

## СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ

Конарбаева А.А.\*<sup>1</sup>, Тарлыков П.В.<sup>2</sup>ТОО «Национальный центр биотехнологии», Кургальжинское шоссе, здание 13/5, Астана, 010000, Казахстан  
konarbayeva@biocenter.kz

## АБСТРАКТ

Лизосомные болезни накопления, такие как болезнь Гоше, Ниманна-Пика, Помпе, Краббе, Фабри и мукополисахаридозы, представляют собой группу из более чем 50 редких наследственных заболеваний обмена веществ, обусловленных нарушением функции лизосом, вследствие дефицита ферментов. Своевременная и точная диагностика лизосомных болезней накопления важна для правильного назначения лекарственных препаратов, проведения генетического консультирования и предотвращения тяжелых осложнений. В Казахстане диагностика лизосомных болезней накопления затруднена в связи с ограниченными лабораторными возможностями и низкой распространённостью этих заболеваний среди населения. В данном обзоре рассматриваются современные методы диагностики, включая tandemную масс-спектрометрию, секвенирование нового поколения, и тесты на ферментативную активность. Для своевременной диагностики лизосомных болезней накопления необходимо интегрировать методы молекулярно-генетической и биохимической диагностики, а также развивать национальные программы скрининга новорожденных.

**Ключевые слова:** орфанное заболевание, лизосомная болезнь накопления, болезнь Гоше, диагностика, масс-спектрометрия.

## ВВЕДЕНИЕ

Орфанные заболевания (ОЗ) или редкие заболевания представляют собой группу редких, чаще всего генетических заболеваний, затрагивающих небольшую часть населения. Орфанные заболевания (от англ. orphan diseases) — это так называемые «сиротские» или редкие заболевания. Данный термин подчеркивает не социальный статус пациента, а отсутствие коммерческого интереса со стороны фармацевтических компаний из-за низкой экономической выгоды разработки лечения ОЗ. Среди населения ОЗ встречаются крайне редко, а симптомы зачастую неспецифичны и схожи с другими патологиями, что затрудняет их своевременную диагностику и лечение. Среди ОЗ выделяется отдельная группа — лизосомные болезни накопления. Лизосомные болезни накопления (ЛБН) — это группа редких генетических заболеваний, вызванных недостаточной или нарушенной функцией лизосом, клеточных органелл ответственных за расщепление и утилизацию макромолекул, что приводит к их дальнейшему накоплению в организме пациента. Известно не менее пятидесяти ЛБН [1, 2]. Среди них одними из самых распространенных являются болезни Гоше, Ниманна-Пика, Помпе, Краббе, Фабри и мукополисахаридоз I типа, которые показаны в Таблице 1 [3]. Каждая из этих болезней вызвана мутацией в различных генах, кодирующих лизосомальные ферменты или связанные с ними белки, и характеризуется собственным набором симптомов, которые могут сильно отличаться, тем самым затрудняя первоначальную диагностику. Однако у них есть общие черты, связанные с накоплением нерасщепленных субстратов в клетках. Болезни данной группы встречаются редко, распространенность составляет 1 случай на 5000 человек. Например, встречаемость болезни Гоше (БГ), одной из наиболее распространенных среди ЛБН, составляет 1–2 на 100 000 человек в то время, как в Казахстане это число равняется 0,22 на 100 000 [2]. Однако следует учитывать, что эти данные не отражают истинную распространённость заболевания, поскольку в большинстве случаев БГ

маскируется под другие патологии и остаётся не диагностированной. Казахстан, как и многие другие страны, сталкивается со значительными трудностями в диагностике ЛБН из-за их низкой распространённости, фенотипической изменчивости и необходимости специализированного тестирования на биохимическом и генетическом уровнях. В этой обзорной статье основное внимание уделяется шести чаще всего встречаемым ЛБН – болезни Гоше, болезни Ниманна-Пика, болезни Помпе, болезни Краббе, болезни Фабри и мукополисахаридозу типа I (МПС-I) с акцентом на методы ранней диагностики.

Лизосомы — это клеточные органеллы, окруженные мембраной, которые участвуют во внутриклеточной деградации. Процесс деградации происходит при помощи гидролаз (кислых ферментов) и транспортных белков, которые облегчают расщепление и удаление субстратов в процессе эндоцитоза, аутофагии и автолиза клеток. Генетические мутации, влияющие на лизосомные ферменты или транспортные белки, нарушают катаболические процессы в организме человека, что приводит к патологической аккумуляции не деградированных субстратов в лизосомах и последующему нарушению деятельности клетки. В случаях лизосомных болезней накопления, они делятся на следующие группы в соответствии с типом аккумулирующих субстратов и мутировавших ферментов.

(1) сфинголипидозы – группа лизосомных болезней накопления, которые характеризуются накоплением сфинголипидов из-за некорректной деятельности лизосомных ферментов таких как глюкоцереброзидаза (например, болезнь Гоше, гранулематоз Фарбера, болезнь Ниманна-Пика А и В, и так далее).

(2) гликопротеинозы (нарушения накопления гликогена к которым относится болезнь Помпе, фукозидоз, маннозидоз, болезнь Данон) вызванные дефицитом кислой  $\alpha$ -глюкозидазы, что приводит к накоплению гликогена в мышечных клетках.

(3) мукополисахаридозы (МПС) – заболевания вызванные нарушением деградации *GAG* приводящие к мульти-

системной патологии соединительных тканей, олигосахаридозы и другие болезни накопления, которые включают дефекты других лизосомальных путей, приводящие к ряду клинических симптомов [4].

Несмотря на свою гетерогенную природу, эти генетические заболевания имеют схожие патофизиологические механизмы, включая лизосомную дисфункцию, воспаление, окислительный стресс и прогрессирующее повреждение тканей, особенно в нервной системе и таких органах как печень, селезенка и опорно-двигательный аппарат (кости, суставы, мышцы и нервные образования) [5].

В Казахстане, как и во многих других странах, классификация ЛБН как орфанных заболеваний представляет значительные диагностические и терапевтические сложности. Система здравоохранения страны разрабатывает специализированную инфраструктуру для лечения редких заболеваний, включая скрининг ЛБН, генетическую диагностику и ферментозаместительную терапию (ФЗТ) для успешной борьбы с данной группой болезней [6]. Одной из основных проблем в диагностике ЛБН в Казахстане является отсутствие широко распространенных программ скрининга новорожденных для этих заболеваний. В отличие от более распространенных метаболических нарушений, которые включены в национальные программы скрининга, ЛБН часто диагностируются только после появления клинических симптомов, что приводит к задержкам в лечении, а при несоблюдении правильного режима лечения к летальному исходу. Учитывая, что раннее вмешательство, особенно при таких заболеваниях, как болезнь Помпе и МПС I, играет ключевую роль в профилактике тяжелых осложнений, создание высокочувствительных методов скрининга является обязательным. Кроме того, низкая распространенность ЛБН нередко приводит к недостаточной осведомленности медицинских работников об этой группе заболеваний, методах их диагностики и лечения, что в свою очередь способствует постановке ошибочных или запоздалых диагнозов.

Клинические проявления ЛБН часто совпадают с более распространенными расстройствами, такими как аутоиммунные, нейродегенеративные заболевания или гематологические нарушения, что затрудняет диагностику, в особенности у новорожденных. Например, болезнь Гоше, которая в первую очередь поражает иммунную систему, печень и костный мозг, можно ошибочно принять за гематологические опухоли или аутоиммунные цитопении (иммунологически опосредованное разрушение и снижение числа клеток крови) [7]. Аналогично, болезнь Ниманна-Пика типа С, расстройство влияющее на метаболизм холестерина, часто проявляется нейро-психиатрическими симптомами, что приводит к неправильной классификации как психиатрический или нейродегенеративный медицинский случай [6].

Для диагностики на данный момент используется множество современных технологий, таких как тандемная масс-спектрометрия (MS/MS), секвенирование нового поколения (NGS) и анализ активности ферментов. Появление передовых диагностических методов, включает использование MS/MS, NGS и измерение активности ферментов по качественному и количественному анализу крови. Все эти технологии помогли произвести медицин-

ский прорыв в диагностике ЛБН. Однако доступ к этим технологиям остается ограниченным в Республике Казахстан, где генетическое тестирование часто осуществляется на аутсорсинге в зарубежных лабораториях, что приводит к задержкам диагностики и может негативно сказаться на состоянии здоровья ребенка. В связи с этим особенно важно ускорить сбор анамнеза и проведение диагностических процедур непосредственно в Казахстане для своевременного выявления и лечения лизосомных болезней накопления.

Один из самых простых и доступных методов для выявления ЛБН у новорожденных – это неонатальный скрининг путем тестирования пятна сухой крови (DBS; dried blood spot). Скрининг DBS с MS/MS, и/или NGS способствует раннему выявлению ЛБН у новорожденных, позволяя своевременно выявить наличие заболевания до появления необратимых осложнений и инвалидности. Интеграция услуг генетической консультации является еще одним из важных компонентов в улучшении диагностики ЛБН в Казахстане. Также учитывая аутосомно-рецессивный тип наследования большинства ЛБН, ранний генетический скрининг и консультирование врача-специалиста могут помочь выявить семьи, находящиеся в группе риска, и принять обоснованные репродуктивные решения. Расширение доступа к этим услугам является более эффективной стратегией лечения и профилактики заболеваний и возможным ключом к правильному подходу к данной проблеме.

Лизосомные болезни накопления представляют собой серьезную диагностическую проблему не только в Казахстане, но и во всем мире, особенно в регионах с ограниченным доступом к специализированным учреждениям для проведения тестирования и лечения. Тем не менее, уровень осведомленности и доступность диагностических методов постепенно растут, что способствовало успешному внедрению неонатального скрининга (НС) на некоторые ЛБН, такие как болезни Гоше, Помпе и Фабри. Подобный скрининг был успешно внедрен на Тайване, где в рамках исследования была определена частота заболеваний среди новорожденных. Было установлено, что среди ЛБН на Тайване наиболее часто встречается болезнь Фабри, а также собрана статистика по фенотипическим проявлениям заболеваний [8, 9]. Таким образом, внедрение НС может значительно ускорить диагностику лизосомных болезней накопления, а также способствовать получению более точных данных об их распространенности, генетической предрасположенности и реальной эпидемиологической ситуации.

В Казахстане классификация ЛБН как орфанных заболеваний осложняет их распознавание, что приводит к задержкам в диагностике и лечении. Однако недавние достижения в области биохимического и генетического тестирования в сочетании с ростом осведомленности медицинского и научного сообщества, открывают перспективы для совершенствования стратегий раннего выявления и терапии. В настоящем обзоре рассматриваются особенности диагностики болезни Гоше, болезни Ниманна-Пика, болезни Помпе, болезни Краббе, болезни Фабри и МПС-I в Казахстане, включая существующие проблемы и потенциальные пути их решения.

Таблица 1. Обзор наиболее распространенных лизосомных болезней накопления

ЛБН	Лизосомный фермент		Мутация гена		Основные симптомы
Болезнь Гоше	Кислая $\beta$ -глюкозидаза	ABG	<i>GBA</i>	Накопление глюкоцерамидов в макрофагах	Гепатоспленомегалия, анемия, тромбоцитопения, заболевания костей, неврологические нарушения при типах II и III
Болезнь Ниманна-Пика	Кислая сфингомиелиназа	ASM	<i>SMPD1, NPC1, NPC2</i>	Накопление сфингомиелина (типы А и В); Накопление холестерина (тип С)	Гепатоспленомегалия, нейродегенерация (тип А), респираторные заболевания (тип В), атаксия и психиатрические симптомы (тип С)
Болезнь Помпе	Кислая $\alpha$ -глюкозидаза	GSD	<i>GAA</i>	Накопление гликогена в лизосомах	Гипотония, кардиомиопатия (детская), прогрессирующая мышечная слабость, дыхательная недостаточность
Болезнь Краббе	Галактоцереброзидаза	GALC	<i>GALC</i>	Накопление галактозилцерамида и психозина	Младенчество: нейродегенерация, спастичность, проблемы с кормлением; позднее начало: снижение двигательных и когнитивных функций
Болезнь Фабри	$\alpha$ -галактозидаза	GLA	<i>GLA</i>	Накопление глоботриаозилцерамида (Gb3) в сосудистой системе	Нейропатическая боль, ангиокератомы, заболевания почек и сердечно-сосудистой системы, риск инсульта
Мукополисахаридоз	$\alpha$ -1-идуронидаза	GAG	<i>IDUA</i>	Накопление гликозаминогликанов (GAG)	Грубые черты лица, тугоподвижность суставов, помутнение роговицы, сердечные и скелетные аномалии, нейродегенерация

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### ОБЗОР ОСНОВНЫХ ЛИЗОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАКОПЛЕНИЯ: БОЛЕЗНЬ ГОШЕ

**Болезнь Гоше** (БГ) – это аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся недостатком фермента кислой  $\beta$ -глюкоцереброзидазы (GCase), что препятствует метаболизму его субстрата, глюкоцерамида (GlcCer), в лизосомах, и в последствии его деацелированного производного – глюкозилсфингозина (GlcSph или Lyso-Gb1), которые не могут расщепиться из-за отсутствия GCase. В Казахстане данное заболевание впервые было диагностировано в 2001 году в Научном центре педиатрии и детской хирургии в г. Алматы, и на данный момент является самой распространенной и успешно диагностируемой ЛБН. С 2021 года на учете состоят 25 пациентов с БГ, из которых 10 взрослых и 15 детей [10]. Тем не менее, данное количество ежегодно увеличивается, что связано с улуч-

шением диагностических методов и ростом осведомленности среди медицинских специалистов.

Причинами для беспокойства могут быть похожие с другими болезнями симптомы, такие как кашель, бледность, общая слабость, анемия. У всех пациентов также отмечается увеличение объема живота. Без своевременного диагноза и лечения, БГ может привести к фатальному исходу. Окончательный диагноз БГ ставится только после проведения генетического теста и подтверждения мутации в гене *GBA*. Недостаток глюкоцереброзидазы или ее aberrantная активность в макрофагах приводит к накоплению макромолекул липидов, которые атакуют костный мозг и паренхиматозные органы пациента, такие как печень, селезенка, почки и даже легкие. Первичная диагностика заболевания определяется активностью фермента глюкоцереброзидазы в лейкоцитах или в фибробластах периферической крови пациента [11]. Болезнь Гоше раз-

вивается в связи с недостатком или нарушенной работой кислой  $\beta$ -глюкоцереброзидазы (GCCase), которая кодируется геном *GBA1*. Данный ген находится на хромосоме 1q21 и на данный момент зарегистрировано около 700 генных мутаций, вызывающих дефицит GCCase, и их распространенность среди населения тесно связана с расовой и этнической принадлежностью (Рисунок 1). Наиболее распространенные мутации находятся в N370S, L444P, V394L, D409H, K198T, E326K и R496H [12]. Также, две из известных мутаций (E326K и T369M) тесно связаны с болезнью Паркинсона и известны тем, что могут вызывать данную болезнь среди больных БГ и носителях мутантного гена. В Казахстане мутации чаще всего наблюдаются в L444P, N370S, F231I, RecNcil с соответственными им процентами 35%, 33%, 6% и 6%. При БГ 2 типа преобладают мутации L444P и RecNcil, тип 3 – L444P [13]. Остальные аллели встречаются реже.

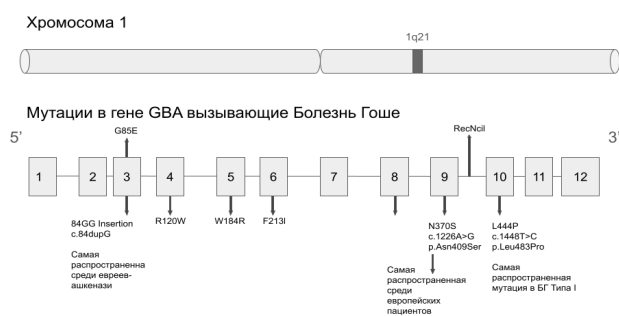


Рис. 1. Наиболее распространённые мутации в гене *GBA1*, ассоциированные с болезнью Гоше.

Болезнь Гоше разделяется на три типа: Тип I (хронический-нейропатический), Тип II (острая-нейропатическая форма), Тип III (подострая-нейропатическая форма).

**Тип I (хронический, нейропатический)** – это самый распространенный подтип болезни, встречающийся 1:40 000, он не затрагивает нервную систему больного, но атакует висцеральные органы человека (печень, селезенка, в редких случаях органы дыхания) и костный мозг. Самые распространенные формы болезни также сопровождается анемией, тромбоцитопенией и заболеванием костей. В Казахстане около 64% пациентов страдают БГ Типа I [9]. Он характеризуется увеличением и дисфункцией органов печени и селезенки, а также вытеснением нормального костного мозга клетками запаса и повреждением костей, приводящим к инфарктам и переломам. И хотя Тип I считается нейротипическим (т.е. не влияет на нервную систему), последние клинические данные все чаще выявляют изолированные случаи с неврологическими патологиями у пациентов с данным подтипом БГ (синдром Паркинсона и Деменция с тельцами Леви) [12].

**Тип II (острая-нейропатическая форма)** – это более редкая форма, которая протекает с тяжелыми неврологическими патологиями, задержками в развитии и органомегалией (увеличением висцеральных органов человека). Отложение глюкозилцерамидазы (производная глюкоцерамида) подавляет формирование миелина, тем самым поражая мозг. Данная форма заболевания проявляется у детей в виде стридора (свистящее шумное дыхание), хри-

плого голоса, респираторного дискомфорта и трудностями в кормлении. Некоторые случаи описывают опистотонус и тризм, за которыми следует децеребрационная ригидность (резкое повышение мышечного тонуса) [6]. В Казахстане частота данной формы заболевания составляет 9% и часто приводит к смерти в течении первых двух лет жизни пациента [13]. В теле здорового человека ген *GBA1* производит глюкоцереброзидазу (ABG) в достаточных количествах, чтобы утилизировать глюкоцерамиды (GlcCer). Однако у больных БГ присутствует мутация в гене, что приводит к дефициту или дисфункции ABG, которая теперь не способна успешно утилизировать GlcCer и приводит к ее аккумуляции в организме. Накапливающийся GlcCer преобразуется в свое деацелированное производное глюкозилсфингозин (Lyso-Gb1). Его накопление в организме приводит к последующей агрегации сфингозина; эти два метаболита копятся и приводят к повреждению и гибели клеток мозга, что проявляется неврологическими расстройствами и скелетными аномалиями. [7].

**Тип III (подострая-нейропатическая форма)** – это вторая по распространенности форма заболевания, хроническая нейропатическая болезнь, которая представляет собой крайне неоднородную группу пациентов, у которых наблюдается либо ослабленное, либо тяжелое системное заболевание, связанное с неврологическими нарушениями, возникающими в детском или раннем взрослом возрасте. Обычно болезнь проявляется до двух лет, с продолжительностью жизни до 30-40 лет [12]. В Казахстане около 27% больных страдают БГ данного типа.

## БОЛЕЗНЬ НИМАННА-ПИКА

**Болезнь Ниманна-Пика (БНП)** – это наследственная лизосомная болезнь накопления, которая передается аутосомно-рецессивным способом, и происходит вследствие мутации в гене *SMPD1*. Он находится на Хромосоме 11 (11p15.4) и в случае, если в гене происходит мутация, организм перестает вырабатывать фермент – кислую сфингомиелиназу (ASM), которая участвует в расщеплении сфингомиелина, формируя фосфатидилхолин и церамид, что приводит к накоплению нерасщепленных субстратов в таких органах как печень, селезенка, легкие, мозг и костный мозг. БНП относится к лизосомным болезням накопления вида сфинголипидозы, и, как и в случае с БГ, первичный диагноз БНП ставится за счет изменения активности фермента ASM в экстрактах лейкоцитов и культивируемых фибробластах. БНП подразделяется на три типа: Тип А (нейропатический), Тип В (нейропатический) – два типа болезни объединяет возможность диагностики посредством измерения ASM в лейкоцитах и фибробластах; в то время как Тип С (*NPC1*, *NPC2*) показывает активность фермента сфингомиелиназы в нормальных значениях. Болезнь Ниманна-Пика встречается в Казахстане крайне редко и часто приводит к трудностям в диагностике, поскольку сведения по данной болезни ограничены как у родителей пациентов, так и у медперсонала.

**Тип А** – это тип болезни, который протекает с гепатоспленомегалией в возрасте от трех месяцев. У детей также наблюдается отсутствие сухожильных рефлексов, гипотония, а также вишнево-красные пятна на сетчатке глаз. У большинства также развивается гастроэзофагеальный рефлекс, асцит (аномальное скопление жидкости в брюш-

ной полости) и ДИЗЛ. При лабораторных исследованиях крови пациента заметно повышены уровни холестерина, триглицеридов, тромбоцитов и хитотриозидазы [14].

**Тип В** – это тип болезни с минимальными или отсутствующими неврологическими симптомами, которые проявляются в более взрослом возрасте. Многие пациенты страдают пониженной функцией легких, задержкой развития скелета. Также замечается низкий рост, увеличенная селезенка, низкая плотность костной ткани, остеопения, патологические переломы и аномально низкая концентрация холестерина. Помимо этого, нередко частые кровотечения из носа и вишнево-красные пятна на слизистой глаза.

**Тип С** – это подтип болезни, который значительно отличается от классической вариации БНП. В отличие от типов А и В, подтип С не относится к сфинголипидозам, а к заболеваниям связанных с нарушением внутриклеточного транспорта холестерина – лизосомные липидозы [15]. В настоящее время известно, что НПК Типа С является отдельным заболеванием, вызванным мутациями в одном из двух генов, кодирующих транспортирующие холестерин белки [16]. Мутация находится в генах *NPC1* (18q11-12) или в *NPC2* (14q24.3), и является самым распространенным подвидом БНП. Нарушение активности белков *NPC1* и *NPC2* связано с накоплением холестерина и сфинголипидов в лизосомах.

### БОЛЕЗНЬ ПОМПЕ

**Болезнь Помпе** (БП или гликогеноз типа II) – это редкое аутосомно-рецессивное, лизосомное заболевание накопления, при котором пациент испытывает нехватку фермента кислой  $\alpha$ -глюкозидазы (ген *GAA*), которая приводит к лизосомной аккумуляции гликогена в сердечных и мышечных тканях. Ген кислой  $\alpha$ -глюкозидазы находится на хромосоме 17 (17q25.3) с самой частой мутацией с.1935 C > A (p.Asp645Glu) у азиатской популяции [17].

БП классифицируется на несколько подвидов в зависимости от возраста проявления болезни: от младенчества до взрослого возраста. Хотя симптомы заболевания могут быть очевидны еще в утробе, большинство младенцев с БП с ранним началом страдают гипотонией, гипертрофической кардиомиопатией, дыхательной недостаточностью с частыми инфекциями, гепатомегалией, макроглоссией и задержкой развития в течение первого месяца жизни. Также, нередко можно наблюдать мышечную слабость, а также искривление позвоночника – гиперлордоз и сколиоз [6]. Без своевременной диагностики и лечения, Болезнь Помпе с ранним началом приводит к смерти от прогрессирующей кардиомиопатии и сердечной недостаточности к первому году жизни пациента. Диагностика БП основана на анализах активности ферментов, которые демонстрируют дефицит  $\alpha$ -глюкозидазы в лейкоцитах или фибробластах, а также генетической диагностикой на обнаружение мутаций гена *GAA*. Ранняя диагностика имеет решающее значение, поскольку заболевание прогрессирует и, как правило, приводит к летальному исходу, что подчеркивает важность внедрения скрининга новорожденных на наличие ЛБН.

### БОЛЕЗНЬ КРАББЕ

**Болезнь Краббе** (БК или галактозилцерамидный ли-

пидоз) – это редкая аутосомно-рецессивное заболевание в гене *GALC*, который кодирует фермент галактоцереброзидазу. Мутации в гене *GALC*, расположенном на хромосоме 14 (локус 14q31, 17 экзонов), приводят к накоплению галактозилцерамида и его токсического производного — психозина — в макрофагах и леммоцитах (олигодендроцитах), что обуславливает развитие болезни Краббе. Неспособность деградировать эти миелиновые сфинголипиды приводит к потере олигодендроцитов и миелина, тем самым поражая мозг. Это сопровождается инфильтрацией пораженной ткани многоядерными макрофагами, глобоидными клетками, в попытке избавиться от накопившихся липидов, однако безуспешно аккумулируются, становятся мультиядерными и приводят к демиелинизации и нейровоспалению [18]. Помимо галактозилцерамида, также накапливаются лизолипиды сульфатида и галактозилцерамида, лизосульфатид и психозин. Из-за отсутствия неонатального скрининга и ограниченного доступа к генетическому тестированию болезнь Краббе в Казахстане по-прежнему остается редко диагностируемой.

### БОЛЕЗНЬ ФАБРИ

**Болезнь Фабри** – это редкое X-сцепленное нарушение обмена веществ, вызванное частичным или полным дефицитом лизосомального фермента  $\alpha$ -галактозидазы. Мутация происходит в гене *GLA* (Xq22.1), и на данный момент зафиксировано около 500 различных мутаций [19]. При болезни Фабри в организме накапливаются определённые липиды: глоботриаозилцерамид (Gb3) и глоботриаозилсфингозин (lyso-Gb3). Они имеют специфическую группу ( $\alpha$ -галактозил), которая накапливается внутри лизосом различных типов клеток по всему телу (клетки кровеносных сосудов, почек, сердечных мышц, АНС). Другой тип липидов, лизосфинголипиды, также могут накапливаться и вызывать повреждение клеток, нарушая их нормальную структуру и функцию. В некоторых случаях это накопление может вызвать аномальный рост клеток, например, утолщение стенок кровеносных сосудов, что способствует сосудистым проблемам [20]. Болезнь Фабри может прогрессировать долгие годы и значительно влиять на качество и продолжительность жизни человека.

### МУКОПОЛИСАХАРИДОЗ

**Мукополисахаридоз (МПС)** – это наследственная группа заболеваний, которые в большинстве случаев передаются аутосомно-рецессивным характером. Они обусловлены нарушением обмена гликозаминогликанов (GAG), длинной молекуле сахара, которая используется организмом для создания соединительной ткани. При неспособности организма разрушить углеводные цепи, GAG накапливается в клетках и выделяется с мочой. МПС подразделяется на множество типов, каждый из которых обусловлен недостатком определенного фермента необходимого для деградации GAG (Таблица 2). Для деградации GAG необходимо несколько ферментов и мутации в любом из них приводит к определенному типу МПС.

### СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЛБН

На данный момент существуют различные способы диагностики ЛБН, которые включают в себя клинические исследования, биохимические тесты, анализ биомаркеров,

Таблица 2. Виды и характеристики типов болезни МПС

Тип МПС	Эпоним	Наследственность	Снижение активности лизосомных ферментов
МПС I	Синдром Гурлера Синдром Гурлера-Шейе Синдром Шейе	Аутосомно-рецессивный	$\alpha$ -идурунидаза
МПС II	Синдром Хантера	X-сцепленный рецессивный	Идурунатсульфатаза
МПС III	Синдром Санфилиппо А, В, С и D	Аутосомно-рецессивный	Гепаран N-сульфатаза, $\alpha$ -N-ацетилглюкозаминидаза, ацетилтрансфераза, N-ацетилглюкозамин-6-сульфатаза
МПС IV	Синдром Моркио А и В	Аутосомно-рецессивный	M-ацетилгалактозамин -6-сульфатсульфатаза, $\beta$ -галактозидаза
МПС VI	Синдром Марото-Лами	Аутосомно-рецессивный	Арилсульфатаза
МПС VII	Синдром Слая	Аутосомно-рецессивный	$\beta$ -глюкуронидаза
МПС IX	Синдром Натовикс	Аутосомно-рецессивный	Гиалуронидаза 1

генетическое тестирование и т.д. Недавние достижения в области медицины и науки предоставляют спектр диагностических методик для достижения данной цели. Диагностика редких генетических болезней на ранней стадии обычно обеспечивает более успешное лечение и благоприятное развитие состояния пациента.

Маршрут пациента с подозрением на ЛБН начинается с первичной медико-санитарной помощи (ПМСП) под присмотром врача педиатра или врача общей практики (ВОП). Пациенту назначается лечение, соответствующее симптомам, однако при ЛБН симптомам свойственен рецидив. После динамического наблюдения под присмотром врача гематолога, назначается сбор лабораторных данных (общий анализ и биохимический анализ крови). При отклоняющихся от нормы показателях, врач может назначить дополнительные лабораторные исследования, такие как УЗИ, миелограмма и копрограмма [21]. При прогрессирующих признаках ЛБН далее назначаются энзимодиагностика и генетическое исследование, после чего возможна окончательная верификация диагноза. Пациент получает ферментозаместительную и симптоматическую терапию.

#### Биохимический анализ лейкоцитов и фибробластов периферической крови

При появлении первых симптомов и при подозрении на ЛБН первым делом назначается анализ крови, а именно анализ на содержание определенных ферментов в лейкоцитах и фибробластах пациента. При подтверждении дефицита или отсутствии определенного фермента интереса, назначается дальнейшее генетическое тестирование. Этот метод является относительно простым, надежным и экономически эффективным. Однако не всегда анализ крови способен подтвердить ЛБН. Например, при Болезни Ниманна-Пика пациенту свойственно иметь нормальные показатели фермента сфингомиелиназы, что затрудняет и откладывает своевременный диагноз болезни. В случае

если показатели сфингомиелина в пределах нормы, диагноз может быть поставлен либо неверно, либо затянуться [22]. Помимо этого, анализ может быть ложноотрицательным, если у пациента присутствует остаточная активность фермента, или ложноположительным, в случае если при амплификации был использован псевдоген. Например, ген *GBA1*, мутации в котором вызывают БГ, имеет крайне гомологичный псевдоген. Он имеет ДНК последовательность на 96% схожую с последовательностью рабочего гена [23]. Поскольку псевдоген практически идентичен с геном, генетические тесты могут прочесть псевдоген вместо настоящего *GBA1*, что может привести к ошибкам в диагностике болезни Гоше при использовании биохимического анализа крови.

#### Пятна сухой крови (DBS)

Анализ активности ферментов, используя сухие пятна крови (DBS) – это относительно недорогой способ диагностики ЛБН, для которого используется минимальное количество биологического материала. Данная технология подразумевает забор небольшого количества крови у новорожденных или у взрослых пациентов, капля высушивается на фильтровальной бумаге и далее анализируется, используя тандемную масс-спектрометрию или флуоресцентный ферментный анализ. Таким образом, небольшого объема образца достаточно для эффективной диагностики. Во флуоресцентном анализе ферментов измеряется интенсивность флуоресценции синтетического субстрата после ферментативного расщепления (то есть, чем больше флуоресценции, тем больше активность фермента, и наоборот). Тандемная масс-спектрометрия измеряет расщепленный продукт ферментативной реакции из субстрата с помощью масс-спектрометрии (чем больше производится продукта, тем больше ферментативная активность).

#### Молекулярно-генетическое тестирование

Наиболее современный метод молекулярно-генетиче-

ского тестирования для нахождения мутаций в гене (например, мутация L444P в гене *GBA* при болезни Гоше) подразумевает использование секвенирования нового поколения (NGS). NGS позволяет секвенировать несколько генов, связанных с ЛБН, с помощью полноэкзомного или таргетного секвенирования. Данный метод широко используется в клинических лабораториях для определения известных фенотипов. И хотя данный метод позволяет значительно снизить риск ложноположительных и ложноотрицательных результатов, при его применении остаётся вероятность диагностической неопределённости, связанной с выявлением новых или редких мутаций, ассоциированных с лизосомными болезнями накопления [24]. NGS также подразумевает проведение обязательной последующей валидации результатов, используя секвенирование методом Сэнгера и дополнительные биохимические анализы для подтверждения накопления субстрата, что также может затягивать процесс постановки диагноза [25].

#### Анализ биомаркеров

Для диагностики ЛБН также используется анализ биомаркеров для измерения накопления субстратов. Анализ биомаркеров измеряет количество субстратов, специфичных для ЛБН, например, lyso-Gb3 для болезни Фабри, lyso-Gb1 для болезни Гоше, сфингомиелин для болезни Ниманна-Пика типа А/В, как показано в Таблице 3. Накопление приводит к прогрессированию болезни. Например, при БГ надёжным биомаркером является наличие lyso-Gb1 (глюкозилсфингозин) [26]. Ген *GBA2* способен конвертировать токсичный lyso-Gb1 и сфингозин в сфингозин-1-фосфат (S1P) методом добавления фосфатной группы. В отличие от сфингозина S1P безвреден, а также участвует в контроле некоторых иммунных клеток таких как лимфоциты и макрофаги [7]. S1P является ключевым фактором, который влияет на работу, передвижение и выживание определенных иммунных клеток, таких как лимфоциты и макрофаги. У людей с болезнью Гоше глюкозилсфингозин был обнаружен в мозге, даже если формирование так называемых клеток Гоше еще не началось, и пациент не показывает симптомов болезни. В то время как у здоровых людей глюкозилсфингозин отсутствует. Таким образом, наличие глюкозилсфингозина в мозгу является надёжным биомаркером для выявления неврологических нарушений при болезни Гоше. Некоторые исследования также показали, что у большинства пациентов с БГ Типа I присутствует повышенная активность фермента хитотрисадазы, что также может являться биомаркером [27]. Одним из самых эффективных и надёжных методов для измерения активности биомаркеров является использование масс-спектрометрии. Однако анализ на биомар-

керы не является достоверным подтверждением диагноза и нуждается в последующем генетическом тестировании.

#### Неонатальный скрининг с помощью DBS и масс-спектрометрии

Анализ ферментов методом tandemной масс-спектрометрии (МС/МС) использует синтетические субстраты ферментов, а продукты распада измеряются методом масс-спектрометрии. Данный метод является более чувствительным, чем флуориметрические анализы и позволяет совершать мультиплексные тестирования нескольких ЛБН в заданное время [28]. Жидкостная хроматография в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС) способна анализировать ферментную активность определенного фермента (например, глюкоцереброзидазу при Болезни Гоше) используя сухие пятна крови. Если активность ферментов низкая, назначаются дальнейшие генетические анализы и анализы на биомаркеры. Неонатальный скрининг (НС) подразумевает собой анализ крови новорожденного на основные и более распространенные ЛБН, что поможет выявить наличие мутации в гене до проявления первых симптомов. Дополнительным плюсом данного метода также является тот факт, что у новорожденных почти во всех случаях выявляется нулевая активность фермента. Тем самым, обнаружение отсутствия деятельности фермента на ранних этапах позволяет исключить возможность ложноотрицательных результатов (за счет остаточной активности фермента у более взрослых пациентов). Подобный скрининг был успешно внедрен в Тайване, где в рамках исследования была определена частота заболеваний среди новорожденных, и установлено, что среди ЛБН наиболее часто встречается болезнь Фабри, а также собрана статистика по фенотипическим проявлениям заболеваний [8, 9]. Легкие формы таких заболеваний как Гоше (Тип I) могут приводить к тяжелым пищеварительным, сердечнососудистым, дыхательным и метаболическим заболеваниям, которые уже являются крайне смертельными для детей. У некоторых пациентов заболевание может проявиться в период новорожденности с избыточным скоплением жидкости в полостях тела утробного плода (водянка плода), тогда как у других, при той же недостаточности фермента (но другой генетической мутации), начало заболевания может наступить в более взрослом возрасте [29]. Однако тяжелые формы ЛБН (Болезнь Гоше типа II), которые характеризуются нейропатической формой заболевания, могут привести к серьезным неврологическим отклонениям, особенно в случаях, если диагноз был поставлен поздно, когда неврология необратима.

На Рисунке 2 показан процесс диагностики ЛБН на примере болезни Гоше, где измеряется ферментная ак-

Таблица 3. Биомаркеры ЛБН

Биомаркер	Лизосомная болезнь накопления
Lyso-Gb1	Болезнь Гоше
Lyso-Gb3	Болезнь Фабри
Психозин	Болезнь Краббе
Креатинкиназа	Болезнь Помпе
Lyso-SM	Болезнь Ниманна-Пика
Гепарансульфат	МПС I

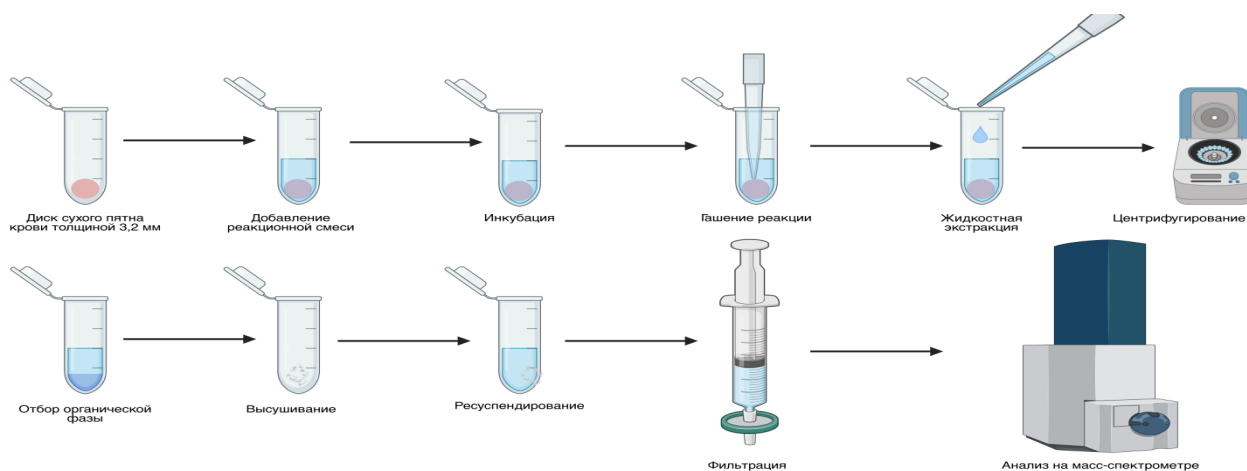


Рис. 2. Описание пробоподготовки образцов для диагностики болезни Гоше методом масс-спектрометрии.

тивность  $\beta$ -глюкозидазы в лейкоцитах пациента с помощью тандемной масс-спектрометрии. Берется диск сухого пятна крови (DBS) толщиной 3,2 мм. В пробирку с образцом добавляется реакционная смесь (РС), которая содержит C12-глюкоцереброзид (синтетический субстрат глюкоцереброзидазы), внутренний стандарт C14-церамид и буферный раствор. Инкубация образца с РС проходит при температуре 37 °C в течение 18 часов. РС добавляют гаситель и перемешивают пипетированием. Для проведения жидкостной экстракции к полученной смеси добавляют этилацетат и воду. Смесь центрифугируют при 1500 об/мин. Верхнюю органическую фазу отделяют от нижней, неорганической. Содержимое высушивают азотом или под вакуумом. Для ресуспендирования образца добавляется 84% ацетонитрил. Полученный раствор переносится на фильтр при последующем центрифугировании (1500 g в течение 2 минут при комнатной температуре). Анализ образцов проводят на тандемном масс-спектрометре.

Применение данного метода в неонатальном скрининге позволяет выявлять нарушение ферментной активности у новорожденного до появления симптоматики [30]. При подтверждении дефектной активности или ее отсутствии у ребенка, назначается дальнейший генетический анализ на подтверждение мутации в гене *GBA1* (при болезни Гоше). Таким образом, масс-спектрометрия становится одним из наиболее широко применяемых инструментов диагностики врожденных метаболических заболеваний благодаря своей способности одновременно определять различные метаболиты, обладая при этом высокой чувствительностью и широким динамическим диапазоном.

### СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ЛБН

Из-за недостатка или не правильной активности специфических ферментов, сопоставляющие им субстраты не утилизируются в клетках, что приводит к их накоплению. Например, из-за недостатка фермента глюкоцеребрози-

дазы при Болезни Гоше накапливаются глюкоцерамиды и глюкозилсфингозины в печени, селезенке, костном мозге и иногда даже в легких. Это приводит к гепатоспленомегалии, и из-за редкости данной болезни часто ставится ложный диагноз, с похожими симптомами. Последующее лечение чаще бывает безрезультатным, так как основная проблема накопления субстрата и неправильной работы фермента не устранена. Поскольку данная группа болезней является генетической, и уже присутствует на ранних этапах жизни младенца, раннее вмешательство может значительно улучшить качество жизни и общее состояние ребенка, до проявления критических для здоровья симптомов. С 2021 года на учете в Научном центре педиатрии и Детской Хирургии состоит около 25 пациентов с подтвержденным диагнозом Болезнь Гоше, но количество зарегистрированных случаев увеличивается, и в 2025 году уже известно около 44 случая данной болезни [13]. Все дети получают лечение за счет государства. Лечение в основном проходит за счет ферментозаместительной терапии (ФЗТ). После подтверждения диагноза, пациент получает дозу недостающих ферментов интереса, созданных с помощью рекомбинантного ДНК. Пациент получает внутривенную капельницу с ферментами каждые 2 недели. Данный способ является достаточно эффективным, особенно при легкой и ненейропатической форме заболевания, так как ФЗТ не может преодолеть гематоэнцефалический барьер. Таким образом, мозг и центральная нервная система не получают недостающий фермент, тем самым не предотвращая нейродегенерацию. Для больных более тяжелой формой ЛБН или с неврологическими проявлениями разрабатывается интратекальный способ администрации препарата [31]. Доставка ферментов напрямую в спинномозговую жидкость пациента, таким образом, взаимодействуя с центральной нервной системы.

Для борьбы с ЛБН также используется субстрат редуцирующая терапия (СРТ), ингибиторы миглустат или элиглустат, которые направлены на уменьшение концен-

трации и аккумуляции субстратов, но только при условии, что у пациента нормальные показатели фермента CYP2D6 [32]. В отличие от ФЗТ, СРТ способна преодолеть барьер между мозгом и кровью, что является эффективным для больных нейротипичным типом ЛБН, а также администрируется в форме таблеток. Метод основан на способности миглустата и элиглустата ингибировать активность ферментов, участвующих в начальных этапах синтеза токсичных промежуточных метаболитов, что способствует улучшению состояния, преимущественно со стороны центральной нервной системы [33].

Хотя данные методики являются довольно эффективными для лечения ЛБН, особенно если диагностировано на ранней стадии развития симптомов, все вышеперечисленные терапии могут терять свою эффективность со временем, или предполагают собой лечение на протяжении всей жизни с побочными эффектами либо инвазивными процедурами. Одним из наиболее эффективных методов в долгосрочном плане является генная терапия. Пациент получает здоровую копию гена (например, ген *GBA* при болезни Гоше и ген *SMPD1* при болезни Ниманна-Пика Типа А и В и т.д.) упакованного в вирусный вектор. Методы включают генную терапию с использованием аденоассоциированного вируса (AAV) для болезни Помпе и лентивирусную генную терапию для MPS-I и болезни Краббе [34, 35]. Путем администратии прямо в кровоток, вектор дает сигнал на выработку нужного фермента, тем самым предотвращая скопление субстратов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время большинство национальных программ НС включают высокочувствительную диагностику ЛБН с использованием образцов DBS с последующим анализом ферментативной активности с помощью тандемной масс-спектрометрии или флуоресценции. Это особенно важно при заболеваниях, поддающихся лечению, таких как болезнь Помпе, болезнь Гоше и болезнь Фабри.

Данный вид диагностики является максимально достоверным и точным. В свою очередь, биохимический анализ крови может показать нежелательную остаточную активность фермента. При подтверждении накопления субстрата, используя NGS, необходимо подтверждение результата с помощью секвенирования методом Сэнгера, что может затянуть своевременную диагностику и лечение пациента. Необходимо отметить, что анализ биомаркеров также не является окончательным подтверждением для ЛБН. Из-за недостаточной специфичности результатов, а также низкой генетической вариабельности у пациентов, данный вид диагностики рассматривается как вспомогательный инструмент и интерпретируется в совокупности с другими анализами. Использование масс-спектрометрии в сочетании с сухими пятнами крови является высокочувствительным и точным методом для выявления ЛБН. Хотя данный метод и использует малое количество биоматериала, качество образца зависит от перевозки и хранения. Метод тандемной масс-спектрометрии требует высокотехнологичного и высокоточного оборудования, которое требует ежегодного технического обслуживания. Использование дорогостоящих реагентов ограничивает широкое внедрение данной методики в повседневную ла-

бораторную практику.

Современные терапевтические стратегии включают ферментную заместительную терапию (ФЗТ), субстрат редуцирующую терапию (СРТ), и трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток. Выбор метода лечения зависит от конкретного заболевания и степени его тяжести. ФЗТ заключается во введении рекомбинантных ферментов для замены дефектного лизосомального фермента (например,  $\beta$ -глюкоцереброзидазы при БГ). Это стандартный подход к лечению большинства ЛБН, обычно требующий внутривенного введения с интервалом 2–4 недели. Однако ограничением ФЗТ является её неспособность преодолевать гематоэнцефалический барьер, что снижает её эффективность при неврологических проявлениях заболевания. Альтернативным подходом является субстрат редуцирующая терапия (СРТ), направленная на снижение накопления токсичных субстратов путем ингибирования их синтеза. Примерами таких препаратов являются элиглустат — ингибитор синтеза глюкозилцерамида, применяемый при болезни Гоше, и миглустат, эффективный при болезни Гоше 1-го типа и болезни Ниманна-Пика. Кроме того, недавно было предложено применение генной терапии как инструмента коррективы генетических дефектов путем доставки рабочих копий дефектного гена. Несмотря на потенциал, широкое применение генной терапии ограничивается её высокой стоимостью и риском возникновения иммунных реакций. Стоит отметить, что вектор будущих исследований направлен на преодоление гематоэнцефалического барьера и улучшение методов доставки лекарственных препаратов в ткани-мишени для повышения эффективности лечения.

Современные диагностические подходы, особенно секвенирование NGS и тандемная масс-спектрометрия, произвели революцию в раннем выявлении ЛБН. В перспективе диагностика ЛБН будет полностью интегрирована в программы неонатального скрининга с применением NGS, MC/MC и других высокоточных методов, что позволит определять дефицит ферментов до появления необратимых клинических симптомов.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Это исследование выполнено в рамках НТП BR24992881, финансируемой Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

## LITERATURE

[1] Elbin C.S., Olivova P., Marashio C.A. et al. The effect of preparation, storage and shipping of dried blood spots on the activity of five lysosomal enzymes // *Clinica Chimica Acta*. – 2011. – Vol.412, №13. – P.1207-1212.

[2] Amangeldieva A.A.A.G.K., Boranbayeva R.Z., Shimanskiy A Tilki, Tashenova G.T. Clinical and Diagnostic Characteristics of Children with Gaucher Disease in the Republic of Kazakhstan // *American Journal of Rare Disorders: Diagnosis & Therapy*. – 2020. – Vol.3, №1. – P.024-030.

[3] Müller K.B., Rodrigues M.D.B., Pereira V.G. et al. Reference values for lysosomal enzymes activities using dried

blood spots samples - a Brazilian experience // Diagnostic Pathology. – 2010. – Vol.5, №1. – P.65.

[4] P.V N. Lysosomal storage diseases: The topical problem of pediatrics and the current possibilities of pathogenetic treatment // Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics). – 2014. – Vol.59, №4. – P.4-9.

[5] Cainelli F. N.D., Izgutdina A., Kutabay G. Personalized diagnosis of Gaucher disease in Kazakhstan. – 2017. – URL: <http://nur.nu.edu.kz/handle/123456789/2630>.

[6] Anderson S. Newborn Screening for Lysosomal Storage Disorders // Journal of Pediatric Health Care. – 2018. – Vol.32, №3. – P.285-294.

[7] Feng S., Rcheulishvili N., Jiang X. et al. A review on Gaucher disease: therapeutic potential of  $\beta$ -glucocerebrosidase-targeted mRNA/saRNA approach // International Journal of Biological Sciences. – 2024. – Vol.20, №6. – P.2111-2129.

[8] Lei K., Zhao Y., Sun L. et al. A pilot screening of high-risk Gaucher disease children using dried blood spot methods in Shandong province of China // Orphanet Journal of Rare Diseases. – 2018. – Vol.13, №1. – P.48.

[9] Marsden D., Levy H. Newborn screening of lysosomal storage disorders // Clin Chem. – 2010. – Vol.56, №7. – P.1071-1079.

[10] Онлайн режиме прошел семинар по болезни ГОШЕ / Научный центр педиатрии и детской хирургии. – Алматы, 26 Января 2021.

[11] Chamoles N.A., Blanco M., GAGgioli D. et al. Gaucher and Niemann-Pick diseases--enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper: retrospective diagnoses in newborn-screening cards // Clin Chim Acta. – 2002. – Vol.317, №1-2. – P.191-197.

[12] Dardis A., Michelakakis H., Rozenfeld P. et al. Patient centered guidelines for the laboratory diagnosis of Gaucher disease type 1 // Orphanet Journal of Rare Diseases. – 2022. – Vol.17, №1. – P.442.

[13] Амангелдиева А.А. Б.П.З., Абдилова Г.К. Клинико-диагностические особенности Болезни Гоше в Казахстанской популяции // Farmaciã Kazahstana. – 2024. – Vol.6, №257. – P.7-19.

[14] Wasserstein M.P., Desnick R.J., Schuchman E.H. Types A and B Niemann–Pick Disease // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 80-86.

[15] Помыткина Т., Давыдова А. Болезни накопления: трудности дифференциальной диагностики // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2019. – Vol.4, №2. – P.129-133.

[16] Vanier M.T., Patterson M.C. Niemann–Pick Disease Type C // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 87-93.

[17] Reuser A.J.J., van der Ploeg A.T. Pompe Disease // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 101-106.

[18] Gieselmann V., Wenger D.A., Krägeloh-Mann I. Metachromatic Leukodystrophy and Globoid Cell Leukodystrophy // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 70-79.

[19] Barretto C.T., Nascimento M.H.C., Brun B.F. et

al. Infrared spectroscopy as a new approach for early fabry disease screening: a pilot study // Orphanet Journal of Rare Diseases. – 2024. – Vol.19, №1. – P.373.

[20] Mehta A., Ramaswami U. Fabry Disease // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 58-62.

[21] Болезнь Гоше // Клинические протоколы: МЗ РК - 2019, от «12» ноября 2020 года. [21] Altynshash Jaxybayeva R.K., Lazzat Baygazyieva, Francesca Cainelli. Niemann-Pick disease type C initially misdiagnosed as gaucher disease in a 6 year old kazakh girl // Univrsity Medical Center. – 2017. – URL: <https://nur.nu.edu.kz/items/18ea5fc1-b789-4b0f-85d9-d9e34b736e75>.

[22] Sheth J., Bhavsar R., Mistri M. et al. Gaucher disease: single gene molecular characterization of one-hundred Indian patients reveals novel variants and the most prevalent mutation // BMC Medical Genetics. – 2019. – Vol.20, №1. – P.31.

[23] Linthorst G.E., Hollak C.E.M. Newborn, High Risk and Carrier Screening for Lysosomal Storage Disorders // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 181-185.

[24] Mak J., Cowan T.M. Detecting lysosomal storage disorders by glycomic profiling using liquid chromatography mass spectrometry // Molecular Genetics and Metabolism. – 2021. – Vol.134, №1. – P.43-52.

[25] Tang C., Jia X., Tang F. et al. Detection of glucosylsphingosine in dried blood spots for diagnosis of Gaucher disease by LC-MS/MS // Clinical Biochemistry. – 2021. – Vol.87. – P.79-84.

[26] Hollak C., van Weely S., Van Oers M. et al. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease // The Journal of clinical investigation. – 1994. – Vol.93, №3. – P.1288-1292.

[27] Wolf P., Alcalay R.N., Liong C. et al. Tandem mass spectrometry assay of  $\beta$ -glucocerebrosidase activity in dried blood spots eliminates false positives detected in fluorescence assay // Molecular Genetics and Metabolism. – 2018. – Vol.123, №2. – P.135-139.

[28] Edmond Wraith J., Beck M. Clinical Aspects and Clinical Diagnosis // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 13-19.

[29] Legnini E., Orsini J.J., Hung C. et al. Analysis of glucocerebrosidase activity in dry blood spots using tandem mass spectrometry // Clin Chim Acta. – 2011. – Vol.412, №3-4. – P.343-346.

[30] Mao S.-J., Chen Q.-Q., Dai Y.-L. et al. The diagnosis and management of mucopolysaccharidosis type II // Italian Journal of Pediatrics. – 2024. – Vol.50, №1. – P.207.

[31] Giuffrida G., Markovic U., Condorelli A. et al. Glucosylsphingosine (Lyso-Gb1) as a reliable biomarker in Gaucher disease: a narrative review // Orphanet Journal of Rare Diseases. – 2023. – Vol.18, №1. – P.27.

[32] Cox T.M. Current Treatments // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 151-165.

[33] Winchester B., Cox T.M. Other Lysosomal Disorders // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 142-149.

[34] d'Azzo A., Bonten E.J. Defect in Protective Protein/Cathepsin A // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 115-

120.

## REFERENCES

- [1] Elbin C.S., Olivova P., Marashio C.A. et al. The effect of preparation, storage and shipping of dried blood spots on the activity of five lysosomal enzymes // *Clinica Chimica Acta*. – 2011. – Vol.412, №13. – P.1207-1212.
- [2] Amangeldieva A.A. A.G.K., Boranbayeva R.Z., Shimanskiy A.Tilki, Tashenova G.T. Clinical and Diagnostic Characteristics of Children with Gaucher Disease in the Republic of Kazakhstan // *American Journal of Rare Disorders: Diagnosis & Therapy*. – 2020. – Vol.3, №1. – P.024-030.
- [3] Müller K.B., Rodrigues M.D.B., Pereira V.G. et al. Reference values for lysosomal enzymes activities using dried blood spots samples - a Brazilian experience // *Diagnostic Pathology*. – 2010. – Vol.5, №1. – P.65.
- [4] P.V N. Lysosomal storage diseases: The topical problem of pediatrics and the current possibilities of pathogenetic treatment // *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. – 2014. – Vol.59, №4. – P.4-9.
- [5] Cainelli F. N.D., Izgutdina A., Kutabay G. Personalized diagnosis of Gaucher disease in Kazakhstan. – 2017. – URL: <http://nur.nu.edu.kz/handle/123456789/2630>.
- [6] Anderson S. Newborn Screening for Lysosomal Storage Disorders // *Journal of Pediatric Health Care*. – 2018. – Vol.32, №3. – P.285-294.
- [7] Feng S., Rcheulishvili N., Jiang X. et al. A review on Gaucher disease: therapeutic potential of  $\beta$ -glucocerebrosidase-targeted mRNA/saRNA approach // *International Journal of Biological Sciences*. – 2024. – Vol.20, №6. – P.2111-2129.
- [8] Lei K., Zhao Y., Sun L. et al. A pilot screening of high-risk Gaucher disease children using dried blood spot methods in Shandong province of China // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2018. – Vol.13, №1. – P.48.
- [9] Marsden D., Levy H. Newborn screening of lysosomal storage disorders // *Clin Chem*. – 2010. – Vol.56, №7. – P.1071-1079.
- [10] Onlain rejime proshel seminar po boleznirý GOShE / Naýchnyy tsentr pediatrii i detskoj hirýrgii. – Almaty, 26 Ianvaria 2021.
- [11] Chamoles N.A., Blanco M., Gaggioli D. et al. Gaucher and Niemann-Pick diseases--enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper: retrospective diagnoses in newborn-screening cards // *Clin Chim Acta*. – 2002. – Vol.317, №1-2. – P.191-197.
- [12] Dardis A., Michelakakis H., Rozenfeld P. et al. Patient centered guidelines for the laboratory diagnosis of Gaucher disease type 1 // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2022. – Vol.17, №1. – P.442.
- [13] Amangeldieva A.A. B.R.Z., Abdilova G.K. Kliniko-diagnosticheskie osobennosti Bolezni Goshe v Kazhastanskoi popýliatsii // *Farmaciâ Kazhastana*. – 2024. – Vol.6, №257. – P.7-19.
- [14] Wasserstein M.P., Desnick R.J., Schuchman E.H. Types A and B Niemann–Pick Disease // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 80-86.
- [15] Pomytkina T., Davydova A. Bolezni nakopleniia: trýdností differentsialnoi diagnostiki // *Fýndamentalnaia i klinicheskaia meditsina*. – 2019. – Vol.4, №2. – P.129-133.
- [16] Vanier M.T., Patterson M.C. Niemann–Pick Disease Type C // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 87-93.
- [17] Reuser A.J.J., van der Ploeg A.T. Pompe Disease // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 101-106.
- [18] Gieselmann V., Wenger D.A., Krägeloh-Mann I. Metachromatic Leukodystrophy and Globoid Cell Leukodystrophy // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 70-79.
- [19] Barretto C.T., Nascimento M.H.C., Brun B.F. et al. Infrared spectroscopy as a new approach for early fabry disease screening: a pilot study // *Orphanet Journal of Rare Diseases*. – 2024. – Vol.19, №1. – P.373.
- [20] Mehta A., Ramaswami U. Fabry Disease // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 58-62.
- [21] Bolezn Goshe // *Klinicheskie protokoly: MZ RK* - 2019, ot «12» noiabria 2020 goda. [22] Altynshash Jaxybayeva R.K., Lazzat Baygazyieva, Francesca Cainelli. Niemann-Pick disease type C initially misdiagnosed as gaucher disease in a 6 year old kazakh girl // *Univrsity Medical Center*. – 2017. – URL: <https://nur.nu.edu.kz/items/18ea5fc1-b789-4b0f-85d9-d9e34b736e75>.
- [23] Sheth J., Bhavsar R., Mistri M. et al. Gaucher disease: single gene molecular characterization of one-hundred Indian patients reveals novel variants and the most prevalent mutation // *BMC Medical Genetics*. – 2019. – Vol.20, №1. – P.31.
- [24] Linthorst G.E., Hollak C.E.M. Newborn, High Risk and Carrier Screening for Lysosomal Storage Disorders // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 181-185.
- [25] Mak J., Cowan T.M. Detecting lysosomal storage disorders by glycomic profiling using liquid chromatography mass spectrometry // *Molecular Genetics and Metabolism*. – 2021. – Vol.134, №1. – P.43-52.
- [26] Tang C., Jia X., Tang F. et al. Detection of glucosylsphingosine in dried blood spots for diagnosis of Gaucher disease by LC-MS/MS // *Clinical Biochemistry*. – 2021. – Vol.87. – P.79-84.
- [27] Hollak C., van Weely S., Van Oers M. et al. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease // *The Journal of clinical investigation*. – 1994. – Vol.93, №3. – P.1288-1292.
- [28] Wolf P., Alcalay R.N., Liong C. et al. Tandem mass spectrometry assay of  $\beta$ -glucocerebrosidase activity in dried blood spots eliminates false positives detected in fluorescence assay // *Molecular Genetics and Metabolism*. – 2018. – Vol.123, №2. – P.135-139.
- [29] Edmond Wraith J., Beck M. Clinical Aspects and Clinical Diagnosis // *Lysosomal Storage Disorders*, 2013. – C. 13-19.
- [30] Legnini E., Orsini J.J., Hung C. et al. Analysis of glucocerebrosidase activity in dry blood spots using tandem mass spectrometry // *Clin Chim Acta*. – 2011. – Vol.412, №3-4. – P.343-346.

[31] Mao S.-J., Chen Q.-Q., Dai Y.-L. et al. The diagnosis and management of mucopolysaccharidosis type II // Italian Journal of Pediatrics. – 2024. – Vol.50, №1. – P.207.

[32] Giuffrida G., Markovic U., Condorelli A. et al. Glucosylsphingosine (Lyso-Gb1) as a reliable biomarker in Gaucher disease: a narrative review // Orphanet Journal of Rare Diseases. – 2023. – Vol.18, №1. – P.27.

[33] Cox T.M. Current Treatments // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 151-165.

[34] Winchester B., Cox T.M. Other Lysosomal Disorders // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 142-149.

[35] d'Azzo A., Bonten E.J. Defect in Protective Protein/Cathepsin A // Lysosomal Storage Disorders, 2013. – C. 115-120.

## MODERN METHODS OF DIAGNOSTICS OF LYSOSOMAL STORAGE DISEASES

**Konarbayeva\*, P.V. Tarlykov**

*National Center for Biotechnology, 13/5 Korgalzhyn Highway, Astana, 010000, Kazakhstan  
konarbayeva@biocenter.kz*

### ABSTRACT

Lysosomal storage diseases, such as Gaucher, Niemann-Pick, Pompe, Krabbe, Fabry, and Mucopolysaccharidoses, are a group of more than 50 rare inherited metabolic diseases caused by dysfunction of lysosomes due to deficiency of specific enzymes. The early and accurate diagnosis of lysosomal storage diseases is important for the correct drug administration, genetic counseling, and prevention of severe complications. In Kazakhstan, the diagnosis of lysosomal storage diseases is difficult due to limited laboratory capabilities and low prevalence of these diseases among the population. This review discusses modern diagnostic methods, including tandem mass spectrometry, next-generation sequencing, and enzymatic activity tests. For forehanded diagnosis of lysosomal storage diseases, it is important to integrate molecular, genetic, and biochemical diagnostic methods, as well as develop national newborn screening programs.

**Key words:** orphan disease, lysosomal storage disease, Gaucher disease, diagnostics, mass spectrometry.

## ЛИЗОСОМДЫ ЖИНАҚТАУШЫ АУРУЛАРЫН ДИАГНОСТИКАСЫНЫҢ ҚАЗІРГІ ӘДІСТЕРІ

**Конарбаева А.\*, Тарлыков П.В.**

*Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын тас жолы, 13/5, Астана, 010000, Қазақстан  
konarbayeva@biocenter.kz*

### ТҮЙІН

Гоше, Ниманна-Пик, Помпе, Краббе, Фабри және мукополисахаридоз сияқты лизосомалық жинақтаушы аурулары спецификалық ферменттердің жетіспеушілігінен лизосомалар қызметінің бұзылуынан туындаған 50-ден астам сирек кездесетін тұқым қуалайтын метаболикалық аурулар тобы болып табылады. Лизосомалық жинақтаушы ауруларының ерте және дәл диагностикасы дәрі-дәрмекті дұрыс енгізу, генетикалық кеңес беру және ауыр асқынулардың алдын алу үшін маңызды. Қазақстанда лизосомалық жинақтаушы ауруларды диагностикалау зертханалық мүмкіндіктердің шектеулі болуына және халық арасында бұл аурулардың төмен таралуына байланысты қиындық тудырады. Бұл шолуда заманауи диагностикалық әдістер, соның ішінде тандемдік масс-спектрометрия, келесі ұрпақ секвенирлеу және ферментативті белсенділік сынақтары қарастырылады. Лизосомалық жинақтаушы ауруларының алдын ала диагностикасы үшін молекулалық, генетикалық және биохимиялық диагностика әдістерін енгізу, сондай-ақ жаңа туған нәрестелерді скринингтік тексерудің ұлттық бағдарламаларын әзірлеу маңызды.

**Кілтті сөздер:** орфандық ауру, лизосомалық жинақтаушы ауруы, Гошер ауруы, диагностика, масс-спектрометрия.