BZ, Visser P, Bakker CE, Verbeet MP, Oostra BA, Reuser AJ, van der Ploeg AT* (1998) Generalized glycogen storage and cardiomegaly in a knockout mouse model of Pompe disease. *Hum Mol Genet* 7: 1.53
<https://doi.org/10.1093/hmg/7.1.53>
41. *Raben N, Nagaraju K, Lee E, Kessler P, Byrne B, Lee L, LaMarca M, King C, Ward J, Sauer B, Plotz P* (1998) Targeted disruption of the acid alpha-glucosidase gene in mice causes an illness with critical features of both infantile and adult human glycogen storage disease type II. *J Biol Chem* 273.
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.30.19086>
42. *Rothaug M, Stroobants S, Schweizer M, Peters J, Zunke F, Allerding M, D'Hooge R, Saftig P, Blanz J* (2015) LAMP-2 deficiency leads to hippocampal dysfunction but normal clearance of neuronal substrates of chaperone-mediated autophagy in a mouse model for Danon disease. *Acta Neuropathol Commun* 3.
<https://doi.org/10.1186/s40478-014-0182-y>
43. *Gupta P, Soyombo AA, Atashband A, Wisniewski KE, Shelton JM, Richardson JA, Hammer RE, Hofmann SL* (2001) Disruption of PPT1 or PPT2 causes neuronal ceroid lipofuscinosis in knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 13566–13571.
<https://doi.org/10.1073/pnas.251485198>
44. *Katz ML, Johnson GS* (2001) Mouse gene knockout models for the CLN2 and CLN3 forms of ceroid lipofuscinosis. *Eur J Paediatr Neurol* 5: 109–114.
<https://doi.org/10.1053/ejpn.2000.0445>

45. Eliason SL, Stein CS, Mao Q, Tecedor L, Ding S-L, Gaines DM, Davidson BL (2007) A knock-in reporter model of Batten disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 27: 9826–9834.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1710-07.2007>
46. Kalueff AV, Stewart AM, Gerlai R (2014) Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends Pharmacol Sci* 35: 63–75.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.12.002>
47. Zhang T, Peterson RT (2020) Modeling Lysosomal Storage Diseases in the Zebrafish. *Front Mol Biosci* 7: 82.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00082>
48. Zancan I, Bellesso S, Costa R, Salvalaio M, Stroppiano M, Hammond C, Argenton F, Filocamo M, Moro E (2015) Glucocerebrosidase deficiency in zebrafish affects primary bone ossification through increased oxidative stress and reduced Wnt/ β -catenin signaling. *Hum Mol Genet* 24: 1280–1294.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddu538>
49. Zizjoli D, Guarienti M, Tobia C, Gariano G, Borsani G, Bresciani R, Ronca R, Giacomuzzi E, Preti A, Gaudenzi G, Belleri M, Di Salle E, Fabrias G, Casas J, Ribatti D, Monti E, Presta M (2014) Molecular cloning and knockdown of galactocerebrosidase in zebrafish: new insights into the pathogenesis of Krabbe's disease. *Biochim Biophys Acta* 1842: 665–675.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.01.008>
50. Wu J, Yang Y, Sun C, Sun S, Li Q, Yao Y, Fei F, Lu L, Chang Z, Zhang W, Wang X, Luo F (2017) Disruption of the gaa Gene in Zebrafish Fails to Generate the Phenotype of Classical Pompe Disease. *DNA Cell Biol* 36: 10–17.
<https://doi.org/10.1089/dna.2016.3459>
51. Dvornikov AV, Wang M, Yang J, Zhu P, Le T, Lin X, Cao H, Xu X (2019) Phenotyping an adult zebrafish lamp2 cardiomyopathy model identifies mTOR inhibition as a candidate therapy. *J Mol Cell Cardiol* 133: 199–208.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.06.013>
52. Mahmood F, Fu S, Cooke J, Wilson SW, Cooper JD, Russell C (2013) A zebrafish model of CLN2 disease is deficient in tripeptidyl peptidase 1 and displays progressive neurodegeneration accompanied by a reduction in proliferation. *Brain J Neurol* 136: 1488–1507.
<https://doi.org/10.1093/brain/awt043>
53. Wager K, Zdebek AA, Fu S, Cooper JD, Harvey RJ, Russell C (2016) Neurodegeneration and Epilepsy in a Zebrafish Model of CLN3 Disease (Batten Disease). *PLoS One* 11: e0157365.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157365>
54. Rodrigues de Souza I, Wilke Sivek T, Vaz de Oliveira JB, Di Pietro Micali Canavez A, de Albuquerque Vita N, Cigaran Schuck D, Rodrigues de Souza I, Cestari MM, Lorencini M, Leme DM (2023) Cytotoxicity Assays with Zebrafish Cell Lines. *J Vis Exp*.
<https://doi.org/10.3791/64860>
55. Patton EE, Zon LI, Langenau DM (2021) Zebrafish disease models in drug discovery: from pre-clinical modelling to clinical trials. *Nat Rev Drug Discov* 20: 611–628.
<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00210-8>
56. Zhang T, Alonzo I, Stubben C, Geng Y, Herdman C, Chandler N, Doane KP, Pluimer BR, Trauger SA, Peterson RT (2023) A zebrafish model of combined saposin deficiency identifies acid sphingomyelinase as a potential therapeutic target. *Dis Model Mech* 16: dmm049995.
<https://doi.org/10.1242/dmm.049995>
57. Zhang T, Peterson RT (2020) Modeling Lysosomal Storage Diseases in the Zebrafish. *Front Mol Biosci* 7: 82.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00082>
58. Marza E, Barthe C, André M, Villeneuve L, Hérou C, Babin PJ (2005) Developmental expression and nutritional regulation of a zebrafish gene homologous to mammalian microsomal triglyceride transfer protein large subunit. *Dev Dyn* 232: 506–518.
<https://doi.org/10.1002/dvdy.20251>
59. Clifton JD, Lucumi E, Myers MC, Napper A, Hama K, Farber SA, Smith AB, Huryn DM, Diamond SL, Pack M (2010) Identification of novel inhibitors of dietary lipid absorption using zebrafish. *PLoS One* 5: e12386.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012386>
60. Pickart MA, Klee EW, Nielsen AL, Sivasubbu S, Mendenhall EM, Bill BR, Chen E, Eckfeldt CE, Knowlton M, Robu ME, Larson JD, Deng Y, Schimmenti LA, Ellis LBM, Verfaillie CM, Hammer-schmidt M, Farber SA, Ekker SC (2006) Genome-wide reverse genetics framework to identify novel functions of the vertebrate secretome. *PLoS One* 1: e104.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000104>
61. Stoletov K, Fang L, Choi S-H, Hartvigsen K, Hansen LF, Hall C, Pattison J, Juliano J, Miller ER, Almazan F, Crosier P, Witztum JL, Klemke RL, Miller YI (2009) Vascular lipid accumulation, lipoprotein oxidation, and macrophage lipid uptake in hypercholesterolemic zebrafish. *Circ Res* 104: 952–960.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.189803>

62. Walker MT, Montell C (2016) Suppression of the motor deficit in a mucopolipidosis type IV mouse model by bone marrow transplantation. *Hum Mol Genet* 25: 2752–2761.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddw132>
63. Venkatachalam K, Long AA, Elsaesser R, Nikolaeva D, Broadie K, Montell C (2008) Motor deficit in a Drosophila model of mucopolipidosis type IV due to defective clearance of apoptotic cells. *Cell* 135: 838–851.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.041>
64. Jin W, Dai Y, Li F, Zhu L, Huang Z, Liu W, Li J, Zhang M, Du J, Zhang W, Wen Z (2019) Dysregulation of Microglial Function Contributes to Neuronal Impairment in Mcoln1a-Deficient Zebrafish. *Science* 13: 391–401.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.02.031>
65. Kiselyov K, Jennigs JJ, Rbaibi Y, Chu CT (2007) Autophagy, mitochondria and cell death in lysosomal storage diseases. *Autophagy* 3: 259–262.
<https://doi.org/10.4161/auto.3906>
66. Jolly RD, Brown S, Das AM, Walkley SU (2002) Mitochondrial dysfunction in the neuronal ceroid-lipofuscinoses (Batten disease). *Neurochem Int* 40: 565–571.
[https://doi.org/10.1016/s0197-0186\(01\)00128-0](https://doi.org/10.1016/s0197-0186(01)00128-0)
67. Settembre C, Fraldi A, Jahreiss L, Spampanato C, Venturi C, Medina D, de Pablo R, Tacchetti C, Rubinsztein DC, Ballabio A (2008) A block of autophagy in lysosomal storage disorders. *Hum Mol Genet* 17: 119–129.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddm289>
68. Takamura A, Higaki K, Kajimaki K, Otsuka S, Ninomiya H, Matsuda J, Ohno K, Suzuki Y, Nanba E (2008) Enhanced autophagy and mitochondrial aberrations in murine G(M1)-gangliosidosis. *Biochem Biophys Res Commun* 367: 616–622.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.12.187>
69. de la Mata M, Cotán D, Oropesa-Ávila M, Garrido-Maraver J, Cordero MD, Villanueva Paz M, Delgado Pavón A, Alcocer-Gómez E, de Laveria I, Ybot-González P, Paula Zaderenko A, Ortiz Mellet C, García Fernández JM, Sánchez-Alcázar JA (2015) Pharmacological Chaperones and Coenzyme Q10 Treatment Improves Mutant β -Glucocerebrosidase Activity and Mitochondrial Function in Neuronopathic Forms of Gaucher Disease. *Sci Rep* 5: 10903.
<https://doi.org/10.1038/srep10903>
70. Plucińska G, Paquet D, Hruscha A, Godinho L, Haass C, Schmid B, Misgeld T (2012) *In vivo* imaging of disease-related mitochondrial dynamics in a vertebrate model system. *J Neurosci* 32: 16203–16212.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1327-12.2012>
71. Riboldi GM, Di Fonzo AB (2019) GBA, Gaucher Disease, and Parkinson's Disease: From Genetic to Clinic to New Therapeutic Approaches. *Cells* 8: 364.
<https://doi.org/10.3390/cells8040364>
72. Schmidt R, Strähle U, Scholpp S (2013) Neurogenesis in zebrafish - from embryo to adult. *Neural Develop* 8: 3.
<https://doi.org/10.1186/1749-8104-8-3>
73. Meijer AH, Aerts JM (2016) Linking Smokers' Susceptibility to Tuberculosis with Lysosomal Storage Disorders. *Dev Cell* 37: 112–113.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.04.004>
74. Su Q, Schröder SP, Lelieveld LT, Ferraz MJ, Verhoek M, Boot RG, Overkleeft HS, Aerts JMFG, Artola M, Kuo C-L (2021) Xylose-Configured Cyclophellitols as Selective Inhibitors for Glucocerebrosidase. *Chembiochem Eur J Chem Biol* 22: 3090–3098.
<https://doi.org/10.1002/cbic.202100396>
75. Li H, Pei W, Vergarajauregui S, Zerfas PM, Raben N, Burgess SM, Puertollano R (2017) Novel degenerative and developmental defects in a zebrafish model of mucopolipidosis type IV. *Hum Mol Genet* 26: 2701–2718.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddx158>
76. Platt FM (2018) Emptying the stores: lysosomal diseases and therapeutic strategies. *Nat Rev Drug Discov* 17: 133–150.
<https://doi.org/10.1038/nrd.2017.214>
77. Klein AD, Ferreira N-S, Ben-Dor S, Duan J, Hardy J, Cox TM, Merrill AH, Futerman AH (2016) Identification of Modifier Genes in a Mouse Model of Gaucher Disease. *Cell Rep* 16: 2546–2553.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.07.085>
78. Ogawa Y, Sano T, Irisa M, Kodama T, Saito T, Furusawa E, Kaizu K, Yanagi Y, Tsukimura T, Togawa T, Yamanaka S, Itoh K, Sakuraba H, Oishi K (2017) FcR γ -dependent immune activation initiates astrogliosis during the asymptomatic phase of Sandhoff disease model mice. *Sci Rep* 7: 40518.
<https://doi.org/10.1038/srep40518>

79. Udayar V, Chen Y, Sidransky E, Jagasia R (2022) Lysosomal dysfunction in neurodegeneration: emerging concepts and methods. *Trends Neurosci* 45: 184–199.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.12.004>
80. Li B, Wang F, Schall N, Muller S (2018) Rescue of autophagy and lysosome defects in salivary glands of MRL/lpr mice by a therapeutic phosphopeptide. *J Autoimmun* 90: 132–145.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2018.02.005>
81. Mathai BJ, Meijer AH, Simonsen A (2017) Studying Autophagy in Zebrafish. *Cells* 6: 21.
<https://doi.org/10.3390/cells6030021>
82. Tseng W-C, Johnson Escauriza AJ, Tsai-Morris C-H, Feldman B, Dale RK, Wassif CA, Porter FD (2021) The role of Niemann-Pick type C2 in zebrafish embryonic development. *Dev Camb Engl* 148: dev194258.
<https://doi.org/10.1242/dev.194258>
83. Bonam SR, Wang F, Muller S (2019) Lysosomes as a therapeutic target. *Nat Rev Drug Discov* 18: 923–948.
<https://doi.org/10.1038/s41573-019-0036-1>

Experimental Models of CNS Deficits in Lysosomal Storage Diseases

A. S. Lebedev^{a, b, c}, M. M. Kotova^b, T. O. Kolesnikova^b,
D. S. Galstyan^{a, c, d}, and A. V. Kalueff^{a, b, c, d, e, f, *}

^aWorld-class Scientific Research Center “Center of Personalized Medicine”,
Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare of Russian Federation,
St. Petersburg, Russia

^bNeurobiology Department, Research Center for Genetics and Life Sciences,
Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Russia

^cInstitute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

^dGranov Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies,
Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia

^eUral Federal University, Yekaterinburg, Russia

^fScientific Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia

*e-mail avkalueff@gmail.com

Lysosomal storage diseases are characterized by enzyme deficiency in the lysosomal apparatus of the cell, triggering a pathological accumulation of undigested cellular material (proteins, lipids or carbohydrates) and tissue damage. Clinically and etiologically diverse, this group includes over 70 presently recognized hereditary conditions with no known effective therapy. Thus, the search for therapeutic strategies directed at these disorders represents an urgent unmet biomedical task, also necessitating the use of appropriate and valid experimental (animal) models. Here, we discuss the existing models of lysosomal storage diseases and the applicability of rodent and zebrafish as model organisms for probing these diseases.

Keywords: lysosomal storage diseases, lysosomes, enzymopathies, CNS disorders, animal models