

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ГЕРОНТОЛОГІЇ
ІМ. Д. Ф. ЧЕБОТАРЬОВА НАМН УКРАЇНИ»

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ
ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

Коляда Олександр Костянтинович

УДК: 616.858-008.6-092-078:575.088.7

ДИСЕРТАЦІЯ
**РОЛЬ МУТАЦІЙ В ГЕНАХ *LRRK2*, *SNCA* ТА *GBA* ТА
ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ *CYP1A1*, *GSTM1* ТА *APOE*, ЇЇ
ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР У РИЗИКУ РОЗВИТКУ ХВОРОБИ
ПАРКІНСОНА**

03.00.22 — молекулярна генетика

Галузь знань: 09. Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

О. К. Коляда

Науковий керівник: Вайсерман Олександр Михайлович, доктор
медичних наук, професор

Київ — 2020

АНОТАЦІЯ

Коляда Олександр Костянтинович. Роль мутацій в генах *LRRK2*, *SNCA* та *GBA* та поліморфних варіантів генів *CYP1A1*, *GSTM1* та *APOE*, й довжини теломер у ризику розвитку хвороби Паркінсона. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.22 — молекулярна генетика. Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України». — Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2020.

Відома низка конститутивних генетичних і біохімічних факторів, які визначають схильність конкретної особи до розвитку хвороби Паркінсона, проте питання співвідношення цих факторів, їх популяційної специфічності, а також цілеспрямованої профілактики на основі виділення групи ризику, до теперішнього часу розроблені недостатньо. Хоча результати асоціативних досліджень деколи суперечливі, вони дозволяють з'ясувати внесок певних генів і поліморфізмів в маніфестацію і розвиток захворювання, а також розробити набір лабораторних тестів для медико-генетичного консультування в різних етнічних групах. Все викладене вище свідчить про низку невирішених питань щодо цієї проблеми та підкреслює її актуальність.

Мета дослідження — вивчення ролі мутацій та поліморфних варіантів низки генів, а також довжини теломер у розвитку хвороби Паркінсона.

Для досягнення поставленої мети сформульовано і розв'язано наступні завдання: проаналізувати частоту мутації с.6055G>A в гені *LRRK2*; мутацій с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA*; мутації с.209G>A гена *SNCA*; проаналізувати асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів генів *CYP1A1*, *GSTM1* та *APOE*; визначити довжину

теломерних ділянок в лейкоцитах та клітинах букального епітелію у пацієнтів з хворобою Паркінсона та осіб контрольної групи.

Перспективне дослідження проведено на базі Державної установи «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова» Національної академії медичних наук України в період 2010–2015 рр. за участю 216 пацієнтів з хворобою Паркінсона та 300 здорових осіб групи контролю. Матеріалом дослідження слугували зразки крові та буккального епітелію пацієнтів із діагнозом хвороби Паркінсона та клінічно здорових людей. Обстежено 216 пацієнтів із хворобою Паркінсона (106 чоловіків та 110 жінок), середній вік 63,1 (38–78) років, із середньою тривалістю захворювання 7,6 роки. Діагноз хвороби Паркінсона встановлювали відповідно до міжнародних критеріїв.

У дисертації реалізовано підхід до розв'язання науково-прикладної проблеми в галузі молекулярної генетики, що полягає у визначенні внеску генетичних факторів у ризик розвитку хвороби Паркінсона. Встановлено особливості поліморфізму генів, асоційованих з хворобою Паркінсона, у жителів України.

Дослідження однонуклеотидної заміни с.6055G>A в гені *LRRK2* показало, що серед пацієнтів з хворобою Паркінсона частота гетерозигот з мононуклеотидною заміною с.6055G>A становить $1,86 \pm 0,0042$ %, а частота гомозигот с.6055GG — $98,14 \pm 0,0042$ %; генотип с.6055AA був відсутній. Оскільки гетерозиготні носії мутації с.6055G>A в гені *LRRK2*, за нашими даними, зустрічаються винятково у групі пацієнтів з хворобою Паркінсона, дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток хвороби Паркінсона.

За результатами дослідження однонуклеотидної заміни с.209G>A гена *SNCA* встановлено, що мутантні алелі відсутні як серед учасників контрольної групи, так і серед групи пацієнтів з хворобою Паркінсона, імовірно, пов'язано із надзвичайно низькою частотою даної мутації у мешканців України. Це відкриває перспективи пошуку мутацій у регуляторних ділянках гена.

Дослідження однонуклеотидної заміни с.1448Т>С в гені *GBA* дозволило встановити, що серед пацієнтів з хворобою Паркінсона частота гетерозиготного генотипу с.1448ТС складає $1,86 \pm 0,0042$ %, а гомозиготного генотипу с.1448ТТ — $98,14 \pm 0,0042$ %. Наявність гетерозиготних носіїв мутації с.1448Т>С в гені *GBA* винятково в групі пацієнтів з хворобою Паркінсона свідчить про те, що дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток хвороби Паркінсона.

Дослідження однонуклеотидної заміни с.1226А>G гена *GBA* показало серед пацієнтів з хворобою Паркінсона частоту генотипу с.1226АА на рівні 98,61 %, а с.1226АG — 1,39 % і відсутність в контрольній групі як гетерозигот с.1226АG, так і гомозигот с.1226GG за мутантним алелем. Ні серед пацієнтів з хворобою Паркінсона, ні в контрольній групі не було виявлено гомозигот за мутантним алелем с.1226GG. Оскільки гетерозиготні носії мутації с.1226А>G в гені *GBA* зустрічаються винятково в групі пацієнтів з хворобою Паркінсона, є підстави стверджувати, що дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток хвороби Паркінсона у представників української популяції.

Аналіз алельного поліморфізму с.1384А>G у 7-му екзоні гена *CYP1A1* дозволив встановити статистично значиму відмінність між пацієнтами з хворобою Паркінсона та особами групи контролю. Так, у групі пацієнтів з хворобою Паркінсона частота алелів с.1384А та с.1384G склала 0,64 та 0,36, відповідно; частоти генотипів становили 0,35 (с.1384АА), 0,58 (с.1384АG) і 0,07 (с.1384GG). В контролі частота алеля с.1384А склала 0,79, в той час, як частота алеля с.1384G становила 0,21; відповідно, частота гомозигот с.1384АА становила 0,61, частота гетерозигот с.1384АG — 0,36, а частота гомозигот с.1384GG — 0,03. Показники фактичної та теоретичної гетерозиготності склали відповідно 58,3 % і 46,1 % для групи пацієнтів з хворобою Паркінсона та 36,0 % і 32,8 % для контрольної групи. Показник OR для алеля с.1384G склав 1,76 (95 % CI: [1,30–2,39]), що свідчить про те,

що присутність у генотипі алеля с.1384G підвищує ризик захворіти на хворобу Паркінсона в 1,76 рази.

Аналіз гомозиготної делеції у гені *GSTM1* (генотип del) продемонстрував, що показники розподілу генотипів суттєво відрізняються: частоти генотипу + та генотипу del склали 0,55 та 0,45 відповідно у групі пацієнтів з хворобою Паркінсона і 0,67 та 0,33 серед представників контрольної групи ($p < 0,05$). Показник OR для генотипу del склав 1,65 (95 % CI: 1,15–2,37), що свідчить про те, що наявність гомозиготної делеції у гені *GSTM1* підвищує ризик захворіти на хворобу Паркінсона в 1,65 разів.

Аналіз алельного поліморфізму $\epsilon_2/\epsilon_3/\epsilon_4$ гена *APOE* у пацієнтів з хворобою Паркінсона показав суттєво вищі частоти генотипів ϵ_3/ϵ_4 та ϵ_4/ϵ_4 у групі пацієнтів з хворобою Паркінсона, що імовірно вказує на зв'язок алеля ϵ_4 із ризиком розвитку хвороби Паркінсона. Носійство генотипу ϵ_3/ϵ_4 підвищує ризик захворіти на хворобу Паркінсона в 2,08 (95 % CI: 1,18–3,65) разів; генотипу ϵ_4/ϵ_4 — у 3,53 (95 % CI: 0,12–13,86) разів. Показник OR, розрахований для алеля ϵ_4 , склав 2,36 (95 % CI: 1,47–3,81).

Довжина теломер в клітинах букального епітелію значимо коротша у пацієнтів з хворобою Паркінсона, ніж у контролі і корелює ($r = 0,55$; $p < 0,01$) з довжиною теломер в клітинах крові.

Коротші теломери в клітинах букального епітелію можуть бути наслідком оксидативного стресу і можуть використовуватися в якості маркера хвороби Паркінсона на ранніх етапах захворювання. Довжина теломер в клітинах крові не придатна для використання в якості маркера хвороби Паркінсона.

Рекомендовано здійснювати молекулярно-генетичне тестування та генетичне консультування для пацієнтів з хворобою Паркінсона та членів їх родин з метою прогнозування ризику розвитку та прогресування хвороби Паркінсона. Рекомендовано у рамках молекулярно-генетичного тестування пацієнтів з хворобою Паркінсона та членів їх родин здійснювати оцінку

однонуклеотидної заміни с.6055G>A в гені *LRRK2*, с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA*.

Таким чином, в результаті дослідження вперше створено банк ДНК 216 пацієнтів із встановленим діагнозом хвороби Паркінсона та 300 здорових людей відповідного віку без неврологічних порушень з України; проведено генотипування та встановлено частоти алелів і генотипів, показники фактичної та теоретичної гетерозиготності за мажорними мутаціями генів, асоційованих з паркінсонізмом (*LRRK2*, *SNCA*, *GBA*) та генів *CYP1A1*, *GSTM1* та *APOE* в групі пацієнтів з України; визначено довжину теломерних ділянок в лейкоцитах та клітинах буккального епітелію у пацієнтів з України.

Розв'язання поставлених завдань надало змогу поглибити уявлення про молекулярно-генетичні аспекти механізмів, які лежать в основі патогенезу, або асоційовані з хворобою Паркінсона, зокрема, однонуклеотидну заміну с.6055G>A в гені *LRRK2*, г.85907C>A в гені *SNCA*, с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA*, алельний поліморфізм с.1384A>G у 7-му екзоні гена *CYP1A1*, гомозиготну делецію у гені *GSTM1* (генотип +/-del), е2/е3/е4 поліморфізм гена *APOE*, довжини теломер. Результати проведеного дослідження надають наукове обґрунтування розробці нових підходів до діагностики й прогнозування хвороби Паркінсона, виявлення груп ризику тощо.

Ключові слова: хвороба Паркінсона, мутації, поліморфізм генів, теломери, молекулярно-генетичне дослідження.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Коляда ОК**, Вайсерман ОМ, Карабань ІМ. Асоціація поліморфізмів генів *CYP1A1* та *GSTM1* з ризиком розвитку хвороби Паркінсона в українській популяції. Пробл. старения и долголетия. 2013;22[3]:288–93. *(Особистий внесок здобувача: планування дизайну та проведення власного дослідження, систематизація, аналіз та інтерпретація результатів, написання статті).*

2. **Коляда ОК**, Вайсерман АМ, Наумчук ДС. Генетичні та біохімічні маркери стану ліпідного обміну при хворобі Паркінсона. Пробл. старения и долголетия. 2014;23[1]:44–51. *(Особистий внесок здобувача: планування експерименту та проведення дослідження, аналіз літератури, інтерпретація результатів, написання основних положень статті).*

3. **Коляда АК**, Соседко АС, Чивликли МА, Вайсерман АМ, Карабань ІН. Мутации генов *LRRK2*, *GBA* и *SNCA*, ассоциированных с болезнью Паркинсона у жителей Украины. Пробл. старения и долголетия. 2015;24[1]:14–20. *(Особистий внесок здобувача: проведення генетичного дослідження, розробка нових методів, аналіз та інтерпретація результатів, статистичний аналіз, написання статті).*

4. **Kolyada АК**, Vaiserman АМ, Krasnenkov DS, Karaban' ІN. The study of telomere length in patients with Parkinson disease. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2014;114[8]:58–61. *(Особистий внесок здобувача: проведення власного дослідження, перевірка та оформлення даних, написання статті).*

5. **Коляда АК**, Плетнева ТВ, Соседко АС, Чивликлий МА, Вайсерман АМ, Карабань ІН. Генетические факторы риска развития болезни Паркинсона в Украине. Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, медицина. 2015;6[1]:45–50. *(Особистий внесок здобувача: планування дизайну та проведення дослідження, аналіз та оформлення результатів, статистичний аналіз, написання статті).*

6. **Коляда АК**, Вайсерман АМ, Красненков ДС, Плетнева ТВ, Карабань ИН. Изучение молекулярно-генетических маркеров болезни Паркинсона в Украине. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015;16:210–5. (*Особистий внесок здобувача: систематизація даних літератури, аналіз та інтерпретація власних результатів, оформлення статті*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. **Коляда АК**, Вайсерман АМ. Мутація G2019S в гені LRRK2 у больных болезнью Паркинсона в украинской популяции. Матеріали Х міжнародної наукової конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна 2012: біологічні науки», Київ, Україна, 19–23 березня, 2012:158.

2. **Коляда АК**. Исследование генетического и эпигенетического полиморфизма генов паркинов при болезни Паркинсона. Матеріали VII міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», Харків, Україна, 20–23 листопада, 2012:86.

3. **Коляда АК**. Полиморфизм и метилирование генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона. Тезисы докладов и стендовых сообщений V международной школы молодых ученых по молекулярной генетике «Непостоянство генома», Москва-Звенигород, Россия, 3–7 декабря, 2012:33.

4. **Коляда ОК**. До питання про поліморфізм генів GSTM1 та CYP1A1 у пацієнтів з хворобою Паркінсона. Матеріали VIII міжнародної конференції молодих учених «Біологія: від молекули до біосфери», Харків, Україна, 3–6 грудня, 2013:60.

5. **Коляда АК**, Чивликлий МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Роль генетических факторов в патогенезе болезни Паркинсона. Тези VI національного конгресу геронтологів і геріатрів України, Київ, Україна, 19–21 жовтня, 2016:74–5.

6. **Коляда ОК.** Молекулярні маркери хвороби Паркінсона в Україні. Тези доповідей III Науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», Харків, Україна, 19 листопада, 2020:133.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

1. **Коляда ОК, Вайсерман ОМ.** Спосіб генетичної діагностики хвороби Паркінсона. Патент на корисну модель 86930 UA, МПК (2014.01) G01N 33/0; заявник та патентовласник ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України» (UA). № u201310200 ; заяв. 19.08.2013 ; опубл. 10.01.2014, Бюл. № 1.

ANNOTATION

Koliada Oleksandr Kostiantynovych. The role of mutations in the *LRRK2*, *SNCA* and *GBA* genes and polymorphic variants of the *CYP1A1*, *GSTM1* and *APOE* genes, and telomere length in the risk of Parkinson's disease. — Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the candidate degree of Biology in the specialty 03.00.22 — Molecular genetics. — Dmitry F. Chebotarev Institute of Gerontology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. — Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2020.

There are many constitutive genetic and biochemical factors that determine a person's susceptibility to Parkinson's disease, but the relationship between these factors, their population specificity, as well as targeted prevention based on the selection of risk groups, have so far been insufficiently developed. Although the results of associative research are sometimes contradictory, they allow to determine the contribution of certain genes and polymorphisms in the manifestation and development of the disease, as well as to develop a set of laboratory tests for medical and genetic counseling in different ethnic groups. All of the above indicates a number of unresolved issues on this issue and emphasizes its relevance.

The objective of the study was to investigate the role of mutations and polymorphic variants of a number of genes, as well as telomere length in the development of Parkinson's disease.

To achieve this objective, the following tasks have been formulated and solved: to analyze the frequency of c.6055G>A mutation in the *LRRK2* gene; mutations c.1448T>C and c.1226A>G in the *GBA* gene; mutations c.209G>A of the *SNCA* gene; to analyze the association of the risk of Parkinson's disease developing with carriers of allelic variants of the genes *CYP1A1*, *GSTM* and *APOE*; to determine the length of telomeric sites in leukocytes and buccal

epithelial cells in patients with Parkinson's disease and subjects in the control group.

Prospective study was conducted on the basis of the State Institution Dmitry F. Chebotarev Institute of Gerontology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in the period of 2010–2015 with the participation of 216 patients with Parkinson's disease and 300 healthy individuals of the control group. The study material was blood samples and buccal epithelium of patients diagnosed with Parkinson's disease and clinically healthy people. We examined 216 patients with Parkinson's disease (106 men and 110 women), mean age 63.1 (38–78) years, with a mean disease duration of 7.6 years. The diagnosis of Parkinson's disease was carried-out according to international criteria. Laboratory techniques and methodology of logical and statistical analysis were standard.

The dissertation implements an approach to solving a scientific and applied problem in the field of molecular genetics, which is to determine the contribution of genetic factors to the risk of Parkinson's disease.

Peculiarities of gene polymorphism associated with Parkinson's disease in the Ukrainian population have been established.

The study of single nucleotide substitution c.6055G>A in the *LRRK2* gene showed that in patients with Parkinson's disease the frequency of heterozygotes with mononucleotide replacement c.6055G>A is 1.86 ± 0.0042 %, and the frequency of homozygotes c.6055GG is 98.14 ± 0.0042 %; genotype c.6055AA was absent. Because heterozygous carriers of the c.6055G>A mutation in the *LRRK2* gene are reported to occur exclusively in the group of patients with Parkinson's disease, this mutation may be one of the factors causing the development of Parkinson's disease.

The study of the single nucleotide substitution of the c.209G>A (A53T) gene of the *SNCA* gene showed that mutant alleles were absent both in the control group and in the group of patients with Parkinson's disease, probably due to the extremely low frequency of this mutation in the area. This opens up the prospect of finding mutations in the regulatory regions of the gene.

Single nucleotide replacement of c.1448T>C in the *GBA* gene revealed that among patients with Parkinson's disease the frequency of heterozygous genotype c.1448TC is 1.86 ± 0.0042 %, and homozygous genotype c.1448TT – 98.14 ± 0.0042 %. The presence of heterozygous carriers of the c.1448T>C mutation in the *GBA* gene exclusively in the group of patients with Parkinson's disease suggests that this mutation may be one of the factors causing the development of Parkinson's disease.

The study of single nucleotide replacement c.1226A>G of the *GBA* gene showed among patients with Parkinson's disease the frequency of the genotype c.1226AA at 98.61 %, and c.1226AG – 1.39 %, and the absence in the control group of both heterozygotes c.1226AG and homozygotes c.1226GG by the mutant allele. No homozygotes for the c.1226GG mutant allele were detected in either Parkinson's disease or the control group. Since heterozygous carriers of the c.1226A>G mutation in the *GBA* gene are found exclusively in the group of patients with Parkinson's disease, there is reason to believe that this mutation may be one of the factors causing the development of Parkinson's disease in the Ukrainian population.

Analysis of allelic polymorphism c.1384A>G in the 7th exon of the *CYP11A1* gene revealed a statistically significant difference between patients with Parkinson's disease and individuals in the control group. Thus, in the group of patients with Parkinson's disease, the frequency of alleles c.1384A and c.1384G was 0.64 and 0.36, respectively; the frequencies of genotypes were 0.35 (c.1384AA), 0.58 (c.1384AG) and 0.07 (c.1384GG). In the control, the frequency of allele c.1384A was 0.79, while the frequency of allele c.1384G was 0.21; accordingly, the frequency of homozygotes c.1384AA was 0.61, the frequency of heterozygotes c.1384AG – 0.36, and the frequency of homozygotes c.1384GG – 0.03. The actual and theoretical heterozygosity rates were 58.3 % and 46.1 %, respectively, for the group of patients with Parkinson's disease and 36.0 % and 32.8 % for the control group. The OR index for the c.1384G allele was 1.76 (95 %

CI: [1.30–2.39]), indicating that the presence of the c.1384G allele in the genotype increases the risk of Parkinson's disease by 1.76 times.

Analysis of homozygous deletions in the *GSTM1* gene (genotype del) showed that the distribution of genotypes differed significantly: the frequencies of genotype + and genotype del were 0.55 and 0.45, respectively, in the group of patients with Parkinson's disease and 0.67 and 0.33 among the representatives control group ($p < 0,05$). The OR for the del genotype was 1.65 (95 % CI: 1.15–2.37), indicating that the presence of a homozygous deletion in the *GSTM1* gene increases the risk of Parkinson's disease by 1.65 times.

Analysis of the e2/e3/e4 allelic polymorphism of the *APOE* gene in patients with Parkinson's disease showed significantly higher frequencies of the e3 / e4 and e4 / e4 genotypes in the group of patients with Parkinson's disease, presumably indicating an association between the e4 allele and the risk of Parkinson's disease. Carriers of the e3/e4 genotype increase the risk of Parkinson's disease by 2.08 (95 % CI: 1.18–3.65) times; genotype e4/e4 – 3.53 (95 % CI: 0.12–13.86) times. The OR calculated for the e4 allele was 2.36 (95 % CI: 1.47–3.81).

Telomere length in buccal epithelial cells was significantly shorter in patients with Parkinson's disease than in controls and correlated ($r = 0.55$; $p < 0.01$) with telomere length in blood cells.

Shorter telomeres in buccal epithelial cells can be the result of oxidative stress, and can be used as a marker of Parkinson's disease in the early stages of the disease. Telomere length in blood cells is not suitable for use as a marker of Parkinson's disease.

Molecular genetic testing and genetic counseling are recommended for patients with Parkinson's disease and their families to predict the risk of developing and progressing Parkinson's disease. It is recommended to evaluate single-nucleotide replacement c.6055G>A in the *LRRK2* gene, c.1448T>C and c.1226A>G in the *GBA* gene as part of molecular genetic testing of patients with Parkinson's disease and their families.

Thus, as a result of the study, for the first time a DNA bank was created for 216 patients diagnosed with Parkinson's disease and 300 healthy people of the appropriate age without neurological disorders from Ukraine; genotyping and frequency of alleles and genotypes, indicators of actual and theoretical heterozygosity for major mutations of genes associated with parkinsonism (*LRRK2*, *SNCA*, *GBA*) and genes *CYP1A1*, *GSTM1*, and *APOE* in the group of patients from Ukraine; the length of telomeric sites in leukocytes and buccal epithelial cells in patients from Ukraine was determined.

The solution of these problems allowed to deepen the understanding of the molecular genetic aspects of the mechanisms underlying the pathogenesis or associated with Parkinson's disease, in particular, the single nucleotide replacement c.6055G>A in the *LRRK2* gene, g.85907C>A in the *SNCA* gene, c.1448T>C and c.1226A>G in the *GBA* gene, allelic polymorphism c.1384A>G in the 7th exon of the *CYP1A1* gene, homozygous deletion in the *GSTM1* gene (genotype + / del), e2/e3/e4 polymorphism of the *APOE* gene, telomere length. The results of the study provide a scientific basis for the development of new approaches to the diagnosis and prediction of Parkinson's disease, identification of risk groups and more.

Key words: Parkinson's disease, mutations, gene polymorphism, telomeres, molecular genetic research.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	17
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦІЄНТІВ З ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	24
1.1. Хвороба Паркінсона. Загальні відомості	24
1.2. Генетичні аспекти хвороби Паркінсона.....	29
1.3. Хвороба Паркінсона та чинники навколишнього середовища.....	44
1.4. Хвороба Паркінсона та ліпідний обмін.....	45
1.5. Хвороба Паркінсона та довжина теломер.....	49
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	52
2.1. Загальна характеристика контингенту	52
2.2. Методи дослідження.....	53
2.2.1. Виділення та очищення ДНК.....	53
2.2.2. Ампліфікація послідовностей ДНК за допомогою ПЛР	53
2.2.3. Ідентифікація мутацій методом рестрикційного аналізу та аналізу кривих ампліфікації.....	55
2.2.4. Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК.....	55
2.2.5. Визначення довжини теломерного повтору методом ПЛР в реальному часі.....	59
2.2.6. Статистична обробка отриманих результатів.....	59
РОЗДІЛ 3. ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ, АСОЦІЙОВАНИХ З ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА, СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ.....	62
3.1. Однонуклеотидна заміна с.6055G>A в гені <i>LRRK2</i>	62
3.2. Однонуклеотидна заміна g.85907C>A в гені <i>SNCA</i>	65
3.3. Однонуклеотидна заміна с.1448T>C в гені <i>GBA</i>	66

	16
3.4. Однонуклеотидна заміна с.1226A>G гена <i>GBA</i>	69
РОЗДІЛ 4. АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ <i>CYP1A1</i> ТА <i>GSTM1</i> , І ГЕНА <i>APOE</i> ЯК ФАКТОРІВ СПАДКОВОЇ СХИЛЬНОСТІ ДО РОЗВИТКУ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА	75
4.1. Аналіз алельного поліморфізму с.1384A>G у гені <i>CYP1A1</i>	75
4.2. Аналіз гомозиготної делеції у гені <i>GSTM1</i> (генотип +/-del)	79
4.3. Аналіз алельного поліморфізму гена <i>APOE</i> у пацієнтів з хворобою Паркінсона	82
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР ЯК МАРКЕРА ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА	90
РОЗДІЛ 6. УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	96
ВИСНОВКИ	111
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	112

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

БСА	— бичачий сироватковий альбумін
ДІ	— довірчий інтервал
ДНК	— дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕДТА	— етилендіамінтетраамінооцтова кислота
ПЛР	— полімеразна ланцюгова реакція
п. н.	— пара нуклеотидів дезоксирибонуклеїнової кислоти
РНК	— рибонуклеїнова кислота
т. п. н.	— тисяч пар нуклеотидів дезоксирибонуклеїнової кислоти
ХГ	— хвороба Гоше
ХП	— хвороба Паркінсона
ХА	— хвороба Альцгеймера
АРОЕ	— аполіпопротеїн Е (англ. apolipoprotein E)
СYP1A1	— цитохром P450, сімейство 1, підродина А, поліпептид 1 (англ. cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1)
dNTP	— дезоксинуклеотидтрифосфати
GBA	— бета-глюкозилцерамідаза (англ. glucosylceramidase beta)
GSTM1	— мю-1 глутатіон S-трансфераза (англ. glutathione S-transferase mu 1)
LRRK2	— багата на лейцинові повтори кіназа 2 (англ. leucine-rich repeat kinase 2)
OR	— відношення шансів (англ. odds ratio)
SNCA	— синуклеїн альфа (англ. synuclein alpha)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Хвороба Паркінсона (ХП) — один із найважчих і найпоширеніших нейродегенеративних прогресуючих патологічних процесів, який характеризується порушеннями функцій нервової системи (у першу чергу рухових) і системного ураження всього організму [1, 2].

Розповсюдженість ХП висока в усьому світі. Загальна частота ХП в популяції варіює від 0,1 % до 1 % населення і зростає з віком [3]. Так, частота вперше діагностованої ХП становить 5–35 нових випадків на 100 000 населення щорічно, зростаючи у 5–10 разів серед осіб віком 60–90 років [4]. Розповсюдженість ХП встановлюється на відносно однаково високому рівні у віці 80 років і більше [5], варіюючи у різних пропорціях між чоловіками та жінками в різних регіонах [6].

Чималою є медична, соціальна та економічна складові тягаря, обумовленого ХП. Догляд, соціальна адаптація, реабілітація пацієнтів з ХП накладають особливі вимоги на систему охорони здоров'я та соціальні служби [7]. Попри понад 200-річний період пошуку шляхів попередження, діагностики та лікування ХП (з моменту першого опису J. Parkinson у 1817 році [8]) та величезну кількість досліджень, проблема і досі залишається далекою від свого розв'язання.

Наріжним каменем успішного розв'язання медичних проблем ХП є своєчасні діагностика, профілактика, а також адекватне лікування [9, 10].

Морфофункціональним субстратом ХП є дегенерація і загибель нейронів чорної субстанції стовбурової частини головного мозку. Існують численні механізми реалізації цього патологічного процесу [4, 11–23]. На відміну від вторинного паркінсонізму з певною етіологією, причини ХП можуть бути різні і не так очевидні. На теперішній час ХП вважають поліетіологічним, багатofакторним захворюванням, у розвитку якого відіграють роль чинники як зовнішні, так і внутрішні, зокрема,

спадковість [24]. Окремі дослідники розділяють генетично обумовлену та ідіопатичну форми ХП [25, 26]. Але лавиноподібні досягнення останніх років на теренах клінічної генетики ХП настільки значні, що деякі механізми, зокрема, перехресні з іншою, коморбідною, патологією знаходять генетичне обґрунтування і в будь-якому випадку сприяють розвитку діагностичних, прогностичних та навіть лікувальних підходів до цієї патології [27–64]. Тим не менше, лікування ХП також до теперішнього часу є нерозв'язаною медичною проблемою, характеризуючись важко прогнозованим клінічним виходом тощо [65, 66].

Таким чином, на сьогоднішній день не викликає сумнівів існування низки конститутивних генетичних і біохімічних факторів, які визначають схильність конкретної особи до розвитку ХП; проте питання співвідношення цих факторів, їх популяційної специфічності, а також цілеспрямованої профілактики, заснованої на виділенні групи ризику, до теперішнього часу розроблені недостатньо. Дослідження міжіндивідуальних особливостей (алельних варіантів генів) представляє безперечний інтерес [64, 67, 68]. Хоча результати асоціативних досліджень деколи суперечливі, вони дозволяють з'ясувати внесок певних генів і поліморфізмів в маніфестацію і розвиток захворювання, а також розробити набір ДНК-тестів для медико-генетичного консультування в різних етнічних групах.

Все викладене вище свідчить про низку невирішених питань щодо цієї проблеми та підкреслює її актуальність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дослідження проводилося на клінічній базі державної установи «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України». Дисертаційне дослідження є частиною науково-дослідної роботи «Поліморфізм генів *GBA*, *LRRK2*, *PARK2*, *SNCA* та *PINK1* при хворобі Паркінсона» (01.01.2014–31.12.2016, номер державної реєстрації 0113U002113).

Мета дослідження — вивчення ролі мутацій та поліморфних варіантів низки генів, а також довжини теломер у розвитку ХП.

Для досягнення поставленої мети сформульовано наступні завдання:

1. Проаналізувати частоту мутації с.6055G>A в гені *LRRK2*;
2. Проаналізувати частоту мутацій с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA*;
3. Проаналізувати частоту мутації с.209G>A гена *SNCA*;
4. Оцінити асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів гена *CYP1A1*;
5. Оцінити асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів гена *GSTM*;
6. Оцінити асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів гена *APOE*;
7. Визначити довжину теломерних ділянок хромосом в лейкоцитах та клітинах букального епітелію у пацієнтів з ХП та осіб контрольної групи.

Об'єкт дослідження: спадкова природа хвороби Паркінсона.

Предмет дослідження: молекулярно-генетичні аспекти спадкової схильності до ХП.

Методи дослідження:

1. Виділення та очищення ДНК.
2. Ампліфікація послідовностей ДНК за допомогою ПЛР.
3. Ідентифікація мутацій методом рестрикційного аналізу.
4. Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК.
5. Ідентифікація мутацій методом ПЛР в реальному часі.
6. Визначення довжини теломерних повторів методом ПЛР в реальному часі.
7. Статистична обробка отриманих результатів.

База наукового дослідження: ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова» НАМН України.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше:

- створено банк ДНК 216 пацієнтів зі встановленим діагнозом ХП та 300 здорових людей відповідного віку без неврологічних порушень з України;

- проведено генотипування та встановлено частоти алелів і генотипів, показники фактичної та теоретичної гетерозиготності за мажорними мутаціями генів, асоційованих з паркінсонізмом (*LRRK2*, *SNCA*, *GBA*), та генів *CYP1A1*, *GSTM1*, та *APOE* в групі пацієнтів з України;

- визначено довжину теломерних ділянок в лейкоцитах та клітинах буккального епітелію у пацієнтів з України.

Теоретичне значення одержаних результатів дослідження.

Розв'язання поставлених завдань надало змогу поглибити уявлення про молекулярно-генетичні аспекти механізмів, які лежать в основі патогенезу, або асоційовані з ХП, зокрема, однонуклеотидну заміну с.6055G>A в гені *LRRK2*, г.85907C>A в гені *SNCA*, с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA*, алельний поліморфізм с.1384A>G у 7-му екзоні гена *CYP1A1*, гомозиготну делецію у гені *GSTM1* (генотип +/del), алельний поліморфізм гена *APOE*, довжини теломер.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати проведеного дослідження надають наукове обґрунтування розробці нових підходів до діагностики й прогнозування ХП, виявлення груп ризику на основі даних генотипування. Отримані в роботі результати можуть бути використані в діагностиці та медико-генетичному консультуванні пацієнтів та членів їх родин.

Особистий внесок здобувача.

Здобувачем спільно з науковим керівником обґрунтовано актуальність дослідження, визначено мету та завдання. Самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, розроблено дизайн дослідження, облікові карти обстеженого контингенту, виконано біологічну частину роботи, здійснено

статистичний аналіз та інтерпретацію результатів, а також впровадження висновків і практичних рекомендацій. Автором написано всі розділи дисертації, автореферат та взято участь у складанні друкованих матеріалів і доповідей за матеріалами дослідження.

Апробація результатів дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи доповідалися і обговорювалися на: IV міжнародній науковій конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (9–11 жовтня, 2012, м. Київ, Україна); VII міжнародній конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (20–23 листопада, 2012, м. Харків, Україна); Міжнародній науковій конференції студентів та молодих науковців «Шевченківська весна 2012: біологічні науки» (19–23 березня, 2012, Київ, Україна); X міжнародному симпозіумі «Биологические механизмы старения», (16–19 травня, 2012, Харків, Україна); V международной школе молодых ученых по молекулярной генетике «Непостоянство генома», (3–7 декабря, 2012. Звенигород, Россия); VIII міжнародній конференції молодих вчених «Біологія: від молекули до біосфери» (3–6 грудня, 2013, Харків, Україна); III міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (24–27 лютого, 2014, Донецьк, Україна), X Міжнародній науковій конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (14–18 вересня, 2015, Чернівці, Україна); VI Національному конгресі геронтологів і геріатрів України (19–21 жовтня, 2016, Київ); IV конференції «Екстрапірамідні захворювання: клініка, діагностика, лікування» (2–3 листопада, 2017, Київ, Україна).

Публікації.

За темою дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових праць, з них 6 статей у наукових журналах (5 — у фахових українських і зарубіжних виданнях), 6 тез доповідей у матеріалах українських і міжнародних конференцій, симпозіумів та з'їздів. Новітні положення захищено одним

патентом на корисну модель (Коляда О. К. Спосіб генетичної діагностики хвороби Паркінсона / О. К. Коляда, О. М. Вайсерман // Патент на корисну модель 86930 UA, МПК (2014.01) G01N 33/0; заявник та патентовласник ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України» (UA). — № u201310200; заявл. 19.08.2013; опубл. 10.01.2014, Бюл. № 1.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертація складається із анотації, вступу, огляду наукової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, трьох розділів власних досліджень з аналізом отриманих даних, узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел.

Дисертацію викладено на 176 сторінках друкованого тексту, який містить 13 таблиць, 7 рисунків. Бібліографія включає 606 джерел, із них кирилицею — 18, латиницею — 588.

РОЗДІЛ 1

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦІЄНТІВ З ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Хвороба Паркінсона. Загальні відомості

Хвороба Паркінсона (ідіопатичний або первинний паркінсонізм, ХП) — це друге за поширеністю, після хвороби Альцгеймера (ХА) [6], нейродегенеративне захворювання, що в основному впливає на рухову систему та вражає літніх людей [69]. Достеменно етіологію ХП не встановлено, однак відомо, що генетичні та екологічні фактори мають суттєвий вплив на її розвиток [3]. Захворювання вперше було описано в 1817 році Джеймсом Паркінсоном у його роботі «Есе про тремтячий параліч», де він виклав інформацію стосовно основних рухових розладів при ХП [8]. Захворювання вивчалось протягом наступних 70 років. У 1880 році дослідником Жаном Мартеном Шарко було описано повну клінічну картину та присвоєно назву на честь першовідкривача хвороби [65, 70]. Головною патоморфологічною ознакою захворювання є наявність α -синуклеїнових тіл Леві та втрата допамінергічних нейронів у чорній субстанції головного мозку. Основними патогенетичними процесами, які призводять до таких змін, вважають мітохондріальну дисфункцію, аномальну агрегацію α -синуклеїну та окислювальний стрес [3, 50, 71–79]. α -синуклеїн являє собою невеликий білок, що складається з 140 амінокислот, які формують три його частини: позитивно заряджену N-кінцеву ділянку, центральну гідрофобну зону, яка має високу схильність до агрегації, і висококіслотний C-кінцевий домен. Цей білок переважно розташований в пресинаптичних терміналях нейронів у мітохондріально-асоційованих мембранах ендоплазматичного ретикулуму [79, 80]. Виходячи з унікальної структури α -синуклеїну, він може легко взаємодіяти з аніонними ліпідами, спричиняючи конформаційні зміни, які сприяють агрегації. У свою чергу, ці агрегатно-схильні розчинні

форми α -синуклеїну можуть перешкоджати функціям лізосом та мітохондрій, аутофагії, везикулярному гомеостазу і транспорту мікротрубочок, що пояснює значну роль α -синуклеїну у патогенезі ХП [81]. Нещодавні дослідження показали, що α -синуклеїн може спричинювати мітохондріальну дисфункцію шляхом приєднання до протеїнів мембрани мітохондрій (аніон-селективного каналу 1, транслокази зовнішньої мембрани 40 та інших) [82]. Нові дані вказують на те, що α -синуклеїн може взаємодіяти із зовнішньою мембраною мітохондрій і може бути імпортований із цитоплазми всередину мітохондрії при взаємодії з АТФазою типу F [83, 84].

За даними різних авторів, поширеність ХП серед загальної популяції коливається в межах від 1 до 2 випадків на 1000 населення [3, 5, 6, 69]. хвороба рідко зустрічається у віці до 50 років, вона вражає близько 1 % населення у віці старше 60 років і сягає поширеності 4 % у найвищих вікових групах [3]. У високорозвинених країнах щорічна захворюваність на ХП складає 14 на 100 000 загального населення [3, 6] та 160 на 100 000 осіб віком 65 років і більше [6]. Очікується, що через загальне старіння населення Землі кількість пацієнтів з ХП може подвоїтися до 2030 року [71].

Показники захворюваності на ХП відрізняються в залежності від статі, віку, географічного положення (в чому певну роль, яка відрізняється в окремих регіонах, відіграють як зовнішні умови, так і етнічність) тощо. Автори чисельних мета-аналізів підкреслюють, що поширеність ХП зростає з віком [5, 6, 85]. Як вірогідну причину такої тенденції виділяють несвоєчасне встановлення діагнозу у людей похилого віку [6]. Так, аналіз епідеміологічних даних за 1985–2010 роки показав, що найменше пацієнтів із ХП спостерігалось у віковій категорії 40–49 років (41 на 100 000 осіб), а найбільша кількість пацієнтів із встановленим діагнозом ХП була серед осіб у віці старше 80 років (1903 на 100 000 осіб) [85].

Останній систематичний огляд досліджень з вивчення епідеміології ХП мав такі результати: у жінок частота захворюваності постійно зростала з

часом, від 3,26 на 100 тис. людино-років у віці 40–49 років до 103,48 у віці 80+ і досягла максимуму у віці від 70 до 79 років. У чоловіків показники захворюваності були більшими і зростали від 3,57 на 100 000 людино-років у віці 40–49 років до 258,47 у віці 80+. На відміну від жінок, чоловіча захворюваність продовжувала зростати після 80 років [5].

Серед пацієнтів із ХП усіх вікових категорій існує переважання осіб чоловічої статі, що за даними різних авторів перевищує кількість хворих жінок у 1,4–3,7 разів [6, 86, 87]. До можливих етіологічних факторів таких статевих відмінностей відносять нейропротекторний ефект естрогенів, генетичні фактори, відмінності в розвитку та функціонуванні мозку, вплив навколишнього середовища тощо [5, 6, 85]. Аналізуючи дані 4219 епідеміологічних досліджень з вивчення ХП, проведених у період з 1985 по 2010 роки, T. Pringsheim et al. (2014) визначили, що у віковій групі від 50 до 59 років чоловіки мали значно більшу поширеність ХП (134 на 100 тис.) у порівнянні з жінками (41 на 100 000) ($p < 0,05$). При цьому показники захворюваності були майже рівними у чоловіків та жінок в країнах Азії, а відмінність між ними спостерігається у жителів інших регіонів світу (Європа, Північна Америка, Австралія, Азія або Південна Америка) [85]. Як можливу причину таких розбіжностей дослідники вказують різну статистику тютюнопаління у світі, що є одним із факторів ризику ХП [6]. В свою чергу, нещодавній метааналіз виділив інші вікові групи, у яких існувало значне переважання чоловіків у статистиці захворюваності на ХП. Так, у віці від 60 до 69 років чоловіки мали значно вищі показники захворюваності на 58,22 на 100 000 людино-років, ніж жінки, із 30,32 на 100 000 людино-років ($p = 0,0012$). Чоловіки також мали значно вищі показники захворюваності, ніж жінки у віці від 70 до 79 років, з 162,58 на 100 000 людино-років порівняно з 93,32 на 100000 людино-років відповідно [5].

Дані щодо захворюваності за расовою або етнічною приналежністю є рідкісними та непослідовними. Більшість з них повідомляють про те, що захворюваність на ХП серед людей білої раси вища, аніж така у

темношкірого та азіатського населення [85]. Загалом, поширеність є вищою в Європі та Сполучених Штатах Америки, ніж у країнах Азії, Латинської Америки та Африки [88, 89]. З урахуванням того, що хвороба Паркінсона зустрічається переважно у людей похилого віку, такі низькі рівні її поширеності у цих країнах можуть бути пов'язані з короткою тривалістю життя людей в цих регіонах. Метааналіз епідеміологічних досліджень, проведених з 1985 по 2010 роки, показав, що особи у віці від 70 до 79 років в деяких країнах Азії мали значно нижчу поширеність ХП (646 на 100 000; $p < 0,05$) порівняно з особами того ж віку в країнах Європи, Північної Америки та Австралії (1,602 на 100 000; $p < 0,05$) [85].

Вивчення епідеміології ХП у різних країнах є розповсюдженим і показує різні часові тенденції. У Великобританії з 1999 по 2009 рік було зареєстровано щорічне зниження захворюваності на ХП на 6 %, що пояснюється поліпшеною діагностикою різних паркінсонічних синдромів, оскільки загальна частота ХП залишалася постійною [90]. За даними авторів, захворюваність на паркінсонізм та його основну причину — хворобу Паркінсона — зменшилася у Роттердамі (Нідерланди) у 1990–2010 роки [91] і, навпаки, збільшилася у 1976–2005 роки в Мінесоті (США) [92].

В Україні кількість зареєстрованих випадків ХП складає 59,6 на 100 000 населення та значно варіюється у регіонах від 30,6 до 122,5 на 100 000 населення у Донецькій та Вінницькій області відповідно [93]. Такий низький показник може бути пов'язаний із гіподіагностикою захворювання.

До класичних моторних симптомів ХП, відомих ще з XIX століття, належить тріада: брадикінезія, м'язова ригідність та тремор спокою [8]. Протягом довгого часу постуральна нестабільність також вважалася обов'язковим критерієм діагностики ХП, однак наразі цей симптом виключений з переліку основних. Виділяють дві основних форми хвороби Паркінсона: тремор-домінантна (tremor-dominant) (з можливою відсутністю інших моторних симптомів) і нетремор-домінантна (non-tremor-dominant) форма (включає фенотипи, описані як акінетико-ригідний синдром і

постуральна нестабільність ходи). Додаткова підгрупа пацієнтів з хворобою Паркінсона має змішаний або невизначений фенотип з декількома моторними симптомами різного ступеню важкості. Для тремор-домінантної ХП характерний більш доброякісний перебіг із меншим рівнем важкості функціональних розладів і повільнішим темпом прогресування захворювання, порівняно до нетремор-домінантної форми [94–96].

Стає все більш очевидним, що ХП починається за багато років до появи перших моторних симптомів і встановлення діагнозу. Методи візуалізації мозку показують, що моторні ознаки з'являються тоді, коли втрата дофамінергічних нейронів вже є значущою. Немоторні симптоми часто з'являються до появи класичних моторних розладів і являють собою премоторну фазу захворювання. Вони включають нюхові розлади, когнітивні та психічні порушення, розлади сну, вегетативну дисфункцію, больовий синдром та втому. Когортні дослідження показують, що немоторні симптоми, такі як аносмія, запор або розлади поведінки в фазі сну зі швидкими рухами очей (REM, rapid eye movement sleep behaviour disorder) можуть бути присутніми в середньому протягом 12–14 років до появи моторних ознак (до 20 років у деяких дослідженнях) [97–100]. Передбачається, що цей продромальний період є «терапевтичним вікном», протягом якого лікування за допомогою препаратів модифікуючої терапії (disease modifying therapy) може зупинити дегенерацію дофамінергічних нейронів чорної субстанції і затримати патологічний процес. В іншому випадку, прогресування ХП призводить до розвитку моторних і немоторних ускладнень, що включають дискінезію, дисфагію та психоз. Розлади вегетативної нервової системи, такі як нетримання сечі, закрепи з необхідністю щоденного прийому проносних засобів і симптоматична постуральна гіпотензія є поширеними немоторними ознаками на пізніх стадіях хвороби Паркінсона [101]. Деменція особливо поширена і зустрічається у 83 % пацієнтів з ХП, що мають 20-річну тривалість захворювання [102, 103]. Всі ці та інші ускладнення ХП значною мірою

сприяють втраті працездатності, погіршенню якості життя пацієнта і призводять до високої смертності у цій групі пацієнтів [104].

1.2. Генетичні аспекти хвороби Паркінсона

Перше відоме систематичне генетичне дослідження хвороби Паркінсона було проведено Mj6nes в 1949 році. Його результати показали аутосомно-домінантну передачу з 60 % пенетрантністю [105]. Ці висновки, однак, довго не враховувалися, оскільки олігосимптомні і атипові родичі вважалися вторинними випадками без чіткого обґрунтування. Подальші дослідження поодиноких пацієнтів і пар близнюків не змогли підтвердити докази сімейної схильності до ХП, а гіпотеза генетичної етіології була затьмарена цікавістю до можливих нейротоксинів навколишнього середовища [106].

1.1.1. Результати близнюкових та популяційно-епідеміологічних досліджень. Вивчення ролі спадкової схильності в етіології ХП почалися ще на початку минулого століття. Для підтвердження генетичної гіпотези вчені проводили низку близнюкових досліджень, однак їхні результати не були однозначними. Вперше цей метод застосував Duvoisin R. C. et al. (1981) при вивченні 12 монозиготних пар близнюків дійшовши до висновку, що існує нульова конкордантність для ХП у досліджуваних пар і що генетичні фактори не відіграють великої ролі в етіології ХП [107–109]. Пізніше, R. J. Marttila et al. (1988) при вивченні фінської близнюкової когорти встановили 42 випадки ХП у 41 пар близнюків, включаючи 18 монозиготних, 14 дизиготних пар і 9 пар невизначеної зиготи. Тільки одна дизиготна пара була конкорданта по ХП; всі інші пари були дискордантні. Таким чином, була встановлена низька конкордантність ХП як у монозиготних, так і у дизиготних парах близнюків [110]. Схожі результати отримали у своїх дослідженнях ще декілька авторів, стверджуючи, що це захворювання є придбаним, не

викликаним спадковим процесом [111–114]. Хоча Tanner et al. (1999) повідомили про більш високий рівень конкордантності серед монозиготних близнюків, в яких захворювання виникло до 50 років, що свідчить про важливість генетичних факторів в етіології ХП із раннім початком [115].

Однак, починаючи з 1990-х років, завдяки появі нових методів дослідження були переглянуті дані, отримані при вивченні ХП у близнюкових парах. Використання радіоізотопних методів дослідження мозку пацієнтів та їх близнюків показало, що зміни в мозковому обігу дофаміна часто спостерігається не тільки у пацієнтів з тривалим перебігом ХП, але і у клінічно здорових людей, у яких є близнюк з ХП [116–118]. За результатами позитронно-емісійної томографії у монозиготних парах нігральна дисфункція сягала 45 %, а у дизиготних — 29 % [118]. У дослідженні Piccini et al. (1999) було встановлено високу конкордантність (75 % у монозиготних близнюків і 22 % у дизиготних близнюків) для рівня субклінічної дофамінергічної дисфункції [119]. Таким чином, методи позитронно-емісійної томографії та однофотонноемісійної комп'ютерної томографії дозволили значно підвищити чутливість діагностики прихованої форми хвороби в досліджуваних близнюкових парах і припустити, що конкордантність для нігральної патології у ХП-близнюків може бути вище, ніж за даними попередніх досліджень [116–118].

Безперечну спадкову схильність до розвитку ХП було чітко встановлено також і у великій кількості популяційно-епідеміологічних досліджень [120–132]. При аналізі великих вибірок пацієнтів було доведено, що наявність позитивного сімейного анамнезу є одним з провідних факторів ризику розвитку ХП. Для паркінсонізму є чітка тенденція до внутрішньосімейного накопичення випадків захворювання, а позитивний сімейний анамнез був знайдений у 10–24 % пацієнтів, причому ризик виникнення хвороби серед родичів першого ступеня споріднення варіює від 4 до 10 %, значно перевищуючи (в 2–7 разів) загальнопопуляційний [130].

Метааналіз досліджень, присвячених вивченню спадкової схильності до ХП, проведений у 2008 році мав такі результати: відносний ризик (ВР) для родичів пацієнтів із ХП першого ступеня складав 2,9 (95 % довірчий інтервал (ДІ): 2,2–3,8; $P = 2,2 \text{ E-}14$), ВР для пар братів — 4,4 (95 % ДІ: 3,1–6,1; $P < 1,0 \text{ E-}30$), тоді як для пар дітей-батьків — 2,7 (95 % ДІ: 2,0–3,7; $P = 3,6 \text{ E-}10$). ВР для раннього початку ХП складав 4,7 (95 % ДІ: 3,2–6,8; $P = 6,7 \text{ E-}16$), тоді як для пізнього початку ХП він становив 2,7 (95 % ДІ: 1,9–3,9; $P = 1,8 \text{ E-}8$) [127].

М. Y. Shino et al. (2010) провели мультиетнічне когортне дослідження на рівні громади Північної Каліфорнії, де було встановлено, що родичі першого ступеня мали більш ніж в три рази підвищений ризик ХП порівняно з родичами групи контролю (2,0 % проти 0,7 %; ВР = 3,4; 95 % ДІ 1,9–5,9; $P = 0,0001$). Сімейна схильність до ХП була сильнішою у братів і сестер (ВР = 5,4, 95 % ДІ 1,8–16,0), ніж у батьків (ВР = 2,7, 95 % ДІ 1,3–5,2) [120].

Сімейний анамнез особливо характерний для ранніх (до 40 років) випадків ХП, адже попередні дослідження показали, що, загалом, ВР мати родича першого ступеня з ХП є більш високим для пацієнтів із раннім початком ХП [122–125]. Це підтверджується близнюковими дослідженнями [115]. До того ж, пацієнти зі встановленим сімейним анамнезом ХП мають більш повільне прогресування симптомів ХП та когнітивного зниження [121], хоча у дослідженні М. W. Kurz et al. (2006) деменція частіше зустрічалася у пацієнтів із ХП та супутнім сімейним анамнезом захворювання [132].

1.1.2. Моногенні форми хвороби Паркінсона. Близько 5–10 % пацієнтів із ХП мають моногенну форму захворювання, для якої, як правило, характерні ранній вік початку і більш яскрава патоморфологічна картина. Хоча в деяких випадках захворювання може проявлятися в пізньому віці і клінічно нагадує спорадичну ХП. Мутації в генах синуклеїну альфа (англ. synuclein alpha, *SNCA*), багатой на лейцин повторної кінази 2 (англ. leucine-rich repeat kinase 2, *LRRK2*) і вакуолярного

білку, пов'язаного із сортуванням (англ. vacuolar protein sorting-associated protein, VPS35) є високопенетрантними і викликають аутосомно-домінантні форми ХП [133]. Більш рідкісні аутосомно-рецесивний та Х-зчеплений тип успадкування ХП є менш пенетрантними і викликають фенотипи захворювання, подібні до спорадичної ХП [81]. Більшість ХП-асоційованих генів відіграють роль у мітохондріальному гомеостазі. Мутації цих генів викликають мітохондріальну дисфункцію та, як наслідок, сімейну форму ХП [134].

Аутосомно-домінантні форми хвороби Паркінсона. Ідентифікація мутації р.А53Т в гені *SNCA* (alpha-synuclein, альфа-синуклеїн) як причини аутосомно-домінантної форми хвороби Паркінсона [135, 136] стала фундаментальною віхою, що проклала шлях до надзвичайно плідного поля генетики ХП. Незважаючи на те, що ген *SNCA* є найстарішим гравцем у цій галузі і є рідкісною причиною успадкованої ХП, дослідження α -синуклеїну залишаються неймовірно активними [137, 138].

Мутації в гені *SNCA* призводять до посилення функції та підвищеної агрегації альфа-синуклеїну, що порушує функції нервових синапсів [137]. Фенотиповий спектр може бути широким навіть серед членів однієї родини, починаючи від безсимптомного носійства до важкого перебігу захворювання з атиповими ознаками [137, 139].

Мутація р.А53Т була вперше описана в родинах, що проживали у Греції [135] та Італії [136], а згодом у США, Німеччині та Австралії у пацієнтів з італійським та грецьким походженням [140, 141]. Окремі випадки зустрічалися у пацієнтів без характерної етнічної належності з інших країн Європи та Азії (і цей аспект в роботах враховувався не достатньо) [142–146]. Пенетрантність мутації становить близько 80–90 % [147]; середній вік початку захворювання — 46 років [139]. Носії мутації мають більш агресивний та швидкий перебіг захворювання із раннім розвитком ускладнень порівняно з ідіопатичною формою ХП [147]. Клінічна картина

захворювання класична: виражені рухові порушення, за винятком тремору у спокої, що зустрічається рідко; характеризуються L-допа-чутливістю [134, 139, 148]. Немоторні прояви ХП включають нюхові та вегетативні розлади, головним чином в умовах сильної ортостатичної гіпотензії [147]. У носіїв мутації спостерігається поступове зниження когнітивних функцій, деменція зазвичай відбувається протягом 5–7 років від початку захворювання [139, 141, 147, 148].

Інші точкові мутації в гені *SNCA* є дуже рідкісними. Мутація p.E46K була зареєстрована в родині іспанського походження [149]. Пацієнти-носії мутацій мали досить важкий фенотип із високою пенетрантністю. Початок хвороби настає у віці 50–65 років. Ранньою ознакою когнітивного дефіциту є поява симптомів задньої кортикальної дисфункції [150], поступова деменція відбувається протягом 2–3 років [151]. Із вегетативних порушень характерною для даної мутації є серцева симпатична денервація [152].

Персоніфікований підхід до ХП реалізують шляхом так званого аналізу мутації основоположника (англ. founder mutation) [153, 154].

У носіїв мутації p.A30P, знайдених у німецькій родині, клінічний фенотип був схожий із фенотипом ХП із початком захворювання близько 60 років, неповною пенетрантністю і більш доброякісним перебігом [155]. Немоторні симптоми не були зареєстровані, за винятком когнітивного спаду, який був присутній у двох з чотирьох уражених осіб [156].

Мутація p.H50Q *SNCA* була зареєстрована в сім'ях з англійським походженням. В одній сім'ї пробанд виявляв досить типові моторні прояви ХП у віці 60 років і легкий когнітивний спад разом з апатією через 4 роки. Інтервал між появою симптомів та смертю склав 12 років. Його мати мала більш швидкий перебіг ХП протягом 5 років [157]. Інший випадок мутації із p.H50Q-пов'язаним пізнім початком ХП демонстрував розвиток деменції через 9 років після початку захворювання [158].

Мутацію p.G51D було знайдено у багатьох родинах різного етнічного походження. Вона може почати проявлятися у ранньому віці [159, 160] та

мати атипові клінічні прояви, такі як міоклонус та судоми і класичні розлади психіки, вегетативної нервової системи та когнітивних функцій [161, 162].

Крім точкових мутацій, мультиплікація гена *SNCA* також відповідає за успадковану ХП у сім'ях з декількома носіями мутацій. Ступінь вираженості клінічних симптомів корелює з кількістю копій гена *SNCA*, причому, у таких випадках спостерігається більш ранній початок захворювання та інвалідизація (ефект дози гена). Частіше зустрічаються дуплікації гена, що проявляється більш доброякісною клінічною картиною: середній вік початку захворювання 50 років [76], класичні моторні розлади та немоторні симптоми (депресія, психоз, порушення вегетативної регуляції) [163], що присутні у половині випадків. Триплікація гена *SNCA* призводить до важкої форми ХП із раннім початком захворювання [164], появою додаткових атипових симптомів, високим рівнем інвалідизації, когнітивного дефіциту, раннім розвитком деменції [164–166] та малою тривалістю життя після встановлення діагнозу.

Ген *LRRK2* (leucine-rich repeat kinase 2, багатої на лейцин повторюваної кінази) кодує дуже великий білок дардарин з декількома функціональними доменами. Продукти ферменту *LRRK2* відіграють важливу роль у везикулярному транспорті та регуляції аутофагії і лізосомальних функцій [167, 168].

Перші повідомлення про міссенс-мутації в *LRRK2*, асоційовані з ХП, було зроблено за результатами двох незалежних досліджень у 2004 році [169, 170]. В обох випадках для захворювання був характерний аутосомно-домінантний тип успадкування. На сьогодні відомо 9 патогенних міссенс мутацій *LRRK2*, частота яких варіює в різних етнічних популяціях: р. R1441G [169, 170], р. G2019S [76, 171, 172], р. Y1699C [169, 170], р. I2020T [170, 173], р. A1437H, р. A1628P, р. G2385A [174, 175]. Крім того, варіанти р. M1646T і р. A419V є генетичними факторами ризику у кавказьких і азійських популяціях відповідно [176].

Найбільш вивченою є мутація p.G2019S, на частку якої припадає 4 % сімейної ХП і 1 % спорадичних випадків ХП [177]. Загальним патоморфологічним висновком більшості дослідників зразків аутопсії носіїв мутантного гена є ознаки нігростріальної дегенерації, в той час як тільки Леві або включення Тау зустрічаються тільки в половині випадків [178, 179].

Слід зазначити, що для мутацій в гені *LRRK2* характерна певні етнічні особливості. Дуже високу частку сімейних і навіть спорадичних випадків з мутацією p.G2019S було виявлено у євреїв Ашкеназі і північноафриканських арабів [180, 181], тоді як дуже низький відсоток цієї мутації зустрічається в регіонах Греції [182] та на Далекому Сході [183].

Зв'язок мутацій гена *LRRK2* зі спорадичними випадками ХП був описаний у дослідженнях Hernandez et al. (2016) [138] та Nalls et al. (2014) [184]. Для мутації p.G2019S характерна неповна пенетрантність, яка протягом життя може коливатись в межах від 25 % до 80 % [177–181, 185, 186]. Середній вік початку захворювання складає 58 років без суттєвого статевого переважання [184]. Нещодавнє дослідження показало, що генетична мінливість з геном *DNM3* істотно впливає на вік появи клінічних проявів у носіїв p.G2019S [187].

Клінічний фенотип в *LRRK2*-асоційованої ХП (*LRRK2*-ХП) є досить схожим на ідіопатичну ХП: він має дещо більш доброякісну форму захворювання, що охоплює як моторні [188–190], так і немоторні [177, 191–194] ознаки, без явних атипових проявів. Відповідь на терапію леводопою була однаковою в цих двох групах: 88 % пацієнтів з мутантним геном *LRRK2* показали позитивну відповідь порівняно з 83 % пацієнтів з ідіопатичною ХП. Однак існують окремі повідомлення щодо випадків носіїв мутації *LRRK2* з атиповими фенотипами, такими як хореоатетоз, прогресивний над'ядерний параліч, кортикобазальна дегенерація та прогресуюча афазія [195–197]. Питання, чи можуть різні мутації *LRRK2* мати різні клінічні прояви, залишається відкритим і вимагає подальших досліджень [198].

Ген *GBA*, який кодує лізосомальний фермент глюкоцереброзідазу (ГЦ), є найбільш поширеним генетичним субстратом для ХП [199–201]. На теперішній час відкрито більше 300 різних мутацій гена ГЦ, основною функцією якої є розщеплення сфінголіпиду глюкозилцераміду на глюкозу та церамід [199]. Хвороба Гоше (ХГ) — найпоширеніша лізосомальна хвороба накопичення, є наслідком біалельної мутації гена *GBA*, тоді як ХП може виникнути в результаті як моно-, так і біалельної мутації [199].

Перші відомості про зв'язок між мутаціями *GBA* і ХП були отримані завдяки клінічним спостереженням за пацієнтами з ХГ, які мали симптоми паркінсонізму, та їх родичами зі встановленим діагнозом ХП [202, 203], відповідно, з дослідженнями щодо родичів пацієнтів з ХГ, які мали підвищену частоту розвитку ХП [204]. Остаточну асоціацію було встановлено Sidransky et al. (2009) при мультицентровому аналізі мутацій гена ГЦ у пацієнтів з ХП [205]. Більшість дослідників вважає, що мутація *GBA* призводить до зниження функції ферменту ГЦ [206, 207]. Теорії, що пояснюють вплив мутації *GBA* на розвиток ХП, включають такі, як накопичення α -синуклеїну, що доведено чисельними знахідками ознак синуклеопатії на аутопсіях, порушення функцій лізосом і процесу аутофагії та стрес ендоплазматичного ретикулуму [199, 206, 207].

GBA-асоційована ХП (*GBA*-ХП) особливо часто зустрічається у євреїв Аспеназі та в Греції [205, 208]. Більшість пацієнтів з *GBA*-ХП мають спорадичну форму захворювання, що відповідає зниженій пенетрантності мутацій в гені *GBA* [209, 210].

Існують суперечливі дані щодо характеру і тяжкості клінічних проявів *GBA*-асоційованої ХП. Носії мутації в гені *GBA* схильні до розвитку перших симптомів ХП в середньому на 2–6 років раніше, ніж при ідіопатичній ХП [205, 208–211]. Типові рухові розлади, такі як брадикінезії, тремор спокою і ригідність, зустрічаються з меншою частотою. З іншого боку, носії мутантного гена схильні до швидкого прогресування моторного дефіциту, раннього розвитку моторних ускладнень [212] і високих показників

смертності, порівняно з пацієнтами із ХП, які не мають підтвердженої генетичної аномалії [213]. Однак, Oeda et al. (2015) дійшли до протилежних висновків у своєму дослідженні моторних та немоторних ускладнень ХП [214].

Немоторні розлади мають важчий характер, ніж за ідіопатичної ХП. Когнітивна функція починає пригнічуватися із самого початку захворювання [213, 215]. Це було підтверджено у великій когорті ХП, з більшим ризиком деменції в GBA-ХП порівняно з носіями [216]. У великому багатоцентровому дослідженні Sidransky et al. (2009) також було повідомлено про більшу частку когнітивних змін у GBA-ХП [205]. У дослідженні Zokaеі et al. (2014) носії *GBA* мали селективний дефект у вигляді порушення зорової пам'яті, що може слугувати специфічною ознакою мутації [217]. Щодо психічних порушень, пацієнти з *GBA*-асоційованою ХП мають більші шанси розвитку депресії, апатії та тривожних станів [218, 219], а також більш ранню появу симптомів психозу [214], порушень сну [220, 221] та нюхових розладів [219, 222] порівняно з ідіопатичною ХП.

До того ж, дисфункцію ГЦ також було знайдено у не носіїв мутацій в гені *GBA*, що свідчить про її взаємодію з іншими патофізіологічними механізмами ХП [199]. Продукти менделюючих ознак генів ХП, *Parkin* і *ATP13A2* перетинаються з ГЦ. Ці фактори свідчать про складну схему *GBA*-асоційованої невропатології [200].

Структура гена білку VPS35 (Vacuolar sorting protein 35) впливає на синаптичний ендоцитоз і регенерацію синаптичних везикул через Rab-опосередкований ендоцитарний шлях [223, 224]. Білок VPS35 входить до складу ретромерного комплексу, що бере участь у рециркуляції білків з ендосом до мережі транс-Гольджі, таким чином регулюючи їх внутрішньоклітинну локалізацію і стабільність [225]. Єдиною мутацією, виявленою у гені VPS35, є р.Asp620Asn, яка є рекурентною мутацією, виявленою у багатьох різних популяціях [223]. Пацієнти мають симптоми, подібні до симптомів ідіопатичної ХП [226, 227], але із середнім віком

близько 50 років [227–231]. Кілька описаних випадків мали більш ранній початок, у віці 40–50 років [232, 233]. У всіх пацієнтів представлена класична тріада, серед яких тремор є переважаючим симптомом, існує хороша реакція на леводопу, а немоторні та атипові прояви зустрічаються рідко [227, 234]. Прогресування захворювання є повільним, а когнітивні порушення або нейропсихічні ознаки рідкісні. При оцінці невропатологічної картини аутопсії мозку носіїв мутації були відсутні ознаки дифузної синуклеопатії, що відповідає відносно обмеженим проявам хвороби [235].

Ген *ATXN2* (ataxin-2, атаксин-2) кодує білок атаксин-2, який бере участь у регулюванні трансляції та транспортуванні мРНК. Спіноцеребелярна атаксія 2 типу (СЦА2) є однією з найбільш поширених форм аутосомно-домінантної атаксії, яка виникає внаслідок експансії CAG в гені *ATXN2*, що призводить до аномального накопичення мутантного білка атаксину-2 всередині клітин [236]. Lu C. S. et al. (2004) у своєму дослідженні проаналізували зв'язок між клінічними проявами та кількістю повторів CAG у гені *ATXN2*. Пацієнти з паркінсонічним фенотипом мали старший середній вік появи симптомів ($45,8 \pm 13,9$ років) і меншу середню аномальну довжину CAG ($36,2 \pm 1,1$ повторів), ніж ті, що мали атаксичний фенотип ($26,9 \pm 11,0$ років і $43,1 \pm 3,2$ повторів) [236]. Але головна відмінність полягає в тому, що у родинах з ХП повтори CAG перериваються в експансованому *ATXN2*, тоді як при СЦА2 спостерігається безперервна експансія повторів CAG [237, 238]. Порівняно з ідіопатичною ХП, для *ATXN2*-асоційованої ХП характерна рання маніфестація (менше 45 років), а також асиметричні симптоми на початку, класична тріада і позитивна відповідь на терапію леводопою. Пацієнти не мають проявів когнітивного дефіциту або ознак офтальмоплегії і, що ще важливіше, не виявляють симптомів ураження мозочка. До того ж, у випадках ХП при візуалізації головного мозку немає жодних атрофічних змін мозочка навіть після великої тривалості захворювання [239–241]. Невропатологічна картина типова для ідіопатичної ХП: допамінергічна нейродегенерація та поява патологічних тілець Леві [242, 243].

Ген *GCHI* (Guanosine triphosphate cyclohydrolase I, гуанозин трифосфат гідроксилази I) кодує GTP циклогідролазу 1 і бере участь у синтезі тетрагідробіоптерину, кофактора декількох ферментів, включаючи тирозингідроксилазу, і синтезі моноамінів, включаючи дофамін. Мутації в гені *GCHI* є найбільш поширеною причиною допа-чутливої дистонії (ДЧД), яка зустрічається у дитячому віці і дуже добре реагує на малі дози допамінергічного лікування [244]. ХП є ще одним неврологічним фенотипом, який має зв'язок із мутаціями *GCHI* [244–249]. N. E. Mencacci et al. (2014) у своєму дослідженні характеризує групу носіїв мутантного гена із проявами паркінсонізму таким чином: середній вік появи перших симптомів — 43 роки, проявів дистонії не було протягом декількох років, однак всі мали довготривалі моторні ускладнення, а також інші, немоторні ознаки, такі як когнітивні порушення, гіпосмія, розлади вегетативної регуляції та порушення сну [245]. Невропатологічна картина була представлена дегенерацією нейронів чорної субстанції та наявністю тіл Леві [247]. Крім того, деякі інші дослідження виявили зв'язок між локусом *GCHI* та ХП із раннім початком [246, 249]. Отже, диференційна діагностика та аналіз генів, які спричиняють ДЧД та ХП із початком у ранньому віці, повинні бути обов'язковими для діагностики обох порушень, оскільки поява дистонії у підлітковому віці може бути пов'язана з паркінсонізмом [248].

Окрім вищезазначених мутацій аутосомно-домінантних генів, існують такі, які зустрічаються надзвичайно рідко і потребують підтвердження. До них належать *UCHL1* (*PARK5*) [133, 250–253], *GIGYF2* (*PARK11*) [254–259], *HTRA2* (*PARK13*) [260–265], *EIF4G1* (*PARK18*) [266–268], *DNAJC13* (*PARK21*) [269–274], *CHCHD2* (*PARK22*) [275–279], *RIC3* [280], *TMEM230* [281–284].

Аутосомно-рецесивні форми ХП. PRKN, PINK1 і DJ-1 є добре відомими аутосомно-рецесивними (АР) генами, мутації в яких спричиняють розвиток ХП: вони мають спільний клітинний шлях дії та подібні фенотипи

[133]. Вони беруть участь у регуляції мітохондріального гомеостазу та мітофагії. Мутації цих генів викликають зміни мітохондріальних функцій та призводять до клітинного стресу та нейротоксичності [285–290].

Ген *PRKN* кодує E3-убіквітин-лігази (Parkin), які є компонентами протеасомного шляху, викликаючи деградацію пошкоджених цільових білків за допомогою приєднання до них убіквітину [291, 292], а також мають істотне значення для підтримки мітохондріального гомеостазу [286, 292]. Середній вік початку захворювання становить близько 30 років, починаючи з дитинства до 50 років у рідкісних випадках [293, 294]. Мутації в гені *PRKN* є відповідальними за 77 % ювенільних ХП з віком початку до 21 року [223]. Мутації є дуже різноманітними, включаючи міссенс та нонсенс мутації, мутації із зсувом рамки зчитування, перегрупування з видаленням або множенням екзону, але всі вони призводять до втрати білком своїх функцій або до відсутності білка з причини розпаду нонсенс мРНК [295–297]. Пацієнти мають типовий фенотип ХП з клінічною тріадою і хорошу реакцію на леводопу. Однак існують відмінності з ідіопатичною ХП. У пацієнтів з мутаціями в гені *PRKN* на початку захворювання симптоми більш симетричні та характерні дистонічні прояви, гіперрефлексія і ранні рухові коливання, асоційовані із прийомом леводопи. Захворювання має доброякісний перебіг: прогресування відбувається дуже повільно, у пацієнтів рідко розвивається деменція або когнітивне зниження. Застосування міні-опитувальника психічного стану (MMSE) зазвичай демонструє показник від 25/30 до 30/30 (середнє значення: 28/30) [293]. Дизавтономія, психічні, нюхові та інші атипові розлади рідкісні [293, 297]. Основною відмінністю від ідіопатичної ХП є невропатологічна картина: при мутації *PARK2* існує дефіцит нейронів переважно у вентральній субстанції, а кількість тілець Леві дуже невелика [298]. Така вибірковість уражень може пояснити відсутність когнітивного спаду у пацієнтів [299]. Крім того, при порівнянні фенотипів пацієнтів з міссенс мутаціями *PRKN* специфічних відмінностей не було знайдено [286].

Ген *PINK1* кодує PTEN-індуковану кіназу 1, яка являє собою мітохондріальну серин/треонін-протеїнкіназу, що бере активну участь у аутофагії пошкоджених мітохондрій [287–290, 300]. *PINK1* є другим за частотою геном, залученим в АР-ХП із раннім віком початку захворювання (середнім віком — 32 роки). Пацієнти мають схожий фенотип з носіями мутації гена *PRKN*, окрім таких ознак, як спастичність, пірамідальні ознаки та гіперрефлексія. Гарна реакція на леводопу і рідкісне когнітивне зниження є типовими для *PINK1*-ХП [289]. До теперішнього часу було повідомлено про 60 мутацій різних типів (міссенс, нонсенс, сплайсинг, делеції тощо), і найбільш переважною є міссенс мутація 1040T>C (p.Leu347Pro) [223]. Нейропатологічне дослідження підтвердило характеристики ХП із втратою нейронів чорної субстанції та резистентністю тілець Леві [290].

Ген *DJ-1* кодує молекулярний шаперон, який індукує оксидативний стрес, у випадку якого білок DJ-1 переноситься з цитоплазми в зовнішню мітохондріальну мембрану і забезпечує нейропротекцію [301–303]. Окрім антиоксидантних властивостей DJ-1 бере участь у регуляції транскрипції та деградації білків [301]. З моменту першого опублікованого звіту щодо мутації в онкогені *DJ-1* [303] було зареєстровано лише декілька пацієнтів з *DJ-1*-мутаціями, але він залишається третім за частотою аутосомно-рецесивним геном ХП після *PRKN* і *PINK1*. Серед пацієнтів з раннім початком ХП його поширеність коливається від 0,4 % до 1 % [302, 303]. Середній вік маніфестації захворювання — 27 років. Пацієнти з *PARK7* мутацією характеризуються тим самим фенотипом, що і носії *PRKN* або *PINK1*, але у порівнянні з ними мають більше немоторних ознак, включаючи депресію, когнітивне зниження, психоз або тривожність [293, 304]. Нейропатологічне дослідження головного мозку підтвердило ознаки ХП з наявністю тіл Леві і втратою нейронів в чорній субстанції і блакитній плямі [305].

Мутації у таких генах з аутосомно-рецесивним успадкуванням, як *ATP13A2* (*PARK9*), *PLA2G6* (*PARK14*), *FBXO7* (*PARK15*), *DNAJC6* (*PARK19*),

SYNJ1 (PARK20), *VPS13C (PARK23)* та *SPG11* призводять до розвитку ХП з атиповими клінічними фенотипами. Спільним проявом у носіїв цих генів є когнітивне зниження, що починається з раннього віку (до 20 років) і врешті-решт призводить до деменції [306–322]. Додатково можуть розвиватися пірамідальні ознаки, які властиві носіям генів *PARK9* [306, 307], *PARK14* [308, 309], *PARK19* [310, 311], *PARK23* [319, 320] та *SPG11* [321, 322]; судоми (*PARK19* [310, 311] та *PARK20* [312–315]) або ранні моторні ускладнення (*PARK9* [306, 307], *PARK14* [308, 309], *PARK15* [316–318]). Порухення психіки були помічені у пацієнтів із *PARK14*-, *PARK15*-асоційовану ХП [308, 309, 316–318].

Існує невелика кількість даних щодо ролі генів *PODXL* [280] та *PTRHD1* [145, 323, 324] у розвитку АР-ХП, тому ця інформація очікує на підтвердження у майбутніх дослідженнях.

Х-зчеплені форми хвороби Паркінсона. Rab (Ras analog in brain) пов'язані білки, що кодують Rab ГТФази (гуанозинтрифосфатази) та фактори обміну гуанін-нуклеотидів, беруть участь у передачі сигналів, регуляції внутрішньоклітинного транспорту везикул та ендосомальній рециркуляції [325, 326]. Існує багато доказів, які свідчать про те, що агрегати α Syn безпосередньо зв'язуються з білками Rab, а порушена експресія Rab ГТФаз має певне значення у патогенезі ХП [325–335]. На сьогодні доведено роль декількох генів, що кодують Rab протеїни, мутація в яких безпосередньо спричиняє розвиток Х-зчеплених форм ХП [325]. Вперше асоціацію *RAB39B* з ХП було виявлено у двох незалежних родинах, де мутація у гені призвела до зниження функції Rab ГТФази у носіїв, що викликало розвиток у них Х-зчепленої рецесивної форми ХП із раннім початком. Носії мали типові клінічні ознаки ХП, включаючи брадикінезію, тремор спокою та ригідність, а також гарну відповідь на терапію препаратами леводопи. Додаткові особливості, такі як розумова відсталість, розлади аутистичного спектру, судоми та макроцефалія, розвивалися ще у

дитинства, а прояви паркінсонізму з'являлися пізніше (до 45 років). В мозку після смерті спостерігалася втрата нейронів і наявність альфа-синуклеїн-позитивних тіл Леві [325, 326]. Наступні дослідження підтвердили роль *RAB39B* у ХП [319, 336, 337], хоча негативні результати в декількох великих мутаційних скринінгах свідчать про те, що мутації зародкової лінії у *RAB39B* є рідкісною причиною ХП [338–342].

Мутації в гені *RAB32* викликають сімейну форму ХП із пізнім початком. Раніше дослідники відводили роль *RAB32* у таких клітинних процесах, як аутофагія, мітохондріальний гомеостаз, фагоцитоз і запалення в головному мозку. У нещодавньому звіті E. Gustavsson et al. (2017) повідомили про мутацію p.Ser71Arg в гені *RAB32* як причину аутосомно-домінантної ХП із пізнім початком, знайдену у 3 не пов'язаних родинах [343].

Повідомлялося, що білки Rab взаємодіють з генами, мутації в яких спричиняють ХП, включаючи *LRRK2*, *PINK1* та *Parkin*, і беруть участь у патогенезі ХП [329, 330]. Існують дані щодо взаємодії між Rab32 і *LRRK2* в процесі пізнього ендосомального транспорту [344]. Ендосомальні Rab білки, включаючи Rab5 та Rab7A, беруть участь у мітофагії, опосередкованій геном *Parkin* [345]. *LRRK2* фосфорилує багато Rab білків, включаючи Rab7L1, Rab8A, Rab10, Rab29 [331–335] *LRRK2* кіназа, фосфорилуючи Rab35, регулює розповсюдження α Syn [332]. Введення фосфомутанта Rab35 в чорну субстанцію експериментальної тварини викликало загибель дофамінергічних нейронів [346]. Експресія Rab35 збільшує секрецію та накопичення α Syn в дофамінергічних нейронах [347]. Також у пацієнтів з ХП було помічено підвищення рівнів сироваткового Rab35 [347] та Rab10 [348] у нейтрофілах, що свідчить про можливість використання цих показників як прогностичних біомаркерів ХП.

1.3. Хвороба Паркінсона та чинники навколишнього середовища

У великої частки пацієнтів з ХП розвиток захворювання пов'язаний не з генетичними аномаліями, а з впливом чинників оточуючого середовища. Підвищений ризик хвороби Паркінсона пов'язаний із використанням пестицидів [345, 349–352], споживанням молочних продуктів [71, 353–356], наявністю меланоми або черепно-мозкової травми в анамнезі. В той же час, меншу вірогідність захворювання асоціюють із нейропротективними властивостями фізіологічних концентрацій сечової кислоти або з нормалізацією мікробіому кишківника, а до їх порушення призводить паління, споживання кави [357–359] та алкоголю [360, 361], фізична активність [362, 363], застосування нестероїдних протизапальних препаратів [364–366]. Існують суперечливі дані щодо впливу метаболічних чинників, таких як індекс маси тіла, діабет, артеріальна гіпертензія та рівень холестеролу в крові, на ризик розвитку ХП [367].

Більша частота хвороби Паркінсона у чоловіків, ніж у жінок, свідчить про наявність гормональних детермінант ризику хвороби Паркінсона. У трьох незалежних дослідженнях [368–370] було показано незначне збільшення ризику ХП (ВР = 18–41 %) серед жінок у постменопаузі, а використання естрогенів у нефізіологічних дозуваннях у цьому періоді може додатково збільшувати ризик ХП [370].

Існує багато передбачуваних етапів розвитку та особливостей способу життя, які можуть відігравати роль у ХП і підлягають подальшому вивченню. До них належать: період новонародженості, вік настання менархе та менопаузи, використання пероральних контрацептивів, перебіг вагітності, вік батьків [368–371]; деякі інфекційні захворювання [372], зокрема *Helicobacter pylori* [373], гепатит С [374] та інфекції ЦНС [375]. В останній час зростає інтерес вчених до розгляду складу мікробіома кишечника як можливого фактора ризику хвороби Паркінсона [357, 358, 376].

У 2016 році було проведено систематичний огляд 75 метааналізів [377], опублікованих в період з 2005 по 2015 роки, присвячених вивченню факторів оточуючого середовища як ризику ХП. Два фактори (фізична активність та закрепи) було віднесено до I класу доказовості в асоціації з ХП (більше 1000 випадків, $p < 10^{-6}$ для випадкових ефектів, невелика неоднорідність). Серед інших передбачуваних факторів ризику спостерігалися дуже значні асоціації для підвищення ризику ХП в разі черепно-мозкової травми, тривожного розладу або депресії, використання бета-блокаторів, а також зниження ризику ХП у курців (у цьому сенсі тютюнопаління парадоксально знижує ризик ХП, $p = 1,3 \times 10^{-37}$) та пацієнтів з високим рівнем сечової кислоти у сироватці крові [377].

1.4. Хвороба Паркінсона та ліпідний обмін

Холестерин є важливим компонентом ЦНС, він входить до складу мієлінових оболонок і плазматичних мембран нервових клітин. Холестерин головного мозку синтезується *in situ* астроцитами і олігодендроцитами і майже повністю ізольований від інших пулів холестерину в організмі. Рівень холестерину у тканині мозку важливий для нормального росту нейронів, пластичності мембран і розвитку синапсів, а за його браку виникають порушення нейрональної пластичності і зниження нейротрансмісії, що призводить до пошкодження мозку [378].

Ліпопротеїни — це комплекси різних ліпідів і білків, які знаходяться у вигляді розчинних дрібних частинок в кровообігу. Вони складаються з гідрофобного ядра, яке включає нейтральні ліпіди, тригліцериди і складні ефіри холестерину та гідрофільного шару, що включає в основному фосфоліпіди, неестерифікований вільний холестерин та специфічні білки аполіпопротеїнів. Ліпопротеїни відповідальні за транспортування і очищення ліпідів і ліпід-пов'язаних молекул в організмі. Так, ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) багаті на холестерин, здатні транспортувати його

надлишок з різних тканин до печінки, беручи участь в атеропротекторному процесі, відомому як зворотній транспорт холестерину [378].

Було виявлено, що ліпопротеїни відіграють важливу роль у функціях мозку і можуть впливати на нейродегенерацію. Повідомлялося, що підвищений рівень холестерину і знижений рівень ЛПВЩ може сприяти утворенню амілоїдних фібрил, основного компонента амілоїдних бляшок — патогномонічної ознаки хвороби Альцгеймера. Холестерин також опосередковує взаємодію олігомерних ланцюгів α -syn з клітинною мембраною, що призводить до її пошкодження і загибелі клітин [379].

Аполіпопротеїни — це амфіпатичні молекули, які регулюють збирання, транспорт і метаболізм ліпопротеїнів через взаємодію із рецепторами, ферментами та специфічними транспортерами [378]. Аполіпопротеїни беруть участь у видаленні надлишку холестерину з клітин і переносі його у жовч [378, 380]. Деякі аполіпопротеїни, такі як apoA-1, apoE і apoJ, можуть поєднуватися з холестерином, утворюючи розчинні ліпопротеїни, за щільністю однакові з ЛПВЩ плазми, які здатні циркулювати в крові та спинномозковій рідині. Аполіпопротеїни та α -Syn, головний компонент тіл Леві, мають дуже схожу структуру та складаються з гексамерних повторів 11 амінокислот [380]. Це дає можливість α -Syn, як і аполіпопротеїнам, взаємодіяти з холестерином, зв'язуючись із мембраною нейронів і гліальних клітин, розмножуватися в них пріонно-подібним способом, змінюючи структуру та кривизну мембрани [381].

Більшість аполіпопротеїнів синтезуються астроцитами, клітинами мікроглії та олігодендроцитами, а також в невеликій кількості ендотеліальними клітинами головного мозку. Деякі аполіпопротеїни, такі як apoA1 і apoAII, синтезуються на периферії і потрапляють в ЦНС крізь хоріоїдне сплетіння [378].

Рівні експресії аполіпопротеїнів у мозку людини залежать від типу аполіпопротеїну та віку людини. Найбільше в мозку експресуються apoE, apoD та apoJ. При цьому, рівень apoE на 50 % вище в мозку

новонароджених, ніж у дорослої людини, тоді як рівні apoD і apoJ приблизно в десять разів вище у дорослому мозку, ніж в ембріональному [378].

Клітини мозку мають специфічні рецептори до ліпопротеїнів, більшість з яких належать до родини рецепторів LDL (LDLR), включаючи apoER2, MEGF7, VLDLR, LRP1 і LRP2 [382].

Серед аполіпопротеїнів apoA1 та apoJ мають найбільшу схожість з α -syn у його здатності індукувати кривизну клітинної мембрани [383]. Головна функція цих молекул — захист серцево-судинної системи від відкладання холестерину шляхом зв'язування його надлишку у судинному руслі і транспорту його до печінки. Однак, доведена захисна роль apoA1 і apoJ при ХП, яка підтверджується висновками, що люди з меншою варіабельністю серцевого ритму мають вищий ризик ХП [384]. Також apoJ запобігає агрегації інших білків, таким чином високий рівень цього аполіпопротеїну сприяє інгібуванню агрегації α -syn у тільцях Леві. Тому поліморфізми apoJ можуть бути пов'язані з нейродегенеративними розладами. Отже, такі поліпротеїни, як apoA1 та apoJ, знижують рівень холестерину, запобігаючи швидкому розвитку ХП.

ApoD також дуже важливий при гомеостазі холестерину, оскільки він опосередковує взаємодію між ЛПВЩ та ліпопротеїдами низької щільності (ЛПНЩ). У випадку пошкодження нейронів рівень apoD зростає і опосередковує транспортування частинок ЛПВЩ до пошкодженої ділянки [385]. Тому підвищені рівні apoD в гліальних клітинах чорної субстанції можуть свідчити про ХП [378].

ApoE відіграє провідну роль у транспортуванні холестерину до клітин головного мозку [378]. Підвищений рівень apoE сприяє відкладанню β -амілоїду, що визначає його як фактор ризику для хвороби Альцгеймера [386–388]. Найбільше apoE синтезується у печінці, в меншій кількості — у тканинах мозку, селезінки та нирок [378]. ApoE може зв'язуватися з трьома різними рецепторами, включаючи білок 1 рецептора LDL, рецептор VLDL і рецептор apoE 2 (apoER2). Більш того, apoB має подібну область поєднання

із зоною зв'язування LDP-рецептора apoE, і обидва з них, через взаємодію з одним і тим же рецептором, контролюють рівні холестерину [389]. Повідомляється про три основних алеля для *APOE*, які відповідають за синтез трьох різних ізоформ apoE (e2, e3, e4). Ізоформа e4 має найвищий патологічний ефект на нервову систему серед ізоформ і є фактором ризику для ХП. Деякі дослідження показали, що підвищення рівню *APOE* або його рецептора LRP-1 може призвести до ХП. Дослідження *in vitro* для оцінки впливу різних ізоформ apoE на агрегацію α -syn показало, що ізоформа e4 збільшує агрегацію α -syn більше, ніж інші ізоформи [389]. В іншій роботі було показано, що високий рівень ізоформи e4 apoE частіше зустрічається у сімейних випадках ХП і рідше — при спорадичних формах [390]. Проте деякі інші дослідження не показують відмінностей у генотипах *APOE* [391, 392]. Інші вчені повідомили, що наявність алеля *APOE*, який кодує відповідну ізоформу e4 білка apoE, є фактором ризику для більш раннього віку початку ХП [393]. В одному дослідженні у пацієнтів із ХП-асоційованою деменцією (ХПД) частота алеля e4 була в два рази вища, ніж у звичайних людей, що свідчить про вплив e4 на розвиток когнітивних порушень у пацієнтів із ХП [394]. В іншому дослідженні виявлено, що частота алелів e4 була вищою не тільки у випадках ХПД, але й за «чистої» деменції з тілами Леві, що свідчить про роль алеля *APOE*, який кодує відповідну ізоформу e4 білка apoE, в схильності до деменції, а не до самої ХП [395]. Крім того, вважається, що *APOE* має нейропротекторні властивості, запобігаючи апоптозу нейронів. Серед варіантів гена *APOE* алель e3 має найбільший антиапоптозний ефект [378, 396].

Отже, високий рівень холестерину, який циркулює в рідинах організму, може збільшити ризик ХП. Деякі аполіпопротеїни, такі як apoD, apoA1 та apoJ, мають нейропротекторні властивості, однак підвищення рівня apoE свідчить про ризик розвитку ХП.

1.5. Хвороба Паркінсона та довжина теломер

Теломери є повторюваними послідовностями ДНК, які розташовані на кінцях хромосом і являють собою тандемні повтори 5'-TTAGGG-3'. На кінцях теломер знаходяться одноланцюгові ділянки 3'-ланцюга, які формують D-петлю, що відіграє важливу роль у захисті кінцевої ділянки хромосоми [397, 398]. Формування структури теломерної петлі також забезпечує білковий комплекс шелтерін (shelterin), який складається з 6 основних білків: TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 і POT1. Ці білки приєднуються до 1 або 2-ланцюгових ділянок ДНК і захищають теломери, тим самим підтримуючи їх довжину і запобігаючи їх ерозії [399].

У людини середня довжина теломер зазвичай становить від 10 000 до 15 000 пар нуклеотидів і неминуче скорочується зі швидкістю від 50 до 200 пар основ при кожному акті клітинної реплікації в результаті недореплікації, а також дії нуклеаз [400]. Довжина теломер критично впливає на можливе число поділів клітин і, таким чином, на здатність до регенерації. Якщо довжина теломери досягає мінімального порогу і втрачає стабілізуючу функцію, то клітина переходить у старечий стан або піддається апоптозу. Процеси, які завдають шкоди ДНК, такі як оксидативний стрес, сприяють індукції старіння і апоптозу [401, 402].

Теломераза — це фермент, який збільшує довжину теломери і здатний компенсувати вкорочення теломерів під час поділу клітин. Він експресується у великій кількості в стовбурових клітинах, які беруть участь у відтворенні пошкодженої тканини. Комплекс теломеразу включає теломеразу зворотної транскриптази (TER) і компонент теломеразної РНК (TERC), а також білка діскеріна, який бере участь в процесингу 3'-кінця TER і його вбудовуванні в активний комплекс теломеразу. Крім того, подовження теломер може здійснюватися за допомогою теломеразо-незалежного альтернативного подовження теломер, яке являє собою гомологічну реплікацію теломерних ділянок [400, 403].

Дослідження мишей зі штучним дефіцитом теломерази (Terc $-/-$ миші) значно розширили знання про функцію теломер [397]. Зменшена довжина теломер в цих тварин призводить до дисфункції тканин з високою проліферативною активністю, наприклад, кишечника, кісткового мозку і шкіри [404, 405]. Нещодавно було досліджено вплив дефіциту теломерази у мишей Terc $-/-$ на нейрогенез і на розвиток амілоїдної патології хвороби Альцгеймера [398, 406]. Н. Rolyan et al. (2011) показали, що вкорочення теломер погіршує нейрогенез у зубчастій звивині, який призводить до втрати нейронів у гіпокампі та лобовій корі. У мишачої моделі ХА дефіцит TERC призводив до зменшення кількості амілоїдних бляшок і реактивної мікроглії, двох основних ознак ХА [406].

Р. Oeckl et al. (2014) вперше розробили експериментальну модель ХП на Terc $-/-$ миші. Результати показали зменшення довжини теломер у негальних тирозин-гідроксилаз-позитивних нейронів на 40 % у мишей, але не було виявлено відмінностей в концентрації дофаміну або в ефектах оксидативного стресу в моделі ХП, що вказує на роль інших вікових механізмів в мозку, які мають більший вплив на функцію нейронів [407].

Показано, що механізми підтримки теломер можуть відігравати важливу роль у способах реакції постмітотичних нейронів на окисний і геномний стрес [408].

Більшість досліджень не повідомляють про зміну ДТ лейкоцитів у пацієнтів з ХП та контрольних суб'єктів [409–414]. G. Hudson et al. (2011) також отримали суперечливі результати у своєму дослідженні: теломери у одноклеарних клітинах периферичної крові пацієнтів з ХП були вкорочені, тоді як зразки з чорної субстанції не показали жодних відмінностей у ДТ у порівнянні з групою контролю [409]. Проте в деяких дослідженнях повідомлялося про вкорочення теломер лейкоцитів при ХП [415, 416]. Навпаки, подовжені лейкоцитарні теломери було зареєстровано в деяких дослідженнях [410, 417, 418].

У нещодавньому метааналізі, який включав 8 первинних досліджень, проведених в Європейському та Азіатському регіонах, автори дійшли висновку, що не існує переконливих доказів того, що вкорочення теломер відіграє роль в етіології хвороби Паркінсона [419].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальна характеристика контингенту

Проспективне дослідження проведено на базі ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова» НАМН України в період 2010–2015 рр. за участю 216 пацієнтів з ХП та 300 здорових осіб групи контролю.

Для більш детального аналізу групи пацієнтів її було розділено на підгрупу пацієнтів, що мали родичів з проявами ХП (пацієнтів із сімейною формою ХП) та пацієнтів, що не мали таких родичів (пацієнти зі спорадичною формою ХП).

Матеріалом дослідження слугували зразки крові та буккального епітелію пацієнтів із діагнозом ХП та клінічно здорових людей. Обстежено 216 пацієнтів із ХП (106 чоловіків та 110 жінок), середній вік 63,1 (38–78) років, із середньою тривалістю захворювання 7,6 роки. Діагноз ХП встановлювали відповідно до міжнародних критеріїв, рухові функції оцінювали за допомогою шкали Hoehn и Yahr та частини III UPDRS в період «включення» протипаркінсонічних засобів, що використовувалися.

З дебютом хвороби у віці до 50 років було досліджено 59 (27 %) людей, в 51–60 років — 90 (43 %), в 61–70 років — 56 (25 %) та старше 71 року — 11 (5 %). Середній вік прояву симптомів 51 ± 1 (32–69) років. Переважно акінетичні форми діагностували у 55 людей (25 %), брадикінетичні — у 112 (52 %), з переважанням тремору — у 49 (23 %). Середній бал по III частині уніфікованої рейтингової шкали ХП UPDRS становив $39,19 \pm 10,2$. У 30 пацієнтів встановлено наявність прямого родича з симптомами паркінсонізму, що дає можливість віднести цих пацієнтів до групи з умовно сімейною формою захворювання. До контрольної групи входили 300 здорових людей без клінічних проявів захворювання, домірних з основною групою за віком та статтю.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Виділення та очищення ДНК. ДНК виділяли з периферичної крові методом фенольно-хлороформної екстракції. Для цього кров набирали в пробірки з антикоагулянтном, у якості якого використано етилендіамінтетраоцтову кислоту (ЕДТА). Для виділення ДНК до 2 мл цільної крові додавали 10 мл буферу для лізису (320 мМ сахарози, 1 % тритон Х-100, 5 мМ MgCl₂, 10 мМ трис-НСl, рН 7,6) та центрифугували 20 хв. за частоти обертання 4000 об./хв. До осаду додавали 5 мл лізуючого буфера і повторно центрифугували протягом 7 хв. за тих самих умов. До осаду додавали 600 мкл буфера (25 мМ ЕДТА, рН 8,0; 75 мМ NaCl) та перемішували. Додавали 40 мкл 10 % розчину додецилсульфату натрію, 15 мкл протеїнази К (10 мг/мл) і інкубували за 37 °С протягом 3 годин.

Подальші етапи виділення ДНК проводили в три етапи: розчином фенолу 1:2, сумішню фенол-хлороформ (1:1) і хлороформом (1:1). Розчин центрифугували за 13 000 об./хв. 5 хвилин, ДНК осаджували розчином етанолу. Отриману ДНК висушували за 37 °С з подальшим розчиненням у трис-ЕДТА та зберігали за -80 °С.

2.2.2. Ампліфікація послідовностей ДНК за допомогою ПЛР. Ампліфікацію послідовностей проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на термоциклері «Research PCR Thermal Cycler» Corbett (Австралія). Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила по 2 мкл суміші праймерів, 5 мкл ДНК, 5 мкл реакційної суміші «MasterMix» (Сінтол, РФ) та 13 мкл води, обробленої диетилпірокарбонатом. Олігонуклеотидні праймери та зонди для ПЛР, які були використані в даній роботі були синтезовані «Сіместа» (Україна), табл. 2.1. Для підбору послідовностей олігонуклеотидних праймерів використовували базу даних NCBI з пошуковою системою BLAST PRIMER [420].

Таблиця 2.1

Послідовності олігонуклеотидних праймерів та зондів, які використовувалися для проведення полімеразної ланцюгової реакції

Ген	Однонуклеотидна заміна	Послідовність праймерів та зондів
<i>LRRK2</i>	c.6055G>A	5'-TTTTGATGCTTGACATAGTGGAC-3', 5'-CACATCTGAGGTCAGTGGTTATC-3'
<i>SNCA</i>	g.85907C>A	5'-GTGCACCTGACTCCTGAGGAGA-3', 5'-CCTTGATACCAACCTGCCAG-3', 5'-FAM-GTTACACACATATACACCTTCTTCCTCCT-RTQ2-3', 5'-ROX-TGTTACACACATATACACCTTCTTCCTCC-RTQ1-3'
<i>GBA</i>	c.1448T>C	5'-GGGTGGGTCCGGTGGGTGGGT-3', 5'-GTTTAGCACGACCACAACAGC-3'
<i>GBA</i>	c.1226A>G	5'-TTGTCTCTTTGCCTTTGTCCTTACCCTC-3', 5'-TTGGGTCCTCCTTCGGGGTT-3'
<i>CYP11A1</i>	c.1384A>G	5'-ACCCATCTG AGTTCCTACC-3', 5'-TCCACCTTCACGCCAGT-3'
<i>GSTM1</i>	+/-del	5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3', 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'
<i>APOE</i>	e2/e3/e4	5'-GATGCGGGCACGGCTGTTCAAGGA-3', 5'-CTCGCGAGCCCCGGCCTCGTACAC-3'

2.2.3. Ідентифікація мутацій методом рестрикційного аналізу. Для визначення однонуклеотидних замін проводили гідроліз ампліфікованих фрагментів відповідною рестриктазою, дотримуючись рекомендацій фірми виробника (Fermentas, Литва). Аналіз послідовностей на наявність сайтів впізнавання ендонуклеаз рестрикції проводили з використанням онлайн ресурсу NEBcutter [421].

2.2.4. Електрофоретичне розділення фрагментів ДНК. Аналіз мононуклеотидної заміни с.6055G>A гена *LRRK2*. Для отримання продукту ампліфікації гена *LRRK2* були використані олігонуклеотидні праймери *LRRK2F* та *LRRK2R*, послідовності яких наведені у табл. 2.1. Концентрація MgCl₂ в реакційній суміші становить 2,5 mM. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °C; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °C, відпалювання праймерів — 45 с при 55 °C, елонгація — 45 с при 72 °C; постампліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °C.

Наявність продуктів ампліфікації перевіряли за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. У випадку успішного проведення ПЛР у зразки додавали по 2 од. ендонуклеази рестрикції SfcI та по 3 мкл стандартного буфера Tango (Fermentas, Литва) та інкубували при температурі 36 °C впродовж 12 годин. Продукти рестрикції ампліфікованої послідовності аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. ДНК забарвлювали бромистим етидієм і сканували на УФ-транслюмінаторі. Наявність фрагментів розміром 228 та 101 п. н. відповідала гомозиготному стану с.6055GG, наявність фрагментів 228, 207, 101 та 21 п. н. відповідала гетерозиготному стану за поліморфізмом с.6055G>A [422]. Слід зазначити, що продукт ампліфікації розміром 21 п. н. може не візуалізуватися на гелях, через свій маленький розмір та високу рухливість в електричному полі.

Аналіз однонуклеотидної заміни g.85907C>A гена *SNCA*. Для визначення мутації g.85907C>A в гені *SNCA* проводили ПЛР з детекцією флуорисценції в реальному часі на термоциклері Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Австралія). Для ампліфікації використовували готові реакційні суміші без барвника виробництва Сінтол (Росія). Реакцію проводили в об'ємі 25 мкл згідно протоколу: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 60 °С, елонгація — 45 с. при 72 °С; постампліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С. Детекція флуоресценції проводилась після стадії елонгації. Для розрахунків використовували значення порогового циклу (Ct), яке розраховувалося з використанням принципу другої похідної. Всі зразки досліджували тричі.

Аналіз однонуклеотидної заміни с.1448T>C гена *GBA*. Для отримання продукту ампліфікації ділянки гена *GBA* були використані олігонуклеотидні праймери GBAF та GBAR, послідовності яких наведені у таблиці 2.1. Концентрація MgCl₂ в реакційній суміші становила 4 mM. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 60 °С, елонгація — 45 с при 72 °С; постампліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С.

Наявність продуктів ампліфікації перевіряли за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. У випадку успішного проведення ПЛР у зразки додавали по 2 од. ендонуклеази рестрикції MspI та по 3 мкл стандартного буфера Tango (Fermentas, Литва) та інкубували при температурі 65 °С упродовж 4 годин. Продукти рестрикції ампліконів аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі з подальшим фарбуванням бромистим етидієм. Наявність гетерозиготного носійства встановлювали за наявності продуктів рестрикції розміром 203, 138, 56 та 9 п. н. [423]. Слід зазначити, що продукт ампліфікації розміром 9 п.н. може не візуалізуватися на гелях, через свій маленький розмір та високу рухливість в електричному полі.

Аналіз однонуклеотидної заміни с.1226A>G гена *GBA*. Для отримання продукту ампліфікації ділянки гена *GBA* було використано олігонуклеотидні праймери *GBA2F* та *GBA2R*, послідовності яких наведено у табл. 2.1. Концентрація $MgCl_2$ в реакційній суміші становила 2 мМ. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 54 °С, елонгація — 45 с при 72 °С; постампліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С.

Наявність продуктів ампліфікації перевіряли за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. У випадку успішного проведення ПЛР у зразки додавали по 1 од. ендонуклеази рестрикції *XhoI* та по 3 мкл стандартного буфера *Tango* (*Fermentas*, Литва). Суміш інкубували при температурі 36 °С впродовж 12 годин. Продукти рестрикції ампліконів аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі з подальшим фарбуванням бромистим етидієм. Наявність гетерозиготного носійства встановлювали при наявності продуктів рестрикції розміром 105, 89 та 16 п. н. [423]. Слід зазначити, що продукт ампліфікації розміром 16 п.н. може не візуалізуватися на гелях, через свій маленький розмір та високу рухливість в електричному полі.

Аналіз однонуклеотидної заміни с.1384A>G гена *CYP1A1*. Для отримання продукту ампліфікації ділянки гена *CYP1A1* були використані олігонуклеотидні праймери *CYPF* та *CYPR*, послідовності яких наведені у табл. 2.1. Концентрація $MgCl_2$ в реакційній суміші становила 3 мМ. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 54 °С, елонгація — 45 с при 72 °С; постампліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С. У випадку успішного проведення ПЛР у зразки додавали по 1 од. акт. ендонуклеази рестрикції *HruSN4III* та по 3 мкл стандартного буфера *Tango* (*Fermentas*, Литва). Інкубували при відповідній температурі (36 °С) впродовж двох годин. Продукти гідролізу ампліфікованих послідовностей аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. Гелі

фарбували бромистим етидієм і сканували на УФ-трансілюмінаторі. Наявність с.1384А алеля визначали за присутності негідролізованого продукту розміром 199 п. н., а с.1384G алелі — при утворенні продуктів рестрикції розміром 116 та 83 п. н. [424].

Аналіз делеції гена *GSTM1*. Для отримання продукту ампліфікації ділянки гена *GSTM1* були використані олігонуклеотидні праймери GSTMF та GSTMR, послідовності яких наведені у табл. 2.1. Концентрація $MgCl_2$ в реакційній суміші становить 2,5 mM. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 30 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 53 °С, елонгація — 30 с при 72 °С; постапліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С.

Продукти ампліфікації аналізували за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі. Гелі фарбували бромистим етидієм і сканували на УФ-трансілюмінаторі. За відсутності ампліконів зразок ідентифікували як той, що належить носію нульового генотипу [425].

Аналіз e2/e3/e4 поліморфізму гена *APOE*. Для отримання продукту ампліфікації ділянки гена *APOE* були використані олігонуклеотидні праймери APOF та APOR, послідовності яких наведені у табл. 2.1. Концентрація $MgCl_2$ в реакційній суміші становить 4 mM. ПЛР проводили за наступною схемою: денатурація 5 хв. при 94 °С; 30 циклів: денатурація — 45 с при 94 °С, відпалювання праймерів — 30 с при 55 °С, елонгація — 45 с при 72 °С; постапліфікаційна елонгація — 10 хв. при 72 °С. У випадку успішного проведення ПЛР у зразки додавали по 1 од. акт. ендонуклеази рестрикції *HhaI* та по 3 мкл стандартного буфера Tango (Fermentas, Литва) та інкубували при температурі 36 °С упродовж 6 годин. Продукти реакції аналізували за допомогою електрофорезу в 7% поліакриламідному гелі (склад — акриламід та метіленбісакриламід — у пропорції 29:1). Електрофорез проводився в TBE буфері (pH = 8,0) при напрузі 300 В. Перед нанесенням на гель проби змішували у співвідношенні 1:1 з буфером для внесення зразків (Fermentas, Литва). Гелі фарбували бромистим етидієм.

Продукти рестрикції розміром 145 п. н., 168 п. н. та 195 п. н. ідентифікували як e3, e2, та e4, алелі відповідно [426].

2.2.5. Визначення довжини теломерного повтору методом ПЛР в реальному часі. Визначення довжини теломерного повтору проводили методом ПЛР в реальному часі за протоколом Sawton R. M. [427, 428].

Для ампліфікації теломерних послідовностей використовували праймери:

- TELG 5'-ACACTAAGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTAGTGT-3',

- TELC 5'-TGTTAGGTATCCSTATCCSTATCCSTATCCSTATCCСТААСА-3'.

Для ампліфікації однокопійного референсного гена альбуміну використовували праймери:

-ALBF5'-CGGCGGCGGGCGGCGGCGGGCTGGGCGGAAATGCTGCACAGAATCCTTG-3',

-ALBR5'-GCCCCGCCCCGCCCCGCCCCGTCCCCCGCGAAAAGCATGGTTCGCCTGT-3'.

Ампліфікацію проводили за наступним протоколом. В пробірки об'ємом 0,2 мл вносили 5 мкл реакційної суміші «MasterMix», 10 мкл води, обробленої диетилпірокарбонатом, та 5 мкл суміші праймерів. В останню чергу додавали 5 мкл ДНК. Ампліфікацію проводила в такому режимі: активація полімерази при 95 °С протягом 8 хв., 5 циклів: денатурація 94° С протягом 20 с; відпалювання та елонгація 50 °С протягом 25 с, 40 циклів: денатурація 94 °С протягом 60 с, відпал та елонгація 62 °С при 25 с.

Для розрахунків ми використовували значення порогового циклу (Ct). Всі зразки досліджували тричі. Відносну довжину теломер оцінювали за показником T/S, який розраховували як відношення числа копій теломерних повторів до числа копій гена альбуміну відповідно до стандартного протоколу [427, 428].

2.2.6. Статистична обробка отриманих результатів. Частоти алелів та генотипів, фактичну та теоретичну гетерозиготність, оцінку відповідності фактичного розподілу генотипів до

очікуваного при рівновазі за Харді-Вайнбергом проводили за допомогою пакету програм Genepop v. 1.2.

Для порівняння частот алелів і генотипів в групах пацієнтів і в контрольній групі застосовувався критерій χ^2 . Для таблиць супряженості 2×2 застосовували критерій χ^2 з поправкою Йетса на безперервність, якщо частота хоча б в одній клітинці таблиці була менше або дорівнює 5, застосовувався точний критерій Фішера. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Ступінь асоціації оцінювали у значеннях показників співвідношення шансів odds ratio, за формулою:

$$OR = (a \times d) / (b \times c), \text{ де:}$$

a — частота алеля або генотипу у групі пацієнтів,

b — частота алеля або генотипу в контрольній групі,

c — сума частот інших алелів або генотипів у групі пацієнтів,

d — сума частот інших алелів або генотипів у групі контролю.

При $OR = 1$ зробили висновок про відсутність асоціації, $OR > 1$ трактували як позитивну асоціацію ознаки з алелем або генотипом, $OR < 1$ — трактували як негативну асоціацію ознаки з алелем або генотипом.

Оцінку відповідності фактичного розподілу генотипів до очікуваного при рівновазі Харді-Вайнберга для локусів з двома алелями проводили за критерієм χ^2 .

Статистичну значимість відмінностей величини показника T / S для розрахунку довжини теломерних повторів визначали за допомогою t-критерію Стьюдента.

Характер та силу зв'язку між довжинами теломер оцінювали за допомогою кореляційного аналізу Пірсона.

Частоти сполучень генотипів оцінено за допомогою бінарної логістичної регресії, міри асоціації методами χ^2 та за допомогою точного критерію Фішера.

У всіх статистичних розрахунках пороговою величиною рівня значимості p обрано 0,05 [429]. У випадку множинних порівнянь застосовували поправку Бонфероні (за критичне значення p брали добуток порогового значення p 0,05 та кількості зіставлень) [430].

Ведення банку даних дослідження, базові розрахунки похідних показників, частотну характеристику ознак, побудову діаграм проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel [431], усі обчислення здійснювали засобами Statsoft Statistica 8.0 [430].

РОЗДІЛ 3

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ, АСОЦІЙОВАНИХ З ХВОРОБОЮ ПАРКІНСОНА, СЕРЕД НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ

Здійснено генотипування та встановлено частоти алелів і генотипів, показники фактичної та теоретичної гетерозиготності за мажорними мутаціями генів, асоційованих з паркінсонізмом (*LRRK2*, *SNCA*, *GBA*) [432–436].

3.1. Однонуклеотидна заміна с.6055G>A в гені *LRRK2*

З метою з'ясування ролі мутації с.6055G>A (41-й екзон гена *LRRK2*) в розвитку ХП у серед жителів України спочатку було проведено аналіз даної мутації серед 216 пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 65,0) [432, 433, 437]. Дана група є репрезентативною вибіркою. Контрольна група включала 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 67,0).

Було проведено генотипування мутації с.6055G>A в 41-му екзоні гена *LRRK2*, яка призводить до заміни залишку гліцину на залишок серину у позиції 219 білка, який кодується даним геном. Генотипування проводили методом ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування серед учасників контрольної групи було встановлено, що серед них відсутні носії алеля А (табл. 3.1).

Таким чином, в контрольній групі, що складалася з людей без порушень у неврологічному статусі, було виявлено лише гомозиготи за нормального алеля G із генотипом с.6055GG. Відповідно, генотипи с.6055AA та с.6055AG виявлено не було (рис. 3.1).

Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваних групах для перевірки випадковості розподілу генотипів відповідно до співвідношення Харді-Вайнберга не дав результатів.

Так як у контрольній групі виявились відсутніми гетерозиготи (носії генотипу с.6055AG).

Таблиця 3.1

**Розподіл частот генотипів за мутацією с.6055G>A
в гені *LRRK2* в досліджуваних групах**

Генотипи	Кількість осіб (частота генотипу, %)	
	контрольна група	група пацієнтів з ХП
Гетерозиготні носії мутації с.6055G>A гені <i>LRRK2</i>	0(0)	4 (1,86)
Гомозиготи за нормальним алелем гена <i>LRRK2</i>	300 (100)	212 (98,14)

В результаті дослідження групи пацієнтів з ХП було виявлено 4 гетерозиготних носія заміни с.6055G>A гена *LRRK2* та 212 індивідів гомозигот за нормальним алелем гена *LRRK2* (с.6055GG). Було розраховано, що частота гетерозигот з мононуклеотидною заміною с.6055G>A для даної групи становить $1,86 \% \pm 0,0042 \%$, а частота гомозигот с.6055GG — відповідно $98,14 \pm 0,0042 \%$ (див. табл. 3.1).

Таким чином, частота мутантного алеля с.6055A в групі пацієнтів з ХП складає 0,93 %.

Нами було проведено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваній групі пацієнтів з ХП. Так фактична гетерозиготність за однонуклеотидною заміною с.6055G>A складала 0,04, а теоретична — 0,036 ($\chi^2 = 0,0189$, $p > 0,05$). Проведений аналіз свідчить про відсутність відхилень в розподілі генотипів у нашій групі від

очікуваного розподілу. Що говорить про випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що дана група може вважатися репрезентативною.

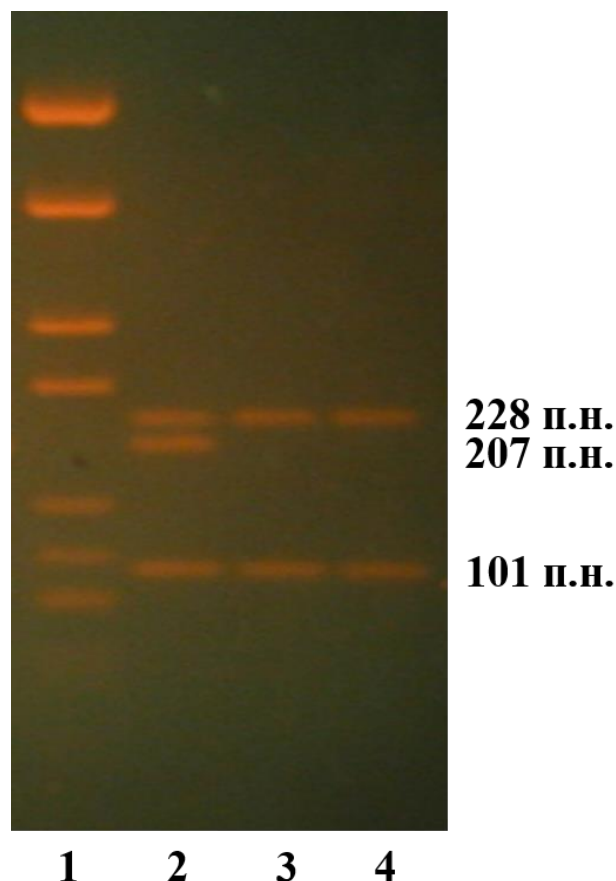


Рис. 3.1. Електрофореграма розділення рестрикційних фрагментів гена *LRRK2* в агарозному гелі 1 — маркери молекулярної маси, 2 — генотип GG, 3, 4 — генотип GA

Цікаво, що генотип с.6055AA був відсутній як серед контрольної групи, так і серед пацієнтів. Подібні тенденції спостерігались і в дослідженнях інших популяцій, що імовірно пов'язано із низькою частотою даного алеля або з летальністю генотипу AA [438].

Оскільки за нашими даними гетерозиготні носії мутації с.6055G>A в гені *LRRK2* зустрічалися винятково в групі пацієнтів з ХП (див. табл. 3.1), можна зробити висновок, що дана мутація може бути одним з факторів, що

спричиняють розвиток ХП. Кількісно оцінити асоціацію певних генотипів із ХП планували за допомогою розрахунку співвідношення шансів (odds ratio, OR), однак за відсутності гетерозигот у контрольній групі такі розрахунки провести неможливо.

Досліджувана мутація належить до найпоширеніших мутацій гена *LRRK2*. Її частота у європейських популяцій складає 4,6 % у пацієнтів зі спорадичною формою ХП та 11,5 % осіб із сімейною формою ХП. За деякими даними, у євреїв Ашкеназі частота зазначеної мутації може сягати 13,3 % пацієнтів зі спорадичною формою ХП та 29,7 % у осіб із сімейною формою ХП [76, 138, 140, 191, 439–441]. У жителів Росії дана мутація виявляється у 13 % та у 0,5 % пацієнтів із сімейною та спорадичною формами відповідно [76]. Є дані про високу частоту мутації с.6055G>A у арабів Північної Африки, у яких вона складає 40,8% пацієнтів зі спорадичною формою та 37,0 % — у осіб із сімейною формою ХП [180, 181]. В той же час, описана однонуклеотидна заміна вкрай рідко зустрічається у представників монголоїдної раси [442].

3.2. Однонуклеотидна заміна g.85907C>A в гені *SNCA*

Нами було також проведено дослідження частоти мутації гена *SNCA* — g.85907C>A — серед жителів України [432, 433]. Відомо, що у пацієнтів з мутаціями в даному гені перші ознаки хвороби з'являються до 50 років, перебіг хвороби дуже швидкий і часто характеризується зниженням когнітивних функцій [76]. Для встановлення частоти мутації g.85907C>A було проведено аналіз серед 216-ти пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік – $65,0 \pm 0,7$). Контрольна група складалась з 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік – $67,0 \pm 0,4$). Досліджувана група є репрезентативною вибіркою.

Генотипування за мутацією g.85907C>A в гені *SNCA* було проведено методом ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування було встановлено, що

мутантні алелі відсутні як серед учасників контрольної групи, так і серед групи пацієнтів з ХП, що, імовірно, пов'язано із надзвичайно низькою частотою даної мутації або її повною відсутністю у жителів певної території. Такий результат співпадає із даними, отриманими в аналогічних дослідженнях, проведених для інших популяцій. Мутації у досліджуваному гені зустрічаються з відносно низькою частотою. В той же час, продукт гена *SNCA* є безпосередньо залученим у патогенез захворювання. Тому перспективним є пошук мутацій у регуляторних ділянках гена, які на даний момент є мало дослідженими [443].

3.3. Однуклеотидна заміна с.1448Т>С в гені *GBA*

Також нами було проведено дослідження гена *GBA*, який кодує глюкоцереброзидазу [432, 433]. За умови нестачі даного ферменту лізосомальні макромолекули накопичуються у різних клітинах організму, особливо у нейронах. Подібне накопичення жирових відкладень у мозку порушує його кровопостачання, що, в свою чергу, призводить до зниження функціональності та активності структур мозку. Численні дані свідчать про підвищений ризик розвитку ХП, асоційований із гетерозиготним носійством мутацій у даному гені [444].

З метою з'ясування ролі мутації с.1448Т>С в 10-му екзоні гена *GBA* в розвитку ХП у жителів України було проведено аналіз даної мутації серед 216-ти пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 65,0) та у контрольній групі з 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 67,0). Досліджувана група є репрезентативною вибіркою.

Було проведено генотипування мутації с.1448Т>С в 10-му екзоні гена *GBA*. Генотипування проводили методом ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування серед учасників контрольної групи було встановлено, що серед них відсутні носії алеля С (табл. 3.2, рис. 3.2). Таким чином, було виявлено лише гомозиготи за нормальним алелем Т із генотипом с.1448ТТ і

частота алеля Т у контрольній групі становила 100%. Відповідно, генотипи с.1448ТС та с.1448СС виявились відсутніми.

Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваних групах для перевірки випадковості розподілу генотипів відповідно до співвідношення Харді-Вайнберга не дав результатів. Так як у контрольній групі виявились відсутніми гетерозиготи (носії генотипу с.1448ТС).

Таблиця 3.2

Розподіл генотипів за мутацією с.1448Т>С в 10-му екзоні гена *GBA*

Генотипи	Кількість осіб (частота генотипу, %)	
	контрольна група	група пацієнтів з ХП
Гетерозиготні носії мутації с.1448Т>С гена <i>GBA</i>	0 (0)	4 (1,86)
Гомозиготи за нормальним алелем гена <i>GBA</i>	300 (100)	212 (98,14)

У групі пацієнтів з ХП було виявлено 4 гетерозиготних носії мутації с.1448Т>С. Частота гетерозиготного генотипу с.1448ТС склала $1,86 \pm 0,0042$ %, а гомозиготного генотипу с.1448ТТ — $98,14 \pm 0,0042$ %. Таким чином, частота алеля с.1448С складає 0,93 %. Нами було проведено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваній групі пацієнтів з ХП. Так, фактична гетерозиготність за одонуклеотидною заміною с.1448Т>С складала 0,04, а теоретична — 0,036 ($\chi^2 = 0,0189$, $p > 0,05$).

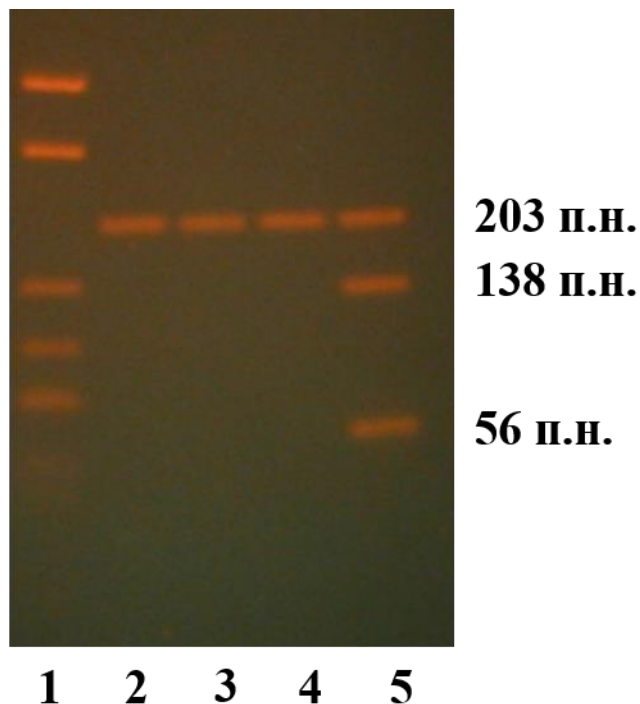


Рис. 3.2. Електрофореграма розділення рестрикційних фрагментів гена *GBA* в агарозному гелі

Примітка. 1 — маркери молекулярної маси, 2, 3, 4 — генотип ТТ, 5 — генотип ТС.

Проведений аналіз свідчить про відсутність відхилень в розподілі генотипів у нашій групі від очікуваного розподілу. Це свідчить про випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що дана група може вважатися репрезентативною.

Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в контрольній групі для перевірки випадковості розподілу генотипів відповідно до співвідношення Харді-Вайнберга не дав результатів, так як у контрольній групі виявились відсутніми гетерозиготні носії.

Цікаво, що ні в контрольній групі, ані в групі пацієнтів з ХП не було виявлено гомозигот за алелем с.1448С. Такий результат імовірно пов'язаний

із летальністю даного генотипу через надлишкове накопичення жирових мас ще до народження [76].

Наявність гетерозиготних носіїв мутації с.1448Т>С в гені *GBA* винятково в групі пацієнтів з ХП (див. табл. 3.2) свідчить про те, що дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток ХП. Однак кількісна оцінка асоціації генотипу с.1448ТС з розвитком ХП є неможливою через відсутність гетерозигот у контрольній групі.

3.4. Однонуклеотидна заміна с.1226А>G гена *GBA*

Нами також було досліджено частоту ще однієї поширеної мутації гена *GBA* с.1226А>G у жителів України. Було проведено аналіз даної мутації серед 216 пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік – 65,0) та у контрольній групі з 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 67,0). Досліджувана група є репрезентативною вибіркою.

Генотипування мутації с.1226А>G було проведено методом ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування учасників контрольної групи було виявлено винятково гомозиготи за нормальним алелем А із генотипом с.1226АА. Відповідно, було встановлено, що в контрольній групі відсутні як гомозиготи с.1226АG, так і гетерозиготи с.1226GG за мутантним алелем с.1226G (табл. 3.3, рис. 3.3). Такий результат співпадає із даними отриманими в аналогічних дослідженнях, проведених для інших популяцій [209]. Оскільки гетерозиготних носіїв мутантного алеля не було виявлено серед представників контрольної групи оцінити гетерозиготність за методом Росета-Раймонда було неможливо. У групі пацієнтів з ХП генотип с.1226АА зустрічався з частотою 98,61 %, а генотип с.1226АG — 1,39 %. Таким чином, частоти алелів склали 99,3 % для с.1226А та 0,69 % для с.1226G (див. табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Розподіл генотипів за мутацією с.1226A>G в гені *GBA*

Генотипи	Кількість осіб (частота генотипу, %)	
	контрольна група	група пацієнтів з ХП
Гетерозиготні носії мутації с.1226A>G в гені <i>GBA</i>	0 (0)	3 (1,39)
Гомозиготи за нормальним алелем гена <i>GBA</i>	300 (100)	213 (98,61)

Нами було проведено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в досліджуваній групі пацієнтів з ХП. Так фактична гетерозиготність за одонуклеотидною заміною с.1226A>G складала 0,03, а теоретична — 0,029 ($\chi^2 = 0,0106$, $p > 0,05$). Проведений аналіз свідчить про відсутність відхилень в розподілі генотипів у нашій групі від очікуваного розподілу. Що говорить про випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що дана група може вважатися репрезентативною.

Аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в контрольній групі для перевірки випадковості розподілу генотипів відповідно до співвідношення Харді-Вайнберга не дав результатів. Так як у контрольній групі виявились відсутніми гетерозиготні носії.

Цікаво, що ні в контрольній групі, ані в групі пацієнтів з ХП не було виявлено гомозигот за мутантним алелем с.1226GG.

Оскільки гетерозиготні носії мутації с.1226A>G в гені *GBA* зустрічаються винятково в групі пацієнтів з ХП (див. табл. 3.3), є підстави

стверджувати, що дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток ХП у представників української популяції.

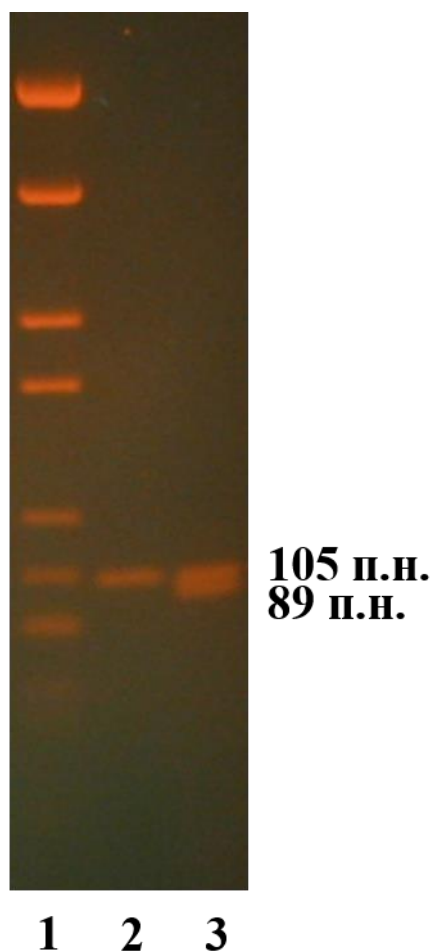


Рис. 3.3. Електрофореграма розділення рестрикційних фрагментів гена *GBA* в агарозному гелі

Примітка. 1 — маркери молекулярної маси, 2, — генотип АА, 5 — генотип АG.

Планувалось кількісно оцінити асоціацію генотипу с.1226AG з розвитком ХП, проте у зв'язку з відсутністю гетерозигот у контрольній групі такі розрахунки було неможливо провести.

Дане дослідження мутантних варіантів гена *GBA* є першим для української популяції. Однак, подібні дослідження активно проводяться в інших країнах. Так було показано, що серед євреїв ашкеназі гетерозиготні

носії даної мутації гена *GBA* зустрічаються із частотою 10,7–31,3 % серед пацієнтів з ХП. Частота мутації у пацієнтів, які належать до інших етнічних груп, складає 2,3–9,4 % [76]. Кількість носіїв мутацій гена *GBA* в італійській популяції складає 4,5 % серед пацієнтів з ХП та 0,63 % у контрольній групі [209]. Серед випадків сімейної форми ХП у жителів США було виявлено 4,1 % носіїв мутацій у порівнянні з 1,1 % у контрольній групі [445]. Також було встановлено, що мутації гена *GBA* зустрічаються у 14,7 % пацієнтів з сімейною формою ХП у Японії [76].

Висновки до розділу 3

1. Встановлено особливості поліморфізму генів, асоційованих з хворобою Паркінсона, серед жителів України.

2. Дослідження однонуклеотидної заміни с.6055G>A в гені *LRRK2* показало, що серед пацієнтів з хворобою Паркінсона частота гетерозигот з мононуклеотидною заміною с.6055G>A становить 1,85 %, а частота гомозигот с.6055GG — 98,15 %; генотип с.6055AA був відсутній. Оскільки гетерозиготні носії мутації с.6055G>A в гені *LRRK2*, за нашими даними, зустрічаються винятково у групі пацієнтів з ХП, дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток ХП.

3. За результатами дослідження однонуклеотидної заміни с.209G>A (A53T) гена *SNCA* встановлено, що мутантні алелі відсутні як серед учасників контрольної групи, так і серед групи пацієнтів з ХП, імовірно, пов'язано із надзвичайно низькою частотою даної мутації у жителів території. Це відкриває перспективи пошуку мутацій у регуляторних ділянках гена.

4. Однонуклеотидна заміна с.1448T>C в гені *GBA* дозволила встановити, що серед пацієнтів з ХП частота гетерозиготного генотипу с.1448TC складає $1,83 \pm 0,0042$ %, а гомозиготного генотипу с.1448TT — $98,15 \pm 0,0042$ %. Показники гетерозиготності становили: фактичної — 0,78 %, теоретичної — 0,77 %. Наявність гетерозиготних носіїв мутації

c.1448T>C в гені *GBA* винятково в групі пацієнтів з ХП свідчить про те, що дана мутація може бути одним з факторів, що спричиняють розвиток ХП.

5. Дослідження одонуклеотидної заміни c.1226A>G гена *GBA* показало серед пацієнтів з ХП частоту генотипу c.1226AA на рівні 98,61 %, а c.1226AG — 1,39 %, і відсутність в контрольній групі як гетерозигот c.1226AG, так і гомозигот c.1226GG за мутантним алелем G. Ні серед пацієнтів з ХП, ані в контрольній групі не було виявлено гомозигот за мутантним алелем c.1226GG. Оскільки гетерозиготні носії мутації c.1226A>G в гені *GBA* зустрічаються винятково в групі пацієнтів з ХП, є підстави стверджувати, що дана мутація може бути одним із факторів, що спричиняють розвиток ХП у представників української популяції.

За матеріалами розділу опубліковано:

1. Коляда АК, Соседко АС, Чивликли МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Мутации генов *LRRK2*, *GBA* и *SNCA*, ассоциированных с болезнью Паркинсона у жителей Украины. Пробл. старения и долголетия. 2015;24[1]:14–20.

2. Коляда АК, Вайсерман АМ, Красненков ДС, Плетнева ТВ, Карабань ИН. Изучение молекулярно-генетических маркеров болезни Паркинсона в Украине. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015;16:210–5.

3. Коляда АК. Исследование генетического и эпигенетического полиморфизма генов паркинов при болезни Паркинсона. Матеріали VII міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери», Харків, Україна, 20–23 листопада, 2012. — С. 86

4. Коляда АК., Чивликлий МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Роль генетических факторов в патогенезе болезни Паркинсона. Тези VI національного конгресу геронтологів і геріатрів України, Київ, Україна, 19–21 жовтня, 2016. — С. 74–75.

5. Коляда АК. Полиморфизм и метилирование генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона. Тезисы докладов и стендовых сообщений V международной школы молодых ученых по молекулярной генетике «Непостоянство генома», Москва-Звенигород, Россия, 3–7 декабря, 2012. — С. 33.

РОЗДІЛ 4

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ *CYP1A1* ТА *GSTM1*, І ГЕНА *APOE* ЯК ФАКТОРІВ СПАДКОВОЇ СХИЛЬНОСТІ ДО РОЗВИТКУ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА

Проведено генотипування та встановлено частоти алелів і генотипів, показники фактичної та теоретичної гетерозиготності за мажорними мутаціями генів *CYP1A1*, *GSTM1*, та *APOE* в групі пацієнтів з України.

4.1. Аналіз алельного поліморфізму с.1384A>G в гені *CYP1A1*

Нами також було досліджено частоту однонуклеотидної заміни в гені *CYP1A1* — с.1384A>G у жителів України [446, 447, 450]. *CYP1A1* є одним із перших виявлених цитохромів, що бере участь у метаболізмі великого спектру речовин, включно з таким відомим канцерогеном, як бензапірен [451]. Даний ген відповідає за синтез цитохрому P450 — білку, що є залученим до першої фази біотрансформації ксенобіотиків [452]. Досліджуваний поліморфізм є обумовленим однонуклеотидною заміною у 7-му екзоні, що призводить до заміни ізолейцину на валін у поліпептидному ланцюгу білку.

Для встановлення частоти досліджуваної однонуклеотидної заміни в українській популяції було проведено її аналіз серед 216 пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 65,0) та у контрольній групі з 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік — 67,0). Досліджувана група є репрезентативною вибіркою з популяції України.

Для генотипування за однонуклеотидною заміною с.1384A>G використовували метод ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування учасників контрольної групи було виявлено, що частота алеля с.1384A склала 0,79, в той час, як частота алеля с.1384G становила 0,21. Відповідно,

частота гомозигот з генотипом с.1384AA становила 0,61, частота гетерозигот с.1384AC — 0,36, а частота гомозигот с.1384GG — 0,03 (табл. 4.1, рис. 4.1).

Таблиця 4.1

**Розподіл генотипів за однонуклеотидною заміною с.1384A>G в гені
CYP1A1**

Генотипи	Група пацієнтів з ХП, кількість осіб (частота генотипу) n = 216	Контрольна група, кількість осіб (частота генотипу) n = 300	χ^2	p	OR	
					Знач.	95 % CI
с.1384AA	75 (0,35)	184 (0,61)	36,69	1,0E-8	0,34	0,23–0,48
с.1384AG	126 (0,58)	108 (0,36)			2,49	1,74–3,56
с.1384GG	15 (0,07)	8 (0,03)			2,72	1,13–6,55

У групі пацієнтів з ХП частота алелів с.1384A та с.1384G склала 0,64 та 0,36, відповідно. Частоти генотипів становили — 0,35 (с.1384AA), 0,58 (с.1384AG) і 0,07 (с.1384GG).

Нами було проведено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в контрольній групі здорових людей. Так, фактична гетерозиготність за однонуклеотидною заміною с.1384A>G складала 0,36, а теоретична — 0,032 ($\chi^2 = 2,8729$, $p > 0,05$). Проведений аналіз свідчить про відсутність відхилень в розподілі генотипів у нашій групі від очікуваного розподілу. Що говорить про випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що дана група може вважатися репрезентативною.

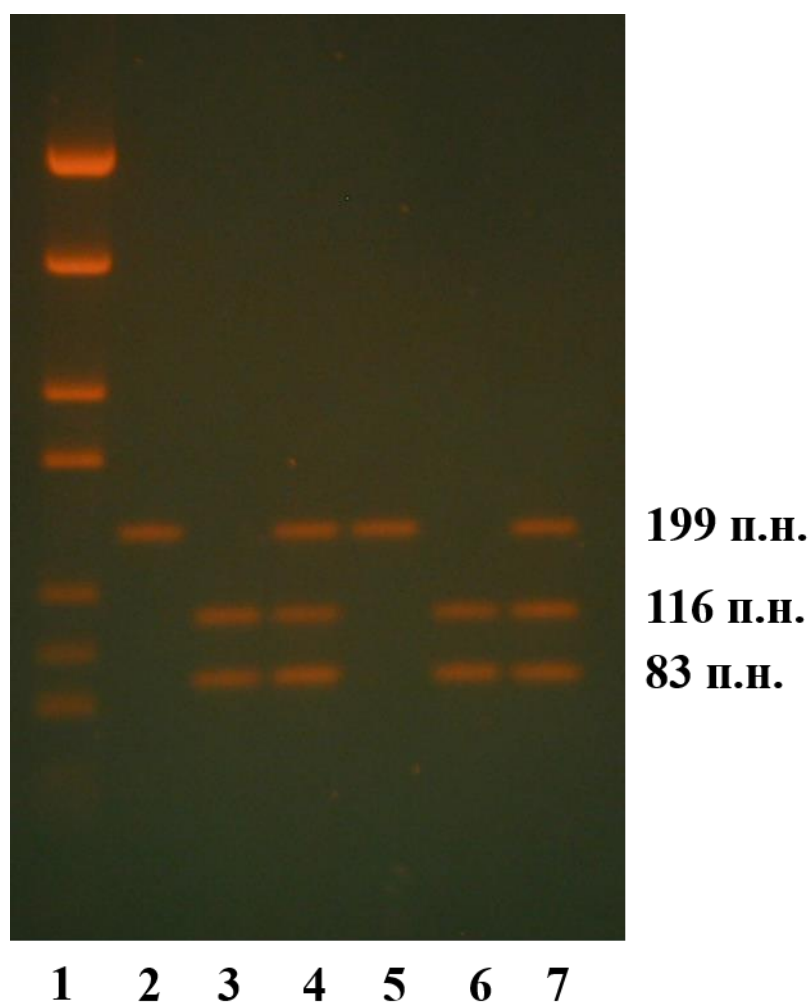


Рис. 4.1. Електрофореграма розділення рестрикційних фрагментів гена *CYP1A1* в агарозному гелі

Примітка. 1 — маркери молекулярної маси; 2, 5 — генотип AA; 3, 6 — генотип GG; 4, 7 — генотип AG.

Також було проведено перевірку відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним в групі пацієнтів з ХП. В цій групі фактична гетерозиготність за однонуклеотидною заміною с.1384A>G складала 0,58, а теоретична — 0,045 ($\chi^2 = 15.0788$, $p > 0,05$). Проведений аналіз свідчить про не випадковий розподіл генотипів відповідно до рівноваги за Харді-Вайнберга в групі пацієнтів з ХП.

Перевірка за критерієм χ^2 показала достовірну різницю між частотами розрахованими для контрольної групи та для групи пацієнтів з ХП ($df = 1$, $p < 0,05$).

Асоціацію певних генотипів з ХП оцінювали за допомогою розрахунку співвідношення шансів (odds ratio, OR). Відносний ризик OR розраховували за формулою:

$$OR = (A/B)/(C/D), \quad (1)$$

де:

A – кількість пацієнтів з ХП, які є гетерозиготними носіями однонуклеотидної заміни с.1384A>G в гені *CYP1A1*

B – кількість пацієнтів з ХП, які є гомозиготами за частою алелем гена *CYP1A1*,

C – кількість людей в контрольній групі, які були гетерозиготними носіями однонуклеотидної заміни с.1384A>G в гені *CYP1A1*,

D – кількість людей в контрольній групі, які є гомозиготами за рідким алелем гена *CYP1A1*.

Показник OR для гетерозиготного генотипу за однонуклеотидної заміни с.1384A>G в гені *CYP1A1* склав 2,49 (95% СІ: [1,74–3,56]). Для гомозиготного за рідким алелем генотипу OR склав 2,72 (95% СІ: [1,13–6,55]) (табл. 3.5).

Показник OR для алеля с.1384G склав 1,76 (95 % СІ: [1,30–2,39]), що свідчить про те, що присутність у генотипі алеля с.1384G підвищує ризик захворіти на ХП в 1,76 рази.

Наші дані підтверджують отримані раніше результати японських учених, що досліджували 126 пацієнтів з ХП та 176 здорових осіб. Ними було виявлено, що частота алеля, що призводила до зниження активності ферменту була значно вищою у групі пацієнтів з ХП, ніж у контрольній групі і складала, відповідно, 44,4 % та 34,9 %. Ризик розвитку ХП у пацієнтів з генотипом с.1384GA був у 6,54 рази вищий, ніж у носіїв нормального генотипу с.1384AA ($p < 0,001$) [76]. Водночас, у дослідженні зв'язку ХП з

поліморфізмом гена *CYP1A1* серед жителів Китаю достовірних відмінностей між групою пацієнтів з ХП та контролем виявлено не було [76]. У британському дослідженні під час генотипування 176 пацієнтів зі спорадичною формою ХП та 30 пацієнтів з сімейною формою ХП так само не було виявлено достовірної різниці порівняно з контрольною групою [453].

4.2. Аналіз гомозиготної делеції у гені *GSTM1* (генотип +/del)

Також нами було досліджено частоту гомозиготної делеції у гені *GSTM1* серед жителів України [450]. Ген *GSTM1* належить до сімейства генів глутатіон-S-трансфераз, що беруть участь у процесі детоксикації мутагенів та інших ксенобіотиків. Глутатіон-S-трансфераза каталізує взаємодію глутамата з атомами вуглецю, азоту, сірки та кисню у широкому спектрі сполук.

Гени сімейства глутатіон-S-трансфераз можуть брати участь у патогенезі ХП, оскільки дані ферменти є антиоксидантами [454], а при ХП важливу роль відіграє усунення супероксидних радикалів ферментами. Крім того, вважається, що ген *GSTM1* пов'язаний з метаболізмом дофаміну [455], обмін якого особливо порушується при патології. За даним геном виділяють два генотипи (+ та del), і вважається, що носійство del генотипу підвищує ризик різноманітних захворювань дихальних шляхів, не виношування вагітності, розвитку пухлин, а також розвитку ХП [456].

Для встановлення ролі гена *GSTM1* у підвищенні ризику розвитку ХП було проведено аналіз частот відповідних генотипів серед 216 пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік – $65,0 \pm 0,7$) та у контрольній групі з 300 людей (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік – $67,0 \pm 0,4$), табл. 4.2, рис. 4.2.

Розподіл генотипів за геном *GSTM1*

Генотипи	Група пацієнтів з ХП, кількість осіб (частота генотипу) n = 216	Контрольна група, кількість осіб (частота генотипу) n = 300	χ^2	p	OR	
					Знач.	95 % CI
+	119 (0,55)	201 (0,67)	7,56	0,02	0,60	0,42–0,87
del	97 (0,45)	99 (0,33)			1,65	1,15–2,37

Для генотипування використовували метод ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування було виявлено, що частота + генотипу склала 0,67, а частота генотипу del склала 0,33 серед представників контрольної групи. У групі пацієнтів з ХП дані показники розподілу генотипів суттєво відрізнялись: частоти генотипу + та генотипу del склали 0,55 та 0,45, відповідно. Достовірність різниці перевіряли за допомогою критерію χ^2 (df = 1, P < 0,05). Провести аналіз відповідності фактичних частот генотипів теоретично очікуваним для перевірки випадковості розподілу генотипів відповідно до співвідношення Харді-Вайнберга є неможливим. Так як у особливості метода є одночасне виявлення гомозиготних та гетерозиготних носії однонуклеотидної заміни.

Показана статистично достовірною різниця частоти мутантного генотипу del свідчить про можливу роль даного генотипу у розвитку ХП у представників української популяції. Кількісну оцінку асоціації генотипів з ХП здійснювали за допомогою розрахунку відношення шансів (odds ratio, OR).

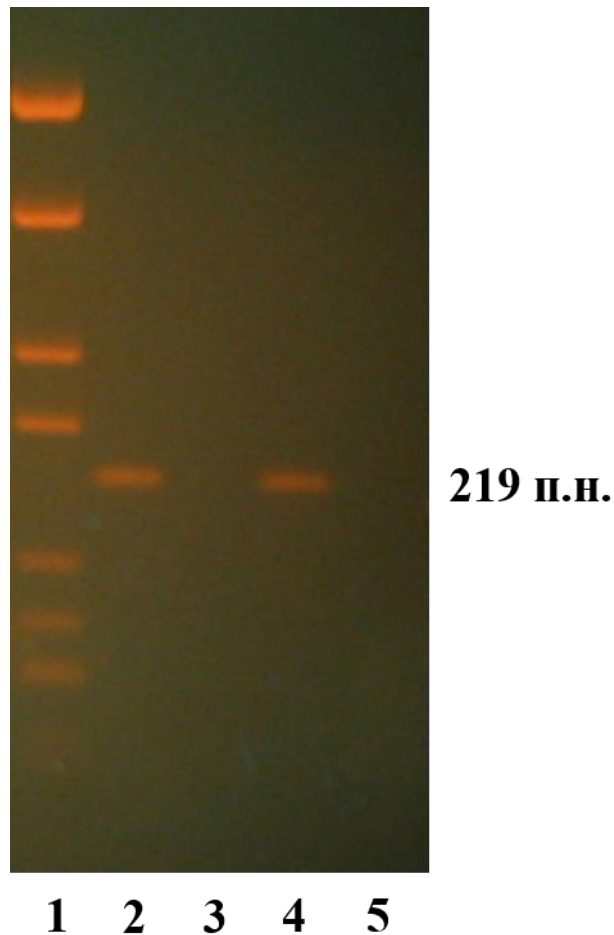


Рис. 4.2. Електрофореграма розділення рестрикційних фрагментів гена *GSTM1* в агарозному гелі

Примітка. 1 — маркери молекулярної маси; 2, 4 — генотипу +; 3,5 — генотипу del.

Відносний ризик OR розраховували за формулою:

$OR = (A/B)/(C/D)$, де:

A — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу del,

B — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу +,

C — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу del,

D — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу +.

Показник OR для генотипу del склав 1,65 (95 % CI: 1,15–2,37), що свідчить про те, що наявність гомозиготної делеції у гені *GSTM1* підвищує ризик захворіти на ХП в 1,65 разів.

У більшості робіт зарубіжних авторів не було виявлено асоціації «нульового» генотипу із ризиком розвитку ХП [457, 458]. Однак у дослідженні [76, 456] було показано, що у пацієнтів із генотипом + вік появи проявів хвороби був значно вищим (68 років), в той час як пацієнти з генотипом del мали більш ранній вік маніфестації захворювання (57 років). Крім того, встановлено, що «нульовий» генотип гена *GSTM1* є генетичним маркером підвищеного ризику (OR = 1,45; CI = 1,2–2,8) у пацієнтів із Башкортостану [76, 456, 459].

4.3. Аналіз алельного поліморфізму гена *APOE* у пацієнтів з хворобою Паркінсона

Також нами було проведено аналіз поліморфізму $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* в серед жителів України [433, 450]. ApoE — багатий на аргінін глікопротеїд, що складається з 299 залишків амінокислот. Поліморфізм $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ в четвертому екзоні гена *APOE* обумовлений двома нуклеотидними замінами, які призводять до заміни залишків амінокислот цистеїну та аргініну у положеннях 112 та 158 поліпептидного ланцюга. Функція досліджуваного нами гена полягає у кодуванні білку, що є важливим для метаболізму нервової тканини — аполіпротеїна E, який відповідає за мієлінізацію нервових волокон. Таким чином, наявність поліморфізму $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ призводить до порушення нервової провідності. Також вважається, що алель $\epsilon 4$ відіграє модифікуючу роль у розвитку таких дегенеративних захворювань, як хвороба Альцгеймера та ХП, проте дані щодо ролі алеля $\epsilon 4$ у розвитку ХП є досі суперечливими [76, 460].

З метою встановлення частоти поліморфізму $e2/e3/e4$ серед жителів України було проведено обстеження пацієнтів із ХП (116 чоловіків та 100 жінок, середній вік — $65,0 \pm 0,7$) та 300 здорових людей з контрольної групи (200 чоловіків та 100 жінок, середній вік — $67,0 \pm 0,4$). Досліджувана група є репрезентативною вибіркою.

Генотипування було проведено методом ПДРФ-ПЛР. За результатами генотипування учасників контрольної групи було виявлено наступний розподіл частот генотипів за геном *APOE* — 0,72 ($e3/e3$), 0,08 ($e3/e4$), 0,009 ($e4/e4$), 0,17 ($e2/e3$), 0,03 ($e2/e4$) і 0,000 ($e2/e2$), тобто, найчастіше спостерігався генотип $e3/e3$, а найнижча частота була в генотипа $e4/e4$ (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Розподіл генотипів за поліморфізмом $e2/e3/e4$ гена *APOE*

Генотипи	Група пацієнтів з ХП, кількість осіб (частота генотипу)	Контрольна група, кількість осіб (частота генотипу)
	n = 216	n = 300
$e3/e3$	137 (0,63)	210 (0,7)
$e3/e4$	32 (0,15)	24 (0,08)
$e4/e4$	7 (0,03)	3 (0,01)
$e2/e3$	34 (0,16)	53 (0,18)
$e2/e4$	6 (0,03)	10 (0,03)
$e2/e2$	0 (0,0)	0 (0,0)

У групі пацієнтів з ХП частоти генотипів розподілились наступним чином — 0,63 ($e3/e3$), 0,15 ($e3/e4$), 0,03 ($e4/e4$), 0,16 ($e2/e3$), 0,02 ($e2/e4$) і 0,000 ($e2/e2$). Найчастіше зустрічався генотип $e3/e3$. Однак, на відміну від контрольної групи, найменша частота виявилась у генотипу $e2/e4$. Частоти

алелів в контрольній групі розподілились наступним чином: e_3 — 0,82, e_4 — 0,10 та e_2 — 0,06. Частоти алелів в групі пацієнтів з ХП розподілились наступним чином: e_3 — 0,78, e_4 — 0,12 та e_2 — 0,09.

Таблиця 4.4

Розподіл теоретичних та фактичних генотипів за поліморфізмом $e_2/e_3/e_4$ гена *APOE* в контрольній групі

Генотипи	Теоретично розраховані частоти генотипів	Фактично отримані частоти генотипів	χ^2	p
e_3/e_3	0,68	0,7	9,15	$p > 0,05$
e_3/e_4	0,11	0,08		
e_4/e_4	0,004	0,01		
e_2/e_3	0,17	0,18		
e_2/e_4	0,01	0,03		
e_2/e_2	0,0	0,0		

Виходячи з отриманих частот алелів в групі контролю, для проведення аналізу відповідності розподілу частот отриманих генотипів до очікуваних за законом Харді-Вайнберга було розраховано теоретично очікуване число генотипів. Достовірної різниці між теоретично очікуваними та розрахованими частотами не виявлено ($p > 0,05$) (табл. 4.4). Виходячи з отриманих частот алелів в групі пацієнтів з ХП, аналіз відповідності розподілу частот фактичних генотипів до очікуваних за законом Харді-Вайнберга в групі пацієнтів з ХП показав достовірну різницю між теоретично очікуваними та розрахованими частотами ($\chi^2 = 16,0148$, $p < 0,05$).

Треба відмітити, що генотип e2/e2 виявився відсутнім як у контрольній, так і в досліджуваній групі. Це можна пояснити низькою частотою алеля e2 в європейських популяціях.

Достовірність різниці у розподілі генотипів перевіряли за допомогою критерію χ^2 (df = 1, P < 0,05). Було встановлено, що частоти генотипів e3/e4 та e4/e4 є суттєво вищими у групі пацієнтів з ХП, що імовірно вказує на зв'язок рідкісного алеля e4 із ризиком розвитку ХП.

Показана статистично достовірна різниця частоти генотипів e3/e4 та e4/e4 свідчить про можливу роль даного генотипу та алеля e4 у розвитку ХП у жителів України. Кількісну оцінку асоціації певних генотипів та алелів з ХП здійснювали за допомогою розрахунку співвідношення шансів (odds ratio, OR). Відносний ризик OR розраховували за формулою:

$$OR = (A/B)/(C/D),$$

де:

A — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу e3/e4,

B — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу e3/e3.

C — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу e3/e4,

D — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу e3/e3.

Дані значення в формулі використовувалась для розрахунку відносного ризику для носіїв генотипу e3/e4.

A — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу e4/e4,

B — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями генотипу e3/e3,

C — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу e4/e4,

D — кількість людей в контрольній групі, які є носіями генотипу e3/e3.

Дані значення в формулі використовувалась для розрахунку відносного ризику для носіїв генотипу e4/e4.

OR для генотипів e2/e3 та e2/e4 по відношенню до e3/e3 не розраховували, оскільки між розподілом цих генотипів у контролі та у досліджуваній групі не було виявлено статистичної різниці (p < 0,05).

З метою оцінки відносного ризику для носіїв алеля $\epsilon 4$ використовували такі параметри:

A — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями алеля $\epsilon 4$,

B — кількість пацієнтів з ХП, які є носіями алеля $\epsilon 3$,

C — кількість людей в контрольній групі, які є носіями алеля $\epsilon 4$,

D — кількість людей в контрольній групі, які є носіями алеля $\epsilon 3$.

Показник OR для генотипу $\epsilon 3/\epsilon 4$ склав 2,08 (95 % CI: 1,18–3,65) (табл. 4.5), що свідчить про те, що носійство даного генотипу підвищує ризик захворіти на ХП в 2,08 разів.

Таблиця 4.5

Достовірність різниці у розподілі генотипів за геном *APOE*

Генотипи	χ^2	p	OR	
			Знач.	95 % CI
$\epsilon 3/\epsilon 4$	4,43	< 0,05	2,08	1,18–3,65
$\epsilon 3/\epsilon 3$			0,43	0,25–0,72
$\epsilon 4/\epsilon 4$	7,37	< 0,01	3,53	0,12–13,86
$\epsilon 3/\epsilon 3$			0,43	0,25–0,72

Для генотипу $\epsilon 4/\epsilon 4$ показник OR становив 3,53 (95 % CI: 0,90–13,86) (див. табл. 4.5). Отже, у носіїв генотипу $\epsilon 4/\epsilon 4$ ризик захворіти на ХП є вищим у 3,53 разів.

Показник OR, розрахований для алеля $\epsilon 4$ склав 2,36 (95 % CI: 1,47–3,81), табл. 4.6. Це свідчить про підвищення ризику захворіти на ХП у 2,36 разів у носіїв даного алеля.

Літературні дані з приводу аналізу зв'язку ХП з геном *APOE* є суперечливими. За деякими даними алель $\epsilon 2$ виступає генетичним фактором підвищеного ризику ХП [76, 461].

Таблиця 4.6

Достовірність різниці у розподілі алелів за геном *APOE*

Алель	Група пацієнтів	Контрольна група	χ^2	p	OR	
	з ХП				Знач.	95 % CI
	n = 216	n = 300				
e3	340 (0,79)	541(0,90)	10,495	< 0,01	0,42	0,26–0,68
e4	52 (0,12)	41 (0,07)			2,36	1,47–3,81

У дослідженні, виконаному у Франції, було прогенотиповано 57 пацієнтів із сімейною формою та 46 із спорадичною формою ХП. Частота алеля e4 виявилася однаковою як у контрольній, так і в досліджуваній групах, в той час, як алель e2, значно частіше зустрічалася у пацієнтів зі спорадичною формою ХП, ніж в контрольній групі [462]. Інша група дослідників [463] виявила, що в популяції Китаю генотип e2/e4 є генотипом підвищеного ризику розвитку ХП (OR = 12,62). Водночас, аналіз частот алелів та генотипів у даному гені у пацієнтів з ХП представників фінської популяції не показав достовірних відмінностей порівняно з групою неврологічно здорових людей [76, 412].

Висновки до розділу 4

1. Аналіз алельного поліморфізму с.1384A>G у 7-му екзоні гена *CYP1A1* дозволив встановити статистично значиму відмінність між пацієнтами з ХП та особами групи контролю. Так, у групі пацієнтів з ХП частота алелів А та G склала 0,64 та 0,36, відповідно; частоти генотипів становили 0,35 (с.1384AA), 0,58 (с.1384AG) і 0,07 (с.1384GG). В контролі частота алеля А склала 0,79, в той час, як частота алеля G становила 0,21; відповідно, частота гомозигот с.1384AA становила 0,61, частота гетерозигот

c.2452AG — 0,36, а частота гомозигот c.1384GG — 0,03. Показники фактичної та теоретичної гетерозиготності склали відповідно 58,3% і 46,1% для групи пацієнтів з ХП та 36,0 % і 32,8 % для контрольної групи. Показник OR для алеля c.1384G склав 1,76 (95 % CI: [1,30–2,39]), що свідчить про те, що присутність у генотипі алеля c.1384G підвищує ризик захворіти на ХП в 1,76 рази.

2. Аналіз гомозиготної делеції у гені *GSTM1* (генотип del) продемонстрував, що показники розподілу генотипів суттєво відрізняються: частоти генотипу + та генотипу del склали 0,55 та 0,45 відповідно у групі пацієнтів з ХП і 0,67 та 0,33 серед представників контрольної групи ($p < 0,05$). Показник OR для генотипу del склав 1,65 (95% CI: 1,15–2,37), що свідчить про те, що наявність гомозиготної делеції у гені *GSTM1* підвищує ризик захворіти на ХП в 1,65 разів.

3. Аналіз алельного поліморфізму $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ гена *APOE* у пацієнтів з хворобою Паркінсона показав суттєво вищі частоти генотипів $\epsilon 3/\epsilon 4$ та $\epsilon 4/\epsilon 4$ у групі пацієнтів з ХП, що імовірно вказує на зв'язок алеля $\epsilon 4$ із ризиком розвитку ХП. Носійство генотипу $\epsilon 3/\epsilon 4$ підвищує ризик захворіти на ХП в 2,08 разів; генотипу $\epsilon 4/\epsilon 4$ — у 3,53 разів. Показник OR, розрахований для алеля $\epsilon 4$, склав 2,36 (95 % CI: 1,47–3,81).

За матеріалами розділу опубліковано:

1. Коляда АК, Вайсерман АМ, Наумчук ДС. Генетичні та біохімічні маркери стану ліпідного обміну при хворобі Паркінсона. Пробл. старения и долголетия. 2014;23[1]:44–51.

2. Коляда ОК, Вайсерман ОМ, Карабань ІМ. Асоціація поліморфізмів генів *CYP1A1* та *GSTM1* з ризиком розвитку хвороби Паркінсона в українській популяції. Пробл. старения и долголетия. 2013;22[3]:288–93.

3. Коляда ОК. До питання про поліморфізм генів *GSTM1* та *CYP1A1* у пацієнтів з хворобою Паркінсона. Матеріали VIII міжнародної конференції

молодих учених «Біологія: від молекули до біосфери», Харків, Україна, 3–6 грудня, 2013. — С. 60.

4. Коляда ОК. Молекулярні маркери хвороби Паркінсона в Україні. Тези доповідей III Науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», Харків, Україна, 19 листопада, 2020. — С. 133.

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ДОВЖИНИ ТЕЛОМЕР ЯК МАРКЕРА ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА

Кінці лінійних еукаріотичних хромосом є потенційними сайтами репарації подвійних розривів ДНК (DNA double-strand breaks, DSBs), гомологічної репарації і негомологічного об'єднання кінців хромосом (non-homologous end joining, NHEJ) [464]. Теломери є гетерохроматиновими структурами на кінцях хромосом з довгими послідовностями (5 000–20 000 п. н.), що складаються з тандемних повторів 5'-TTAGGG-3'. На кінці теломери знаходиться одноланцюгова ділянка 3'-ланцюгу, що утворює D-петлю, яка відіграє важливу роль у захисті кінців хромосоми [465, 466]. Формування структури теломерної петлі також забезпечує білковий комплекс шелтерин (shelterin), який складається з шести основних білків, що специфічно зв'язуються з теломерною послідовністю: TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 та POT1 [467]. Ці білки приєднуються до одно- або дволанцюгової ділянок ДНК і захищають теломери, тим самим підтримуючи їх довжину і запобігаючи ерозії [467].

У людини середня довжина теломер зазвичай становить від 10 до 15 тисяч пар нуклеотидів [468] і неминуче скорочується зі швидкістю від 50 до 200 пар основ під час кожного акту клітинної реплікації [469] в результаті недореплікації, а також дії нуклеаз. Процес скорочення триває до тих пір, поки теломера не досягне критичної довжини [470], що викликає зупинку клітинного циклу, яка приводить до старіння або апоптозу. Це дозволяє розглядати теломери як мітотичний годинник, який регулює здатність клітини до поділу. Статеві та стовбурові клітини, тим не менше, долають прогресивну ерозію теломер за допомогою теломерази — РНК-залежної зворотної транскриптази, яка може добудовувати ДНК теломер.

Теломераза складається зі зворотної транскриптази (telomerase reverse transcriptase, TERT) — ферменту, який відповідає за синтез теломерних

повторів, а також РНК (telomerase RNA, TER), яка служить матрицею для подовження теломерної ДНК. Каталітичний комплекс теломерази складається з двох молекул TERT і TER а також дискеріну, білку, який бере участь в процесингу 3'-кінця TER і її встановленні в активний комплекс теломерази [471]. Крім того, подовження теломер може здійснюватися за допомогою теломераза-незалежного альтернативного подовження теломер (alternate lengthening of telomeres, ALT), яке являє собою гомологічну рекомбінацію теломерних ділянок.

В останні роки отримано нові дані щодо ролі теломер в регуляції клітинного старіння і їх зв'язку з безліччю захворювань людини, в тому числі вродженим дискератозом, синдромом Вернера, синдромом Блума, атаксією-телеангіектазією, синдромом Неймегена, анемією Фанконі тощо. Загальною ознакою цих захворювань є те, що у пацієнтів виявляються критично короткі теломери у порівнянні зі здоровими особами тієї ж статі й віку. Це підводить нас до нового розуміння захворювань, а також розвитку майбутніх діагностичних і терапевтичних стратегій.

Останнім часом довжину теломер в клітинах периферичної крові вивчали як основну модель у спробах розшифрувати зв'язки між зміною довжини теломер і віковими порушеннями та старінням людей [472]. Висловлено припущення, що причиною прискореного укорочення теломер в клітинах периферичної крові людей з віковими захворюваннями є підвищений рівень системного окислювального стресу і хронічне запалення [472, 473]. Лейкоцити периферичної крові є чудовим об'єктом для дослідження динаміки теломер [474]. Багато авторів вважають, що метод визначення довжини теломер (terminal restriction fragment measurement, TRF) в легкодоступних зразках, таких, як периферична кров, може давати надійні дані для встановлення відносної довжини теломер в інших тканинах [475]. Таким чином, скорочення теломер в лейкоцитах периферичної крові може служити не тільки маркером старіння, а й окисного стресу і хронічного запалення, яке може бути індикатором системного патологічного стресу

[476]. Наприклад, середня довжина TRF лейкоцитів у пацієнтів з інфарктом міокарда виявилася значно коротшою, ніж у контрольної групи. Істотне скорочення довжини теломер в цьому випадку було асоційоване зі збільшенням ризику інфаркту міокарда приблизно в 3 рази [477]. Аналогічним чином, теломери ендотеліальних клітин, що мають відношення до виникнення і прогресії атеросклерозу коронарних артерій, були значно коротшими, ніж у контролі, що може свідчити про їх патогенетичну роль у розвитку коронарних захворювань [478].

Виражене вкорочення теломер в клітинах периферичної крові виявлено і за інших захворювань (в тому числі, за цукрового діабету, хвороби Альцгеймера, ніотинової залежності і ожиріння), а також у матерів з високим рівнем психологічного стресу, пов'язаного з доглядом за хворими дітьми [479–482].

Нами було проведено дослідження довжини теломер в хромосомах клітин крові та букального епітелію пацієнтів з ХП та в контрольній групі. Довжина теломер в клітинах букального епітелію виявилася істотно коротшою у пацієнтів з ХП, ніж у контролі (рис. 5.1). У клітинах крові довжина теломер не відрізнялася [483].

Ці дані свідчать про те, що у пацієнтів з ХП процес вік-залежного укорочення довжини теломер в клітинах букального епітелію прискорений. Довжина теломер в цих клітинах може бути показником системних порушень, які виникають за ХП, у тому числі окисного стресу і збільшення кількості клітин під дією різноманітних факторів росту. Відсутність достовірних відмінностей у довжині теломер в лейкоцитах можна пояснити гетерогенністю популяції лейкоцитів в периферичній крові людини і можливою різноспрямованістю процесів, які відбуваються в них.

Також виявлено статистично значиму кореляцію ($r = 0,55$; $p < 0,01$) між довжинами теломер в клітинах крові і букального епітелію в пацієнтів з ХП, але не в контрольній групі (рис. 5.2).

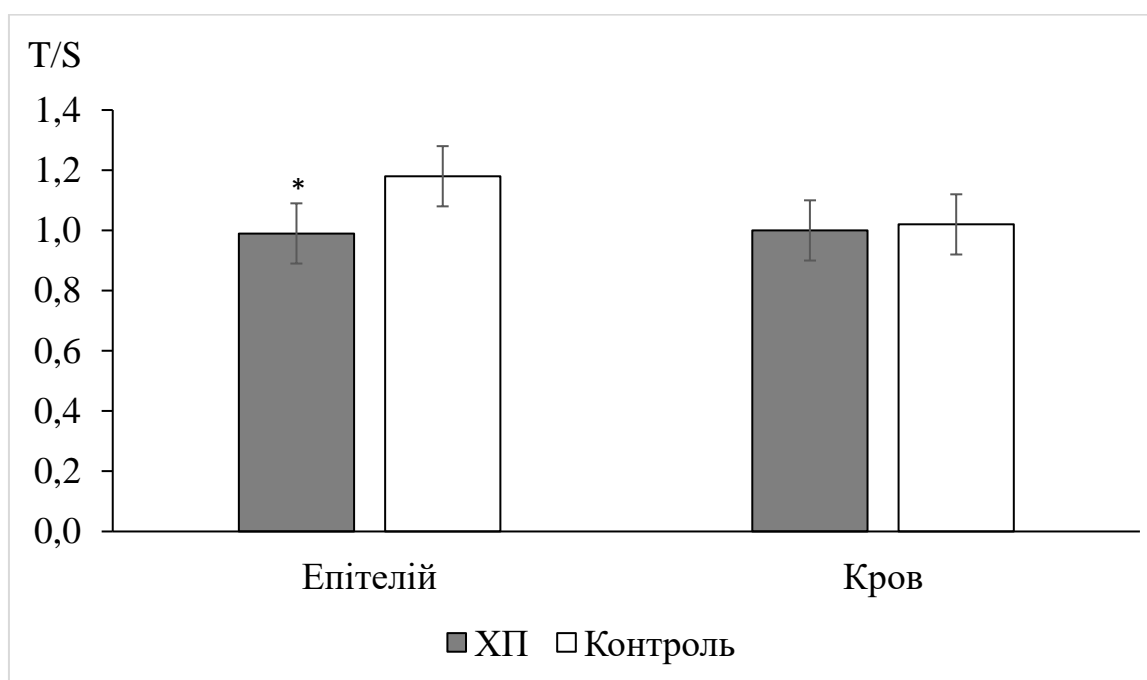


Рис. 5.1. Відносна довжина теломер (Т/S) у пацієнтів з хворобою Паркінсона (ХП) і в контрольній групі

Примітка. * — відмінність відносно групи контролю значима за $p < 0,05$.

Це може свідчити про подібність механізмів ерозії теломер в клітинах різних тканин за нейродегенеративного процесу. Відсутність кореляції між довжинами теломер в клітинах крові і букального епітелію в контрольній групі може бути пов'язана з її гетерогенністю по відношенню до різних «сценаріїв старіння» і, відповідно, різної патологічної навантаженості включених до неї осіб.

У попередніх дослідженнях аналіз асоціації довжини теломери у пацієнтів з ХП приводив до суперечливих даних: за дослідження лейкоцитів периферичної крові у 28 пацієнтів чоловічої статі і 27 осіб контрольної групи короткі теломери (менше 5 000 п. н.) виявлено тільки у пацієнтів з ХП, в той час як середня довжина теломер між двома групами достовірно не розрізнялася [415]. Wang Н. і його колеги (2008) в іншому дослідженні не виявили жодної різниці в довжині теломер у 96 пацієнтів з ХП і 172 осіб контрольної групи [417]. Maeda Т. зі співавторами (2009) [416] визначили в

своєму дослідженні середню довжину теломер, а також статус метилювання субтеломерних регіонів хромосом у 35 пацієнтів з ХП і 42 осіб контрольної групи. Було встановлено, що лейкоцити пацієнтів з ХП мають підвищений рівень метилювання субтеломерних ділянок, а також більш короткі теломери в порівнянні з контролем. Ці дані підтверджують уже доведений факт про зв'язок метилювання субтеломерних регіонів хромосом з процесом укорочення теломер [416].

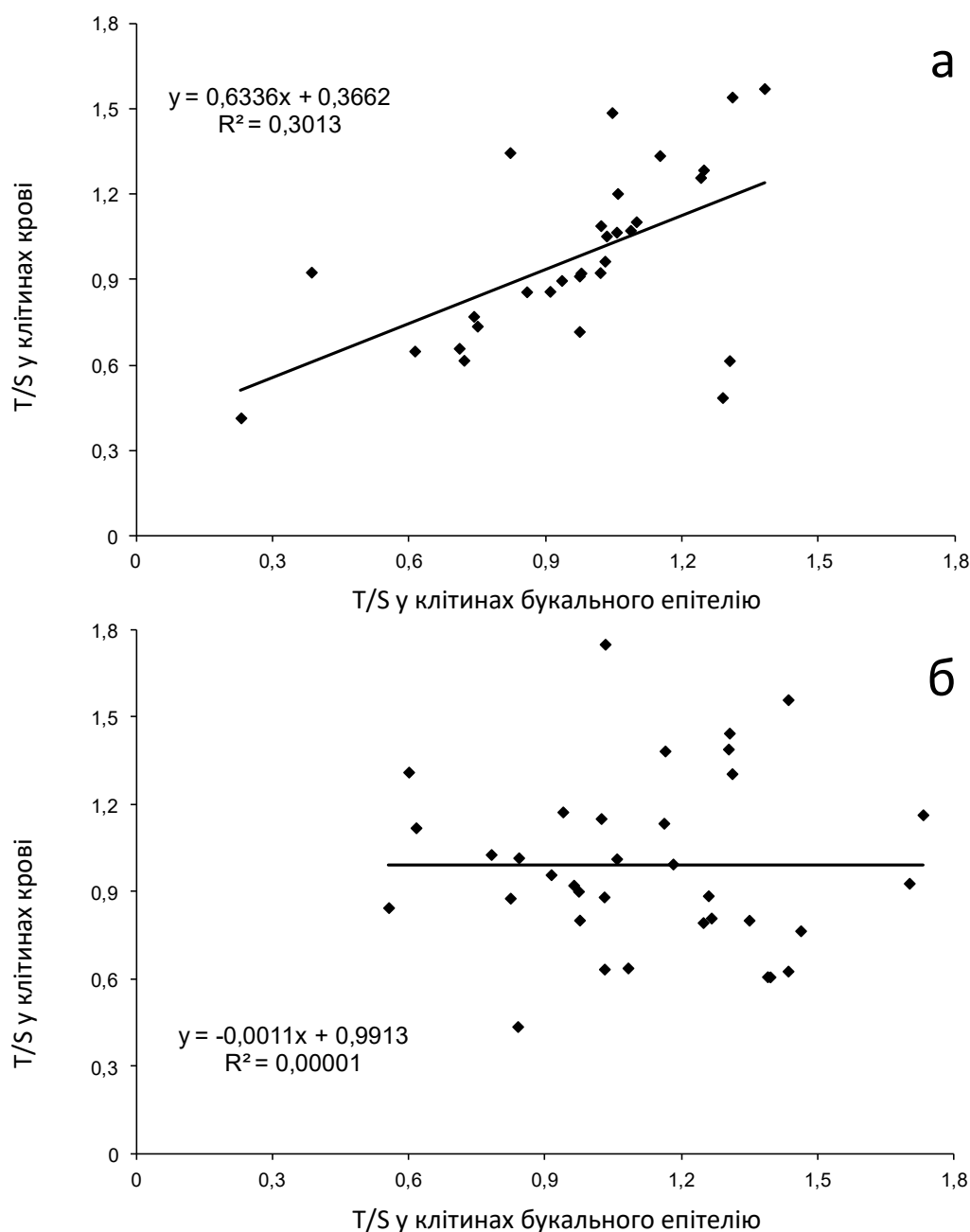


Рис. 5.2. Кореляція довжини теломер у клітинах крові й букального епітелію у пацієнтів з ХП (а) та в контролі (б)

Висновки до розділу 5

1. Довжина теломер в клітинах букального епітелію значимо коротша у пацієнтів з ХП, ніж у контролі і корелює з довжиною теломер в клітинах крові ($r = 0,55$; $p < 0,01$).

2. Коротші теломери в клітинах букального епітелію можуть бути наслідком оксидативного стресу, і можуть використовуватися в якості маркера ХП на ранніх етапах захворювання. Довжина теломер в клітинах крові не придатна для використання в якості маркера ХП.

За матеріалами розділу опубліковано:

1. Kolyada AK, Vaiserman AM, Krasnenkov DS, Karaban' IN. The study of telomere length in patients with Parkinson disease. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2014;114[8]:58–61.

РОЗДІЛ 6

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Традиційно вважалося, що ХП — це спорадична нейродегенеративна хвороба, однак зростаюча кількість інформації щодо сімейних форм ХП дозволила припустити генетичну обумовленість даної хвороби генотипом. Було показано зв'язок частоти мутацій, асоційованих із розвитком ХП, та етнічного походження, приналежності до окремих популяцій [454]. Таким чином, з точки зору майбутнього розвитку персоналізованої медицини важливим та актуальним є проведення досліджень частоти таких поліморфізмів у окремих популяціях. Встановлено зв'язок із розвитком ХП таких генів як *SNCA*, *LRRK2*, *GBA*, тощо.

Нами було проаналізовано частоту однонуклеотидної заміни у таких генах, як *LRRK2*, *GBA*, *SNCA*, *CYP1A1*, *GSTM1* та *APOE*, з метою з'ясування ролі даних мутацій та поліморфізмів у розвитку ХП серед жителів України.

Найпоширенішою генетичною причиною як спорадичної, так і сімейної форми ХП є мутації у гені *LRRK2* [484]. Хоча точна фізіологічна функція даного гена лишається до певної міри невідомою, у нещодавніх дослідженнях було показано, що *LRRK2* залучений до таких клітинних функцій, як підтримка цитоскелету, розростання нейритів, везикулярний транспорт, аутофагічна деградація білків та робота імунної системи [485]. Найчастіше зустрічається мутація G2019S (с.6055G>A) (у 5–6 % сімейної форми ХП та в 1–2 % спорадичної), частоту якої нами було проаналізовано в групі пацієнтів із ХП та в контрольній когорті. Дослідження даної мутації є важливими не лише з точки зору її поширеності, а й через те, що вона асоційована з так званою класичною спорадичною формою ХП з пізнім початком.

В рамках міжнародного дослідження оцінки ризику розвитку ХП у представників різних популяцій (19 376 осіб), які є носіями мутації *LRRK2* або мають ризик успадкувати мутантний алель, було показано, що середня

частота G2019S у пацієнтів зі спорадичною формою складає 1 %, а у пацієнтів з сімейною ХП — 4 % [177].

Нами було показано достовірну різницю у розподілі генотипів та мутантного алеля с.6055A у контрольній групі та у групі пацієнтів із ХП. Так, було виявлено, що частота гетерозиготного генотипу с.6055GA в групі пацієнтів із ХП склала 1,85%, а частота мутантного алеля — 0,93%. Такий розподіл подібний до того, що спостерігається у деяких європейських популяціях. Так, середня частота мутації с.6055G>A у європейських пацієнтів із ХП становить 3–6 % для сімейної та 1–2 % для спорадичної форми [171, 172, 486]. Відомо, що частота с.6055G>A серед європейських популяцій є найнижчою в північній Європі (~1 %), середня (1,9 %) — у деяких популяціях Італії і найвищою — в південній Європі (2,9 % в північній Іспанії, 3,4 % — в Каталонії та 4,9 % — в Португалії). У східній Європі (в популяції Росії) частота досліджуваної мутації становить 5,9–7,7 % та 0,5–0,7 % для сімейної та спорадичної форми відповідно [459, 487]. Також розподіл мутантного алеля в українській популяції є співставним із британською популяцією, в якій частота с.6055G>A становить 1,7 %. Найвищою є частота с.6055G>A у пацієнтів із ХП представників євреїв Ашкеназі та північно-африканських берберів. Для цих популяцій даний показник складає 18–30 % та 30–40 % відповідно [76, 140, 439, 440, 488–490]. Присутність мутації с.6055G>A була підтверджена у популяціях країн Південної Америки — Чілі, Бразилії, Перу та Уругваю, в які вона поширилась після колонізації європейцями, в основному з Іберійського півострова [491–495].

Частота даної мутації у Бразилії та Португалії є вищою, ніж в українській популяції, і складає 6,6 %. У країнах Центральної Азії та Далекого Сходу дана мутація зустрічається рідко, однак окремі випадки реєструвались в Японії та Індії [76, 183, 496–501].

Нами було відмічено відсутність гомозиготних носіїв мутації с.6055G>A у когорті пацієнтів з ХП в Україні. Це також є типовим для

європейських популяцій, однак такі випадки доволі часто реєструвалися у популяціях таких північно-африканських країн, як Туніс та Алжир, що, ймовірно, є наслідком близькосторіднених шлюбів [180, 502–505]. Хоча, відмінності між гетерозиготними та гомозиготними носіями мутації у клінічному фенотипі чи віку початку хвороби відсутні, пенетрантність мутантного алеля є вищою у гомозиготних пацієнтів [76, 177, 180, 502, 505, 506].

Слід зазначити, що окрім досліджуваної нами мутації с.6055G>A, є інші варіанти гена *LRRK2*, що впливають на імовірність розвитку ХП (табл. 6.1).

У популяціях Східної Азії зустрічаються мутації R1628P та G2385R, що безпосередньо не спричиняють ХП, але підвищують ризик захворіти вдвічі. Проте, як видно з таблиці, такі варіанти *LRRK2* зустрічаються локально, що обумовило вибір нами саме мутації с.6055G>A для дослідження гена *LRRK2* серед жителів України.

Також нами було проведено дослідження частоти двох мутацій гена *GBA* — с.1448T>C та с.1226A>G серед жителів України. Гомозиготні мутації у гені *GBA* викликають хворобу Гоше, рецесивне захворювання лізосомного накопичення. Основним клінічним проявом хвороби Гоше є пошкодження печінки, однак також можуть з'являтися неврологічні симптоми [507]. Крім того, мутації у *GBA* є фактором ризику розвитку ХП [508]. Було показано, що гетерозиготні носії мутацій гена *GBA* також мають більшу схильність до ХП [76, 76, 508] (табл. 6.2).

В цілому, мутації гена *GBA* зустрічаються у 5–10 % пацієнтів із ХП [205, 441], що підтверджує той факт, що мутації в даному гені є кількісно одним з важливих генетичних факторів розвитку ХП. Найчастіше зустрічаються такі мутації *GBA*, як с.1226A>G та с.1448T>C [522], однак наявні певні етнічні відмінності у поширеності цих мутацій. Мутація с.1226A>G поширена у європейській, американській та середньо-східній

популяціях, проте, зазвичай не зустрічається у китайців та японців [523, 524].

Таблиця 6.1

**Характеристика мутацій у гені *LRRK2*,
що асоційовані з хворобою Паркінсона**

Мутація	Позиція	Популяції із найвищим ризиком	Нейропатологія	Посилання
R1441C	31-й екзон	Середня Європейський	Тільця Леві, втрата нейронів чорної субстанції, нейрофібрилярні клубки	[509]
R1441G	31-й екзон	Баски	Втрата нейронів чорної субстанції	[510]
R1441H	31-й екзон	-	-	[511]
R1628P	34-й екзон	Китай	-	[512]
Y1699C	35-й екзон	-	Тільця Леві, втрата нейронів чорної субстанції, нейрофібрилярні клубки (друга стадія)	[76]
G2019S	41-й екзон	Всі популяції, особливо Північна Африка	Тільця Леві, втрата нейронів чорної субстанції, нейрофібрилярні клубки (п'ята стадія)	[177, 186, 513]
I2020T	41-й екзон	-	Тільця Леві, втрата нейронів чорної субстанції	[514]
R2385R	48-й екзон	Східна Азія	-	[171, 515]

Найчастіше мутації *GBA* зустрічаються серед осіб єврейського походження. Так було виявлено, що у пацієнтів з ХП частота даних мутацій становила 31,3%, в той час як у контрольній групі — 6,2 % [525]

Таблиця 6.2

Пенетрантність ХП у гомозиготних та гетерозиготних носіїв мутацій гена *GBA*

	Пацієнти з хворобою Гоше		Посилання	Гетозиготні носії мутації гена <i>GBA</i>	Посилання
	Чоловіки	Жінки			
Пенетрантність ХП у віці 65 років, %	1,5	7,7	[516]	2,2	[517]
Пенетрантність ХП у віці 70 років, %	1,5	15,2	[516]	21,4	[518]
Пенетрантність ХП у віці 75 років, %	-	-	-	6,8	[517]
Пенетрантність ХП у віці 80 років, %	9,0	12,0	[519]	29,7	[518]
Пенетрантність ХП у віці 85 років, %	-	-	-	10,9	[517]
Відносний ризик розвитку ХП у порівнянні із рештою популяції	21,4		[520]	30,0	[521]

Також високою є частота мутацій *GBA* у пацієнтів із ХП Північної Америки — 21,0 % за відсутності мутацій в контрольній групі [526]. Попередні дослідження підтвердили, що носійство мутацій у *GBA* підвищує ризик як сімейної, так і спорадичної форми ХП у представників європейської популяції [445, 527, 528]. Було показано, що частота мутацій у групі європейців з ХП становить 6,7, в той час як у контрольній групі — 1,0.

Нами було показано, що частоти мутацій с.1226A>G та с.1448T>C становлять, відповідно, 1,86 % та 1,39 % серед пацієнтів із ХП. У контрольній групі носіїв мутацій виявлено не було. Такий результат є кількісно зіставним із даними, отриманими для населення Росії, в якій частота мутацій гена *GBA* у пацієнтів із ХП становила 2,7 % [529]. Подібний результат було отримано для інших європейських популяцій — норвезької та італійської, в яких частота досліджуваних мутацій становила, відповідно, 2,3 та 2,8 [530, 531].

Нами було також проведено дослідження частоти мутації гена *SNCA* — с.209G>A, що відповідає за розвиток аутосомно-домінантної форми ХП, яка характеризується дегенерацією нейронів чорної субстанції та формуванням тілець Леві, основним компонентом яких є α -синуклеїн. *SNCA* кодує синтез α -синуклеїну, точна функція якого наразі невідома. Вважається, що α -синуклеїн зв'язується з мембраною везикул у нервових клітинах та бере участь у процесах контролю транспорту везикул до пресинаптичної мембрани [532], будучи при цьому негативним регулятором дофамінергічної нейротрансмісії [533]. Нещодавно у повногеномних дослідженнях асоціації було показано, що поширені варіанти гена *SNCA* асоційовані як з сімейною, так і з спорадичною формою захворювання [534, 535]. Асоціації було виявлено в районі п'ятого та шостого екзонів [536]. Наявність великої кількості одонуклеотидних поліморфізмів у гені *SNCA* було визначено як фактор ризику у дослідженні типу «випадок-контроль», що проводилось на японській популяції [537]. Високий рівень нерівноважного зчеплення у *SNCA* вважається причиною асоціації з багатьма факторами ризику.

Мутації гена *SNCA* є доволі рідкісними і зустрічаються у близько 2.5 % пацієнтів із ХП. Відомо, що мутацію Ala53Thr було виявлено у одній італійській та кількох грецьких родинах [135, 141, 538–540]. Нещодавно наявність Ala53Thr було також встановлено у двох родинах з Азії та Швеції [142, 143, 145], та в польського пацієнта з спорадичною формою ХП [144].

Окрім досліджуваної нами однонуклеотидної заміни у гені *SNCA* зустрічаються інші мутації — Ala30Pro [156] та Glu46Lys [149], однак їх частота є ще нижчою, ніж Ala53Thr.

Нами було встановлено, що мутантні алелі відсутні як в контрольній групі, так і в групі пацієнтів з ХП, що пов'язано із надзвичайно низькою частотою даної мутації і відповідає даним, отриманим для інших популяцій.

Нами було досліджено частоту мутацій у генах біотрансформації ксенобіотиків — *GSTM1* та *CYP1A1* — серед жителів України. *GSTM1* — це ген сімейства глутатіон-трансфераз, які відповідають за процеси детоксикації ендogenous та екзогенних токсинів [541]. Глутатіон-трансферази можуть модифікувати відповідь клітини на присутність екзогенних та ендogenous реактивних інтермедіатів, впливаючи таким чином на індивідуальну схильність до ХП [456, 542].

Найбільш дослідженими модифікаціями генів глутатіон-трансфераз є гомозиготні делеції у генах *GSTM1* та *GSTT1*, а також гомозиготна однонуклеотидна заміна у гені *GSTP1*, що призводить до заміни ізолейцину на валін (Val/Val) [543].

Гомозиготна делеція у гені *GSTM1* призводить до неспроможності до елімінації електрофільних сполук, тому нульовий генотип може спричинити смерть нейронів і, таким чином, призвести до розвитку ХП [544]. Також відомо, що нульовий генотип асоційований із іншими захворюваннями, такими як шизофренія [545], неоплазми [546–549], хронічне обструктивне захворювання легень [550], ішемічне серцеве захворювання [551] та захворювання печінки [552].

Нами було показано статистично достовірну різницю у частоті нульового генотипу у групі пацієнтів з ХП та у контролі. Частота генотипу 0/0 склала 0,45 та 0,33 у пацієнтів з ХП та в контролі, відповідно. Показник відношення шансів для жителів України склав 1,65 [95% СІ: 1,15–2,37]. Останній мета-аналіз популяційних досліджень ролі нульового генотипу гена *GSTM1* у розвитку ХП показав, що в цілому асоціація досліджуваного поліморфізму із ХП є слабкою [544]. Достовірну різницю між контролем та групою пацієнтів із ХП було зафіксовано у популяції Чілі (OR = 1.33 [1.02, 1.74]) [491], Японії (OR = 1.22 [0.71, 2.09]) [553] та у представників деяких європейських популяцій (OR = 1.12 [0.95, 1.31]) [554]. Частоти нульового генотипу у цих популяціях були співмірні з частотами серед жителів України.

CYP1A1 — ген, що відповідає за синтез цитохрому Р450, ізоферменти якого є складовими субстрату монооксигеназної системи, що відповідає за оксидативний метаболізм ендогенних та екзогенних сполук [555]. Серед найбільш досліджених мутацій гена *CYP1A1* — поліморфізм 3' фланкуючого регіону Msp I (заміна тиміну на цитозін) та точкова мутація ДНК в 7-му екзоні, що призводить до заміни ізолейцину на валін (с.1384A>G (I462V)) [556]. Інтерес до вивчення частоти мутацій гена *CYP1A1* у пацієнтів із ХП обумовлений тим, що даний ген бере участь у трансформації ароматичних вуглеводнів у потенційно нейротоксичні продукти, які можуть призводити до розвитку ХП.

Дані по асоціації поліморфізмів гена *CYP1A1* із ХП є нечисленними та суперечливими. Так, у дослідженні 126-ти пацієнтів із ХП з японської популяції було показано, що ризик розвитку ХП у гомозиготних носіїв мутантного алеля m2 (MspI) є в 2,34 рази вищим, ніж у гомозигот за нормальним алелем m1 [76]. У дослідженні пацієнтів із ХП, представників китайської популяції було встановлено, що частота алеля m2 є вищою у пацієнтів з ХП, ніж у контрольній групі. Було показано, що ризик розвитку ХП є вищим у 2,99 рази у гетерозиготних носіїв алеля m2 та у 6,22 рази у

гомозиготних носіїв [76]. Цікаво, що така тенденція спостерігалась винятково у групі з ХП з раннім початком, в той час, як при порівнянні частот алелів m_1 та m_2 у групі пацієнтів із ХП з пізнім початком та у контролі статистично достовірної різниці виявлено не було [76]. В той же час, інше дослідження китайської популяції не виявило жодних статистично достовірних відмінностей у частотах алелів між групою пацієнтів із ХП та контролем [76].

Також для китайської популяції було показано, що присутність мутантного алеля G (с.1384A>G) є фактором ризику розвитку ХП із раннім початком (OR = 2,432 для гетерозигот (с.1384AG), OR = 6,167 для гомозигот (с.1384GG)). Аналогічно, у групі пацієнтів з пізнім початком ХП частота алеля G дослідженні виявилась вищою, ніж у контрольній групі (OR = 1,649) [76]. Подібний результат було отримано нами для пацієнтів із ХП, що проживають в Україні. Мутантний алель с.1384A>G виявився фактором ризику як для осіб, гомозиготних за мутацією (OR = 2,72), так і для гетерозиготних носіїв.

За результатами нашого дослідження, показник відношення шансів OR для гетерозиготного генотипу за мутацією с.1384A>G в гені *CYP1A1* склав 2,49 (95 % CI: [1,74–3,56]), а для гомозиготного за рідким алелем генотипу OR склав 2,72 (95 % CI: [1,13–6,55]). Це дозволило порахувати OR для алеля с.1384G — 1,76 (95 % CI: [1,30–2,39]). Дані свідчать про те, що присутність алеля с.1384G підвищує ризик ХП у 1,76 рази. Що цілком співставно з даними, отриманими на інших популяціях та іншими авторами.

Також нами було досліджено вплив поліморфізму ϵ_4/ϵ_4 гена *APOE* на розвиток ХП серед жителів України. Ген *APOE* розташований на хромосомі 19q13.2 [557] і кодує аліпопротеїн E — поліморфний протеїн, залучений до процесів ліпідного транспорту, імунорегуляції та регулювання клітинного росту [558]. *APOE* був одним із перших досліджених генів, що підвищують ризик розвитку нейродегенеративних захворювань, і є важливим фактором розвитку хвороби Альцгеймера (ХА). Неодноразово було показано, що носії

алеля $\epsilon 4$ гена *APOE* мають підвищений ризик розвитку ХА та більш ранній вік початку хвороби [559]. В той же час було показано, що алель $\epsilon 2$ має протекторний ефект, сприяючи зниженню ризику ХА та відтермінуванню початку хвороби [560]. Систематичний огляд підтвердив наявність асоціацій алелів *APOE* із сімейною формою ХП [132, 561].

Однак, результати дослідження асоціації гена *APOE* з хворобою Паркінсона є неоднозначними. Попередні дослідження свідчать про те, що $\epsilon 4$ є фактором ризику раннього початку ХП, погіршення когнітивного стану та розвитку деменції [390, 394, 562–565]. Водночас, алель $\epsilon 2$ також несе потенційний ризик розвитку ХП, проте її ефект є слабким та суперечливим у різних роботах [76, 557, 563, 564, 566–573]. Також наявні дані з приводу недостатньої асоціації гена *APOE* як зі здоровим фенотипом, так і з ХП [574].

У дослідженні ролі *APOE* у розвитку ХП в популяції Північної Америки було показано, що присутність алеля $\epsilon 4$ сприяє деменції. Наявність алеля $\epsilon 2$ жодним чином не впливала на розвиток деменції. Такі результати узгоджуються із даними інших досліджень, що вказують на асоціацію алеля $\epsilon 4$ з деменцією, тільцями Леві [575, 576] та ХП [577]. Крім того було визначено, що ХП починається у молодшому віці у носіїв алеля $\epsilon 4$ (59,7 років) у порівнянні із гомозиготними носіями поширеного алеля $\epsilon 3$ (62,4 роки). Пацієнти із алелем $\epsilon 2$ не вирізнялись більш раннім початком хвороби [563].

У дослідженні норвезької вибірки було показано асоціацію розвитку ХП із гомозиготним носійством алеля $\epsilon 4$. Гетерозиготне носійство даного алеля не впливало на імовірність ХП. Також не було виявлено жодних асоціацій генотипу за *APOE* із віком початку хвороби та деменцією [557].

Водночас дослідження молекулярних механізмів розвитку ХП у популяції США виявило, що різниця у частотах алелів $\epsilon 4$ та $\epsilon 2$ в групі пацієнтів з ХП та контролі є статистично незначущою [391]. Таким чином

було показано недостатню асоціацію ризику розвитку ХП із генотипом за *APOE* [391].

Дослідження французької популяції показало, що алель *e2* асоційована зі спорадичною формою ХП. Асоціації присутності алеля *e4* з розвитком хвороби виявлено не було [578]. Також зв'язок алеля *e2* з ХП, що супроводжується деменцією, було встановлено для групи з Роттердаму [579]. Подібні дані було отримано в інших дослідженнях [461, 573].

Результати, отримані нами для пацієнтів із ХП, є зіставними із даними по населенню Північної Америки та Норвегії. Нами так само було показано, що носійство алеля *e4* підвищує ризик захворіти на ХП. Проте, на відміну від населення Норвегії, в українців присутність даного алеля є фактором ризику, як у гомозиготному, так і в гетерозиготному стані. За нашими даними алель *e2* не виявився фактором ризику для жителів України.

Також нами було проаналізовано частотний розподіл сполучень генотипів за генами *APOE*, *GSTM1* та *CYP1A1* у пацієнтів з ХП та в контрольній групі. З 30 можливих комбінацій генотипів за досліджуваними генами у пацієнтів з ХП було виявлено 25, а в контрольній групі — 23 (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Частоти сполучень генотипів за генами *APOE*, *GSTM1* та *CYP1A1*
у групі пацієнтів з ХП та в контрольній групі**

Сполучення генотипів <i>APOE/GSTM1/CYP1A1</i>	Група пацієнтів з ХП		Контрольна група	
	абс.	%	абс.	%
1	2	3	4	5
<i>e2*e4/+/AG</i>	10	4,6	12	4,0
<i>e2*e4/+/AA</i>	7	3,2	27	9,0
<i>e2*e4/del/GG</i>	2	0,9	1	0,3

1	2	3	4	5
e2*e4/del/AG	8	3,7	6	2,0
e2*e4/del/AA	7	3,2	7	2,3
e2*e4_/+/AG	1	0,5	2	0,7
e2*e4_/+/AA	2	0,9	3	1,0
e2*e4_/del/GG	1	0,5	1	0,3
e2*e4_/del/AG	2	0,9	1	0,3
e2*e4_/del/AA	–	–	3	1,0
e3*e3+/+/GG	7	3,2	3	1,0
e3*e3+/+/AG	44	20,4	56	18,7
e3*e3+/+/AA	27	12,5	80	26,7
e3*e3/del/GG	3	1,4	2	0,7
e3*e3/del/AG	39	18,1	23	7,7
e3*e3/del/AA	17	7,9	46	15,3
e3*e4+/+/GG	1	0,5	1	0,3
e3*e4+/+/AG	10	4,6	5	1,7
e3*e4+/+/AA	6	2,8	11	3,7
e3*e4/del/GG	1	0,5	–	–
e3*e4/del/AG	9	4,2	3	1,0
e3*e4/del/AA	5	2,3	4	1,3
e4*e4+/+/AG	1	0,5	–	–
e4*e4+/+/AA	3	1,4	1	0,3
e4*e4/del/AG	2	0,9	–	–
e4*e4/del/AA	1	0,5	2	0,7
Всього	216	100,0	300	100,0

Як видно з наведеної таблиці, серед пацієнтів із ХП найчастіше зустрічалась комбінація e3*e3+/+/AG, e3*e3/del/AG та e3*e3+/+/AA (відповідає

нормальному генотипу), а серед контрольної групи — комбінації $e3*e3/+/AA$, $e3*e3/+/AG$ та $e3*e3/del/AA$.

Цікаво, що у групі пацієнтів з ХП були наявні сполучення генотипів, які не зустрічалися у контрольній групі. Найбільшою частотою з таких характеризувалася комбінація $e4*e4/del/AG$, що відповідає гомозиготному носійству алеля $e4$ у гені *APOE*, гомозиготній делеції у гені *GSTM1* та гетерозиготній алельній комбінації у гені *CYP1A1*.

На основі даних частот сполучень генотипів за генами *APOE*, *GSTM1* та *CYP1A1* у групах пацієнтів з ХП та в контролі здійснено оцінки бінарної логістичної регресії, міри асоціації методами χ^2 та за допомогою точного критерію Фішера. Отримані тенденції не досягали статистично значимих величин.

У нашому дослідженні встановлено меншу довжину теломер в клітинах букального епітелію значимо у пацієнтів з ХП, ніж у контролі, а також кореляцію з довжиною теломер в клітинах крові, хоча відмінності у довжині теломер лейкоцитів крові у пацієнтів з ХП та в здорових осіб групи контролю не встановлено, що можна пояснити гетерогенністю популяції лейкоцитів в периферичній крові людини і можливою різноспрямованістю процесів, які відбуваються в них.

Можливий зв'язок прискореного укорочення теломер і ХП можна пояснити декількома факторами. По-перше, теломери коротшають під час старіння. Коротка довжина теломер в лейкоцитах спостерігається у пацієнтів з нейродегенеративними розладами, зокрема з ХП [580]. По-друге, ряд робіт показує зв'язок запалення (яке, як відомо, супроводжує процеси нейродегенерації за ХП) з довжиною теломер [481, 581–584]. По-третє, показано, що оксидативний стрес призводить до вкорочення довжини теломер *in vitro* [473]. Відомо, що теломери мають високу чутливість до пошкоджень, викликаних окислювальним стресом, що, можливо, пов'язано з високим вмістом гуаніну [585, 586]. Окислювальні пошкодження ДНК накопичуються протягом життя клітини, що, вочевидь, призводить до її

старіння. Про це, зокрема, свідчать дані дослідження, згідно з якими в ДНК старіючих клітин виявлено на 30 % більше окисленого гуаніну і в чотири рази більше вільного 8-оксо-дезоксигуанозину, ніж у молодих клітинах [587]. Крім того, активні форми кисню, особливо гідроксильні радикали (ОН), можуть продукувати одностричкові розриви (або безпосередньо, або через порушення в системі репарації окислювальних модифікацій). На відміну від більшості послідовностей геномної ДНК, ДНК теломер у меншій мірі схильна до репарації одностричкових розривів [588] і в результаті цього є більш чутливою до впливів факторів окисного стресу.

Крім того, окислювальні пошкодження теломерної ДНК менш ефективно репаруються у порівнянні з іншими послідовностями геному. Подібний дефіцит репарації теломер може бути пов'язаний із запобіганням доступу ферментів репарації білком TRF2 або тим, що TRF2 пригнічує фосфорилування кінази АТМ (ataxia telangiectasia mutated gene), що призводить до порушення відповіді на пошкодження ДНК [589, 590].

У неврології окислювальний стрес має велике значення в реалізації патогенетичного каскаду за гострих і хронічних захворювань ЦНС — від інсульту та епілепсії до нейродегенеративної патології [591]. Його роль велика за ХП [591–600]. Серед причин, здатних привести до загибелі нейронів за ХП, відзначають різке зниження активності мітохондріальної супероксиддисмутази внаслідок окислювальних пошкоджень фактора транслокації Mn-SOD [601–603], а також окисні пошкодження мітохондрій [604]. В процесі метаболізму дофаміну утворюються численні побічні вільнорадикальні продукти, зокрема, супероксид-аніон, перекис водню і гідроксильні радикали [605, 606]. Ці хімічно високоактивні частки, взаємодіючи з ліпідним шаром нейрональної мембрани, викликають активацію перекисного окислення ліпідів, що, в свою чергу, призводить до порушення цілісності мембранного бішару і в результаті — до загибелі нейронів.

Таким чином, довжина теломер в клітинах букального епітелію може стати претендентом на маркер ХП на ранніх етапах захворювання. Для цього потрібні подальші дослідження.

ВИСНОВКИ

У дисертації розв'язано актуальну науково-прикладну задачу в галузі молекулярної генетики, що полягає у визначенні ролі однонуклеотидних замін та поліморфних варіантів генів, пов'язаних із хворобою Паркінсона, а також довжини теломер у клітинах крові й букального епітелію у розвитку хвороби Паркінсона у мешканців України.

1. Мутація с.6055G>A в гені *LRRK2* є фактором генетичної схильності до хвороби Паркінсона та виявлена у 1,86 % пацієнтів з цим захворюванням.

2. Мутації с.1448T>C та с.1226A>G в гені *GBA* є факторами генетичної схильності до хвороби Паркінсона, їх виявлено у 1,86 % та 1,39 % пацієнтів з цим захворюванням відповідно.

3. Носіїв мутації с.209G>A в гені *SNCA* в групі контролю та серед пацієнтів не виявлено.

4. Виявлено асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів гена *CYP1A1*. Наявність алеля с.1384G підвищує ризик у 1,76 (ДІ 95 % 1,30–2,39) разів.

5. Виявлено асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством гомозиготної делеції в гені *GSTM*, що підвищує ризик захворювання у 1,65 (ДІ 95 % 1,5–2,37) разів.

6. Виявлено асоціацію ризику розвитку хвороби Паркінсона з носійством алельних варіантів гена *APOE*. Носійство генотипу $\epsilon 3/\epsilon 4$ підвищує ризик у 2,08 (ДІ 95 % 1,18–3,65) разів, генотипу $\epsilon 4/\epsilon 4$ — у 3,53 (ДІ 95% 0,90–13,86) разів.

7. Визначено, що довжина теломер в клітинах букального епітелію є меншою у пацієнтів з хворобою Паркінсона, ніж у здорових осіб і корелює з довжиною теломер в клітинах крові ($r = 0,55$; $p < 0,01$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Balestrino R, Schapira AHV. Parkinson disease. *Eur J Neurol*. 2020;27[1]:27–42.
2. Zafar S, Yaddanapudi SS. Parkinson Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [cited 2020 Nov 28]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470193/>
3. Tysnes O-B, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017;124[8]:901–5.
4. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med*. 2020;36[1]:1–12.
5. Hirsch L, Jette N, Frolkis A, Steeves T, Pringsheim T. The Incidence of Parkinson's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*. 2016;46[4]:292–300.
6. Ascherio A, Schwarzschild MA. The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. *Lancet Neurol*. 2016 Nov;15[12]:1257–72.
7. Cherian A, Divya KP. Genetics of Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg*. 2020 Dec;120[6]:1297–305.
8. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2002;14[2]:223–36; discussion 222.
9. Espay AJ, Kalia LV, Gan-Or Z, Williams-Gray CH, Bedard PL, Rowe SM, et al. Disease modification and biomarker development in Parkinson disease: Revision or reconstruction? *Neurology*. 2020 17;94[11]:481–94.
10. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA*. 2020 11;323[6]:548–60.
11. Yang P, Perlmutter JS, Benzinger TLS, Morris JC, Xu J. Dopamine D3 receptor: A neglected participant in Parkinson Disease pathogenesis and treatment? *Ageing Res Rev*. 2020;57:100994.
12. Chia SJ, Tan E-K, Chao Y-X. Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*. 2020 Apr 2;21[7].

13. Rouaud T, Corbillé A-G, Leclair-Visonneau L, de Guilhem de Lataillade A, Lionnet A, Preterre C, et al. Pathophysiology of Parkinson's disease: Mitochondria, alpha-synuclein and much more.... *Rev Neurol (Paris)*. 2020 Oct 5;
14. Chen Z, Li G, Liu J. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease: Implications for pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Neurobiol Dis*. 2020;134:104700.
15. Marino BLB, de Souza LR, Sousa KPA, Ferreira JV, Padilha EC, da Silva CHTP, et al. Parkinson's Disease: A Review from Pathophysiology to Treatment. *Mini Rev Med Chem*. 2020;20[9]:754–67.
16. Hopfner F, Höglinger GU, Kuhlenbäumer G, Pottegård A, Wod M, Christensen K, et al. β -adrenoreceptors and the risk of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2020;19[3]:247–54.
17. Feng J. Modeling the pathophysiology of Parkinson's disease in patient-specific neurons. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2020 24;1535370220961788.
18. Bologna M, Paparella G. Pathophysiology of rigidity in Parkinson's disease: Another step forward. *Clin Neurophysiol*. 2020 Aug;131[8]:1971–2.
19. Aubignat M, Tir M, Krystkowiak P. [Non-motor symptoms of Parkinson's disease from pathophysiology to early diagnosis]. *Rev Med Interne*. 2020 Jul 15;
20. Chatterjee K, Roy A, Banerjee R, Choudhury S, Mondal B, Halder S, et al. Inflammasome and α -synuclein in Parkinson's disease: A cross-sectional study. *J Neuroimmunol*. 2020 15;338:577089.
21. Nambu A, Chiken S. [Parkinson's Disease as a Network Disorder]. *Brain Nerve*. 2020 Nov;72[11]:1159–71.
22. Pahwa R, Isaacson SH. Pathophysiology, Patient Burden, and Recognition of OFF Episodes of Parkinson Disease. *J Clin Psychiatry*. 2020 Oct 27;[6].
23. Bonam SR, Muller S. Parkinson's disease is an autoimmune disease: A reappraisal. *Autoimmun Rev*. 2020 Dec;19[12]:102684.

24. Clarimón J. Genetic-environmental factors finally assessed together in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020 Oct;91[10]:1030.
25. Correia Guedes L, Mestre T, Outeiro TF, Ferreira JJ. Are genetic and idiopathic forms of Parkinson's disease the same disease? *J Neurochem*. 2020;152[5]:515–22.
26. Emmanouilidou E, Papagiannakis N, Kouloulia S, Galaziou A, Antonellou R, Papadimitriou D, et al. Peripheral alpha-synuclein levels in patients with genetic and non-genetic forms of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2020;73:35–40.
27. Bryois J, Skene NG, Hansen TF, Kogelman LJA, Watson HJ, Liu Z, et al. Genetic identification of cell types underlying brain complex traits yields insights into the etiology of Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2020;52[5]:482–93.
28. Blauwendraat C, Reed X, Krohn L, Heilbron K, Bandres-Ciga S, Tan M, et al. Genetic modifiers of risk and age at onset in GBA associated Parkinson's disease and Lewy body dementia. *Brain*. 2020 01;143[1]:234–48.
29. Chang M-Y, Oh B, Choi J-E, Sulistio YA, Woo H-J, Jo A, et al. LIN28A loss of function is associated with Parkinson's disease pathogenesis. *EMBO J*. 2019 16;38[24]:e101196.
30. Senkevich K, Gan-Or Z. Autophagy lysosomal pathway dysfunction in Parkinson's disease; evidence from human genetics. *Parkinsonism Relat Disord*. 2020;73:60–71.
31. Smolders S, Van Broeckhoven C. Genetic perspective on the synergistic connection between vesicular transport, lysosomal and mitochondrial pathways associated with Parkinson's disease pathogenesis. *Acta Neuropathol Commun*. 2020 06;8[1]:63.
32. Kelly J, Moyeed R, Carroll C, Luo S, Li X. Genetic networks in Parkinson's and Alzheimer's disease. *Aging (Albany NY)*. 2020 23;12[6]:5221–43.

33. Tan E-K, Chao Y-X, West A, Chan L-L, Poewe W, Jankovic J. Parkinson disease and the immune system - associations, mechanisms and therapeutics. *Nat Rev Neurol*. 2020 Jun;16[6]:303–18.
34. Toffoli M, Vieira SRL, Schapira AHV. Genetic causes of PD: A pathway to disease modification. *Neuropharmacology*. 2020 15;170:108022.
35. Ebanks K, Lewis PA, Bandopadhyay R. Vesicular Dysfunction and the Pathogenesis of Parkinson's Disease: Clues From Genetic Studies. *Front Neurosci*. 2019;13:1381.
36. Aasly JO. Long-Term Outcomes of Genetic Parkinson's Disease. *J Mov Disord*. 2020 May;13[2]:81–96.
37. Ohnmacht J, May P, Sinkkonen L, Krüger R. Missing heritability in Parkinson's disease: the emerging role of non-coding genetic variation. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020;127[5]:729–48.
38. Alcalay RN, Kehoe C, Shorr E, Battista R, Hall A, Simuni T, et al. Genetic testing for Parkinson disease: current practice, knowledge, and attitudes among US and Canadian movement disorders specialists. *Genet Med*. 2020;22[3]:574–80.
39. Hall A, Bandres-Ciga S, Diez-Fairen M, Quinn JP, Billingsley KJ. Genetic Risk Profiling in Parkinson's Disease and Utilizing Genetics to Gain Insight into Disease-Related Biological Pathways. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 4;21[19].
40. Tran J, Anastacio H, Bardy C. Genetic predispositions of Parkinson's disease revealed in patient-derived brain cells. *NPJ Parkinsons Dis*. 2020;6:8.
41. Tönges L, Ip CW, Dresel C, Lingor P, Csoti I, Kohl Z, et al. [Genetic testing for Parkinson's disease: indication and practical implementation]. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 2020 Sep;88[9]:601–8.
42. Dube U, Ibanez L, Budde JP, Benitez BA, Davis AA, Harari O, et al. Overlapping genetic architecture between Parkinson disease and melanoma. *Acta Neuropathol*. 2020;139[2]:347–64.

43. Prajapati R, Emerson IA. Gene Prioritization in Parkinson's Disease Using Human Protein-Protein Interaction Network. *J Comput Biol.* 2020 Nov;27[11]:1610–21.
44. Lamballais S, Muetzel RL, Ikram MA, Tiemeier H, Vernooij MW, White T, et al. Genetic Burden for Late-Life Neurodegenerative Disease and Its Association With Early-Life Lipids, Brain, Behavior, and Cognition. *Front Psychiatry.* 2020;11:33.
45. Arjmand B, Larijani B, Sheikh Hosseini M, Payab M, Gilany K, Goodarzi P, et al. The Horizon of Gene Therapy in Modern Medicine: Advances and Challenges. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1247:33–64.
46. Chew EGY, Tan LCS, Au W-L, Prakash K-M, Liu J, Foo JN, et al. ITPKB and ZNF184 are associated with Parkinson's disease risk in East Asians. *Neurobiol Aging.* 2020;86:201.e15-201.e17.
47. Bandres-Ciga S, Diez-Fairen M, Kim JJ, Singleton AB. Genetics of Parkinson's disease: An introspection of its journey towards precision medicine. *Neurobiol Dis.* 2020;137:104782.
48. Bandres-Ciga S, Saez-Atienzar S, Kim JJ, Makarious MB, Faghri F, Diez-Fairen M, et al. Large-scale pathway specific polygenic risk and transcriptomic community network analysis identifies novel functional pathways in Parkinson disease. *Acta Neuropathol.* 2020;140[3]:341–58.
49. Bandres-Ciga S, Blauwendraat C, Singleton AB. Assessment of Genetic Association Between Parkinson Disease and Bipolar Disorder. *JAMA Neurol.* 2020 Aug 1;77[8]:1034–5.
50. Nguyen APT, Tsika E, Kelly K, Levine N, Chen X, West AB, et al. Dopaminergic neurodegeneration induced by Parkinson's disease-linked G2019S LRRK2 is dependent on kinase and GTPase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 21;117[29]:17296–307.
51. Baltus THL, Morelli NR, de Farias CC, Trugilo KP, Okuyama NCM, de Oliveira KB, et al. Association of -94 ATTG insertion/deletion NFkB1 and c.*126G>A NFkBIA genetic polymorphisms with oxidative and nitrosative stress

biomarkers in Brazilian subjects with Parkinson's Disease. *Neurosci Lett.* 2021 01;740:135487.

52. Bi M, Kang S, Du X, Jiao Q, Jiang H. Association between SNCA rs356220 polymorphism and Parkinson's disease: A meta-analysis. *Neurosci Lett.* 2020 19;717:134703.

53. Germer EL, Imhoff S, Vilariño-Güell C, Kasten M, Seibler P, Brüggemann N, et al. The Role of Rare Coding Variants in Parkinson's Disease GWAS Loci. *Front Neurol.* 2019;10:1284.

54. Bobbili DR, Banda P, Krüger R, May P. Excess of singleton loss-of-function variants in Parkinson's disease contributes to genetic risk. *J Med Genet.* 2020 Sep;57[9]:617–23.

55. Ruan Y, Zheng R, Lin Z-H, Gao T, Xue N-J, Cao J, et al. Genetic analysis of arylsulfatase A (ARSA) in Chinese patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2020 24;734:135094.

56. Rajan R, Divya KP, Kandadai RM, Yadav R, Satagopam VP, Madhusoodanan UK, et al. Genetic Architecture of Parkinson's Disease in the Indian Population: Harnessing Genetic Diversity to Address Critical Gaps in Parkinson's Disease Research. *Front Neurol.* 2020;11:524.

57. Kim JJ, Bandres-Ciga S, Blauwendraat C, International Parkinson's Disease Genomics Consortium, Gan-Or Z. No genetic evidence for involvement of alcohol dehydrogenase genes in risk for Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2020;87:140.e19-140.e22.

58. Kusters CDJ, Paul KC, Duarte Folle A, Keener AM, Bronstein JM, Dobricic V, et al. Genetic risk scores and hallucinations in patients with Parkinson disease. *Neurol Genet.* 2020 Oct;6[5]:e492.

59. Periñán MT, Gómez-Garre P, Blauwendraat C, Mir P, Bandres-Ciga S, International Parkinson's Disease Genomics Consortium (IPDGC). The role of RHOT1 and RHOT2 genetic variation on Parkinson disease risk and onset. *Neurobiol Aging.* 2020 Jul 14;

60. D'Souza T, Rajkumar AP. Systematic review of genetic variants associated with cognitive impairment and depressive symptoms in Parkinson's disease. *Acta Neuropsychiatr.* 2020 Feb;32[1]:10–22.
61. Tipton PW, Jaramillo-Koupermann G, Soto-Beasley AI, Walton RL, Soler-Rangel S, Romero-Osorio Ó, et al. Genetic characterization of Parkinson's disease patients in Ecuador and Colombia. *Parkinsonism Relat Disord.* 2020;75:27–9.
62. Muldmaa M, Mencacci NE, Pittman A, Kadastik-Eerme L, Sikk K, Taba P, et al. Community-based genetic study of Parkinson's disease in Estonia. *Acta Neurol Scand.* 2020 Aug 2;
63. Gao T, Wu J, Zheng R, Fang Y, Jin C-Y, Ruan Y, et al. Assessment of three essential tremor genetic loci in sporadic Parkinson's disease in Eastern China. *CNS Neurosci Ther.* 2020;26[4]:448–52.
64. Zhao Y, Qin L, Pan H, Liu Z, Jiang L, He Y, et al. The role of genetics in Parkinson's disease: a large cohort study in Chinese mainland population. *Brain [Internet].* 2020 Jul 1 [cited 2020 Nov 28];143[7]:2220–34. Available from: <https://academic.oup.com/brain/article/143/7/2220/5866165>
65. Pitz V, Malek N, Tobias ES, Grosset KA, Gentleman S, Grosset DG. The Levodopa Response Varies in Pathologically Confirmed Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Mov Disord Clin Pract.* 2020 Feb;7[2]:218–22.
66. Parmar M, Grealish S, Henchcliffe C. The future of stem cell therapies for Parkinson disease. *Nat Rev Neurosci.* 2020;21[2]:103–15.
67. Leonard H, Blauwendraat C, Krohn L, Faghri F, Iwaki H, Ferguson G, et al. Genetic variability and potential effects on clinical trial outcomes: perspectives in Parkinson's disease. *J Med Genet.* 2020;57[5]:331–8.
68. Blauwendraat C, Nalls MA, Singleton AB. The genetic architecture of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2020;19[2]:170–8.
69. Riccò M, Vezzosi L, Balzarini F, Gualerzi G, Ranzieri S, Signorelli C, et al. Prevalence of Parkinson Disease in Italy: a systematic review and meta-analysis. *Acta Biomed.* 2020 07;91[3]:e2020088.

70. Goetz CG. The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2011 Sep [cited 2020 Dec 13];1[1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3234454/>
71. Elbaz A, Carcaillon L, Kab S, Moisan F. Epidemiology of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2016 Jan;172[1]:14–26.
72. Bose A, Beal MF. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2016;139 Suppl 1:216–31.
73. Wang W, Wang X, Fujioka H, Hoppel C, Whone AL, Caldwell MA, et al. Parkinson's disease-associated mutant VPS35 causes mitochondrial dysfunction by recycling DLP1 complexes. *Nat Med*. 2016 Jan;22[1]:54–63.
74. Rango M, Bresolin N. Brain Mitochondria, Aging, and Parkinson's Disease. *Genes (Basel)*. 2018 May 11;9[5].
75. Ganguly G, Chakrabarti S, Chatterjee U, Saso L. Proteinopathy, oxidative stress and mitochondrial dysfunction: cross talk in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:797–810.
76. Bras JM, Guerreiro RJ, Ribeiro MH, Januario C, Morgadinho A, Oliveira CR, et al. G2019S dardarin substitution is a common cause of Parkinson's disease in a Portuguese cohort. *Mov Disord*. 2005 Dec;20[12]:1653–5.
77. Lin K-J, Lin K-L, Chen S-D, Liou C-W, Chuang Y-C, Lin H-Y, et al. The Overcrowded Crossroads: Mitochondria, Alpha-Synuclein, and the Endo-Lysosomal System Interaction in Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci*. 2019 Oct 25;20[21].
78. Subramaniam SR, Chesselet M-F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2013 Aug;106–107:17–32.
79. Guardia-Laguarta C, Area-Gomez E, Rüb C, Liu Y, Magrané J, Becker D, et al. α -Synuclein is localized to mitochondria-associated ER membranes. *J Neurosci*. 2014 Jan 1;34[1]:249–59.

80. Guardia-Laguarta C, Area-Gomez E, Schon EA, Przedborski S. A new role for α -synuclein in Parkinson's disease: Alteration of ER-mitochondrial communication. *Mov Disord*. 2015 Jul;30[8]:1026–33.
81. Rocha EM, De Miranda B, Sanders LH. Alpha-synuclein: Pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2018 Jan;109[Pt B]:249–57.
82. Park J-S, Davis RL, Sue CM. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease: New Mechanistic Insights and Therapeutic Perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2018 03;18[5]:21.
83. Di Maio R, Barrett PJ, Hoffman EK, Barrett CW, Zharikov A, Borah A, et al. α -Synuclein binds to TOM20 and inhibits mitochondrial protein import in Parkinson's disease. *Sci Transl Med*. 2016 08;8[342]:342ra78.
84. Ludtmann MHR, Angelova PR, Ninkina NN, Gandhi S, Buchman VL, Abramov AY. Monomeric Alpha-Synuclein Exerts a Physiological Role on Brain ATP Synthase. *J Neurosci*. 2016 12;36[41]:10510–21.
85. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Mov Disord*. 2014 Nov;29[13]:1583–90.
86. Abraham DS, Gruber-Baldini AL, Magder LS, McArdle PF, Tom SE, Barr E, et al. Sex differences in Parkinson's disease presentation and progression. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;69:48–54.
87. Wright Willis A, Evanoff BA, Lian M, Criswell SR, Racette BA. Geographic and ethnic variation in Parkinson disease: a population-based study of US Medicare beneficiaries. *Neuroepidemiology*. 2010;34[3]:143–51.
88. Williams U, Bandmann O, Walker R. Parkinson's Disease in Sub-Saharan Africa: A Review of Epidemiology, Genetics and Access to Care. *J Mov Disord*. 2018 May;11[2]:53–64.
89. Benito-Leon J. [Epidemiology of Parkinson's disease in Spain and its contextualisation in the world]. *Rev Neurol*. 2018 Feb 16;66[4]:125–34.

90. Horsfall L, Petersen I, Walters K, Schrag A. Time trends in incidence of Parkinson's disease diagnosis in UK primary care. *J Neurol*. 2013 May;260[5]:1351–7.
91. Darweesh SKL, Koudstaal PJ, Stricker BH, Hofman A, Ikram MA. Trends in the Incidence of Parkinson Disease in the General Population: The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol*. 2016 01;183[11]:1018–26.
92. Savica R, Grossardt BR, Bower JH, Ahlskog JE, Rocca WA. Time Trends in the Incidence of Parkinson Disease. *JAMA Neurol*. 2016 01;73[8]:981–9.
93. Эпидемиология болезни Паркинсона в Украине | Интернет-издание “Новости медицины и фармации” [Internet]. [cited 2020 Dec 14]. Available from: <http://www.mif-ua.com/archive/article/34961>
94. Titova N, Padmakumar C, Lewis SJG, Chaudhuri KR. Parkinson's: a syndrome rather than a disease? *J Neural Transm (Vienna)*. 2017;124[8]:907–14.
95. Kalia LV, Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet*. 2015 Aug 29;386[9996]:896–912.
96. Fereshtehnejad S-M, Postuma RB. Subtypes of Parkinson's Disease: What Do They Tell Us About Disease Progression? *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17[4]:34.
97. Martinez-Martin P, Rodriguez-Blazquez C, Kurtis MM, Chaudhuri KR, NMSS Validation Group. The impact of non-motor symptoms on health-related quality of life of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011 Feb 15;26[3]:399–406.
98. Postuma RB, Aarsland D, Barone P, Burn DJ, Hawkes CH, Oertel W, et al. Identifying prodromal Parkinson's disease: pre-motor disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012 Apr 15;27[5]:617–26.
99. Khoo TK, Yarnall AJ, Duncan GW, Coleman S, O'Brien JT, Brooks DJ, et al. The spectrum of nonmotor symptoms in early Parkinson disease. *Neurology*. 2013 Jan 15;80[3]:276–81.

100. Duncan GW, Khoo TK, Yarnall AJ, O'Brien JT, Coleman SY, Brooks DJ, et al. Health-related quality of life in early Parkinson's disease: the impact of nonmotor symptoms. *Mov Disord*. 2014 Feb;29[2]:195–202.
101. Hely MA, Reid WGJ, Adena MA, Halliday GM, Morris JGL. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: the inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord*. 2008 Apr 30;23[6]:837–44.
102. Hanagasi HA, Tufekcioglu Z, Emre M. Dementia in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2017 Mar 15;374:26–31.
103. Garcia-Ptacek S, Kramberger MG. Parkinson Disease and Dementia. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 2016 Sep;29[5]:261–70.
104. Coelho M, Ferreira JJ. Late-stage Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2012 Aug;8[8]:435–42.
105. Mjones, H. Paralysis agitans: a clinical and genetic stud. *Acta Psychiatr Neurol*. 1949;54:1–195.
106. Duvoisin RC, Johnson WG. Hereditary Lewy-body parkinsonism and evidence for a genetic etiology of Parkinson's disease. *Brain Pathol*. 1992 Oct;2[4]:309–20.
107. Duvoisin RC, Eldridge R, Williams A, Nutt J, Calne D. Twin study of Parkinson disease. *Neurology*. 1981 Jan;31[1]:77–80.
108. Duvoisin RC. Is Parkinson's disease acquired or inherited? *Can J Neurol Sci*. 1984 Feb;11[1 Suppl]:151–5.
109. Duvoisin RC. Genetics of Parkinson's disease. *Adv Neurol*. 1987;45:307–12.
110. Marttila RJ, Kaprio J, Koskenvuo M, Rinne UK. Parkinson's disease in a nationwide twin cohort. *Neurology*. 1988 Aug;38[8]:1217–9.
111. Eldridge R, Ince SE. The low concordance rate for Parkinson's disease in twins: a possible explanation. *Neurology*. 1984 Oct;34[10]:1354–6.
112. Bharucha NE, Stokes L, Schoenberg BS, Ward C, Ince S, Nutt JG, et al. A case-control study of twin pairs discordant for Parkinson's disease: a search for environmental risk factors. *Neurology*. 1986 Feb;36[2]:284–8.

113. Jankovic J, Reches A. Parkinson's disease in monozygotic twins. *Ann Neurol*. 1986 Apr;19[4]:405–8.
114. Vieregge P, Hagenah J, Heberlein I, Klein C, Ludin HP. Parkinson's disease in twins: a follow-up study. *Neurology*. 1999 Aug 11;53[3]:566–72.
115. Tanner CM, Ottman R, Goldman SM, Ellenberg J, Chan P, Mayeux R, et al. Parkinson disease in twins: an etiologic study. *JAMA*. 1999 Jan 27;281[4]:341–6.
116. Laihinen A, Ruottinen H, Rinne JO, Haaparanta M, Bergman J, Solin O, et al. Risk for Parkinson's disease: twin studies for the detection of asymptomatic subjects using [18F]6-fluorodopa PET. *J Neurol*. 2000 Apr;247 Suppl 2:II110-113.
117. Brooks DJ. Detection of preclinical Parkinson's disease with PET. *Geriatrics*. 1991 Aug;46 Suppl 1:25–30.
118. Burn DJ, Mark MH, Playford ED, Maraganore DM, Zimmerman TR, Duvoisin RC, et al. Parkinson's disease in twins studied with 18F-dopa and positron emission tomography. *Neurology*. 1992 Oct;42[10]:1894–900.
119. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol*. 1999 May;45[5]:577–82.
120. Shino MY, McGuire V, Van Den Eeden SK, Tanner CM, Popat R, Leimpeter A, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease in a multiethnic community-based case-control study. *Mov Disord*. 2010 Nov 15;25[15]:2587–94.
121. Gaare JJ, Skeie GO, Tzoulis C, Larsen JP, Tysnes O-B. Familial aggregation of Parkinson's disease may affect progression of motor symptoms and dementia. *Mov Disord*. 2017 Feb;32[2]:241–5.
122. Elbaz A, Grigoletto F, Baldereschi M, Breteler MM, Manubens-Bertran JM, Lopez-Pousa S, et al. Familial aggregation of Parkinson's disease: a population-based case-control study in Europe. EURO-PARKINSON Study Group. *Neurology*. 1999 Jun 10;52[9]:1876–82.

123. Marder K, Levy G, Louis ED, Mejia-Santana H, Cote L, Andrews H, et al. Familial aggregation of early- and late-onset Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2003 Oct;54[4]:507–13.
124. Payami H, Zarepari S, James D, Nutt J. Familial aggregation of Parkinson disease: a comparative study of early-onset and late-onset disease. *Arch Neurol*. 2002 May;59[5]:848–50.
125. Barrett MJ, Hac NE, Yan G, Harrison MB, Wooten GF. Relationship of age of onset and family history in Parkinson disease. *Mov Disord*. 2015 Apr 15;30[5]:733–5.
126. Louis ED, Clark L, Ottman R. Familial Aggregation and Co-Aggregation of Essential Tremor and Parkinson's Disease. *Neuroepidemiology*. 2016;46[1]:31–6.
127. Thacker EL, Ascherio A. Familial aggregation of Parkinson's disease: a meta-analysis. *Mov Disord*. 2008 Jun 15;23[8]:1174–83.
128. Racette BA, Good LM, Kissel AM, Criswell SR, Perlmutter JS. A population-based study of parkinsonism in an Amish community. *Neuroepidemiology*. 2009;33[3]:225–30.
129. Ferreira JJ, Gonçalves N, Valadas A, Januário C, Silva MR, Nogueira L, et al. Prevalence of Parkinson's disease: a population-based study in Portugal. *Eur J Neurol*. 2017 May;24[5]:748–50.
130. Kurz M, Alves G, Aarsland D, Larsen JP. Familial Parkinson's disease: a community-based study. *Eur J Neurol*. 2003 Mar;10[2]:159–63.
131. Marder K, Tang MX, Mejia H, Alfaro B, Côté L, Louis E, et al. Risk of Parkinson's disease among first-degree relatives: A community-based study. *Neurology*. 1996 Jul;47[1]:155–60.
132. Kurz MW, Larsen JP, Kvaloy JT, Aarsland D. Associations between family history of Parkinson's disease and dementia and risk of dementia in Parkinson's disease: A community-based, longitudinal study. *Mov Disord*. 2006 Dec;21[12]:2170–4.

133. Коляда ОК, Вайсерман ОМ, Карабань ІМ. Генетичні основи хвороби Паркінсона (огляд літератури та власних досліджень). Журн НАМН України. 2013;19[1]:65–74.
134. Kasten M, Klein C. The many faces of alpha-synuclein mutations. *Mov Disord*. 2013 Jun;28[6]:697–701.
135. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, et al. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science*. 1997 Jun 27;276[5321]:2045–7.
136. Golbe LI, Di Iorio G, Sanges G, Lazzarini AM, La Sala S, Bonavita V, et al. Clinical genetic analysis of Parkinson's disease in the Contursi kindred. *Ann Neurol*. 1996 Nov;40[5]:767–75.
137. Petrucci S, Ginevrino M, Valente EM. Phenotypic spectrum of alpha-synuclein mutations: New insights from patients and cellular models. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016 Jan;22 Suppl 1:S16-20.
138. Hernandez DG, Reed X, Singleton AB. Genetics in Parkinson disease: Mendelian versus non-Mendelian inheritance. *J Neurochem*. 2016 Oct;139 Suppl 1:59–74.
139. Koros C, Simitsi A, Stefanis L. Genetics of Parkinson's Disease: Genotype-Phenotype Correlations. *Int Rev Neurobiol*. 2017;132:197–231.
140. Berg D, Niwar M, Maass S, Zimprich A, Möller JC, Wuellner U, et al. Alpha-synuclein and Parkinson's disease: implications from the screening of more than 1,900 patients. *Mov Disord*. 2005 Sep;20[9]:1191–4.
141. Spira PJ, Sharpe DM, Halliday G, Cavanagh J, Nicholson GA. Clinical and pathological features of a Parkinsonian syndrome in a family with an Ala53Thr alpha-synuclein mutation. *Ann Neurol*. 2001 Mar;49[3]:313–9.
142. Choi JM, Woo MS, Ma H-I, Kang SY, Sung Y-H, Yong SW, et al. Analysis of PARK genes in a Korean cohort of early-onset Parkinson disease. *Neurogenetics*. 2008 Oct;9[4]:263–9.

143. Ki C-S, Stavrou EF, Davanos N, Lee WY, Chung EJ, Kim J-Y, et al. The Ala53Thr mutation in the alpha-synuclein gene in a Korean family with Parkinson disease. *Clin Genet*. 2007 May;71[5]:471–3.
144. Michell AW, Barker RA, Raha SK, Raha-Chowdhury R. A case of late onset sporadic Parkinson's disease with an A53T mutation in alpha-synuclein. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005 Apr;76[4]:596–7.
145. Puschmann A, Ross OA, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Kachergus JM, Cobb SA, et al. A Swedish family with de novo alpha-synuclein A53T mutation: evidence for early cortical dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009 Nov;15[9]:627–32.
146. Xiong W-X, Sun Y-M, Guan R-Y, Luo S-S, Chen C, An Y, et al. The heterozygous A53T mutation in the alpha-synuclein gene in a Chinese Han patient with Parkinson disease: case report and literature review. *J Neurol*. 2016 Oct;263[10]:1984–92.
147. Papadimitriou D, Antonelou R, Miligkos M, Maniati M, Papagiannakis N, Bostantjopoulou S, et al. Motor and Nonmotor Features of Carriers of the p.A53T Alpha-Synuclein Mutation: A Longitudinal Study. *Mov Disord*. 2016 Aug;31[8]:1226–30.
148. Bostantjopoulou S, Katsarou Z, Papadimitriou A, Veletza V, Hatzigeorgiou G, Lees A. Clinical features of parkinsonian patients with the alpha-synuclein (G209A) mutation. *Mov Disord*. 2001 Nov;16[6]:1007–13.
149. Zarranz JJ, Alegre J, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Ros R, Ampuero I, et al. The new mutation, E46K, of alpha-synuclein causes Parkinson and Lewy body dementia. *Ann Neurol*. 2004 Feb;55[2]:164–73.
150. Somme JH, Gomez-Esteban JC, Molano A, Tijero B, Lezcano E, Zarranz JJ. Initial neuropsychological impairments in patients with the E46K mutation of the α -synuclein gene (PARK 1). *J Neurol Sci*. 2011 Nov 15;310[1–2]:86–9.
151. Pimentel MMG, Rodrigues FC, Leite MAA, Campos Júnior M, Rosso AL, Nicaretta DH, et al. Parkinson disease: α -synuclein mutational screening and

new clinical insight into the p.E46K mutation. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Jun;21[6]:586–9.

152. Tijero B, Gómez-Esteban JC, Lezcano E, Fernández-González C, Somme J, Llorens V, et al. Cardiac sympathetic denervation in symptomatic and asymptomatic carriers of the E46K mutation in the α synuclein gene. *Parkinsonism Relat Disord*. 2013 Jan;19[1]:95–100.

153. Giladi N, Mirelman A, Thaler A, Orr-Urtreger A. A Personalized Approach to Parkinson's Disease Patients Based on Founder Mutation Analysis. *Front Neurol* [Internet]. 2016 May 10 [cited 2020 Dec 23];7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4861838/>

154. Nuytemans K, Rademakers R, Theuns J, Pals P, Engelborghs S, Pickut B, et al. Founder mutation p.R1441C in the leucine-rich repeat kinase 2 gene in Belgian Parkinson's disease patients. *Eur J Hum Genet*. 2008 Apr;16[4]:471–9.

155. Krüger R, Schöls L, Müller T, Kuhn W, Woitalla D, Przuntek H, et al. Evaluation of the gamma-synuclein gene in German Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett*. 2001 Sep 14;310[2–3]:191–3.

156. Krüger R, Kuhn W, Müller T, Woitalla D, Graeber M, Kösel S, et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Nat Genet*. 1998 Feb;18[2]:106–8.

157. Appel-Cresswell S, Vilarino-Guell C, Encarnacion M, Sherman H, Yu I, Shah B, et al. Alpha-synuclein p.H50Q, a novel pathogenic mutation for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2013 Jun;28[6]:811–3.

158. Proukakis C, Dudzik CG, Brier T, MacKay DS, Cooper JM, Millhauser GL, et al. A novel α -synuclein missense mutation in Parkinson disease. *Neurology*. 2013 Mar 12;80[11]:1062–4.

159. Martikainen MH, Päivärinta M, Hietala M, Kaasinen V. Clinical and imaging findings in Parkinson disease associated with the A53E SNCA mutation. *Neurol Genet*. 2015 Dec;1[4]:e27.

160. Pasanen P, Myllykangas L, Siitonen M, Raunio A, Kaakkola S, Lyytinen J, et al. Novel α -synuclein mutation A53E associated with atypical multiple system atrophy and Parkinson's disease-type pathology. *Neurobiol Aging*. 2014 Sep;35[9]:2180.e1-5.
161. Kiely AP, Asi YT, Kara E, Limousin P, Ling H, Lewis P, et al. α -Synucleinopathy associated with G51D SNCA mutation: a link between Parkinson's disease and multiple system atrophy? *Acta Neuropathol*. 2013 May;125[5]:753–69.
162. Tokutake T, Ishikawa A, Yoshimura N, Miyashita A, Kuwano R, Nishizawa M, et al. Clinical and neuroimaging features of patient with early-onset Parkinson's disease with dementia carrying SNCA p.G51D mutation. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Feb;20[2]:262–4.
163. Nishioka K, Ross OA, Ishii K, Kachergus JM, Ishiwata K, Kitagawa M, et al. Expanding the clinical phenotype of SNCA duplication carriers. *Mov Disord*. 2009 Sep 15;24[12]:1811–9.
164. Gwinn K, Devine MJ, Jin L-W, Johnson J, Bird T, Muentner M, et al. Clinical features, with video documentation, of the original familial lewy body parkinsonism caused by α -synuclein triplication (Iowa kindred). *Mov Disord*. 2011 Sep;26[11]:2134–6.
165. Ferese R, Modugno N, Campopiano R, Santilli M, Zampatti S, Giardina E, et al. Four Copies of SNCA Responsible for Autosomal Dominant Parkinson's Disease in Two Italian Siblings. *Parkinsons Dis*. 2015;2015:546462.
166. Olgiati S, Thomas A, Quadri M, Breedveld GJ, Graafland J, Eussen H, et al. Early-onset parkinsonism caused by alpha-synuclein gene triplication: Clinical and genetic findings in a novel family. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Aug;21[8]:981–6.
167. Alessi DR, Sammler E. LRRK2 kinase in Parkinson's disease. *Science*. 2018 Apr 6;360[6384]:36–7.

168. Roosen DA, Cookson MR. LRRK2 at the interface of autophagosomes, endosomes and lysosomes. *Mol Neurodegener.* 2016 Dec 7;11[1]:73.
169. Paisán-Ruíz C, Jain S, Evans EW, Gilks WP, Simón J, van der Brug M, et al. Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron.* 2004 Nov 18;44[4]:595–600.
170. Zimprich A, Biskup S, Leitner P, Lichtner P, Farrer M, Lincoln S, et al. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron.* 2004 Nov 18;44[4]:601–7.
171. Di Fonzo A, Rohé CF, Ferreira J, Chien HF, Vacca L, Stocchi F, et al. A frequent LRRK2 gene mutation associated with autosomal dominant Parkinson's disease. *Lancet.* 2005 Feb 29;365[9457]:412–5.
172. Gilks WP, Abou-Sleiman PM, Gandhi S, Jain S, Singleton A, Lees AJ, et al. A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. *Lancet.* 2005 Feb 29;365[9457]:415–6.
173. Funayama M, Hasegawa K, Ohta E, Kawashima N, Komiyama M, Kowa H, et al. An LRRK2 mutation as a cause for the parkinsonism in the original PARK8 family. *Ann Neurol.* 2005 Jun;57[6]:918–21.
174. Rubio JP, Topp S, Warren L, St Jean PL, Wegmann D, Kessner D, et al. Deep sequencing of the LRRK2 gene in 14,002 individuals reveals evidence of purifying selection and independent origin of the p.Arg1628Pro mutation in Europe. *Hum Mutat.* 2012 Jul;33[7]:1087–98.
175. Paisán-Ruiz C, Lewis PA, Singleton AB. LRRK2: cause, risk, and mechanism. *J Parkinsons Dis.* 2013;3[2]:85–103.
176. Heckman MG, Soto-Ortolaza AI, Aasly JO, Abahuni N, Annesi G, Bacon JA, et al. Population-specific frequencies for LRRK2 susceptibility variants in the Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease (GEO-PD) Consortium. *Mov Disord.* 2013 Oct;28[12]:1740–4.
177. Healy DG, Falchi M, O'Sullivan SS, Bonifati V, Durr A, Bressman S, et al. Phenotype, genotype, and worldwide genetic penetrance of LRRK2-

associated Parkinson's disease: a case-control study. *Lancet Neurol.* 2008 Jul;7[7]:583–90.

178. Kalia LV, Lang AE, Hazrati L-N, Fujioka S, Wszolek ZK, Dickson DW, et al. Clinical correlations with Lewy body pathology in LRRK2-related Parkinson disease. *JAMA Neurol.* 2015 Jan;72[1]:100–5.

179. Schneider SA, Alcalay RN. Neuropathology of genetic synucleinopathies with parkinsonism: Review of the literature. *Mov Disord.* 2017 Nov;32[11]:1504–23.

180. Lesage S, Dürr A, Tazir M, Lohmann E, Leutenegger A-L, Janin S, et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in North African Arabs. *N Engl J Med.* 2006 Jan 26;354[4]:422–3.

181. Ozelius LJ, Senthil G, Saunders-Pullman R, Ohmann E, Deligtisch A, Tagliati M, et al. LRRK2 G2019S as a cause of Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med.* 2006 Jan 26;354[4]:424–5.

182. Bozi M, Papadimitriou D, Antonellou R, Moraitou M, Maniati M, Vassilatis DK, et al. Genetic assessment of familial and early-onset Parkinson's disease in a Greek population. *Eur J Neurol.* 2014 Jul;21[7]:963–8.

183. Tan EK, Shen H, Tan LCS, Farrer M, Yew K, Chua E, et al. The G2019S LRRK2 mutation is uncommon in an Asian cohort of Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett.* 2005 Aug 26;384[3]:327–9.

184. Nalls MA, Pankratz N, Lill CM, Do CB, Hernandez DG, Saad M, et al. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2014 Sep;46[9]:989–93.

185. Marder K, Wang Y, Alcalay RN, Mejia-Santana H, Tang M-X, Lee A, et al. Age-specific penetrance of LRRK2 G2019S in the Michael J. Fox Ashkenazi Jewish LRRK2 Consortium. *Neurology.* 2015 Jul 7;85[1]:89–95.

186. Trinh J, Amouri R, Duda JE, Morley JF, Read M, Donald A, et al. Comparative study of Parkinson's disease and leucine-rich repeat kinase 2 p.G2019S parkinsonism. *Neurobiol Aging.* 2014 May;35[5]:1125–31.

187. Trinh J, Gustavsson EK, Vilariño-Güell C, Bortnick S, Latourelle J, McKenzie MB, et al. DN3 and genetic modifiers of age of onset in LRRK2 Gly2019Ser parkinsonism: a genome-wide linkage and association study. *Lancet Neurol*. 2016 Nov;15[12]:1248–56.
188. Alcalay RN, Mejia-Santana H, Mirelman A, Saunders-Pullman R, Raymond D, Palmese C, et al. Neuropsychological performance in LRRK2 G2019S carriers with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2015 Feb;21[2]:106–10.
189. Alcalay RN, Mirelman A, Saunders-Pullman R, Tang M-X, Mejia Santana H, Raymond D, et al. Parkinson disease phenotype in Ashkenazi Jews with and without LRRK2 G2019S mutations. *Mov Disord*. 2013 Dec;28[14]:1966–71.
190. Nabli F, Ben Sassi S, Amouri R, Duda JE, Farrer MJ, Hentati F. Motor phenotype of LRRK2-associated Parkinson's disease: a Tunisian longitudinal study. *Mov Disord*. 2015 Feb;30[2]:253–8.
191. Gaig C, Vilas D, Infante J, Sierra M, García-Gorostiaga I, Buongiorno M, et al. Nonmotor symptoms in LRRK2 G2019S associated Parkinson's disease. *PLoS One*. 2014;9[10]:e108982.
192. Saunders-Pullman R, Alcalay RN, Mirelman A, Wang C, Luciano MS, Ortega RA, et al. REM sleep behavior disorder, as assessed by questionnaire, in G2019S LRRK2 mutation PD and carriers. *Mov Disord*. 2015 Nov;30[13]:1834–9.
193. Saunders-Pullman R, Mirelman A, Wang C, Alcalay RN, San Luciano M, Ortega R, et al. Olfactory identification in LRRK2 G2019S mutation carriers: a relevant marker? *Ann Clin Transl Neurol*. 2014 Sep;1[9]:670–8.
194. Pont-Sunyer C, Iranzo A, Gaig C, Fernández-Arcos A, Vilas D, Valldeoriola F, et al. Sleep Disorders in Parkinsonian and Nonparkinsonian LRRK2 Mutation Carriers. *PLoS One*. 2015;10[7]:e0132368.

195. Borroni B, Cotelli MS, Marchina E, Filosto M, Premi E, Padovani A. Choreo-athetosis in LRRK2 R1441C mutation: expanding the clinical phenotype. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 Oct;115[10]:2217–8.
196. Sanchez-Contreras M, Heckman MG, Tacik P, Diehl N, Brown PH, Soto-Ortolaza AI, et al. Study of LRRK2 variation in tauopathy: Progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Mov Disord*. 2017 Jan;32[1]:115–23.
197. Chen-Plotkin AS, Yuan W, Anderson C, McCarty Wood E, Hurtig HI, Clark CM, et al. Corticobasal syndrome and primary progressive aphasia as manifestations of LRRK2 gene mutations. *Neurology*. 2008 Feb 12;70[7]:521–7.
198. Marras C, Alcalay RN, Caspell-Garcia C, Coffey C, Chan P, Duda JE, et al. Motor and nonmotor heterogeneity of LRRK2-related and idiopathic Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2016 Aug;31[8]:1192–202.
199. Balestrino R, Schapira AHV. Glucocerebrosidase and Parkinson Disease: Molecular, Clinical, and Therapeutic Implications. *Neuroscientist*. 2018 Oct;24[5]:540–59.
200. Barkhuizen M, Anderson DG, Grobler AF. Advances in GBA-associated Parkinson's disease--Pathology, presentation and therapies. *Neurochem Int*. 2016 Feb;93:6–25.
201. Wang D-X, Xie J-X, Song N. GBA mutations and Parkinson's disease. *Sheng Li Xue Bao*. 2018 Jun 25;70[3]:294–300.
202. Machaczka M, Rucinska M, Skotnicki AB, Jurczak W. Parkinson's syndrome preceding clinical manifestation of Gaucher's disease. *Am J Hematol*. 1999 Jul;61[3]:216–7.
203. Tayebi N, Callahan M, Madike V, Stubblefield BK, Orvisky E, Krasnewich D, et al. Gaucher disease and parkinsonism: a phenotypic and genotypic characterization. *Mol Genet Metab*. 2001 Aug;73[4]:313–21.
204. Halperin A, Elstein D, Zimran A. Increased incidence of Parkinson disease among relatives of patients with Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2006 Jun;36[3]:426–8.

205. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2009 Oct 22;361[17]:1651–61.
206. Sardi SP, Cheng SH, Shihabuddin LS. Gaucher-related synucleinopathies: the examination of sporadic neurodegeneration from a rare (disease) angle. *Prog Neurobiol*. 2015 Feb;125:47–62.
207. Xilouri M, Brekk OR, Stefanis L. Autophagy and Alpha-Synuclein: Relevance to Parkinson's Disease and Related Synucleopathies. *Mov Disord*. 2016 Feb;31[2]:178–92.
208. Moraitou M, Hadjigeorgiou G, Monopolis I, Dardiotis E, Bozi M, Vassilatis D, et al. β -Glucocerebrosidase gene mutations in two cohorts of Greek patients with sporadic Parkinson's disease. *Mol Genet Metab*. 2011 Oct;104[1–2]:149–52.
209. Asselta R, Rimoldi V, Siri C, Cilia R, Guella I, Tesesi S, et al. Glucocerebrosidase mutations in primary parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Nov;20[11]:1215–20.
210. Winder-Rhodes SE, Evans JR, Ban M, Mason SL, Williams-Gray CH, Foltynie T, et al. Glucocerebrosidase mutations influence the natural history of Parkinson's disease in a community-based incident cohort. *Brain*. 2013 Feb;136[Pt 2]:392–9.
211. Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, Gurevich T, et al. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology*. 2008 Jun 10;70[24]:2277–83.
212. Wang C, Cai Y, Gu Z, Ma J, Zheng Z, Tang B-S, et al. Clinical profiles of Parkinson's disease associated with common leucine-rich repeat kinase 2 and glucocerebrosidase genetic variants in Chinese individuals. *Neurobiol Aging*. 2014 Mar;35[3]:725.e1-6.
213. Brockmann K, Srulijes K, Pflederer S, Hauser A-K, Schulte C, Maetzler W, et al. GBA-associated Parkinson's disease: reduced survival and

more rapid progression in a prospective longitudinal study. *Mov Disord*. 2015 Mar;30[3]:407–11.

214. Oeda T, Umemura A, Mori Y, Tomita S, Kohsaka M, Park K, et al. Impact of glucocerebrosidase mutations on motor and nonmotor complications in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2015 Dec;36[12]:3306–13.

215. Alcalay RN, Caccappolo E, Mejia-Santana H, Tang M-X, Rosado L, Orbe Reilly M, et al. Cognitive performance of GBA mutation carriers with early-onset PD: the CORE-PD study. *Neurology*. 2012 May 1;78[18]:1434–40.

216. Cilia R, Tunesi S, Marotta G, Cereda E, Siri C, Tesei S, et al. Survival and dementia in GBA-associated Parkinson's disease: The mutation matters. *Ann Neurol*. 2016 Nov;80[5]:662–73.

217. Zokaei N, McNeill A, Proukakis C, Beavan M, Jarman P, Korlipara P, et al. Visual short-term memory deficits associated with GBA mutation and Parkinson's disease. *Brain*. 2014 Aug;137[Pt 8]:2303–11.

218. Swan M, Doan N, Ortega RA, Barrett M, Nichols W, Ozelius L, et al. Neuropsychiatric characteristics of GBA-associated Parkinson disease. *J Neurol Sci*. 2016 Nov 15;370:63–9.

219. Brockmann K, Srulijes K, Hauser AK, Schulte C, Csoti I, Gasser T, et al. GBA-associated PD presents with nonmotor characteristics. *Neurology*. 2011 Jul 19;77[3]:276–80.

220. Beavan M, McNeill A, Proukakis C, Hughes DA, Mehta A, Schapira AHV. Evolution of prodromal clinical markers of Parkinson disease in a GBA mutation-positive cohort. *JAMA Neurol*. 2015 Feb;72[2]:201–8.

221. Gan-Or Z, Mirelman A, Postuma RB, Arnulf I, Bar-Shira A, Dauvilliers Y, et al. GBA mutations are associated with Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Sep;2[9]:941–5.

222. Saunders-Pullman R, Hagenah J, Dhawan V, Stanley K, Pastores G, Sathe S, et al. Gaucher disease ascertained through a Parkinson's center: imaging and clinical characterization. *Mov Disord*. 2010 Jul 30;25[10]:1364–72.

223. Lunati A, Lesage S, Brice A. The genetic landscape of Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2018 Nov;174[9]:628–43.
224. Inoshita T, Arano T, Hosaka Y, Meng H, Umezaki Y, Kosugi S, et al. Vps35 in cooperation with LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis through the endosomal pathway in *Drosophila*. *Hum Mol Genet*. 2017 Aug 1;26[15]:2933–48.
225. Mohan M, Mellick GD. Role of the VPS35 D620N mutation in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017 Mar;36:10–8.
226. Chen Y-F, Chang Y-Y, Lan M-Y, Chen P-L, Lin C-H. Identification of VPS35 p.D620N mutation-related Parkinson's disease in a Taiwanese family with successful bilateral subthalamic nucleus deep brain stimulation: a case report and literature review. *BMC Neurol*. 2017 Oct 6;17[1]:191.
227. Struhal W, Presslauer S, Spielberger S, Zimprich A, Auff E, Bruecke T, et al. VPS35 Parkinson's disease phenotype resembles the sporadic disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2014 Jul;121[7]:755–9.
228. Vilariño-Güell C, Wider C, Ross OA, Dachsel JC, Kachergus JM, Lincoln SJ, et al. VPS35 mutations in Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 2011 Jul 15;89[1]:162–7.
229. Zimprich A, Benet-Pagès A, Struhal W, Graf E, Eck SH, Offman MN, et al. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease. *Am J Hum Genet*. 2011 Jul 15;89[1]:168–75.
230. Huang Y, Chen X, He X, Guo C, Sun X, Liang F, et al. High expression levels of the D686N Parkinson's disease mutation in VPS35 induces α -synuclein-dependent toxicity in yeast. *Mol Med Rep*. 2017 Jul;16[1]:254–62.
231. Lesage S, Condroyer C, Klebe S, Honoré A, Tison F, Brefel-Courbon C, et al. Identification of VPS35 mutations replicated in French families with Parkinson disease. *Neurology*. 2012 May 1;78[18]:1449–50.
232. Sheerin U-M, Charlesworth G, Bras J, Guerreiro R, Bhatia K, Foltynie T, et al. Screening for VPS35 mutations in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2012 Apr;33[4]:838.e1-5.

233. Ando M, Funayama M, Li Y, Kashihara K, Murakami Y, Ishizu N, et al. VPS35 mutation in Japanese patients with typical Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012 Sep 15;27[11]:1413–7.

234. Sharma M, Ioannidis JPA, Aasly JO, Annesi G, Brice A, Bertram L, et al. A multi-centre clinico-genetic analysis of the VPS35 gene in Parkinson disease indicates reduced penetrance for disease-associated variants. *J Med Genet*. 2012 Nov;49[11]:721–6.

235. Wider C, Skipper L, Solida A, Brown L, Farrer M, Dickson D, et al. Autosomal dominant dopa-responsive parkinsonism in a multigenerational Swiss family. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008 Aug;14[6]:465–70.

236. Lu C-S, Wu Chou Y-H, Kuo P-C, Chang H-C, Weng Y-H. The parkinsonian phenotype of spinocerebellar ataxia type 2. *Arch Neurol*. 2004 Jan;61[1]:35–8.

237. Charles P, Camuzat A, Benammar N, Sellal F, Destée A, Bonnet A-M, et al. Are interrupted SCA2 CAG repeat expansions responsible for parkinsonism? *Neurology*. 2007 Nov 20;69[21]:1970–5.

238. Zhang M, Xi Z, Misquitta K, Sato C, Moreno D, Liang Y, et al. C9orf72 and ATXN2 repeat expansions coexist in a family with ataxia, dementia, and parkinsonism. *Mov Disord*. 2017 Jan;32[1]:158–62.

239. Kim YE, Jeon B, Farrer MJ, Scott E, Guella I, Park SS, et al. SCA2 family presenting as typical Parkinson's disease: 34 year follow up. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017 Jul;40:69–72.

240. Payami H, Nutt J, Gancher S, Bird T, McNeal MG, Seltzer WK, et al. SCA2 may present as levodopa-responsive parkinsonism. *Mov Disord*. 2003 Apr;18[4]:425–9.

241. Gwinn-Hardy K, Chen JY, Liu HC, Liu TY, Boss M, Seltzer W, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 with parkinsonism in ethnic Chinese. *Neurology*. 2000 Sep 26;55[6]:800–5.

242. Takao M, Aoyama M, Ishikawa K, Sakiyama Y, Yomono H, Saito Y, et al. Spinocerebellar ataxia type 2 is associated with Parkinsonism and Lewy body pathology. *BMJ Case Rep.* 2011 Apr 1;2011.
243. Park H, Kim H-J, Jeon BS. Parkinsonism in spinocerebellar ataxia. *Biomed Res Int.* 2015;2015:125273.
244. Clot F, Grabli D, Cazeneuve C, Roze E, Castelnau P, Chabrol B, et al. Exhaustive analysis of BH4 and dopamine biosynthesis genes in patients with Dopa-responsive dystonia. *Brain.* 2009 Jul;132[Pt 7]:1753–63.
245. Mencacci NE, Isaias IU, Reich MM, Ganos C, Plagnol V, Polke JM, et al. Parkinson's disease in GTP cyclohydrolase 1 mutation carriers. *Brain.* 2014 Sep;137[Pt 9]:2480–92.
246. Guella I, Sherman HE, Appel-Cresswell S, Rajput A, Rajput AH, Farrer MJ. Parkinsonism in GTP cyclohydrolase 1 mutation carriers. *Brain.* 2015 May;138[Pt 5]:e349.
247. Yoshino H, Nishioka K, Li Y, Oji Y, Oyama G, Hatano T, et al. GCH1 mutations in dopa-responsive dystonia and Parkinson's disease. *J Neurol.* 2018 Aug;265[8]:1860–70.
248. Potulska-Chromik A, Hoffman-Zacharska D, Łukawska M, Kostera-Pruszczyk A. Dopa-responsive dystonia or early-onset Parkinson disease - Genotype-phenotype correlation. *Neurol Neurochir Pol.* 2017 Feb;51[1]:1–6.
249. Webb J, Willette AA. Aging modifies the effect of GCH1 RS11158026 on DAT uptake and Parkinson's disease clinical severity. *Neurobiol Aging.* 2017 Feb;50:39–46.
250. Miyake Y, Tanaka K, Fukushima W, Kiyohara C, Sasaki S, Tsuboi Y, et al. UCHL1 S18Y variant is a risk factor for Parkinson's disease in Japan. *BMC Neurol.* 2012 Jul 28;12:62.
251. Healy DG, Abou-Sleiman PM, Wood NW. Genetic causes of Parkinson's disease: UCHL-1. *Cell Tissue Res.* 2004 Oct;318[1]:189–94.
252. Ragland M, Hutter C, Zabetian C, Edwards K. Association between the ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1 gene (UCHL1) S18Y variant and

Parkinson's Disease: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2009 Dec 1;170[11]:1344–57.

253. Rydning SL, Backe PH, Sousa MML, Iqbal Z, Øye A-M, Sheng Y, et al. Novel UCHL1 mutations reveal new insights into ubiquitin processing. *Hum Mol Genet.* 2017 Mar 15;26[6]:1217–8.

254. Lautier C, Goldwurm S, Dürr A, Giovannone B, Tsiaras WG, Pezzoli G, et al. Mutations in the GIGYF2 (TNRC15) gene at the PARK11 locus in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet.* 2008 Apr;82[4]:822–33.

255. Tan EK, Schapira AH. Summary of GIGYF2 studies in Parkinson's disease: the burden of proof. *Eur J Neurol.* 2010 Feb;17[2]:175–6.

256. Lesage S, Condroyer C, Lohman E, Troiano A, Tison F, Viallet F, et al. Follow-up study of the GIGYF2 gene in French families with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2010 Jun;31[6]:1069–71; discussion 1072-1074.

257. Zimprich A, Schulte C, Reinthaler E, Haubenberger D, Balzar J, Lichtner P, et al. PARK11 gene (GIGYF2) variants Asn56Ser and Asn457Thr are not pathogenic for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009 Aug;15[7]:532–4.

258. Ruiz-Martinez J, Krebs CE, Makarov V, Gorostidi A, Martí-Massó JF, Paisán-Ruiz C. GIGYF2 mutation in late-onset Parkinson's disease with cognitive impairment. *J Hum Genet.* 2015 Oct;60[10]:637–40.

259. Craft S, Watson GS. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. *Lancet Neurol.* 2004 Mar;3[3]:169–78.

260. Martins LM, Morrison A, Klupsch K, Fedele V, Moiso N, Teismann P, et al. Neuroprotective role of the Reaper-related serine protease HtrA2/Omi revealed by targeted deletion in mice. *Mol Cell Biol.* 2004 Nov;24[22]:9848–62.

261. Ross OA, Soto AI, Vilariño-Güell C, Heckman MG, Diehl NN, Hulihan MM, et al. Genetic variation of Omi/HtrA2 and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008 Nov;14[7]:539–43.

262. Strauss KM, Martins LM, Plun-Favreau H, Marx FP, Kautzmann S, Berg D, et al. Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet.* 2005 Aug 1;14[15]:2099–111.
263. Lin C-H, Chen M-L, Chen GS, Tai C-H, Wu R-M. Novel variant Pro143Ala in HTRA2 contributes to Parkinson's disease by inducing hyperphosphorylation of HTRA2 protein in mitochondria. *Hum Genet.* 2011 Dec;130[6]:817–27.
264. Wang C-Y, Xu Q, Weng L, Zhang Q, Zhang H-N, Guo J-F, et al. Genetic variations of Omi/HTRA2 in Chinese patients with Parkinson's disease. *Brain Res.* 2011 Apr 18;1385:293–7.
265. Mandel H, Saita S, Edvardson S, Jalas C, Shaag A, Goldsher D, et al. Deficiency of HTRA2/Omi is associated with infantile neurodegeneration and 3-methylglutaconic aciduria. *J Med Genet.* 2016 Oct;53[10]:690–6.
266. Chartier-Harlin M-C, Dachsel JC, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Leprêtre F, Hulihan MM, et al. Translation initiator EIF4G1 mutations in familial Parkinson disease. *Am J Hum Genet.* 2011 Sep 9;89[3]:398–406.
267. Nichols N, Bras JM, Hernandez DG, Jansen IE, Lesage S, Lubbe S, et al. EIF4G1 mutations do not cause Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2015 Aug;36[8]:2444.e1-4.
268. Lesage S, Condroyer C, Klebe S, Lohmann E, Durif F, Damier P, et al. EIF4G1 in familial Parkinson's disease: pathogenic mutations or rare benign variants? *Neurobiol Aging.* 2012 Sep;33[9]:2233.e1-2233.e5.
269. Vilariño-Güell C, Rajput A, Milnerwood AJ, Shah B, Szu-Tu C, Trinh J, et al. DNAJC13 mutations in Parkinson disease. *Hum Mol Genet.* 2014 Apr 1;23[7]:1794–801.
270. Appel-Cresswell S, Rajput AH, Sossi V, Thompson C, Silva V, McKenzie J, et al. Clinical, positron emission tomography, and pathological studies of DNAJC13 p.N855S Parkinsonism. *Mov Disord.* 2014 Nov;29[13]:1684–7.

271. Gagliardi M, Annesi G, Procopio R, Morelli M, Iannello G, Bonapace G, et al. DNAJC13 mutation screening in patients with Parkinson's disease from South Italy. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018 Oct;55:134–7.
272. Yoshida S, Hasegawa T, Suzuki M, Sugeno N, Kobayashi J, Ueyama M, et al. Parkinson's disease-linked DNAJC13 mutation aggravates alpha-synuclein-induced neurotoxicity through perturbation of endosomal trafficking. *Hum Mol Genet*. 2018 Mar 1;27[5]:823–36.
273. Roosen DA, Blauwendraat C, Cookson MR, Lewis PA. DNAJC proteins and pathways to parkinsonism. *FEBS J*. 2019 Aug;286[16]:3080–94.
274. Follett J, Fox JD, Gustavsson EK, Kadgien C, Munsie LN, Cao LP, et al. DNAJC13 p.Asn855Ser, implicated in familial parkinsonism, alters membrane dynamics of sorting nexin 1. *Neurosci Lett*. 2019 Jul 27;706:114–22.
275. Funayama M, Ohe K, Amo T, Furuya N, Yamaguchi J, Saiki S, et al. CHCHD2 mutations in autosomal dominant late-onset Parkinson's disease: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol*. 2015 Mar;14[3]:274–82.
276. Meng H, Yamashita C, Shiba-Fukushima K, Inoshita T, Funayama M, Sato S, et al. Loss of Parkinson's disease-associated protein CHCHD2 affects mitochondrial crista structure and destabilizes cytochrome c. *Nat Commun*. 2017 Jun 7;8:15500.
277. Tio M, Wen R, Lim YL, Zukifli ZHB, Xie S, Ho P, et al. Varied pathological and therapeutic response effects associated with CHCHD2 mutant and risk variants. *Hum Mutat*. 2017 Aug;38[8]:978–87.
278. Ikeda A, Matsushima T, Daida K, Nakajima S, Conedera S, Li Y, et al. A novel mutation of CHCHD2 p.R8H in a sporadic case of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2017 Jan;34:66–8.
279. Jansen IE, Bras JM, Lesage S, Schulte C, Gibbs JR, Nalls MA, et al. CHCHD2 and Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2015 Jul;14[7]:678–9.
280. Sudhaman S, Muthane UB, Behari M, Govindappa ST, Juyal RC, Thelma BK. Evidence of mutations in RIC3 acetylcholine receptor chaperone as a

novel cause of autosomal-dominant Parkinson's disease with non-motor phenotypes. *J Med Genet*. 2016 Aug;53[8]:559–66.

281. Deng H-X, Shi Y, Yang Y, Ahmeti KB, Miller N, Huang C, et al. Identification of TMEM230 mutations in familial Parkinson's disease. *Nat Genet*. 2016 Jul;48[7]:733–9.

282. Olszewska DA, Fearon C, Lynch T. Novel gene (TMEM230) linked to Parkinson's disease. *J Clin Mov Disord*. 2016;3:17.

283. Ma D, Foo JN, Yulin Ng E, Zhao Y, Liu J-J, Tan EK. Screening for TMEM230 mutations in young-onset Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2017 Oct;58:239.e9-239.e10.

284. Giri A, Mok KY, Jansen I, Sharma M, Tesson C, Mangone G, et al. Lack of evidence for a role of genetic variation in TMEM230 in the risk for Parkinson's disease in the Caucasian population. *Neurobiol Aging*. 2017 Feb;50:167.e11-167.e13.

285. Ryan BJ, Hoek S, Fon EA, Wade-Martins R. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's: from familial to sporadic disease. *Trends Biochem Sci*. 2015 Apr;40[4]:200–10.

286. Nguyen M, Wong YC, Ysselstein D, Severino A, Krainc D. Synaptic, Mitochondrial, and Lysosomal Dysfunction in Parkinson's Disease. *Trends Neurosci*. 2019 Feb;42[2]:140–9.

287. Sato S, Furuya N. Induction of PINK1/Parkin-Mediated Mitophagy. *Methods Mol Biol*. 2018;1759:9–17.

288. Seirafi M, Kozlov G, Gehring K. Parkin structure and function. *FEBS J*. 2015 Jun;282[11]:2076–88.

289. Whitworth AJ, Pallanck LJ. PINK1/Parkin mitophagy and neurodegeneration-what do we really know in vivo? *Curr Opin Genet Dev*. 2017 Jun;44:47–53.

290. Barodia SK, Creed RB, Goldberg MS. Parkin and PINK1 functions in oxidative stress and neurodegeneration. *Brain Res Bull*. 2017 Jul;133:51–9.

291. Bravo P, Darvish H, Tafakhori A, Azcona LJ, Johari AH, Jamali F, et al. Molecular characterization of PRKN structural variations identified through whole-genome sequencing. *Mol Genet Genomic Med*. 2018 Nov;6[6]:1243–8.
292. Kuo C-J, Hansen M, Troemel E. Autophagy and innate immunity: Insights from invertebrate model organisms. *Autophagy*. 2018;14[2]:233–42.
293. Kasten M, Hartmann C, Hampf J, Schaake S, Westenberger A, Vollstedt E-J, et al. Genotype-Phenotype Relations for the Parkinson's Disease Genes Parkin, PINK1, DJ1: MDSGene Systematic Review. *Mov Disord*. 2018 May;33[5]:730–41.
294. Taghavi S, Chaouni R, Tafakhori A, Azcona LJ, Firouzabadi SG, Omrani MD, et al. A Clinical and Molecular Genetic Study of 50 Families with Autosomal Recessive Parkinsonism Revealed Known and Novel Gene Mutations. *Mol Neurobiol*. 2018 Apr;55[4]:3477–89.
295. Jankovic MZ, Dobricic V, Kresojevic N, Markovic V, Petrovic I, Svetel M, et al. Identification of mutations in the PARK2 gene in Serbian patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2018 Oct 15;393:27–30.
296. González-Casacuberta I, Morén C, Juárez-Flores D-L, Esteve-Codina A, Sierra C, Catalán-García M, et al. Transcriptional alterations in skin fibroblasts from Parkinson's disease patients with parkin mutations. *Neurobiol Aging*. 2018 May;65:206–16.
297. Youn J, Lee C, Oh E, Park J, Kim JS, Kim H-T, et al. Genetic variants of PARK genes in Korean patients with early-onset Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2019 Mar;75:224.e9-224.e15.
298. Doherty KM, Silveira-Moriyama L, Parkkinen L, Healy DG, Farrell M, Mencacci NE, et al. Parkin disease: a clinicopathologic entity? *JAMA Neurol*. 2013 May;70[5]:571–9.
299. Erer S, Egeli U, Zarifoglu M, Tezcan G, Cecener G, Tunca B, et al. Mutation analysis of the PARKIN, PINK1, DJ1, and SNCA genes in Turkish early-onset Parkinson's patients and genotype-phenotype correlations. *Clin Neurol Neurosurg*. 2016 Sep;148:147–53.

300. Truban D, Hou X, Caulfield TR, Fiesel FC, Springer W. PINK1, Parkin, and Mitochondrial Quality Control: What can we Learn about Parkinson's Disease Pathobiology? *J Parkinsons Dis.* 2017;7[1]:13–29.

301. Biosa A, Sandrelli F, Beltramini M, Greggio E, Bubacco L, Bisaglia M. Recent findings on the physiological function of DJ-1: Beyond Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2017 Dec;108:65–72.

302. Hijioka M, Inden M, Yanagisawa D, Kitamura Y. DJ-1/PARK7: A New Therapeutic Target for Neurodegenerative Disorders. *Biol Pharm Bull.* 2017;40[5]:548–52.

303. Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ, Schaap O, Breedveld GJ, Krieger E, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science.* 2003 Jan 10;299[5604]:256–9.

304. Kilarski LL, Pearson JP, Newsday V, Majounie E, Knipe MDW, Misbahuddin A, et al. Systematic review and UK-based study of PARK2 (parkin), PINK1, PARK7 (DJ-1) and LRRK2 in early-onset Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2012 Oct;27[12]:1522–9.

305. Taipa R, Pereira C, Reis I, Alonso I, Bastos-Lima A, Melo-Pires M, et al. DJ-1 linked parkinsonism (PARK7) is associated with Lewy body pathology. *Brain.* 2016 Jun;139[Pt 6]:1680–7.

306. Malakouti-Nejad M, Shahidi G-A, Rohani M, Shojaee SM, Hashemi M, Klotzle B, et al. Identification of p.Gln858* in ATP13A2 in two EOPD patients and presentation of their clinical features. *Neurosci Lett.* 2014 Aug 8;577:106–11.

307. Estrada-Cuzcano A, Martin S, Chamova T, Synofzik M, Timmann D, Holemans T, et al. Loss-of-function mutations in the ATP13A2/PARK9 gene cause complicated hereditary spastic paraplegia (SPG78). *Brain.* 2017 Feb;140[2]:287–305.

308. Lin G, Lee P-T, Chen K, Mao D, Tan KL, Zuo Z, et al. Phospholipase PLA2G6, a Parkinsonism-Associated Gene, Affects Vps26 and Vps35, Retromer

Function, and Ceramide Levels, Similar to α -Synuclein Gain. *Cell Metab.* 2018 Oct 2;28[4]:605-618.e6.

309. Iannello G, Graziano C, Cenacchi G, Cordelli DM, Zuntini R, Papa V, et al. A new PLA2G6 mutation in a family with infantile neuroaxonal dystrophy. *J Neurol Sci.* 2017 Oct 15;381:209–12.

310. Olgiati S, Quadri M, Fang M, Rood JPMA, Saute JA, Chien HF, et al. DNAJC6 Mutations Associated With Early-Onset Parkinson's Disease. *Ann Neurol.* 2016 Feb;79[2]:244–56.

311. Elsayed LEO, Drouet V, Usenko T, Mohammed IN, Hamed AAA, Elseed MA, et al. A Novel Nonsense Mutation in DNAJC6 Expands the Phenotype of Autosomal-Recessive Juvenile-Onset Parkinson's Disease. *Ann Neurol.* 2016 Feb;79[2]:335–7.

312. Fasano D, Parisi S, Pierantoni GM, De Rosa A, Picillo M, Amodio G, et al. Alteration of endosomal trafficking is associated with early-onset parkinsonism caused by SYNJ1 mutations. *Cell Death Dis.* 2018 Mar 7;9[3]:385.

313. Drouet V, Lesage S. Synaptojanin 1 mutation in Parkinson's disease brings further insight into the neuropathological mechanisms. *Biomed Res Int.* 2014;2014:289728.

314. Quadri M, Mandemakers W, Grochowska MM, Masius R, Geut H, Fabrizio E, et al. LRP10 genetic variants in familial Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies: a genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet Neurol.* 2018 Jul;17[7]:597–608.

315. Olgiati S, De Rosa A, Quadri M, Criscuolo C, Breedveld GJ, Picillo M, et al. PARK20 caused by SYNJ1 homozygous Arg258Gln mutation in a new Italian family. *Neurogenetics.* 2014 Aug;15[3]:183–8.

316. Joseph S, Schulz JB, Stegmüller J. Mechanistic contributions of FBXO7 to Parkinson disease. *J Neurochem.* 2018 Jan;144[2]:118–27.

317. Yalcin-Cakmakli G, Olgiati S, Quadri M, Breedveld GJ, Cortelli P, Bonifati V, et al. A new Turkish family with homozygous FBXO7 truncating

mutation and juvenile atypical parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Nov;20[11]:1248–52.

318. Wei L, Ding L, Li H, Lin Y, Dai Y, Xu X, et al. Juvenile-onset parkinsonism with pyramidal signs due to compound heterozygous mutations in the F-Box only protein 7 gene. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018 Feb;47:76–9.

319. Lesage S, Bras J, Cormier-Dequaire F, Condroyer C, Nicolas A, Darwent L, et al. Loss-of-function mutations in RAB39B are associated with typical early-onset Parkinson disease. *Neurol Genet*. 2015 Jun;1[1]:e9.

320. Schreglmann SR, Houlden H. VPS13C-Another Hint at Mitochondrial Dysfunction in Familial Parkinson's Disease. *Mov Disord*. 2016 Sep;31[9]:1340.

321. Faber I, Martinez ARM, Martins CR, Maia ML, Souza JP, Lourenço CM, et al. SPG11-related parkinsonism: Clinical profile, molecular imaging and l-dopa response. *Mov Disord*. 2018 Oct;33[10]:1650–6.

322. Ramirez-Zamora A, Gee L, Youn Y, Shin DS, Pilitsis JG. Pallidal Deep Brain Stimulation for the Treatment of Levodopa-Responsive Juvenile Dystonia and Parkinsonism Secondary to SPG11 Mutation. *JAMA Neurol*. 2017 Jan 1;74[1]:127–8.

323. Jaberi E, Rohani M, Shahidi GA, Nafissi S, Arefian E, Soleimani M, et al. Mutation in ADORA1 identified as likely cause of early-onset parkinsonism and cognitive dysfunction. *Mov Disord*. 2016 Jul;31[7]:1004–11.

324. Khodadadi H, Azcona LJ, Aghamollaii V, Omrani MD, Garshasbi M, Taghavi S, et al. PTRHD1 (C2orf79) mutations lead to autosomal-recessive intellectual disability and parkinsonism. *Mov Disord*. 2017 Feb;32[2]:287–91.

325. Gao Y, Wilson GR, Stephenson SEM, Bozaoglu K, Farrer MJ, Lockhart PJ. The emerging role of Rab GTPases in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2018 Feb;33[2]:196–207.

326. Wilson GR, Sim JCH, McLean C, Giannandrea M, Galea CA, Riseley JR, et al. Mutations in RAB39B cause X-linked intellectual disability and early-

onset Parkinson disease with α -synuclein pathology. *Am J Hum Genet.* 2014 Dec 4;95[6]:729–35.

327. Wang HL, Lu CS, Yeh TH, Shen YM, Weng YH, Huang YZ, et al. Combined Assessment of Serum Alpha-Synuclein and Rab35 is a Better Biomarker for Parkinson's Disease. *J Clin Neurol.* 2019 Oct;15[4]:488–95.

328. Mir R, Tonelli F, Lis P, Macartney T, Polinski NK, Martinez TN, et al. The Parkinson's disease VPS35[D620N] mutation enhances LRRK2-mediated Rab protein phosphorylation in mouse and human. *Biochem J.* 2018 Jun 6;475[11]:1861–83.

329. Kiral FR, Kohrs FE, Jin EJ, Hiesinger PR. Rab GTPases and Membrane Trafficking in Neurodegeneration. *Curr Biol.* 2018 Apr 23;28[8]:R471–86.

330. Lai Y-C, Kondapalli C, Lehneck R, Procter JB, Dill BD, Woodroof HI, et al. Phosphoproteomic screening identifies Rab GTPases as novel downstream targets of PINK1. *EMBO J.* 2015 Nov 12;34[22]:2840–61.

331. Rivero-Ríos P, Romo-Lozano M, Madero-Pérez J, Thomas AP, Biossa A, Greggio E, et al. The G2019S variant of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) alters endolysosomal trafficking by impairing the function of the GTPase RAB8A. *J Biol Chem.* 2019 Mar 29;294[13]:4738–58.

332. Bae E-J, Kim D-K, Kim C, Mante M, Adame A, Rockenstein E, et al. LRRK2 kinase regulates α -synuclein propagation via RAB35 phosphorylation. *Nat Commun.* 2018 Aug 27;9[1]:3465.

333. Madero-Pérez J, Fdez E, Fernández B, Lara Ordóñez AJ, Blanca Ramírez M, Gómez-Suaga P, et al. Parkinson disease-associated mutations in LRRK2 cause centrosomal defects via Rab8a phosphorylation. *Mol Neurodegener.* 2018 Jan 23;13[1]:3.

334. Fujimoto T, Kuwahara T, Eguchi T, Sakurai M, Komori T, Iwatsubo T. Parkinson's disease-associated mutant LRRK2 phosphorylates Rab7L1 and modifies trans-Golgi morphology. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018 Jan 8;495[2]:1708–15.

335. Purlyte E, Dhekne HS, Sarhan AR, Gomez R, Lis P, Wightman M, et al. Rab29 activation of the Parkinson's disease-associated LRRK2 kinase. *EMBO J*. 2018 Jan 4;37[1]:1–18.

336. Mata IF, Jang Y, Kim C-H, Hanna DS, Dorschner MO, Samii A, et al. The RAB39B p.G192R mutation causes X-linked dominant Parkinson's disease. *Mol Neurodegener*. 2015 Sep 24;10:50.

337. Güldner M, Schulte C, Hauser A-K, Gasser T, Brockmann K. Broad clinical phenotype in Parkinsonism associated with a base pair deletion in RAB39B and additional POLG variant. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016 Oct;31:148–50.

338. Hodges K, Brewer SS, Labbé C, Soto-Ortolaza AI, Walton RL, Strongosky AJ, et al. RAB39B gene mutations are not a common cause of Parkinson's disease or dementia with Lewy bodies. *Neurobiol Aging*. 2016 Sep;45:107–8.

339. Yuan L, Deng X, Song Z, Yang Z, Ni B, Chen Y, et al. Genetic analysis of the RAB39B gene in Chinese Han patients with Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2015 Oct;36[10]:2907.e11-12.

340. Kang J-F, Luo Y, Tang B-S, Wan C-M, Yang Y, Li K, et al. RAB39B gene mutations are not linked to familial Parkinson's disease in China. *Sci Rep*. 2016 Oct 3;6:34502.

341. Liu Z, Tang B, Guo J, Zhou X, Sun Q, Xu Q, et al. Mutations analysis of RAB39B gene in Chinese early-onset Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016 Jul;28:157–8.

342. Lin H-H, Wu R-M, Lin H-I, Chen M-L, Tai C-H, Lin C-H. Lack of RAB39B mutations in early-onset and familial Parkinson's disease in a Taiwanese cohort. *Neurobiol Aging*. 2017 Feb;50:169.e3-169.e4.

343. Gustavsson E, Follett J, Ramirez CM, Trinh J, Fox J, Aasly E, et al. RAB32 as a cause for familial Parkinson's disease. In: *International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders*. 2017.

344. Waschbüsch D, Michels H, Strassheim S, Ossendorf E, Kessler D, Gloeckner CJ, et al. LRRK2 transport is regulated by its novel interacting partner Rab32. *PLoS One*. 2014;9[10]:e111632.

345. Yamano K, Wang C, Sarraf SA, Münch C, Kikuchi R, Noda NN, et al. Endosomal Rab cycles regulate Parkin-mediated mitophagy. *Elife*. 2018 Jan 23;7.

346. Jeong GR, Jang E-H, Bae JR, Jun S, Kang HC, Park C-H, et al. Dysregulated phosphorylation of Rab GTPases by LRRK2 induces neurodegeneration. *Mol Neurodegener*. 2018 Feb 13;13[1]:8.

347. Chiu C-C, Yeh T-H, Lai S-C, Weng Y-H, Huang Y-C, Cheng Y-C, et al. Increased Rab35 expression is a potential biomarker and implicated in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Oncotarget*. 2016 Aug 23;7[34]:54215–27.

348. Atashrazm F, Hammond D, Perera G, Bolliger MF, Matar E, Halliday GM, et al. LRRK2-mediated Rab10 phosphorylation in immune cells from Parkinson's disease patients. *Mov Disord*. 2019 Mar;34[3]:406–15.

349. Baltazar MT, Dinis-Oliveira RJ, de Lourdes Bastos M, Tsatsakis AM, Duarte JA, Carvalho F. Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases--a mechanistic approach. *Toxicol Lett*. 2014 Oct 15;230[2]:85–103.

350. Moisan F, Spinosi J, Delabre L, Gourlet V, Mazurie J-L, Bénatru I, et al. Association of Parkinson's Disease and Its Subtypes with Agricultural Pesticide Exposures in Men: A Case-Control Study in France. *Environ Health Perspect*. 2015 Nov;123[11]:1123–9.

351. Paul KC, Sinsheimer JS, Rhodes SL, Cockburn M, Bronstein J, Ritz B. Organophosphate Pesticide Exposures, Nitric Oxide Synthase Gene Variants, and Gene-Pesticide Interactions in a Case-Control Study of Parkinson's Disease, California (USA). *Environ Health Perspect*. 2016 May;124[5]:570–7.

352. Wang A, Cockburn M, Ly TT, Bronstein JM, Ritz B. The association between ambient exposure to organophosphates and Parkinson's disease risk. *Occup Environ Med*. 2014 Apr;71[4]:275–81.

353. Jiang W, Ju C, Jiang H, Zhang D. Dairy foods intake and risk of Parkinson's disease: a dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Epidemiol*. 2014 Sep;29[9]:613–9.
354. Abbott RD, Ross GW, Petrovitch H, Masaki KH, Launer LJ, Nelson JS, et al. Midlife milk consumption and substantia nigra neuron density at death. *Neurology*. 2016 Feb 9;86[6]:512–9.
355. Hughes KC, Gao X, Kim IY, Wang M, Weisskopf MG, Schwarzschild MA, et al. Intake of dairy foods and risk of Parkinson disease. *Neurology*. 2017 Jul 4;89[1]:46–52.
356. Kyrozis A, Ghika A, Stathopoulos P, Vassilopoulos D, Trichopoulos D, Trichopoulou A. Dietary and lifestyle variables in relation to incidence of Parkinson's disease in Greece. *Eur J Epidemiol*. 2013 Jan;28[1]:67–77.
357. Derkinderen P, Shannon KM, Brundin P. Gut feelings about smoking and coffee in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2014 Jul;29[8]:976–9.
358. Scheperjans F, Pekkonen E, Kaakkola S, Auvinen P. Linking Smoking, Coffee, Urate, and Parkinson's Disease - A Role for Gut Microbiota? *J Parkinsons Dis*. 2015;5[2]:255–62.
359. Breckenridge CB, Berry C, Chang ET, Sielken RL, Mandel JS. Association between Parkinson's Disease and Cigarette Smoking, Rural Living, Well-Water Consumption, Farming and Pesticide Use: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11[4]:e0151841.
360. Bettioli SS, Rose TC, Hughes CJ, Smith LA. Alcohol Consumption and Parkinson's Disease Risk: A Review of Recent Findings. *J Parkinsons Dis*. 2015;5[3]:425–42.
361. Zhang D, Jiang H, Xie J. Alcohol intake and risk of Parkinson's disease: a meta-analysis of observational studies. *Mov Disord*. 2014 May;29[6]:819–22.
362. Pałasz E, Bąk A, Gąsiorowska A, Niewiadomska G. The role of trophic factors and inflammatory processes in physical activity-induced

neuroprotection in Parkinson's disease. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2017 Jan 4;71[1]:713–26.

363. Wu P-L, Lee M, Huang T-T. Effectiveness of physical activity on patients with depression and Parkinson's disease: A systematic review. *PLoS One*. 2017;12[7]:e0181515.

364. Ren L, Yi J, Yang J, Li P, Cheng X, Mao P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs use and risk of Parkinson disease: A dose-response meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Sep;97[37]:e12172.

365. Poly TN, Islam MMR, Yang H-C, Li Y-CJ. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson's disease in the elderly population: a meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019 Jan;75[1]:99–108.

366. Gagne JJ, Power MC. Anti-inflammatory drugs and risk of Parkinson disease: a meta-analysis. *Neurology*. 2010 Mar 23;74[12]:995–1002.

367. Delamarre A, Meissner WG. Epidemiology, environmental risk factors and genetics of Parkinson's disease. *Presse Med*. 2017 Mar;46[2 Pt 1]:175–81.

368. Simon KC, Chen H, Gao X, Schwarzschild MA, Ascherio A. Reproductive factors, exogenous estrogen use, and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2009 Jul 15;24[9]:1359–65.

369. Rugbjerg K, Christensen J, Tjønneland A, Olsen JH. Exposure to estrogen and women's risk for Parkinson's disease: a prospective cohort study in Denmark. *Parkinsonism Relat Disord*. 2013 Apr;19[4]:457–60.

370. Liu R, Baird D, Park Y, Freedman ND, Huang X, Hollenbeck A, et al. Female reproductive factors, menopausal hormone use, and Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2014 Jun;29[7]:889–96.

371. Gardener H, Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Spiegelman D, Ascherio A. Prenatal and early life factors and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2010 Aug 15;25[11]:1560–7.

372. Vlajinac H, Dzoljic E, Maksimovic J, Marinkovic J, Sipetic S, Kostic V. Infections as a risk factor for Parkinson's disease: a case-control study. *Int J Neurosci*. 2013 May;123[5]:329–32.
373. Nielsen HH, Qiu J, Friis S, Wermuth L, Ritz B. Treatment for *Helicobacter pylori* infection and risk of Parkinson's disease in Denmark. *Eur J Neurol*. 2012 Jun;19[6]:864–9.
374. Wu WY-Y, Kang K-H, Chen SL-S, Chiu SY-H, Yen AM-F, Fann JC-Y, et al. Hepatitis C virus infection: a risk factor for Parkinson's disease. *J Viral Hepat*. 2015 Oct;22[10]:784–91.
375. Fang F, Wirdefeldt K, Jacks A, Kamel F, Ye W, Chen H. CNS infections, sepsis and risk of Parkinson's disease. *Int J Epidemiol*. 2012 Aug;41[4]:1042–9.
376. Klingelhoefer L, Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease--the gut-brain axis and environmental factors. *Nat Rev Neurol*. 2015 Nov;11[11]:625–36.
377. Bellou V, Belbasis L, Tzoulaki I, Evangelou E, Ioannidis JPA. Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016 Feb;23:1–9.
378. Vitali C, Wellington CL, Calabresi L. HDL and cholesterol handling in the brain. *Cardiovasc Res*. 2014 Aug 1;103[3]:405–13.
379. van Maarschalkerweerd A, Vetri V, Vestergaard B. Cholesterol facilitates interactions between α -synuclein oligomers and charge-neutral membranes. *FEBS Lett*. 2015 Sep 14;589[19 Pt B]:2661–7.
380. Emamzadeh FN, Aojula H, McHugh PC, Allsop D. Effects of different isoforms of apoE on aggregation of the α -synuclein protein implicated in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2016 Apr 8;618:146–51.
381. Fantini J, Carlus D, Yahi N. The fusogenic tilted peptide (67-78) of α -synuclein is a cholesterol binding domain. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Oct;1808[10]:2343–51.

382. Elliott DA, Weickert CS, Garner B. Apolipoproteins in the brain: implications for neurological and psychiatric disorders. *Clin Lipidol*. 2010 Aug 1;51[4]:555–73.
383. Varkey J, Isas JM, Mizuno N, Jensen MB, Bhatia VK, Jao CC, et al. Membrane curvature induction and tubulation are common features of synucleins and apolipoproteins. *J Biol Chem*. 2010 Oct 15;285[42]:32486–93.
384. Alonso A, Huang X, Mosley TH, Heiss G, Chen H. Heart rate variability and the risk of Parkinson disease: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Ann Neurol*. 2015 May;77[5]:877–83.
385. Braesch-Andersen S, Beckman L, Paulie S, Kumagai-Braesch M. ApoD mediates binding of HDL to LDL and to growing T24 carcinoma. *PLoS One*. 2014;9[12]:e115180.
386. Zhao N, Liu C-C, Qiao W, Bu G. Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry*. 2018 Feb 15;83[4]:347–57.
387. Riedel BC, Thompson PM, Brinton RD. Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016 Jun;160:134–47.
388. Yamazaki Y, Painter MM, Bu G, Kanekiyo T. Apolipoprotein E as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease: A Review of Basic Research and Clinical Evidence. *CNS Drugs*. 2016 Sep;30[9]:773–89.
389. Phillips MC. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life*. 2014 Sep;66[9]:616–23.
390. Blázquez L, Otaegui D, Sáenz A, Paisán-Ruiz C, Emparanza JI, Ruiz-Martinez J, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele in familial and sporadic Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2006 Oct 9;406[3]:235–9.
391. Federoff M, Jimenez-Rolando B, Nalls MA, Singleton AB. A large study reveals no association between APOE and Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*. 2012 May;46[2]:389–92.

392. Multhammer M, Michels A, Zintl M, Mendoza MC, Klünemann H-H. A large ApoE $\epsilon 4/\epsilon 4$ homozygous cohort reveals no association with Parkinson's disease. *Acta Neurol Belg*. 2014 Mar;114[1]:25–31.
393. Factor SA, Steenland NK, Higgins DS, Molho ES, Kay DM, Montimurro J, et al. Postural instability/gait disturbance in Parkinson's disease has distinct subtypes: an exploratory analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011 May;82[5]:564–8.
394. Parsian A, Racette B, Goldsmith LJ, Perlmutter JS. Parkinson's disease and apolipoprotein E: possible association with dementia but not age at onset. *Genomics*. 2002 Mar;79[3]:458–61.
395. Tsuang D, Leverenz JB, Lopez OL, Hamilton RL, Bennett DA, Schneider JA, et al. APOE $\epsilon 4$ increases risk for dementia in pure synucleinopathies. *JAMA Neurol*. 2013 Feb;70[2]:223–8.
396. Hayashi H, Campenot RB, Vance DE, Vance JE. Apolipoprotein E-containing lipoproteins protect neurons from apoptosis via a signaling pathway involving low-density lipoprotein receptor-related protein-1. *J Neurosci*. 2007 Feb 21;27[8]:1933–41.
397. Oeseburg H, de Boer RA, van Gilst WH, van der Harst P. Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflugers Arch*. 2010 Jan;459[2]:259–68.
398. von Figura G, Hartmann D, Song Z, Rudolph KL. Role of telomere dysfunction in aging and its detection by biomarkers. *J Mol Med (Berl)*. 2009 Dec;87[12]:1165–71.
399. Shay JW. Role of Telomeres and Telomerase in Aging and Cancer. *Cancer Discov*. 2016 Jun;6[6]:584–93.
400. Anitha A, Thanseem I, Vasu MM, Viswambharan V, Poovathinal SA. Telomeres in neurological disorders. *Adv Clin Chem*. 2019;90:81–132.
401. Reichert S, Stier A. Does oxidative stress shorten telomeres in vivo? A review. *Biol Lett*. 2017 Dec;13[12].
402. Boonekamp JJ, Bauch C, Mulder E, Verhulst S. Does oxidative stress shorten telomeres? *Biol Lett*. 2017 May;13[5].

403. Thanseem I, Viswambharan V, Poovathinal SA, Anitha A. Is telomere length a biomarker of neurological disorders? *Biomark Med.* 2017 Sep;11[9]:799–810.
404. Rudolph KL, Chang S, Lee HW, Blasco M, Gottlieb GJ, Greider C, et al. Longevity, stress response, and cancer in aging telomerase-deficient mice. *Cell.* 1999 Mar 5;96[5]:701–12.
405. Jaskelioff M, Muller FL, Paik J-H, Thomas E, Jiang S, Adams AC, et al. Telomerase reactivation reverses tissue degeneration in aged telomerase-deficient mice. *Nature.* 2011 Jan 6;469[7328]:102–6.
406. Rolyan H, Scheffold A, Heinrich A, Begus-Nahrman Y, Langkopf BH, Hölter SM, et al. Telomere shortening reduces Alzheimer's disease amyloid pathology in mice. *Brain.* 2011 Jul;134[Pt 7]:2044–56.
407. Oeckl P, Scheffold A, Lechel A, Rudolph KL, Ferger B. Substantial telomere shortening in the substantia nigra of telomerase-deficient mice does not increase susceptibility to MPTP-induced dopamine depletion. *Neuroreport.* 2014 Mar 26;25[5]:335–9.
408. Eitan E, Hutchison ER, Mattson MP. Telomere shortening in neurological disorders: an abundance of unanswered questions. *Trends Neurosci.* 2014 May;37[5]:256–63.
409. Hudson G, Faini D, Stutt A, Eccles M, Robinson L, Burn DJ, et al. No evidence of substantia nigra telomere shortening in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* 2011 Nov;32[11]:2107.e3-5.
410. Jenkins EC, Ye L, Gu H, Ni SA, Velinov M, Pang D, et al. Shorter telomeres may indicate dementia status in older individuals with Down syndrome. *Neurobiol Aging.* 2010 May;31[5]:765–71.
411. Ding X, Liu X, Wang F, Wang F, Geng X. Role of Senescence and Neuroprotective Effects of Telomerase in Neurodegenerative Diseases. *Rejuvenation Res.* 2020 Apr;23[2]:150–8.

412. Eerola J, Kananen L, Manninen K, Hellström O, Tienari PJ, Hovatta I. No evidence for shorter leukocyte telomere length in Parkinson's disease patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010 Nov;65[11]:1181–4.
413. Watfa G, Dragonas C, Brosche T, Dittrich R, Sieber CC, Alecu C, et al. Study of telomere length and different markers of oxidative stress in patients with Parkinson's disease. *J Nutr Health Aging*. 2011 Apr;15[4]:277–81.
414. Degerman S, Domellöf M, Landfors M, Linder J, Lundin M, Haraldsson S, et al. Long leukocyte telomere length at diagnosis is a risk factor for dementia progression in idiopathic parkinsonism. *PLoS One*. 2014;9[12]:e113387.
415. Guan JZ, Maeda T, Sugano M, Oyama J, Higuchi Y, Suzuki T, et al. A percentage analysis of the telomere length in Parkinson's disease patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008 May;63[5]:467–73.
416. Maeda T, Guan JZ, Koyanagi M, Higuchi Y, Makino N. Aging-associated alteration of telomere length and subtelomeric status in female patients with Parkinson's disease. *J Neurogenet*. 2012 Jun;26[2]:245–51.
417. Wang H, Chen H, Gao X, McGrath M, Deer D, De Vivo I, et al. Telomere length and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2008 Jan 30;23[2]:302–5.
418. Schürks M, Buring J, Dushkes R, Gaziano JM, Zee RYL, Kurth T. Telomere length and Parkinson's disease in men: a nested case-control study. *Eur J Neurol*. 2014;21[1]:93–9.
419. Forero DA, González-Giraldo Y, López-Quintero C, Castro-Vega LJ, Barreto GE, Perry G. Telomere length in Parkinson's disease: A meta-analysis. *Exp Gerontol*. 2016 Mar;75:53–5.
420. Primer designing tool [Internet]. [cited 2020 Dec 21]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>
421. Vincze T, Posfai J, Roberts RJ. NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2003 Jul 1 [cited 2020 Dec 21];31[13]:3688–91. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC168933/>

422. Duque AF, Lopez JC, Benitez B, Hernandez H, Yunis JJ, Fernandez W, et al. Analysis of the LRRK2 p.G2019S mutation in Colombian Parkinson's Disease Patients. *Colomb Med (Cali)*. 2015 Sep 30;46[3]:117–21.

423. Абрамычева Н.Ю., Багыева Г.Х., Ключников С. А., Федотова Е.Ю., Иванова-Смоленска И. А., Иллариошкин С. Н. Мутации в гене GBA при болезни Паркинсона. *Медицинская генетика*. 2011;5:22–7.

424. Roszak A, Lianeri M, Sowińska A, Jagodziński PP. CYP1A1 Ile462Val polymorphism as a risk factor in cervical cancer development in the Polish population. *Mol Diagn Ther*. 2014 Aug;18[4]:445–50.

425. Wu W, Lu J, Tang Q, Zhang S, Yuan B, Li J, et al. GSTM1 and GSTT1 null polymorphisms and male infertility risk: an updated meta-analysis encompassing 6934 subjects. *Sci Rep*. 2013;3:2258.

426. Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U. Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. *Clin Chem*. 1997 Sep;43[9]:1657–9.

427. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res*. 2009 Feb;37[3]:e21.

428. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002 May 15;30[10]:e47.

429. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. [Internet]. [cited 2020 Dec 27]. Available from: https://medprint.ru/index.php?_route_=978-5-98811-325-6

430. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA [PDF] [Internet]. [cited 2020 Dec 27]. Available from: <https://www.twirpx.com/file/1440496/>

431. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [DJVU DOC XLS] [Internet]. [cited 2020 Dec 27]. Available from: <https://www.twirpx.com/file/223261/>

432. Коляда АК, Соседко АС, Чивликли МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Мутации генов LRRK2, GBA и SNCA, ассоциированных с болезнью Паркинсона у жителей Украины. Пробл старения и долголетия. 2015;24[1]:14–20.

433. Коляда АК, Вайсерман АМ, Красненков ДС, Плетнева ТВ, Карабань ТВ. Изучение молекулярно-генетических маркеров болезни Паркинсона в Украине. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2015;16:210–5.

434. Коляда АК. Исследование генетического и эпигенетического полиморфизма генов паркинов при болезни Паркинсона. In: Матеріали VII міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери». Харків, Україна; 2012. p. 86.

435. Коляда АК, Чивликлий МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Роль генетических факторов в патогенезе болезни Паркинсона. In: Тези VI Національного конгресу геронтологів і геріатрів України. Київ, Україна; 2016. p. 74–5.

436. Коляда АК. Полиморфизм и метилирование генов, ассоциированных с болезнью Паркинсона. In: Тезисы докладов и стендовых сообщений V международной школы молодых ученых по молекулярной генетике «Непостоянство генома». Москва-Звенигород, Россия; 2012. p. 33.

437. Коляда АК, Вайсерман АМ. Мутация G2019S в гене LRRK2 у больных болезнью Паркинсона в украинской популяции. In: Матеріали X міжнародної наукової конференції студентів та молодих науковців “Шевченківська весна 2012: біологічні науки.” Київ, Україна; 2012. p. 158.

438. Lesage S, Brice A. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. Hum Mol Genet. 2009 Apr 15;18[R1]:R48-59.

439. Aasly JO, Toft M, Fernandez-Mata I, Kachergus J, Hulihan M, White LR, et al. Clinical features of LRRK2-associated Parkinson's disease in central Norway. Ann Neurol. 2005 May;57[5]:762–5.

440. Goldwurm S, Zini M, Di Fonzo A, De Gaspari D, Siri C, Simons EJ, et al. LRRK2 G2019S mutation and Parkinson's disease: a clinical, neuropsychological and neuropsychiatric study in a large Italian sample. *Parkinsonism Relat Disord*. 2006 Oct;12[7]:410–9.

441. Mata IF, Samii A, Schneer SH, Roberts JW, Griffith A, Leis BC, et al. Glucocerebrosidase gene mutations: a risk factor for Lewy body disorders. *Arch Neurol*. 2008 Mar;65[3]:379–82.

442. Tammachote R, Tongkobpetch S, Srichomthong C, Phipatthanani K, Pungkanon S, Wattanasirichaigoon D, et al. A common and two novel GBA mutations in Thai patients with Gaucher disease. *J Hum Genet*. 2013 Sep;58[9]:594–9.

443. Brighina L, Frigerio R, Schneider NK, Lesnick TG, de Andrade M, Cunningham JM, et al. Alpha-synuclein, pesticides, and Parkinson disease: a case-control study. *Neurology*. 2008 Apr 15;70[16 Pt 2]:1461–9.

444. Hruska KS, LaMarca ME, Scott CR, Sidransky E. Gaucher disease: mutation and polymorphism spectrum in the glucocerebrosidase gene (GBA). *Hum Mutat*. 2008 May;29[5]:567–83.

445. Nichols WC, Pankratz N, Marek DK, Pauciulo MW, Elsaesser VE, Halter CA, et al. Mutations in GBA are associated with familial Parkinson disease susceptibility and age at onset. *Neurology*. 2009 Jan 27;72[4]:310–6.

446. Коляда АК, Вайсерман АМ, Наумчук ДС. Генетичні та біохімічні маркери стану ліпідного обміну при хворобі Паркінсона. *Пробл старения и долголетия*. 2014;23[1]:44–51.

447. Коляда ОК, Вайсерман ОМ, Карабань ІМ. Асоціація поліморфізмів генів CYP1A1 та GSTM1 з ризиком розвитку хвороби Паркінсона в українській популяції. *Пробл старения и долголетия*. 2013;22[3]:288–93.

448. Коляда ОК. До питання про поліморфізм генів GSTM1 та CYP1A1 у пацієнтів з хворобою Паркінсона. In: *Матеріали VIII міжнародної*

конференції молодих учених «Біологія: від молекули до біосфери». Харків, Україна; 2013. р. 60.

449. Коляда ОК. Молекулярні маркери хвороби Паркінсона в Україні. In: Тези доповідей III Науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція». Харків, Україна; 2020. р. 133.

450. Коляда АК, Плетнева ТВ, Соседко АС, Чивликлий МА, Вайсерман АМ, Карабань ИН. Генетические факторы риска развития болезни Паркинсона в Украине. Вісник Дніпропетровського університету Біологія, медицина. 2015;6[1]:45–50.

451. Баранов ВС, Баранова ЕВ, Иващенко ТЭ, Асеев МВ. Геном человека и гены предрасположенности. Введение в предиктивную медицину. Интермедика; 2000. 272 р.

452. Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*. 2005 Aug;18[4]:363–9.

453. Nicholl DJ, Bennett P, Hiller L, Bonifati V, Vanacore N, Fabbrini G, et al. A study of five candidate genes in Parkinson's disease and related neurodegenerative disorders. European Study Group on Atypical Parkinsonism. *Neurology*. 1999 Oct 22;53[7]:1415–21.

454. Hayes JD, Strange RC. Potential contribution of the glutathione S-transferase supergene family to resistance to oxidative stress. *Free Radic Res*. 1995 Mar;22[3]:193–207.

455. Baez S, Segura-Aguilar J, Widersten M, Johansson AS, Mannervik B. Glutathione transferases catalyse the detoxication of oxidized metabolites (o-quinones) of catecholamines and may serve as an antioxidant system preventing degenerative cellular processes. *Biochem J*. 1997 May 15;324 (Pt 1):25–8.

456. Ahmadi A, Fredrikson M, Jerregård H, Akerbäck A, Fall PA, Rannug A, et al. GSTM1 and mEPHX polymorphisms in Parkinson's disease and age of onset. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Mar 24;269[3]:676–80.

457. Tison F, Coutelle C, Henry P, Cassaigne A. Glutathion S-transferase (class mu) phenotype in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 1994 Jan;9[1]:117–8.

458. Bandmann O, Vaughan JR, Holmans P, Marsden CD, Wood NW. Detailed genotyping demonstrates association between the slow acetylator genotype for N-acetyltransferase 2 (NAT2) and familial Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2000 Jan;15[1]:30–5.

459. Illarioshkin SN, Shadrina MI, Slominsky PA, Beshpalova EV, Zagorovskaya TB, Bagyeva GK, et al. A common leucine-rich repeat kinase 2 gene mutation in familial and sporadic Parkinson's disease in Russia. *Eur J Neurol.* 2007 Apr;14[4]:413–7.

460. Tan EK, Khajavi M, Thornby JI, Nagamitsu S, Jankovic J, Ashizawa T. Variability and validity of polymorphism association studies in Parkinson's disease. *Neurology.* 2000 Aug 22;55[4]:533–8.

461. Harhangi BS, de Rijk MC, van Duijn CM, Van Broeckhoven C, Hofman A, Breteler MM. APOE and the risk of PD with or without dementia in a population-based study. *Neurology.* 2000 Mar 28;54[6]:1272–6.

462. Group TFPDGS. Apolipoprotein E genotype in familial Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* [Internet]. 1997 Sep 1 [cited 2020 Dec 21];63[3]:394–5. Available from: <https://jnnp.bmj.com/content/63/3/394>

463. Tang G, Xie H, Xu L, Hao Y, Lin D, Ren D. Genetic study of apolipoprotein E gene, alpha-1 antichymotrypsin gene in sporadic Parkinson disease. *Am J Med Genet.* 2002 May 8;114[4]:446–9.

464. Longhese MP. DNA damage response at functional and dysfunctional telomeres. *Genes Dev.* 2008 Jan 15;22[2]:125–40.

465. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell.* 1999 May 14;97[4]:503–14.

466. de Lange T. Protection of mammalian telomeres. *Oncogene.* 2002 Jan 21;21[4]:532–40.

467. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 2005 Sep 15;19[18]:2100–10.
468. Cairney CJ, Keith WN. Telomerase redefined: integrated regulation of hTR and hTERT for telomere maintenance and telomerase activity. *Biochimie.* 2008 Jan;90[1]:13–23.
469. Zhao Y, Sfeir AJ, Zou Y, Buseman CM, Chow TT, Shay JW, et al. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells. *Cell.* 2009 Aug 7;138[3]:463–75.
470. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1965 Mar;37:614–36.
471. Mitchell JR, Cheng J, Collins K. A box H/ACA small nucleolar RNA-like domain at the human telomerase RNA 3' end. *Mol Cell Biol.* 1999 Jan;19[1]:567–76.
472. Aviv A, Valdes A, Gardner JP, Swaminathan R, Kimura M, Spector TD. Menopause modifies the association of leukocyte telomere length with insulin resistance and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Feb;91[2]:635–40.
473. von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci.* 2002 Jul;27[7]:339–44.
474. Freck RW, Blackburn EH, Shannon KM. The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 May 12;95[10]:5607–10.
475. Friedrich U, Griese E, Schwab M, Fritz P, Thon K, Klotz U. Telomere length in different tissues of elderly patients. *Mech Ageing Dev.* 2000 Nov 15;119[3]:89–99.
476. Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, Thomas TE, Harley CB, Lansdorp PM. Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994 Oct 11;91[21]:9857–60.

477. Brouillette S, Singh RK, Thompson JR, Goodall AH, Samani NJ. White cell telomere length and risk of premature myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 May 1;23[5]:842–6.
478. Ogami M, Ikura Y, Ohsawa M, Matsuo T, Kayo S, Yoshimi N, et al. Telomere shortening in human coronary artery diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Mar;24[3]:546–50.
479. Uziel O, Singer JA, Danicek V, Sahar G, Berkov E, Luchansky M, et al. Telomere dynamics in arteries and mononuclear cells of diabetic patients: effect of diabetes and of glycemic control. *Exp Gerontol.* 2007 Oct;42[10]:971–8.
480. Panossian LA, Porter VR, Valenzuela HF, Zhu X, Reback E, Masterman D, et al. Telomere shortening in T cells correlates with Alzheimer's disease status. *Neurobiol Aging.* 2003 Feb;24[1]:77–84.
481. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet.* 2005 Aug 20;366[9486]:662–4.
482. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101[49]:17312–5.
483. Kolyada AK, Vaiserman AM, Krasnenkov DS, Karaban' IN. The study of telomere length in patients with Parkinson disease. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2014;114[8]:58–61.
484. Kumari U, Tan EK. LRRK2 in Parkinson's disease: genetic and clinical studies from patients. *FEBS J.* 2009 Nov;276[22]:6455–63.
485. Bardien S, Lesage S, Brice A, Carr J. Genetic characteristics of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) associated Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2011 Aug;17[7]:501–8.
486. Nichols WC, Pankratz N, Hernandez D, Paisán-Ruíz C, Jain S, Halter CA, et al. Genetic screening for a single common LRRK2 mutation in familial Parkinson's disease. *Lancet.* 2005 Feb 29;365[9457]:410–2.

487. Pchelina SN, Yakimovskii AF, Emelyanov AK, Ivanova ON, Schwarzman AL, Singleton AB. Screening for LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease in Russia: identification of a novel LRRK2 variant. *Eur J Neurol*. 2008 Jul;15[7]:692–6.

488. Hernandez DG, Paisán-Ruíz C, McInerney-Leo A, Jain S, Meyer-Lindenberg A, Evans EW, et al. Clinical and positron emission tomography of Parkinson's disease caused by LRRK2. *Ann Neurol*. 2005 Mar;57[3]:453–6.

489. Gaig C, Ezquerra M, Marti MJ, Muñoz E, Valldeoriola F, Tolosa E. LRRK2 mutations in Spanish patients with Parkinson disease: frequency, clinical features, and incomplete penetrance. *Arch Neurol*. 2006 Mar;63[3]:377–82.

490. Mata IF, Wedemeyer WJ, Farrer MJ, Taylor JP, Gallo KA. LRRK2 in Parkinson's disease: protein domains and functional insights. *Trends Neurosci*. 2006 May;29[5]:286–93.

491. Perez-Pastene C, Cobb SA, Díaz-Grez F, Hulihan MM, Miranda M, Venegas P, et al. Lrrk2 mutations in South America: A study of Chilean Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2007 Jul 18;422[3]:193–7.

492. Mata IF, Cosentino C, Marca V, Torres L, Mazzetti P, Ortega O, et al. LRRK2 mutations in patients with Parkinson's disease from Peru and Uruguay. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009 Jun;15[5]:370–3.

493. Pimentel MMG, Moura KCV, Abdalla CB, Pereira JS, de Rosso ALZ, Nicaretta DH, et al. A study of LRRK2 mutations and Parkinson's disease in Brazil. *Neurosci Lett*. 2008 Mar 5;433[1]:17–21.

494. Munhoz RP, Wakutani Y, Marras C, Teive HA, Raskin S, Werneck LC, et al. The G2019S LRRK2 mutation in Brazilian patients with Parkinson's disease: phenotype in monozygotic twins. *Mov Disord*. 2008 Jan 30;23[2]:290–4.

495. Santos-Rebouças CB, Abdalla CB, Baldi FJR, Martins PA, Corrêa JC, Gonçalves AP, et al. Co-occurrence of sporadic parkinsonism and late-onset Alzheimer's disease in a Brazilian male with the LRRK2 p.G2019S mutation. *Genet Test*. 2008 Dec;12[4]:471–3.

496. Lu C-S, Simons EJ, Wu-Chou Y-H, Fonzo AD, Chang H-C, Chen R-S, et al. The LRRK2 I2012T, G2019S, and I2020T mutations are rare in Taiwanese patients with sporadic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2005 Dec;11[8]:521–2.

497. Zabetian CP, Morino H, Ujike H, Yamamoto M, Oda M, Maruyama H, et al. Identification and haplotype analysis of LRRK2 G2019S in Japanese patients with Parkinson disease. *Neurology*. 2006 Aug 22;67[4]:697–9.

498. Fung H-C, Chen C-M, Hardy J, Singleton AB, Wu Y-R. A common genetic factor for Parkinson disease in ethnic Chinese population in Taiwan. *BMC Neurol*. 2006 Dec 22;6:47.

499. Punia S, Behari M, Govindappa ST, Swaminath PV, Jayaram S, Goyal V, et al. Absence/rarity of commonly reported LRRK2 mutations in Indian Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett*. 2006 Dec 1;409[2]:83–8.

500. Tomiyama H, Li Y, Funayama M, Hasegawa K, Yoshino H, Kubo S-I, et al. Clinicogenetic study of mutations in LRRK2 exon 41 in Parkinson's disease patients from 18 countries. *Mov Disord*. 2006 Aug;21[8]:1102–8.

501. Shojaee S, Sina F, Farboodi N, Fazlali Z, Ghazavi F, Ghorashi SA, et al. A clinic-based screening of mutations in exons 31, 34, 35, 41, and 48 of LRRK2 in Iranian Parkinson's disease patients. *Mov Disord*. 2009 May 15;24[7]:1023–7.

502. Ishihara L, Gibson RA, Warren L, Amouri R, Lyons K, Wielinski C, et al. Screening for Lrrk2 G2019S and clinical comparison of Tunisian and North American Caucasian Parkinson's disease families. *Mov Disord*. 2007 Jan;22[1]:55–61.

503. Warren L, Gibson R, Ishihara L, Elango R, Xue Z, Akkari A, et al. A founding LRRK2 haplotype shared by Tunisian, US, European and Middle Eastern families with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2008;14[1]:77–80.

504. Lesage S, Belarbi S, Troiano A, Condroyer C, Hecham N, Pollak P, et al. Is the common LRRK2 G2019S mutation related to dyskinesias in North African Parkinson disease? *Neurology*. 2008 Nov 4;71[19]:1550–2.
505. Hulihan MM, Ishihara-Paul L, Kachergus J, Warren L, Amouri R, Elango R, et al. LRRK2 Gly2019Ser penetrance in Arab-Berber patients from Tunisia: a case-control genetic study. *Lancet Neurol*. 2008 Jul;7[7]:591–4.
506. Ishihara L, Warren L, Gibson R, Amouri R, Lesage S, Dürr A, et al. Clinical features of Parkinson disease patients with homozygous leucine-rich repeat kinase 2 G2019S mutations. *Arch Neurol*. 2006 Sep;63[9]:1250–4.
507. Hardy J, Lewis P, Revesz T, Lees A, Paisan-Ruiz C. The genetics of Parkinson's syndromes: a critical review. *Curr Opin Genet Dev*. 2009 Jun;19[3]:254–65.
508. Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, Nussbaum RL, McInerney-Leo A, Sidransky E. Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet*. 2004 Dec;41[12]:937–40.
509. Tong Y, Shen J. Genetic analysis of Parkinson's disease-linked leucine-rich repeat kinase 2. *Biochem Soc Trans*. 2012 Oct;40[5]:1042–6.
510. Martí-Massó J-F, Ruiz-Martínez J, Bolaño MJ, Ruiz I, Gorostidi A, Moreno F, et al. Neuropathology of Parkinson's disease with the R1441G mutation in LRRK2. *Mov Disord*. 2009 Oct 15;24[13]:1998–2001.
511. Ross OA, Spanaki C, Griffith A, Lin C-H, Kachergus J, Haugarvoll K, et al. Haplotype analysis of Lrrk2 R1441H carriers with parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord*. 2009 Jul;15[6]:466–7.
512. Zhang Z, Burgunder J-M, An X, Wu Y, Chen W, Zhang J, et al. LRRK2 R1628P variant is a risk factor of Parkinson's disease among Han-Chinese from mainland China. *Mov Disord*. 2009 Oct 15;24[13]:1902–5.
513. Gatto EM, Parisi V, Converso DP, Poderoso JJ, Carreras MC, Martí-Massó JF, et al. The LRRK2 G2019S mutation in a series of Argentinean patients with Parkinson's disease: clinical and demographic characteristics. *Neurosci Lett*. 2013 Mar 14;537:1–5.

514. Hasegawa K, Stoessl AJ, Yokoyama T, Kowa H, Wszolek ZK, Yagishita S. Familial parkinsonism: study of original Sagamihara PARK8 (I2020T) kindred with variable clinicopathologic outcomes. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009 May;15[4]:300–6.

515. Di Fonzo A, Wu-Chou Y-H, Lu C-S, van Doeselaar M, Simons EJ, Rohé CF, et al. A common missense variant in the LRRK2 gene, Gly2385Arg, associated with Parkinson's disease risk in Taiwan. *Neurogenetics.* 2006 Jul;7[3]:133–8.

516. Chetrit EB, Alcalay RN, Steiner-Birmanns B, Altarescu G, Phillips M, Elstein D, et al. Phenotype in patients with Gaucher disease and Parkinson disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2013 Mar;50[3]:218–21.

517. Rana HQ, Balwani M, Bier L, Alcalay RN. Age-specific Parkinson disease risk in GBA mutation carriers: information for genetic counseling. *Genet Med.* 2013 Feb;15[2]:146–9.

518. Anheim M, Elbaz A, Lesage S, Durr A, Condroyer C, Viallet F, et al. Penetrance of Parkinson disease in glucocerebrosidase gene mutation carriers. *Neurology.* 2012 Feb 7;78[6]:417–20.

519. Rosenbloom B, Balwani M, Bronstein JM, Kolodny E, Sathe S, Gwosdow AR, et al. The incidence of Parkinsonism in patients with type 1 Gaucher disease: data from the ICGG Gaucher Registry. *Blood Cells Mol Dis.* 2011 Jan 15;46[1]:95–102.

520. Bultron G, Kacena K, Pearson D, Boxer M, Yang R, Sathe S, et al. The risk of Parkinson's disease in type 1 Gaucher disease. *J Inherit Metab Dis.* 2010 Apr;33[2]:167–73.

521. McNeill A, Duran R, Hughes DA, Mehta A, Schapira AHV. A clinical and family history study of Parkinson's disease in heterozygous glucocerebrosidase mutation carriers. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012 Aug;83[8]:853–4.

522. Scriver CR, Sly WS, Childs B, Beaudet AL, Valle D, Kinzler KW, et al. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 4 volume set. 8th edition. New York: McGraw-Hill Professional; 2000. 6338 p.

523. Mitsui J, Mizuta I, Toyoda A, Ashida R, Takahashi Y, Goto J, et al. Mutations for Gaucher disease confer high susceptibility to Parkinson disease. *Arch Neurol*. 2009 May;66[5]:571–6.

524. Huang C-L, Wu-Chou Y-H, Lai S-C, Chang H-C, Yeh T-H, Weng Y-H, et al. Contribution of glucocerebrosidase mutation in a large cohort of sporadic Parkinson's disease in Taiwan. *Eur J Neurol*. 2011 Oct;18[10]:1227–32.

525. Aharon-Peretz J, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med*. 2004 Nov 4;351[19]:1972–7.

526. Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab*. 2004 Jan;81[1]:70–3.

527. Bras J, Paisan-Ruiz C, Guerreiro R, Ribeiro MH, Morgadinho A, Januario C, et al. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Portugal. *Neurobiol Aging*. 2009 Sep;30[9]:1515–7.

528. Neumann J, Bras J, Deas E, O'Sullivan SS, Parkkinen L, Lachmann RH, et al. Glucocerebrosidase mutations in clinical and pathologically proven Parkinson's disease. *Brain*. 2009 Jul;132[Pt 7]:1783–94.

529. Emelyanov A, Boukina T, Yakimovskii A, Usenko T, Drosdova A, Zakharchuk A, et al. Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in Russia. *Mov Disord*. 2012 Jan;27[1]:158–9.

530. Toft M, Pielsticker L, Ross OA, Aasly JO, Farrer MJ. Glucocerebrosidase gene mutations and Parkinson disease in the Norwegian population. *Neurology*. 2006 Feb 14;66[3]:415–7.

531. De Marco EV, Annesi G, Tarantino P, Rocca FE, Provenzano G, Civitelli D, et al. Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in southern Italy. *Mov Disord*. 2008 Feb 15;23[3]:460–3.

532. Jensen PH, Nielsen MS, Jakes R, Dotti CG, Goedert M. Binding of alpha-synuclein to brain vesicles is abolished by familial Parkinson's disease mutation. *J Biol Chem*. 1998 Oct 9;273[41]:26292–4.

533. Abeliovich A, Schmitz Y, Fariñas I, Choi-Lundberg D, Ho WH, Castillo PE, et al. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*. 2000 Jan;25[1]:239–52.

534. Pankratz N, Wilk JB, Latourelle JC, DeStefano AL, Halter C, Pugh EW, et al. Genomewide association study for susceptibility genes contributing to familial Parkinson disease. *Hum Genet*. 2009 Jan;124[6]:593–605.

535. Sutherland GT, Halliday GM, Silburn PA, Mastaglia FL, Rowe DB, Boyle RS, et al. Do polymorphisms in the familial Parkinsonism genes contribute to risk for sporadic Parkinson's disease? *Mov Disord*. 2009 Apr 30;24[6]:833–8.

536. Mueller JC, Fuchs J, Hofer A, Zimprich A, Lichtner P, Illig T, et al. Multiple regions of alpha-synuclein are associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 2005 Apr;57[4]:535–41.

537. Mizuta I, Satake W, Nakabayashi Y, Ito C, Suzuki S, Momose Y, et al. Multiple candidate gene analysis identifies alpha-synuclein as a susceptibility gene for sporadic Parkinson's disease. *Hum Mol Genet*. 2006 Apr 1;15[7]:1151–8.

538. Athanassiadou A, Voutsinas G, Psiouri L, Leroy E, Polymeropoulos MH, Ilias A, et al. Genetic analysis of families with Parkinson disease that carry the Ala53Thr mutation in the gene encoding alpha-synuclein. *Am J Hum Genet*. 1999 Aug;65[2]:555–8.

539. Papadimitriou A, Veletza V, Hadjigeorgiou GM, Patrikiou A, Hirano M, Anastasopoulos I. Mutated alpha-synuclein gene in two Greek kindreds with familial PD: incomplete penetrance? *Neurology*. 1999 Feb;52[3]:651–4.

540. Polymeropoulos MH, Higgins JJ, Golbe LI, Johnson WG, Ide SE, Di Iorio G, et al. Mapping of a gene for Parkinson's disease to chromosome 4q21-q23. *Science*. 1996 Nov 15;274[5290]:1197–9.

541. Martin HL, Teismann P. Glutathione--a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB J*. 2009 Oct;23[10]:3263–72.

542. Rahbar A, Kempkes M, Müller T, Reich S, Welter FL, Meves S, et al. Glutathione S-transferase polymorphism in Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2000;107[3]:331–4.

543. Wu W, Peden D, Diaz-Sanchez D. Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation. *Free Radic Biol Med*. 2012 Aug 15;53[4]:721–9.

544. Wang D, Zhai J-X, Liu D-W. Glutathione S-transferase M1 polymorphisms and Parkinson's disease risk: a meta-analysis. *Neurol Res*. 2016 Feb;38[2]:144–50.

545. Watanabe Y, Nunokawa A, Kaneko N, Someya T. A case-control study and meta-analysis of association between a common copy number variation of the glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) gene and schizophrenia. *Schizophr Res*. 2010 Dec;124[1–3]:236–7.

546. Liu L, Dana R, Yin J. Sensory neurons directly promote angiogenesis in response to inflammation via substance P signaling. *FASEB J*. 2020 May;34[5]:6229–43.

547. Qiu L-X, Wang K, Lv F-F, Chen Z-Y, Liu X, Zheng C-L, et al. GSTM1 null allele is a risk factor for gastric cancer development in Asians. *Cytokine*. 2011 Jul;55[1]:122–5.

548. Kumar V, Murthy AK, Suresh KP. Glutathione S-transferase M1 and T1 status and the risk of laryngeal cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12[9]:2221–6.

549. Zhu Y, He Q, Wang J, Pan H-F. The association between GSTM1 polymorphism and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012 Jan;39[1]:685–91.

550. Xue H, Su J, Sun K, Xie W, Wang H. Glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphism and COPD risk in smokers: an updated analysis. *Mol Biol Rep.* 2012 Apr;39[4]:5033–42.

551. Wang J, Zou L, Huang S, Lu F, Lang X, Han L, et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase genes GSTM1, GSTT1 and risk of coronary heart disease. *Mutagenesis.* 2010 Jul;25[4]:365–9.

552. Marcos M, Pastor I, Chamorro A-J, Ciria-Abad S, González-Sarmiento R, Laso F-J. Meta-analysis: glutathione-S-transferase allelic variants are associated with alcoholic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Nov;34[10]:1159–72.

553. Harada S, Fujii C, Hayashi A, Ohkoshi N. An association between idiopathic Parkinson's disease and polymorphisms of phase II detoxification enzymes: glutathione S-transferase M1 and quinone oxidoreductase 1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Nov 9;288[4]:887–92.

554. Dick FD, De Palma G, Ahmadi A, Osborne A, Scott NW, Prescott GJ, et al. Gene-environment interactions in parkinsonism and Parkinson's disease: the Geoparkinson study. *Occup Environ Med.* 2007 Oct;64[10]:673–80.

555. Gonzalez FJ. The molecular biology of cytochrome P450s. *Pharmacol Rev.* 1988 Dec;40[4]:243–88.

556. Hayashi S, Watanabe J, Nakachi K, Kawajiri K. Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P450IA1 gene. *J Biochem.* 1991 Sep;110[3]:407–11.

557. Kurz MW, Dekomien G, Nilsen OB, Larsen JP, Aarsland D, Alves G. APOE alleles in Parkinson disease and their relationship to cognitive decline: a population-based, longitudinal study. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2009 Sep;22[3]:166–70.

558. Mahley RW, Rall SC. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2000;1:507–37.

559. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993 Aug 13;261[5123]:921–3.
560. Strittmatter WJ, Roses AD. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci*. 1996;19:53–77.
561. Kurz MW, Schlitter AM, Larsen JP, Ballard C, Aarsland D. Familial occurrence of dementia and parkinsonism: a systematic review. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006;22[4]:288–95.
562. Zarepari S, Kaye J, Camicioli R, Grimslid H, Oken B, Litt M, et al. Modulation of the age at onset of Parkinson's disease by apolipoprotein E genotypes. *Ann Neurol*. 1997 Oct;42[4]:655–8.
563. Pankratz N, Byder L, Halter C, Rudolph A, Shults CW, Conneally PM, et al. Presence of an APOE4 allele results in significantly earlier onset of Parkinson's disease and a higher risk with dementia. *Mov Disord*. 2006 Jan;21[1]:45–9.
564. López M, Guerrero J, Yescas P, Boll M-C, Familiar I, Ochoa A, et al. Apolipoprotein E epsilon4 allele is associated with Parkinson disease risk in a Mexican Mestizo population. *Mov Disord*. 2007 Feb 15;22[3]:417–20.
565. Li YJ, Hauser MA, Scott WK, Martin ER, Booze MW, Qin XJ, et al. Apolipoprotein E controls the risk and age at onset of Parkinson disease. *Neurology*. 2004 Jun 8;62[11]:2005–9.
566. Buchanan DD, Silburn PA, Prince JA, Mellick GD. Association of APOE with Parkinson disease age-at-onset in women. *Neurosci Lett*. 2007 Jan 16;411[3]:185–8.
567. Ezquerra M, Campdelacreu J, Gaig C, Compta Y, Muñoz E, Martí MJ, et al. Lack of association of APOE and tau polymorphisms with dementia in Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2008 Dec 19;448[1]:20–3.

568. Gallegos-Arreola MP, Figuera LE, Ortiz GG, Jiménez-Gil FJ, Ramírez-Vega J, Ruíz-Sandoval JL, et al. Apolipoprotein E genotypes in Mexican patients with Parkinson's disease. *Dis Markers*. 2009;27[5]:225–30.

569. Huang X, Chen P, Kaufer DI, Tröster AI, Poole C. Apolipoprotein E and dementia in Parkinson disease: a meta-analysis. *Arch Neurol*. 2006 Feb;63[2]:189–93.

570. Martinez M, Brice A, Vaughan JR, Zimprich A, Breteler MMB, Meco G, et al. Apolipoprotein E4 is probably responsible for the chromosome 19 linkage peak for Parkinson's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2005 Jul 5;136B[1]:72–4.

571. Ryu HG, Kwon OD. Apolipoprotein E epsilon 4 allele is not associated with age at onset or MMSE of Parkinson's disease in a Korean study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2010 Nov;16[9]:615–7.

572. Vefring H, Haugarvoll K, Tysnes O-B, Larsen JP, Kurz MW, Norwegian ParkWest Study group. The role of APOE alleles in incident Parkinson's disease. The Norwegian ParkWest Study. *Acta Neurol Scand*. 2010 Dec;122[6]:438–41.

573. Huang X, Chen PC, Poole C. APOE-[epsilon]2 allele associated with higher prevalence of sporadic Parkinson disease. *Neurology*. 2004 Jun 22;62[12]:2198–202.

574. Oliveri RL, Nicoletti G, Cittadella R, Manna I, Branca D, Zappia M, et al. Apolipoprotein E polymorphisms and Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 1999 Dec 24;277[2]:83–6.

575. St Clair D, Norrman J, Perry R, Yates C, Wilcock G, Brookes A. Apolipoprotein E epsilon 4 allele frequency in patients with Lewy body dementia, Alzheimer's disease and age-matched controls. *Neurosci Lett*. 1994 Jul 18;176[1]:45–6.

576. Tsuang DW, Wilson RK, Lopez OL, Luedeking-Zimmer EK, Leverenz JB, DeKosky ST, et al. Genetic association between the APOE*4 allele and Lewy bodies in Alzheimer disease. *Neurology*. 2005 Feb 8;64[3]:509–13.

577. Gearing M, Schneider JA, Rebeck GW, Hyman BT, Mirra SS. Alzheimer's disease with and without coexisting Parkinson's disease changes: apolipoprotein E genotype and neuropathologic correlates. *Neurology*. 1995 Nov;45[11]:1985–90.
578. Apolipoprotein E genotype in familial Parkinson's disease. The French Parkinson's Disease Genetics Study Group - PubMed [Internet]. [cited 2020 Dec 12]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9328263/>
579. de Lau LML, Schipper CMA, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MMB. Prognosis of Parkinson disease: risk of dementia and mortality: the Rotterdam Study. *Arch Neurol*. 2005 Aug;62[8]:1265–9.
580. Thomas P, O' Callaghan NJ, Fenech M. Telomere length in white blood cells, buccal cells and brain tissue and its variation with ageing and Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*. 2008 Apr;129[4]:183–90.
581. Cipriano C, Tesei S, Malavolta M, Giacconi R, Muti E, Costarelli L, et al. Accumulation of cells with short telomeres is associated with impaired zinc homeostasis and inflammation in old hypertensive participants. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009 Jul;64[7]:745–51.
582. Ilmonen P, Kotrschal A, Penn DJ. Telomere attrition due to infection. *PLoS One*. 2008 May 14;3[5]:e2143.
583. Carrero JJ, Stenvinkel P, Fellström B, Qureshi AR, Lamb K, Heimbürger O, et al. Telomere attrition is associated with inflammation, low fetuin-A levels and high mortality in prevalent haemodialysis patients. *J Intern Med*. 2008 Mar;263[3]:302–12.
584. Aviv A. Telomeres and human aging: facts and fibs. *Sci Aging Knowledge Environ*. 2004 Dec 22;2004[51]:pe43.
585. Kawanishi S, Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Jun;1019:278–84.
586. Sitte N, Saretzki G, von Zglinicki T. Accelerated telomere shortening in fibroblasts after extended periods of confluency. *Free Radic Biol Med*. 1998 Apr;24[6]:885–93.

587. Zglinicki T von, Martin-Ruiz CM, Saretzki G. Telomeres, cell senescence and human ageing. *Signal Transduction* [Internet]. 2005 [cited 2020 Dec 13];5[3]:103–14. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/sita.200400049>
588. Petersen S, Saretzki G, von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 1998 Feb 25;239[1]:152–60.
589. Richter T, Saretzki G, Nelson G, Melcher M, Olijslagers S, von Zglinicki T. TRF2 overexpression diminishes repair of telomeric single-strand breaks and accelerates telomere shortening in human fibroblasts. *Mech Ageing Dev*. 2007 Apr;128[4]:340–5.
590. Beyne-Rauzy O, Recher C, Dastugue N, Demur C, Pottier G, Laurent G, et al. Tumor necrosis factor alpha induces senescence and chromosomal instability in human leukemic cells. *Oncogene*. 2004 Sep 30;23[45]:7507–16.
591. Jiang T, Sun Q, Chen S. Oxidative stress: A major pathogenesis and potential therapeutic target of antioxidative agents in Parkinson's disease and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol*. 2016;147:1–19.
592. Naduthota RM, Bharath RD, Jhunjhunwala K, Yadav R, Saini J, Christopher R, et al. Imaging biomarker correlates with oxidative stress in Parkinson's disease. *Neurol India*. 2017 Apr;65[2]:263–8.
593. Bolner A, Micciolo R, Bosello O, Nordera GP. A Panel of Oxidative Stress Markers in Parkinson's Disease. *Clin Lab*. 2016;62[1–2]:105–12.
594. Sankhla CS. Oxidative stress and Parkinson's disease. *Neurol India*. 2017 Apr;65[2]:269–70.
595. Hassanzadeh K, Rahimmi A. Oxidative stress and neuroinflammation in the story of Parkinson's disease: Could targeting these pathways write a good ending? *J Cell Physiol*. 2018;234[1]:23–32.
596. Raza C, Anjum R, Shakeel NUA. Parkinson's disease: Mechanisms, translational models and management strategies. *Life Sci*. 2019 Jun 1;226:77–90.

597. Hemmati-Dinarvand M, Saedi S, Valilo M, Kalantary-Charvadeh A, Alizadeh Sani M, Kargar R, et al. Oxidative stress and Parkinson's disease: conflict of oxidant-antioxidant systems. *Neurosci Lett*. 2019 14;709:134296.

598. Crotty GF, Ascherio A, Schwarzschild MA. Targeting urate to reduce oxidative stress in Parkinson disease. *Exp Neurol*. 2017;298[Pt B]:210–24.

599. Trist BG, Hare DJ, Double KL. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell*. 2019;18[6]:e13031.

600. Puspita L, Chung SY, Shim J-W. Oxidative stress and cellular pathologies in Parkinson's disease. *Mol Brain*. 2017 Nov 28;10[1]:53.

601. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Sep 13;226[2]:561–5.

602. Radunović A, Porto WG, Zeman S, Leigh PN. Increased mitochondrial superoxide dismutase activity in Parkinson's disease but not amyotrophic lateral sclerosis motor cortex. *Neurosci Lett*. 1997 Dec 19;239[2–3]:105–8.

603. Grasbon-Frodl EM, Kösel S, Riess O, Müller U, Mehraein P, Graeber MB. Analysis of mitochondrial targeting sequence and coding region polymorphisms of the manganese superoxide dismutase gene in German Parkinson disease patients. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999 Feb 24;255[3]:749–52.

604. Fariss MW, Chan CB, Patel M, Van Houten B, Orrenius S. Role of mitochondria in toxic oxidative stress. *Mol Interv*. 2005 Apr;5[2]:94–111.

605. Naoi M, Maruyama W. Cell death of dopamine neurons in aging and Parkinson's disease. *Mech Ageing Dev*. 1999 Nov;111[2–3]:175–88.

606. Ogawa N, Mori A. Parkinson's disease, dopamine and free radicals. In: Cutler RG, Packer L, Bertram J, Mori A, editors. *Oxidative Stress and Aging*. Basel: Birkhäuser; 1995. p. 303–8. [Molecular and Cell Biology Updates].