



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Авторский коллектив .....	5
Предисловие .....	6
Благодарности .....	8
Список сокращений и условных обозначений .....	9
<b>Глава 1. Лизосомы и лизосомные болезни накопления</b> (Захарова Е.Ю., Байдакова Г.В.) .....	11
Лизосомы. Структура и функции .....	12
История открытия и изучения лизосомных болезней накопления .....	17
Классификация и эпидемиология лизосомных болезней накопления .....	23
Патогенетические механизмы развития лизосомных болезней накопления .....	38
Клинические проявления лизосомных болезней накопления .....	50
Лабораторная диагностика лизосомных болезней накопления .....	84
<b>Глава 2. Лечение лизосомных болезней накопления</b> (Захарова Е.Ю., Михайлова С.В.) .....	105
Основные подходы к терапии лизосомных болезней накопления и их ограничения .....	106
Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток .....	109
Ферментная заместительная терапия .....	112
Фермент-индуцирующая терапия. Фармакологические шапероны .....	120
Субстрат-редуцирующая терапия .....	123
Выведение накапливаемых субстратов .....	125
Симптоматическая терапия .....	125
Генотерапия .....	126

<b>Глава 3. Лизосомные болезни и распространенные заболевания</b> (Пчелина С.Н., Захарова Е.Ю.).....	130
Синуклеинопатии .....	131
Болезнь Альцгеймера .....	141
Лобно-височная деменция.....	141
Ишемический инсульт .....	142
Аксональная нейропатия и мукополисахаридоз ПШВ.....	143
Заикание и муколипидоз .....	144
<b>Глава 4. Клинические проявления отдельных лизосомных болезней накопления</b> (Краснопольская К.Д., Захарова Е.Ю.).....	146
Вступление.....	146
Мукополисахаридозы .....	146
Сфинголипидозы .....	209
Нарушения белков-активаторов .....	293
Другие лизосомные болезни накопления .....	306
Нейрональные цероидные липофусцинозы .....	367
Предметный указатель.....	415

# Глава 1

## Лизосомы и лизосомные болезни накопления

*Лизосомы — клеточные органеллы, название которых происходит от греч. λύσις — растворяю и σῶμα — тело, — были открыты более 60 лет назад, хотя, возможно, история исследования лизосом началась с наблюдений, обобщенных И.И. Мечниковым в конце XIX в. Он и его коллеги изучали под микроскопом захват и переваривание чужеродных частиц клетками и заметили, что в некоторых случаях поглощенные кусочки лакмуса меняют цвет с синего на красный, что говорит об их попадании в кислую среду. Вероятно, исследователи наблюдали работу лизосом, которые, как известно, имеют кислый pH среды.*

*Параллельно, начиная с XIX в., появились описания болезней, при которых находили внутриклеточное накопление различного биоматериала при гистологическом исследовании тканей пациентов. Среди них были болезни Гоше, Тея–Сакса, Ниманна–Пика и другие. Было признано, что многие из этих болезней — наследственные.*

*Современная эра изучения лизосом началась с их открытия Кристианом де Дювом и его коллегами в 1950-х гг. XX в., а исследование морфологии, функции, биогенеза лизосом продолжается и сегодня.*

*Открытие лизосом было почти случайным. В 1949–1952 гг. Кристиан де Дюв и его коллеги, изучавшие действие инсулина в клетках печени, обнаружили, что при фракционировании клеточного содержимого кислая фосфатаза в микросомальной фракции проявляла только десятую часть активности в сравнении с клеточным экстрактом, причем после нескольких дней хранения микросомальной*

*фракции активность кислой фосфатазы возрастала. Это позволило предположить существование неких окруженных мембраной клеточных частиц, которые содержат внутри себя этот фермент.*

*С 1952 по 1955 гг. было открыто еще несколько кислых гидролаз, связанных с микросомальной фракцией.*

*В 1955 г., который считается годом открытия лизосом, Кристиан де Дюв предложил название «лизосома» для клеточной органеллы, окруженной мембраной. В 1974 г. за свой вклад в раскрытие структурной и функциональной организации клетки Кристиан де Дюв был удостоен Нобелевской премии по медицине.*

*За прошедшие годы установлено, что лизосомы участвуют в катаболизме макромолекул и поддержании гомеостаза клетки. Эти органеллы играют важную роль в фагоцитозе, иммунном ответе, воспалительных реакциях, апоптозе, remodelировании костной ткани и даже пигментации кожи. Сделано немало открытий, указывающих на значение этих органелл в развитии лизосомных болезней накопления (ЛБН) и нейродегенеративных болезней.*

## **ЛИЗОСОМЫ. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ**

**Лизосомы** — клеточные органеллы диаметром 0,2–2 мкм, окруженные одной мембраной. Они есть во всех клетках млекопитающих, за исключением эритроцитов. Обычно в клетке содержится несколько сотен лизосом. Одна из функций лизосом заключается в деградации макромолекул и органелл под действием примерно 40 различных ферментов — гидролаз. Наибольшую активность эти ферменты проявляют в кислой среде. В мембранах лизосом содержатся протонные насосы, поддерживающие рН внутренней среды лизосом в диапазоне 4,5–5, в то время как рН цитоплазмы составляет 7,0–7,3 (см. цв. вклейку, рис. 1.1).

Лизосомы формируются из пузырьков (везикул), отделяющихся от аппарата Гольджи, и пузырьков (эндосом), в которые попадают вещества при эндоцитозе. Различают первичные и вторичные лизосомы. Первые образуются в области аппарата Гольджи, в них находятся ферменты в неактивном состоянии, вторые же содержат активные ферменты. Обычно ферменты лизосом активируются при кислом рН. Среди лизосом можно также выде-

лить гетеролизосомы (переваривающие материал, поступающий в клетку извне — путем фаго- или пиноцитоза) и аутолизосомы (разрушающие собственные белки или органоиды клетки).

Лизосомы являются основными координаторами очень сложной эндосомно-лизосомной системы, которую по-английски называют *greater lysosomal system*. Эндосомно-лизосомная система необходима для осуществления таких важных метаболических и физиологических процессов, как катаболизм нуклеиновых кислот, белков, глико- и липопротеинов, а также накопления, трансформации и выведения различных веществ, везикулярного транспорта и рециклизации рецепторов, аутофагоцитоза и апоптоза и реконструкции клеточных структур. Многие молекулы, проходящие через эндосомно-лизосомную систему (гликосфинголипиды, холестерин), являются частями специализированных микродоменов и «сигнальными платформами» в плазмолемме клетки, которые влияют на различные клеточные функции.

В эндосомно-лизосомной системе, координирующей процессы рециркуляции и катаболизма, кроме лизосом находятся транспортные везикулы, эндосомы, фагосомы и убиквитиновая система эндоплазматического ретикулума (ЭПР).

**Эндосомы** — мембранные внутриклеточные органеллы, один из типов везикул, образующихся при слиянии и созревании эндочитозных пузырьков. Большинство эндосом, возникающих в результате эндоцитоза из плазматической мембраны, транспортируется внутрь клетки, где сливается с существующими эндосомами либо закисляется за счет активности вакуольной аденозитрифосфатазы (v-АТФазы). В процессе созревания эндосома проходит несколько последовательных стадий, постепенно превращаясь в лизосому. При этом часть изначального материала плазматической мембраны может вернуться обратно для повторного использования (рециркуляция). Многие мембранные рецепторы после связывания субстрата находятся в составе эндосом. Ранее это явление рассматривали как путь деградации или рециркуляции молекул-рецепторов. Однако сегодня ясно, что локализация рецепторов в эндосомах может играть особую роль в их способности к передаче сигнала. Так, например, известно, что рецептор

эпидермального фактора роста способен к передаче сигнала сразу после связывания с субстратом на клеточной мембране, но максимальной активности он достигает только в эндосомах. Кроме того, активированные рецепторы на мембране и в эндосомах могут запускать разные сигнальные пути.

Выделяют три типа эндосом: ранние, или первичные, поздние, или мультивезикулярные тельца, и рециркулирующие. Они различаются по морфологии и по функциональным маркерам.

После того как эндоцитарные везикулы теряют оболочку, они сливаются с ранними эндосомами, которые, в свою очередь, в процессе созревания превращаются в поздние эндосомы, перед тем как слиться с лизосомами. Молекулы, которые будут подвергаться расщеплению, также сортируются в мелкие везикулы, «выпячивающиеся» по периметру мембраны внутрь эндосомы, формируя люминальные везикулы. Это приводит к образованию мультивезикулярной организации поздних эндосом (мультивезикулярных телец). В образовании аутолизосом (аутофагосом) принимают участие мембраны ЭПР.

**Мультивезикулярные тельца** обычно окружены одинарной мембраной, содержат в себе более мелкие, окруженные одинарной мембраной пузырьки. Они образуются в результате процесса, напоминающего микроаутофагию (см. ниже), но содержат материал, полученный извне. В мелких пузырьках обычно остаются и затем подвергаются деградации рецепторы наружной мембраны (например, рецепторы эпидермального фактора роста). По стадии формирования соответствуют ранней эндосоме. Описано образование мультивезикулярных телец, окруженных двумя мембранами, путем отпочковывания от ядерной оболочки.

**Остаточные тельца (телолизосомы)** — пузырьки, содержащие непереваренный материал (в частности, липофусцин). В нормальных клетках сливаются с наружной мембраной и путем экзоцитоза покидают клетку. При старении организма или некоторых заболеваниях накапливаются в клетках.

Слияние поздних эндосом с лизосомами приводит к образованию гибридной структуры с промежуточными характеристиками. Лизосомы обладают большей плотностью, чем эндосомы, а такие гибридные структуры имеют промежуточную плотность.

## Ферменты лизосом

Ферменты лизосом синтезируются в шероховатом ЭПР. После синтеза белковой цепи фермента происходит гликозилирование, то есть присоединение олигосахаридной цепи и образование вторичной и третичной структур. На этой стадии гликопротеин транспортируется в аппарат Гольджи с помощью транспортных везикул. На следующей стадии, типичной для лизосомных белков, концевые маннозные остатки (Man) фосфорилируются. Реакция протекает в две стадии:

- 1) на олигосахаридную цепь переносится глюкозо-N-ацетилфосфат (GlcNAc-фосфат), эту реакцию катализирует GlcNAc-фосфотрансфераза;
- 2) GlcNAc отщепляется при участии другого фермента — GlcNAc-фосфогликозидазы.

В результате лизосомные ферменты приобретают концевой остаток маннозо-6-фосфата.

В мембранах аппарата Гольджи имеются молекулы-рецепторы, с которыми связываются ферменты лизосом через остатки маннозо-6-фосфата. Рецепторы маннозо-6-фосфата — интегральные мембранные белки. У человека известно два типа этих рецепторов:

- 1) с молекулярной массой 275 000 дальтон, связывающие по 2 моля маннозо-6-фосфата на субъединицу. Эти рецепторы также взаимодействуют с инсулиноподобным фактором роста II (IGF-II) и носят название маннозо-6-фосфат/IGF-II-рецепторов;
- 2) с массой 46 000 дальтон, связывающие по 1 молю маннозо-6-фосфата на субъединицу. После связывания фермента с рецептором происходит его перенос в лизосомы.

## Регуляция работы лизосом

Лизосомы — динамичные структуры, реагирующие на изменения окружающей среды, за их управление отвечают множество генов. Гены, регулирующие работу лизосом, объединили в координированную сеть экспрессии и регуляции в лизосомах

(coordinated lysosomal expression and regulation). Регуляцию генов этой сети осуществляет белок — транскрипционный фактор EB (transcription factor EB — TFEB). Многие компоненты этой системы связаны между собой на транскрипционном уровне. Сравнительно недавно стало понятно, что в регуляции работы лизосом принимает участие и комплекс mTORC1. На поверхности лизосомы происходит взаимодействие TFEB и mTORC1. В нормальных условиях mTORC1 связывается с TFEB и инактивирует его. Когда клетка испытывает стресс, mTORC1 перестает связывать TFEB, и этот белок перемещается в ядро и влияет на активность генов, участвующих в синтезе лизосомных белков, активируя таким образом процессы катаболизма в клетке (см. цв. вклейку, рис. 1.2). Возможно, что детализация молекулярных механизмов, осуществляющих регуляцию роста и пролиферации клеток, найдет свое приложение при разработке методов лечения как относительно распространенных, так и таких редких болезней, как ЛБН.

Внутри лизосомы находятся кислые гидролазы, а также активаторы ферментов, защитные и транспортные белки. Кислую pH в лизосоме поддерживает v-АТФаза (вакуольная АТФаза), встроенная в мембрану. Кроме того, мембрана содержит высокогликозилированные белки (например, LAMP), ионные каналы и другие переносчики, которые поддерживают ионный гомеостаз, участвуют в транспорте жиров, сахаров, нуклеозидов, аминокислот и других продуктов расщепления. В мембране на границе с цитозолем происходит связывание белковых комплексов, включая mTOR1, факторов транскрипции, таких как TFEB и TFE3, которые регулируют биогенез лизосом, аутофагию и энергетический обмен. Также с мембраной ассоциированы факторы, способствующие слиянию лизосом или контактам с другими органеллами, комплексы, которые связывают лизосомы с микротрубочками.

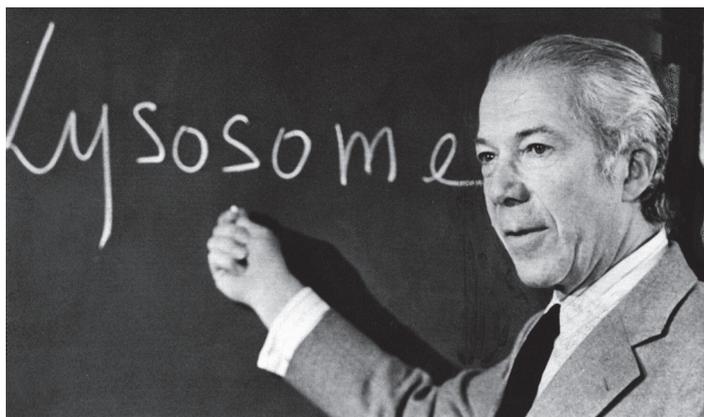
### **Рекомендуемая литература**

1. Ballabio A., Bonifacino J.S. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020. Vol. 21. P. 101–118.

2. Cox T.M., Cachón-González M.B. The cellular pathology of lysosomal diseases // J. Pathol. 2012. Vol. 226. P. 241–254.
3. Marques A.R.A., Saftig P. Lysosomal storage disorders: challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases // J. Cell Sci. 2019. Vol. 132. Article ID jcs221739.
4. Platt F.M., Boland B., van der Spoel A.C. The cell biology of disease: lysosomal storage disorders: the cellular impact of lysosomal dysfunction // J. Cell Biol. 2012. Vol. 199, N 5. P. 723–734.

## ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ

ЛБН — обширный класс наследственных заболеваний, включающий около 70 нозологических форм, связанных с нарушением функции внутриклеточных органелл — лизосом (рис. 1.3).



**Рис. 1.3.** Первооткрыватель лизосом Кристиан де Дюв

Путь, который прошли ученые и врачи при изучении этой группы наследственных болезней, — вдохновляющий: от описания первых заболеваний в XIX в. до открытия механизмов их патогенеза и разработки методов лечения в XX в.

Начало истории лизосомных болезней можно отнести к концу XIX в., когда были описаны два заболевания — болезнь Тея–Сакса (1881 г.) и болезнь Гоше (1882 г.). В начале XX в. появились публи-

кации и о других ЛБН — синдромах Хантера и Гурлер, болезнях Фабри, Ниманна–Пика и Помпе (рис. 1.4, 1.5). Это была описательная веха в истории изучения ЛБН, которые пока еще не были выделены в отдельную группу и не была установлена связь этих болезней с нарушением функции клеточных органелл — лизосом.



**Рис. 1.4.** Филипп Гоше



**Рис. 1.5.** Джон Фабри

В 1963 г. бельгийский биохимик Генри Хэрс, ранее работавший в группе открывшего лизосомы Кристиан де Дюва, обнаружил недостаточность лизосомного фермента  $\alpha$ -глюкозидазы у пациентов с болезнью Помпе и высказал предположение о связи этого и других генетических заболеваний с нарушением работы лизосом. В течение нескольких лет Хэрсом были идентифицированы еще несколько ферментов, которые относятся к лизосомным гидролазам, что позволило создать концепцию ЛБН. С этого момента началось изучение биохимических механизмов этих болезней.

В 1980-х гг. был открыт рецептор-ассоциированный эндоцитоз. Эксперименты, проведенные Элизабет Нойфельд (Elizabeth Neufeld) на фибробластах пациентов с мукополисахаридозом (МПС) по метаболическому кооперированию, сыграли огром-

ную роль в этом открытии. В ряде опытов было показано, что культивируемые совместно клетки больных с разными формами МПС могут компенсировать метаболический блок, то есть клетки имеют возможность обмениваться ферментами лизосом. Затем последовало открытие маннозо-6-фосфатных остатков и их рецепторов как необходимых компонентов для сортировки лизосомных белков. Эти работы были крайне важны для развития идей о возможностях лечения ЛБН с применением ферментной заместительной терапии (ФЗТ).

С конца 90-х гг. прошлого века началось изучение молекулярных основ этих болезней — были открыты гены и охарактеризован спектр мутаций при многих ЛБН. Настоящим прорывом в диагностике следует считать конец XX в., когда активность ферментов лизосом научились определять в пятнах высушенной крови и прошли первые исследования по изучению частоты этих болезней в популяциях. Основные открытия, связанные с ЛБН, приведены в табл. 1.1.

В 1970-х гг. Раско Брэйди высказал идею о возможности применения ФЗТ при ЛБН (рис. 1.6). Эта блестящая идея реализовалась при создании первого препарата для лечения болезни Гоше. Успех лечения этих пациентов был такой ошеломляющий, что начались активные работы по созданию аналогичных препаратов для других ЛБН. Кроме ФЗТ вскоре появились препараты на основе «малых молекул», которые подавляют образование токсичных субстратов в лизосомах или сохраняют белки от быстрой деградации и позволяют им достичь лизосомы.

Создание различных животных и клеточных моделей дало возможность проводить эксперименты по созданию новых подходов к терапии ЛБН. Стали применять трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), сделаны первые шаги в генотерапии этих наследственных болезней.

Принципиальными достижениями последних лет являются работы, посвященные доставке белков в лизосомы и изучению аутофагии. Работы в области протеомики позволили идентифицировать ранее не известные маннозо-6-фосфат-содержащие лизосомные белки и новые БМ для ЛБН. Исследователи установили связь лизосом с распространенными нейродегенеративными

**Таблица 1.1.** История изучения лизосомных болезней накопления

<b>Событие, дата</b>	<b>Описание</b>
Описание болезни Тея–Сакса, 1881 г.	Первое описание ЛБН в литературе
Описание болезни Гоше, 1882 г.	Первое описание болезни Гоше
Описание болезни Фабри, 1898 г.	Открытие липидозов, изучение биологии липидов
Описание болезни Ниманна–Пика, 1914 г.	Описание болезни Ниманна–Пика, которая впоследствии была разделена на несколько форм
Описание синдрома Гурлер, 1910 г.	Открытие первого из МПС и начало изучения гликозаминогликанов (ГАГ) и их роли в метаболизме клетки
Описание синдрома Хантера, 1917 г.	Открытие X-сцепленной формы МПС
Описание болезни Помпе, 1932 г.	Открытие болезни Помпе, что способствовало открытию лизосом
Описание множественной сульфатазной недостаточности, 1951 г.	Открытие процессинга сульфатаз
Концепция МПС, 1952 г.	Изучение метаболических путей деградации ГАГ
Открытие лизосом, 1955 г.	Изучение катаболизма макромолекул
Описание синдрома Геманского–Пудлака, 1959 г.	Описание заболевания в литературе
Концепция ЛБН, 1963 г.	Генри Хэрс, ранее обнаруживший недостаточность лизосомного фермента $\alpha$ -глюкозидазы у пациентов с болезнью Помпе, создал концепцию ЛБН
Метаболическая коррекция при МПС, 1964 г.	Возможность применения ФЗТ для лечения ЛБН

Событие, дата	Описание
Открытие метаболической природы ЛБН, 1966 г.	Открытие метаболической природы ЛБН — недостаточность лизосомных гидролаз как одна из основных причин ЛБН
Описание муколипидоза, 1967 г.	Изучение путей доставки ферментов и белков в лизосомы
Клонирование генов, 1990–2005 гг.	Молекулярные основы ЛБН
Животные модели, 1990–2000 гг.	Механизмы патогенеза и применение различных методов терапии
Вторичное накопление сфинголипидов, 2004–2009 гг.	Патология нейронов при ЛБН
Нарушения аутофагии при ЛБН (болезнь Помпе), 2006–2007 гг.	Связь между аутофагоцитозом, лизосомами и патологией мышц
Методы определения активности ферментов и накапливаемых субстратов в пятнах высушенной крови, 2006–2007 гг.	Активность нескольких лизосомных ферментов стали измерять в пятнах высушенной крови с применением метода тандемной масс-спектрометрии. Эта же технология позволяет определять концентрации специфических накапливаемых биомаркеров (БМ) при ЛБН
Генотерапия ЛБН (метахроматическая лейкоцистрофия, синдром Гурлер), 2016 г.	Проведены первые клинические испытания генотерапевтических препаратов для лечения ЛБН с поражением нервной системы
Субстрат-редуцирующая терапия для лечения болезни Гоше, Ниманна–Пика, тип С (НПС), 2009–2016 гг.	Появились таблетированные формы для лечения ЛБН (малые молекулы, субстрат-редуцирующая терапия)
Редактирование генома, 2017 г.	Проведены первые клинические испытания технологии редактирования генома для пациента с болезнью Хантера



**Рис. 1.6.** Раско Брэйди

[болезнь Паркинсона (БП) и болезнь Альцгеймера], онкологическими и инфекционными заболеваниями.

Заветная цель медицинской генетики — пройти путь от клинического описания через изучение патогенеза, разработку патогенетического лечения к этиотропной терапии (генотерапии) для каждой наследственной болезни. И этот путь, так успешно начатый блестящими исследователями и врачами для ЛБН, безусловно, будет продолжен новыми поколениями ученых, и в ближайшее время будут созданы препараты для лечения все большего числа ЛБН.

### **Рекомендуемая литература**

1. Brady R.O., Kanfer J.N., Bradley R.M., Shapiro D. Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase in Gaucher's disease // J. Clin. Invest. 1966. Vol. 45. P. 1112–1115.

2. Brady R.O., Tallman J.F., Johnson W.G. et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency. Use of purified ceramidetrihexosidase in Fabry's disease // *N. Engl. J. Med.* 1973. Vol. 289. P. 9–14.
3. De Duve C. Exploring cells with a centrifuge // *Science.* 1975. Vol. 189. P. 186–194.
4. Hers H.G.  $\alpha$ -Glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease) // *Biochem. J.* 1963. Vol. 86. P. 11–16.
5. Hunter C.A Rare disease in two brothers // *Proc. R. Soc. Med.* 1917. Vol. 10 (Sect. Study Dis. Child). P. 104–116.
6. Hurler G. Über einen Typ multipler Abartungen, vorwiegend am Skelettsystem. *Zeitschrift für Kinderheilkunde.* Berlin, 1919. S. 220–234.
7. Mehta A., Beck M., Linhart A. et al. History of lysosomal storage diseases: an overview // *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS* / Eds A. Mehta, M. Beck, G. Sunder-Plassmann. Oxford: Oxford PharmaGenesis, 2006. Chapter 1. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11615>

## **КЛАССИФИКАЦИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ**

Согласно одной из самых распространенных классификаций, ЛБН подразделяют на группы в зависимости от накапливаемых субстратов (МПС, сфинголипидозы, ганглиозидозы и т.д.) (рис. 1.7).

Некоторые болезни не укладываются в данную классификацию, так как при них накапливаются различные макромолекулы или они связаны с нарушениями транспортных или мембранных белков (например, муколипидоз типа II/III, цистиноз, муколипидоз типа IV).

С учетом новых знаний о патогенезе этих болезней и в зависимости от того, какие функции эндосомно-лизосомной системы страдают, предлагают разделять ЛБН на дефекты синтетических процессов, распределения метаболитов, болезни, связанные с нарушениями мембранного транспорта лизосом, и дефекты их биогенеза.

В связи с этим некоторые болезни, которые довольно условно были отнесены к ЛБН, теперь также входят в этот подкласс наследственных нарушений обмена веществ. Например, болезнь Германского–Пудлака, связанная с нарушением экзоцитоза и сор-

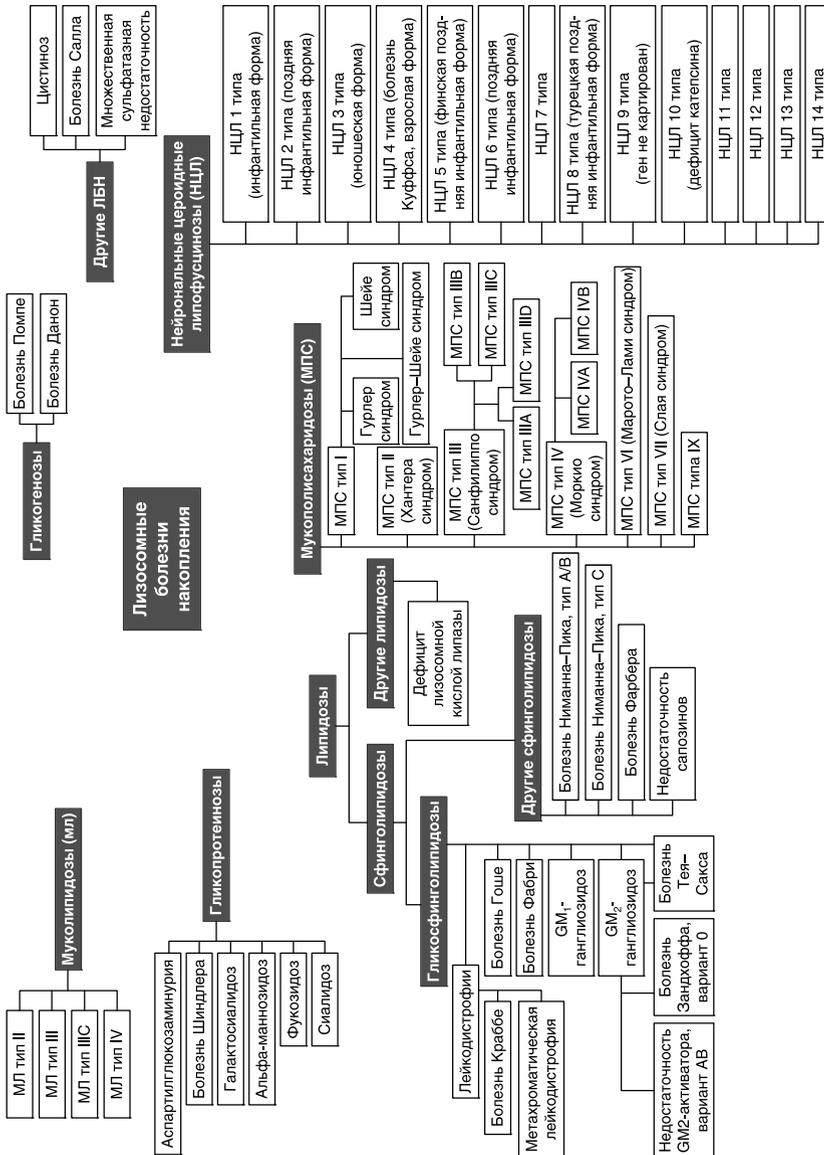


Рис. 1.7. Основные группы лизосомных болезней накопления