

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

На правах рукописи



Семенова Екатерина Игоревна

**Анализ изменения транскриптома при нейродегенерации на  
ранних стадиях болезни Паркинсона**

1.5.3. – Молекулярная биология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
д-р биол. наук,  
Шадрина Мария Игоревна

Москва  
2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	12
1.1. Общие сведения о болезни Паркинсона .....	12
1.1.1. Эпидемиология болезни Паркинсона.....	13
1.1.2. Симптомы болезни Паркинсона .....	15
1.1.3. Клиническая диагностика и классификации болезни Паркинсона .....	20
1.2. Нейропатология болезни Паркинсона.....	23
1.2.1. Роль дофаминергической системы в функциональных изменениях работы базальных ганглий .....	23
1.2.2. Изменения в других нейромедиаторных системах.....	25
1.2.3. Модель Браака и гипотеза о прионоподобном распространении $\alpha$ -синуклеина.....	28
1.2.4. Роль микробиоты кишечника .....	31
1.3. Специфическая уязвимость DA-ергических нейронов .....	32
1.4. Факторы, влияющие на риск развития болезни Паркинсона.....	33
1.4.1. Генетические факторы .....	33
1.4.2. Внешние факторы, которые могут быть связаны с риском развития болезни Паркинсона.....	36
1.5. Молекулярно-генетические механизмы болезни Паркинсона .....	39
1.5.1. Дисфункция убиквитин-зависимой протеасомной деградации белков и аутофагии.....	40
1.5.2. Митохондриальная дисфункция.....	44
1.5.3. Окислительный стресс .....	49
1.5.4. Нейровоспаление.....	50
1.5.5. Нарушения клеточного транспорта.....	52
1.6. Циркадные ритмы и болезнь Паркинсона .....	54
1.6.1. Общие сведения о циркадной системе.....	54
1.6.2. Нарушения циркадных ритмов при болезни Паркинсона .....	55
1.7. Подходы к изучению транскриптома пациентов с болезнью Паркинсона .....	58
1.7.1. Исследование транскриптома в периферической крови .....	58
1.7.2. Близнецовые исследования.....	66

<b>2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	69
2.1. Характеристика анализируемых выборок пациентов .....	69
2.2. Секвенирование РНК и анализ полученных данных .....	70
2.3. Выделение тотальной РНК из крови .....	71
2.4. Анализ экспрессии отдельных генов-кандидатов .....	72
2.5. Биоинформатическая обработка данных .....	73
<b>3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....	76
3.1. Полнотранскриптомный анализ в периферической крови трех пар монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона .....	76
3.2. Анализ изменения экспрессии отдельных генов в периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона, находящихся на ранних клинических стадиях развития заболевания .....	84
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	93
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	95
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b> .....	96
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	98

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Болезнь Паркинсона (БП) — распространенное неуклонно прогрессирующее с возрастом нейродегенеративное заболевание [1]. В промышленно развитых странах частота встречаемости БП составляет 1% среди людей старше 60 лет и 3% среди людей в возрасте 80 лет и старше [2]. По примерным оценкам всего в мире насчитывается около 6 миллионов пациентов с БП. При этом отмечается, что в последние два десятилетия частота и распространенность этого заболевания стремительно растут. Характерные для БП неврологические симптомы приводят к ухудшению качества жизни пациента, его инвалидизации и смерти. Также чрезмерную нагрузку испытывают лица, осуществляющие уход за пациентами с БП [3].

Отличительными патологическими признаками БП являются гибель дофаминергических нейронов (ДА-ергических) в компактной части черной субстанции (ЧС) и накопление телец Леви. Вследствие гибели ДА-ергических нейронов проявляются классические двигательные симптомы БП, по которым ставят клинический диагноз, – тремор, ригидность, брадикинезия и постуральная неустойчивость [4]. При этом заболевание манифестирует только после потери около 70% ДА-ергических нейронов, а сама дегенерация нейронов развивается в течение многих лет до возникновения моторных симптомов [5]. В этот период может возникать целый ряд немоторных нарушений, таких как гипосмия, нарушения сна, тревожность, депрессия и запоры. Эти симптомы являются неспецифическими для БП и обусловлены изменениями функционирования различных нейромедиаторных систем, таких как дофаминергическая, гипокретиновая, норадренергическая, серотонинергическая, холинергическая и гистаминергическая [6, 7].

С точки зрения генетики, выделяют семейную и спорадическую формы БП. Преобладающая часть случаев заболевания спорадические, только около 10% всех

пациентов имеют наследственную форму [8]. Идентификация генов семейных форм и анализ кодируемых этими генами белков позволили определить некоторые процессы, вовлеченные в патогенез БП. Так, на сегодняшний день считается, что митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, нарушения аутофагии и убиквитин-протеасомной деградации белков играют центральную роль в развитии нейродегенерации при БП [5, 9]. Но, несмотря на достигнутый прогресс, причины развития БП все еще остаются не до конца ясными.

В настоящее время доказано, что при БП как в ЧС, так и в других структурах мозга происходят выраженные изменения на уровне транскриптома [10]. В большей части работ по изучению транскриптома был исследован постмортальный материал мозга пациентов с БП, находящихся на последних, тяжелых стадиях заболевания и прошедших активное медикаментозное лечение [11-13]. В связи с чем можно предположить, что выявленные изменения могут отличаться от изменений транскриптома на ранних стадиях патологического процесса.

Ткани мозга пациентов, находящихся на самых ранних стадиях БП, недоступны, и выходом из этой ситуации является изучение экспрессии генов в периферической крови. Периферическая кровь является одной из наиболее доступных и перспективных тканей для фундаментальных и клинических исследований [14]. Исследования, проводимые в периферической крови, позволили уточнить картину патогенеза БП. С одной стороны, были подтверждены хорошо известные процессы, вовлеченные в патогенез [15-17]. В то же время, выявлены новые кандидатные гены БП, для которых было показано изменение экспрессии у пациентов [14, 18, 19].

Важную роль в изучении этиопатогенеза многофакторных заболеваний, к которым относится БП, играют исследования транскриптома дискордантных по данным заболеваниям монозиготных близнецов. Данный подход позволяет минимизировать влияние генетических факторов на изменения транскриптома, характерные для БП. Выявляемые при этом дифференциально экспрессирующиеся

гены далее необходимо проанализировать на расширенных выборках пациентов с БП. Особый интерес при этом представляет изучение пациентов, находящихся на стадии первичных моторных нарушений до начала противопаркинсонической терапии. Изучение таких пациентов может помочь выявить биомаркеры, связанные с начальными этапами нейродегенерации. Такими биомаркерами могут являться относительные уровни мРНК кандидатных генов в периферической крови.

В связи с этим **целью** настоящей работы было изучение изменения экспрессии генов на уровне транскриптома при нейродегенеративных процессах, развивающихся у пациентов с болезнью Паркинсона, и выявление новых маркеров ранних стадий заболевания.

### **Задачи исследования**

1. Полнотранскриптомный анализ периферической крови трех пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП, и отбор генов для дальнейшего анализа.
2. Анализ изменения экспрессии генов, отобранных в результате полнотранскриптомного анализа, в периферической крови трех пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП.
3. Анализ изменения экспрессии отдельных генов в периферической крови пациентов с БП, находящихся на ранних клинических стадиях развития заболевания.

### **Научная новизна работы**

В настоящей работе был проведен полнотранскриптомный анализ в периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по БП, и не несущих при этом мутаций, ассоциированных с данным заболеванием. Данный анализ позволил подтвердить вовлеченность биологического процесса «циркадные ритмы» в патогенез БП и отобрать гены для дальнейшего исследования.

При анализе экспрессии отдельных кандидатных генов нами было показано достоверное изменение уровней мРНК генов *MTA1*, *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП.

Установлено, что у генов *ADORA2A* и *DNM2* изменяются уровни экспрессии только у пациентов с ранними стадиями БП, получавших лекарственную терапию. Вероятно, что данные гены вовлечены в процессы, подверженные воздействию терапии противопаркинсоническими препаратами.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

- 1) Полнотранскриптомный анализ в периферической крови монозиготных близнецов, дискордатных по БП, подтвердил вовлеченность биологического процесса «циркадные ритмы» в патогенез данного заболевания. В связи с этим можно сказать, что данный процесс может быть интересен для более детального рассмотрения в будущих исследованиях.
- 2) Данные о достоверных изменениях экспрессии генов *ADORA2A* и *DNM2* в группе пациентов с ранними стадиями БП, получавших терапию, могут быть полезными при исследовании патологий, спровоцированных длительным приемом противопаркинсонических препаратов.
- 3) Полученные нами данные о достоверных изменениях экспрессии генов *MTA1*, *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* помогают расширить представления о нейродегенеративных процессах, происходящих на самых ранних стадиях БП.
- 4) Обнаруженное нами достоверное, специфическое для БП и независимое от противопаркинсонической терапии изменение уровней мРНК генов *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП позволяет рассматривать данные гены в качестве потенциальных биомаркеров ранних стадий БП. Также маркером развития нейродегенеративных процессов на ранних стадиях может служить ген

*MTA1*, для которого было показано снижение экспрессии в группе пациентов с ранними стадиями БП, не получавших терапию. В будущем подобные биомаркеры могут быть использованы для создания диагностической панели ранних стадий БП.

### **Методология и методы исследования**

В ходе выполнения работы были использованы стандартные молекулярно-биологические и биоинформатические методы исследований. Было проведено секвенирование РНК, отбор дифференциально экспрессирующихся генов с дальнейшим анализом обогащения. Проведен подбор систем праймеров и зондов для исследуемых генов. Для оценки качества систем праймеров и зондов применяли полимеразную цепную реакцию и электрофорез ДНК в агарозном геле. Для экспрессионного анализа проводили выделение РНК из периферической крови, обратную транскрипцию и полимеразную цепную реакцию в реальном времени (технология TaqMan). Расчет относительных уровней экспрессии проводился с использованием метода сравнения пороговых уровней амплификации.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

- 1) Биологический процесс «циркадные ритмы» (по классификации Gene Ontology) вовлечен в патогенез БП на транскриптомном уровне.
- 2) Снижение уровня мРНК гена *MTA1* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП может отражать процессы, связанные с гибелью дофаминергических нейронов.
- 3) Увеличение экспрессии гена *ADORA2A* связано с терапией противопаркинсоническими препаратами и не зависит от стадии заболевания.



- 4) Ген *DNM2* вовлечен в процессы, подверженные терапии агонистами дофамина.
- 5) Уровни мРНК генов *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров развития ранних стадий БП.

### **Личный вклад**

Основные результаты работы получены автором лично или при его непосредственном участии.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Работа выполнена в соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами. Выводы и основные положения, выносимые на защиту, обоснованы фактическим материалом, полученным в результате проведения экспериментов с использованием надежных методов исследования, а также анализа и интерпретации данных. Основные результаты работы были опубликованы в 3 статьях, а также представлены на 6 российских и международных конференциях и научных школах.

### **Статьи в рецензируемых научных журналах**

- 1) Семенова Е.И., Руденок М.М., Алиева А.Х., Карабанов А.В., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрина М.И. Анализ относительных уровней экспрессии генов *DNM2*, *EPN2* и *EXOC4* в периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2021;39(3):25-30. <https://doi.org/10.17116/molgen20213903125>.
- 2) Semenova E.I., Vlasov I.N., Partevian S.A., Rosinskaya A.V., Rybolovlev I.N., Slominsky P.A., Shadrina M.I., Alieva A.K. Transcriptome profiling reveals differential expression of circadian behavior genes in peripheral blood of monozygotic twins discordant for Parkinson's disease. *Cells*, 2022, 11, 2599. <https://doi.org/10.3390/cells11162599>. IF = 7.66, Q1.

- 3) Semenova E.I., Partevian S.A., Shulskaya M.V., Rudenok M.M., Lukashevich M.V., Baranova N.M., Doronina O.B., Doronina K.S., Rosinskaya A.V., Fedotova E.Y., Illarioshkin S.N., Slominsky P.A., Shadrina M.I., Alieva A.K. Analysis of *ADORA2A*, *MTA1*, *PTGDS*, *PTGS2*, *NSF* and *HNMT* gene expression levels in peripheral blood of patients with early stages of Parkinson's disease. *BioMed Research International*, vol. 2023, Article ID 9412776, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/9412776>. IF = 3.25, Q2.

### Материалы научных конференций

- 1) Семенова Е.И., Руденок М.М., Рыболовлев И.Н., Сломинский П.А., Шадрина М.И. Анализ уровня экспрессии генов гистаминергической системы на ранней симптомной стадии болезни Паркинсона. *Медицинская генетика*. 2020;19(4):105-106. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2020.04.105-106>.
- 2) Семенова Е.И., Руденок М.М., Рыболовлев И.Н., Алиева А.Х., Сломинский П.А., Шадрина М.И. Анализ относительных уровней экспрессии генов гистаминергической системы и циркадных ритмов в тканях мозга мышей с МФТП-индуцированной моделью ранней симптомной стадии болезни Паркинсона. В сборнике III Объединенный Научный Форум Физиологов, Биохимиков И Молекулярных Биологов; VII Съезд Биохимиков России; X Российский Симпозиум «Белки И Пептиды»; VII Съезд Физиологов СНН. *Научные Труды*. Место издания Перо Москва. 2021; том 2, с. 222.
- 3) Semenova E.I., Rudenok M.M., Alieva A.Kh., Karabanov A.V., Illarioshkin S.N., Slominsky P.A., Shadrina M.I. Analysis of *DNM2*, *EPN2* & *EXOC4* relative gene expression levels in peripheral blood from Parkinson's disease patients // ESHG 2021: virtual conference, August 28-31: European Society of Human Genetics. 2021, P09.105.B.
- 4) Руденок М.М., Семенова Е.И., Карабанов А.В., Росинская А.В., Доронина О.Б., Доронина К.С., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А., Шадрина М.И., Алиева А.Х. РНК-биомаркеры ранних стадий болезни Паркинсона. *Нейрофорум-2022* и

V Национальный конгресс по болезни Паркинсона и расстройствам движений, Москва, Россия, 23-24 июня 2022.

- 5) Семенова Е.И., Власов И.Н., Партевян С.А., Росинская А.В., Рыболовлев И.Н., Сломинский П.А., Шадрина М.И., Алиева А.Х. Анализ экспрессии генов, ассоциированных с циркадными ритмами, в периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона. Сборник тезисов 26-ой Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА». Пущино: ФИЦ ПНЦБИ РАН, 2023. – 58 с.
- 6) Semenova E.I., Partevian S.A., Shulskaya M.V., Rudenok M.M., Lukashevich M.V., Baranova N.M., Doronina O.B., Doronina K.S., Rosinskaya A.V., Fedotova E.Y., Illarioshkin S.N., Slominsky P.A., Shadrina M.I., Alieva A.K. Gene expression differences in peripheral blood of patients with early stages of Parkinson's disease. *Journal of Clinical Physiology and Pathology*. 2023. Т. 2. № 3. С. 73-74.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список сокращений и условных обозначений» и «Список литературы», который включает 399 источников. Работа изложена на 131 странице, содержит 11 рисунков, 12 таблиц.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Общие сведения о болезни Паркинсона

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное, прогрессирующее с возрастом нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических (ДА-ергических) нейронов в компактной части черной субстанции (ЧС) [1]. Данное заболевание впервые было описано Джеймсом Паркинсоном, который в 1817 году определил его как дрожательный паралич и выпустил монографию с соответствующим названием «An essay on the shaking palsy» [20]. В данном эссе Паркинсон описал такие клинические симптомы заболевания как тремор покоя и снижение мышечной силы после исследования 6 пациентов. Позднее Жан-Мартен Шарко описал пациента с БП, у которого отсутствовал тремор, но наблюдалась выраженная ригидность. Впоследствии ригидность была признана одним из основных симптомов БП. Также Шарко счел неправильным использование термина «паралич» в названии расстройства, и предложил назвать заболевание «болезнь Паркинсона» в честь его первооткрывателя [21]. В 1912 году Фридрихом Леви впервые были описаны включения сферических телец в стволе мозга пациентов с БП, которые позднее были названы тельцами Леви (ТЛ) [22]. Несколько лет спустя, в 1919 году, Константин Третьяков после исследования большого количества посмертных образцов отметил, что наиболее вероятное место скопления ТЛ – ЧС. Другое важное событие для истории БП произошло в 1958 году, когда Арвид Карлссон открыл наличие дофамина в мозге млекопитающих. Также было обнаружено, что нейроны ЧС, синтезирующие дофамин, проецируются в стриатум, что позволило понять организацию нигро-стриарного пути в мозге млекопитающих [23]. В 1960-е годы вынесено предположение, что двигательные симптомы БП связаны со снижением уровня дофамина в нигро-стриарном пути в связи с гибелью ДА-ергических нейронов [24, 25].

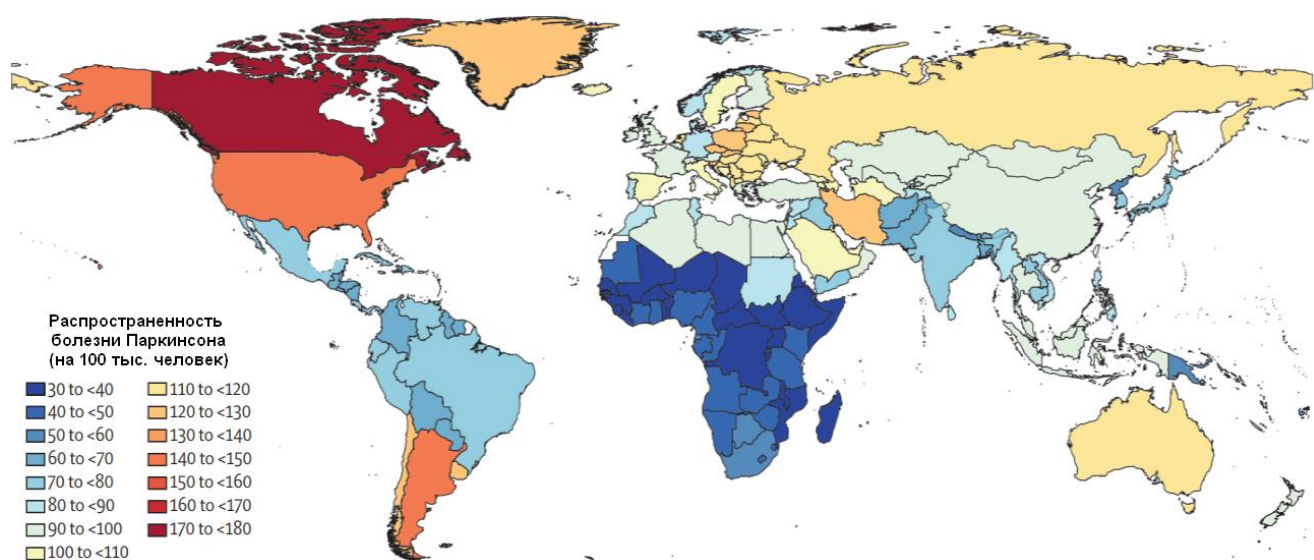
Долгое время поддерживалась догма, утверждающая, что БП опосредована главным образом факторами окружающей среды. Впоследствии исследования семей с данным заболеванием показали, что во многих случаях фенотип БП может быть объяснен генетическими факторами. Отправной точкой, с которой начались генетические исследования БП, стало составление генеалогических схем. Было выявлено наличие семейных и спорадических форм заболевания, а также, что наследование в семьях может происходить как по аутосомно-доминантному, так и по аутосомно-рецессивному типу. Кроме того, было показано, что разным семьям характерны отличающиеся клинические формы БП, что подчеркивает гетерогенную природу заболевания [26]. Во второй половине 20-го века произошел целый ряд прорывов в создании методов молекулярной генетики. Благодаря использованию секвенирования в 1997 году в лаборатории Полимеропулуса была выявлена первая мутация аутосомно-доминантного типа А53Т в гене белка а-синуклеина – *SNCA*, которая приводила к БП [27]. Впоследствии выяснилось, что именно а-синуклеин является основным компонентом ТЛ [28].

К настоящему времени благодаря многочисленным исследованиям, проведенным за последние десятилетия, было показано, что гибели ДА-ергических нейронов могут способствовать такие процессы, как митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, стресс эндоплазматического ретикулума, нейровоспаление, нарушения аутофагии и работы иммунной системы [5, 29, 30]. Однако, этиология БП все еще остается не до конца выясненной.

### **1.1.1. Эпидемиология болезни Паркинсона**

На сегодняшний день БП является вторым по распространенности заболеванием после болезни Альцгеймера среди всех нейродегенеративных патологий. Всего в мире насчитывается около 6 миллионов пациентов с БП [31]. В промышленно развитых странах распространенность БП составляет 0,3% в общей популяции, 1,0% среди людей старше 60 лет и 3,0% среди людей в возрасте 80 лет

и старше [2]. Уровень распространенности БП значительно варьирует в зависимости от географического положения (Рисунок 1).



**Рисунок 1.** Стандартизованная по возрасту распространенность БП на 100000 населения в зависимости от места проживания для обоих полов, 2016 г. [32] с изменениями.

Из рисунка 1 видно, что стандартизованные по возрасту показатели распространенности БП по странам различаются более чем в пять раз, при этом самые высокие показатели наблюдаются в Северной Америке, а самые низкие – в странах Африки к югу от Сахары.

Частота встречаемости БП в России примерно соответствует европейским показателям, однако является неоднородной внутри страны. Полученные исследователями показатели распространенности БП в различных регионах России варьировались в пределах 20–140 на 100000 человек. При этом наибольшая распространенность наблюдалась в Московской области, а наименьшая в Смоленской области. Примерная оценка численности пациентов с БП в России – 210000 человек [33].

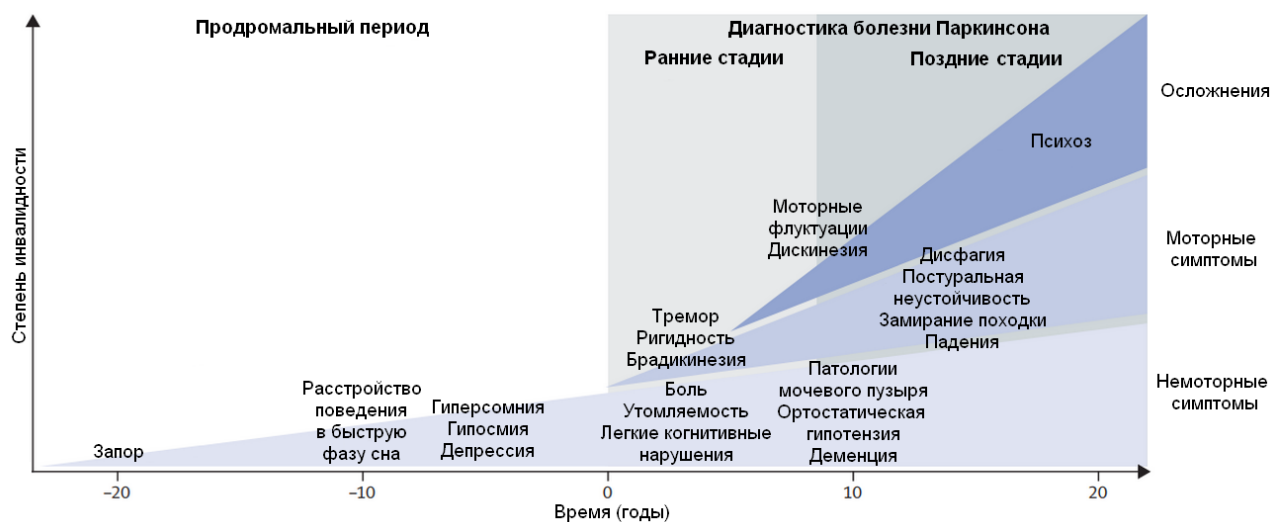
Частота встречаемости БП увеличивается с возрастом. Средний возраст начала БП – 60 лет. Помимо пожилого возраста, мужской пол признан одним из

основных факторов риска развития БП. Распространенность БП в 1,5-2,0 раза выше у мужчин, чем у женщин. Возраст начала заболевания у женщин на 2,1 года позже, чем у мужчин. Кроме того, для женщин характерно наличие более мягкого фенотипа БП по сравнению с мужчинами [2].

Появление первых клинических признаков БП происходит, когда нейродегенерация достигает критического уровня, и даже при условии активного лечения средняя продолжительность жизни пациентов после выявления первых моторных нарушений составляет около 9 лет. При этом скорость прогрессирования заболевания очень сильно отличается – при вялотекущем патологическом процессе его длительность может превышать 30 лет, тогда как в некоторых случаях она не достигает года. Развитие БП резко снижает качество жизни пациентов и повышает примерно в 3 раза смертность по причинам, не связанным напрямую с развитием БП [34]. БП – возраст-зависимое заболевание, большая часть пациентов относится к пожилым людям. В результате по мере увеличения средней продолжительности жизни число пациентов с БП в мире нарастает. Одновременно наблюдается и снижение возраста начала заболевания и это также ведет к повышению числа пациентов с диагнозом БП. Все это создает большие проблемы для системы здравоохранения во всем мире и в первую очередь в промышленно развитых странах [35].

### **1.1.2. Симптомы болезни Паркинсона**

Клинический диагноз БП ставят на основании классических моторных симптомов заболевания [4]. Однако известно, что БП характеризуется длительным продромальным периодом, то есть инициация патогенеза наступает задолго до возникновения клинических двигательных симптомов. В этот период может проявляться целый ряд немоторных нарушений [6, 7]. На рисунке 2 отражено развитие симптоматики БП с течением времени.



**Рисунок 2.** Клинические симптомы, связанные с прогрессированием болезни Паркинсона [4] с изменениями. Диагноз болезни Паркинсона ставят на основании появления двигательных симптомов (точка 0 лет), чему предшествует продромальный период, который может продолжаться 20 лет и более. Продромальный период характеризуется развитием ряда немоторных симптомов. Немоторные симптомы продолжают развиваться после постановки диагноза и по мере прогрессирования заболевания, способствуя инвалидности. Такие двигательные симптомы, как постуральная неустойчивость с частыми падениями и замирание походки, обычно возникают на поздних стадиях заболевания. Кроме того, в связи с дофаминергической терапией возникают такие осложнения, как моторные флуктуации, дискинезии и психозы, которые также способствуют инвалидности.

### Моторные симптомы

К моторным симптомам БП в первую очередь относят четыре наиболее распространенных симптома, наблюдающихся у пациентов: тремор покоя, брадикинезию, ригидность и постуральную неустойчивость.

**Тремор** является наиболее распространенным и легко узнаваемым симптомом БП. Часто тремор является первым симптомом БП и затрагивает примерно 90% всех пациентов в определенный период их жизни. Обычно при БП наблюдается тремор покоя, но у 50% пациентов также может наблюдаться тремор при вытягивании рук вперед. Тремор начинается односторонне, с частотой 4-6 Гц и может сопровождаться движениями, напоминающими счет монет [36].

**Брадикинезия** представляет собой замедленность движений. Данный симптом может возникать как при начале движения, так и при его продолжении.



Появляется значительная задержка между желанием реализовать движение и его выполнением. Брадикинезия считается одним из наиболее тяжелых симптомов БП, серьезно влияющим на повседневную деятельность, такую как письмо, прием пищи или умывание [37].

**Ригидность** – это сопротивление конечности при пассивном сгибании, при котором активируются как мышцы-агонисты, так и мышцы-антагонисты. Чрезмерное и продолжительное сокращение мышц обусловлено повышенным мышечным тонусом. Данный симптом иначе называют нарушением пластичности мышц по типу «зубчатого колеса» [38].

**Постуральная неустойчивость** – дисфункция равновесия, которая чаще проявляется в ходе течения болезни, примерно через десять лет после первоначального диагноза. Постуральная неустойчивость коррелирует с тяжестью заболевания. Данный симптом не проходит при приеме леводопы в отличие от брадикинезии, ригидности и тремора. Постуральная неустойчивость является основной причиной падений, что ведет к переломам бедра, потере независимости у пациентов и помещению их в дома престарелых [39].

Помимо основной тетрады моторных симптомов у пациентов с БП также может наблюдаться леводопа-индуцированная дискинезия, представляющая собой произвольные, хореиморфные движения конечностей, головы и/или туловища. Как следует из названия, данный симптом связан с длительным приемом пациентами леводопы. После четырех лет приема леводопы леводопа-индуцированная дискинезия наблюдается примерно у 40% пациентов с БП [40]. Также прием леводопы сказывается на развитии у пациентов моторных флуктуаций и дистонии. Моторные флуктуации возникают в связи со сменой периодов «выключения», когда реакция на прием леводопы слабая, и «включения», когда наблюдается улучшение двигательной функции в ответ на терапию [41]. Дистонией называют произвольные, длительные мышечные сокращения с

принятием неестественной позы. Обычно у пациентов с БП дистония возникает при снижении уровней дофамина в ранние утренние часы [42].

### **Немоторные симптомы**

Вторую группу симптомов БП составляют симптомы, не связанные с движением, или немоторные симптомы. Данные симптомы способствуют значительному ухудшению качества жизни пациентов. Немоторные симптомы могут проявляться за годы и даже десятилетия до появления моторных симптомов, и становятся более выраженными по мере прогрессирования заболевания [43]. Выявление таких немоторных симптомов, как гипосмия, запоры, нарушения сна и депрессия, может быть полезным для диагностики БП на ранних стадиях патогенеза [44]. Нейробиологические основы немоторных симптомов изучены не до конца, однако предполагается, что причиной их возникновения может быть утрата ДА-ергической, норадренергической и холинергической стимуляции [45].

При БП наблюдаются нарушения сенсорных функций. Среди них наиболее распространенным нарушением является гипосмия (снижения обонятельной функции), которая присутствует примерно у 90% лиц с БП, часто уже на момент постановки диагноза [46]. Многие пациенты с БП жалуются на проблемы со зрением. В подавляющем числе случаев отмечается снижение контрастной чувствительности, нарушение цветоразличения и недостаточность конвергенции [47]. Еще одним сенсорным нарушением, часто встречающимся у пациентов с БП, является боль. Всего при БП выделяют пять категорий боли: скелетно-мышечная боль, нейропатическая боль, связанная с дистонией боль, первичная паркинсоническая боль и акатизия [48].

Наиболее частым психическим нарушением при БП является депрессия. Депрессивное состояние обычно усугубляется по мере прогрессирования заболевания, особенно после начала двигательных симптомов, способствующих инвалидизации пациентов [49]. Другой отличительный психический симптом при

БП – это апатия. Апатией называют потерю мотивации по сравнению с предыдущим уровнем функционирования объекта. Ее распространенность при БП равна примерно 40% [50]. Распространенность тревоги при БП составляет 25-40%. При БП тревога чаще всего проявляется в виде генерализованного тревожного расстройства, панического расстройства, сильного утомления или в форме развития фобий [51].

Довольно часто при БП развивается вегетативная дисфункция. Вегетативная дисфункция может возникать на любой стадии БП, а некоторые из ее проявлений, такие как запоры, могут проявиться за годы или даже десятилетия до развития моторных симптомов [51]. Почти у 50% пациентов с БП может наблюдаться ортостатическая гипотензия, проявляющаяся в головокружении при вставании, нечетком зрении или затрудненном мышлении [52]. При БП отмечается целый ряд симптомов, связанных с дисфункцией желудочно-кишечного тракта: дисфагия, гастропарез, избыточный рост бактерий в тонком кишечнике, дисфункция кишечника, сопровождающаяся как снижением частоты, так и затруднением самого акта дефекации. Менее частое и неэффективное глотание у пациентов может привести к слюнотечению, а также может быть причиной более опасных осложнений, таких как аспирация (попадание пищи или жидкости в дыхательные пути вместо пищевода) [53]. Распространенность симптомов со стороны нижних мочевыводящих пути при БП может составлять 25-50% [54]. Часто встречающейся проблемой является гиперактивный мочевой пузырь, что приводит к неотложным позывам к мочеиспусканию, ноктурии и недержанию мочи [55].

Наконец, к наиболее распространенным немоторным симптомам при БП относят различные расстройства сна. С одной стороны, при БП нарушается регуляция сна и бодрствования, что приводит к развитию таких расстройств, как бессонница и дневная сонливость. С другой стороны, нарушается контроль двигательной активности во время сна с последующим возникновением расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз и синдром

беспокойных ног. Кроме того, у некоторых пациентов отмечаются расстройства нарушения дыхания, связанные со сном, такие как обструктивное апноэ сна [56].

### **1.1.3. Клиническая диагностика и классификации болезни Паркинсона**

БП классифицируется с учетом различных аспектов, таких как наследственность, возраст начала заболевания, доминирующие моторные симптомы, степень тяжести болезни и прогрессирования симптомов.

С точки зрения генетики выделяют семейную (наследственную) и спорадическую формы БП. Большая часть пациентов с БП имеют спорадическую форму заболевания, на семейные формы приходится менее 10% случаев заболевания. При этом семейная форма БП может наследоваться как по аутосомно-доминантному, так и по аутосомно-рецессивному типу [8].

Хотя возраст является одним из наиболее важных факторов риска развития БП, заболевания может начаться и в молодом возрасте. В зависимости от времени начала проявления первых моторных симптомов заболевание классифицируется на БП с ранним началом (возраст начала заболевания от 20 до 40 лет), БП с средним началом (возраст начала заболевания от 40 до 60 лет), БП с поздним началом (возраст начала заболевания более 60 лет) [57].

Двигательные особенности пациентов с БП являются неоднородными, в связи с чем в клинической практике используется классификация БП по доминирующим моторным симптомам. В основном выделяют следующие формы: акинетико-ригидно-дрожательная форма (смешанная); дрожательная (БП с преобладанием тремора); акинетико-ригидная форма [58, 59]. Имеются данные, что на смешанную форму приходится 36 % случаев БП, на акинетико-ригидную 38 %, на дрожательную 26 % [60].

Точный диагноз идиопатической БП на сегодняшний день остается сложной задачей. Интенсивные исследования в области визуализации и биохимического анализа биологических жидкостей организма могут помочь выявить БП на ранних

стадиях. Для клинической оценки стадий БП были разработаны рейтинговые шкалы, учитывающие появление и прогрессирование симптомов заболевания [61]. Одной из таких шкал является шкала Хен-Яра, разработанная в 1967 году. Данная шкала является надежной и общепризнанной, она отражает степень прогрессирования патогенеза с учетом появления симптомов БП (таблица 1). Из таблицы 1 видно, что с 1 по 2 стадии прогрессирование симптомов происходит постепенно, на 3 стадии тяжесть симптомов начинает нарастать, к 5 стадии больной не может себя обслуживать [62].

**Таблица 1.** Стадии болезни Паркинсона по шкале Хен-Яра (по Goetz и соавт. [62], с модификациями)

Стадии	Симптомы
0 стадия	Отсутствие двигательных симптомов
1 стадия	Односторонние двигательные нарушения
1,5 стадия	Односторонние проявления симптомов с вовлечением аксиальной мускулатуры (мышц шеи и верхнего отдела позвоночника)
2 стадия	Двусторонние проявления симптомов без постуральной неустойчивости
2,5 стадия	Мягкие двусторонние проявления симптомов с сохранением способности преодолевать вызванную ретропульсию (непреодолимое ускорение движения больного назад после толчка спереди)
3 стадия	Умеренная постуральная неустойчивость, но больной не нуждается в посторонней помощи
4 стадия	Значительная утрата двигательной активности, но пациент может стоять и ходить без поддержки
5 стадия	Передвижение пациента невозможно, он прикован к инвалидному креслу или постели, зависит от человека, осуществляющего уход

Наиболее хорошо зарекомендовавшей себя и часто используемой шкалой для оценки течения БП в клинических исследованиях является Унифицированная шкала оценки болезни Паркинсона (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS) Международного общества расстройств движений [63]. Данная шкала обеспечивает надежный мониторинг инвалидизации и нарушений, связанных с БП.

Другая шкала, разработанная Брааком, описывает клинические симптомы и нейродегенеративные изменения, происходящие в течение развития заболевания (таблица 2) [64-66]. В данной шкале учитываются любые нейродегенеративные

изменения, происходящие в организме пациентов с БП. В частности, для каждой из стадий заболевания описано состояние таких гистологических признаков, как наличие ТЛ и нейритов Леви (НЛ). ТЛ – это сферические белковые образования внутри нейронов, состоящие преимущественно из  $\alpha$ -синуклеина, убиквитина, синфилина и паркина [67]. Также в шкале Браака большое внимание уделяется ранним стадиям, включая доклинические.

**Таблица 2.** Процессы, происходящие на разных стадиях БП по шкале Браака (по Браак и соавт. [65], с модификациями)

Стадия	Клинические симптомы	Патологические изменения
1	Отсутствие симптомов, фаза продромальных симптомов, (гипосмия, вегетативная дисфункция)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Первоначальное образование НЛ в энтеральном (ЭНС), периферическом (ПНС) или центральном (ЦНС) отделах нервной системы</li> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в обонятельной луковице и переднем обонятельном ядре</li> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва, промежуточной ретикулярной зоне</li> </ul>
2	Гипосмия, вегетативная дисфункция (желудочно-кишечные, мочевые симптомы, нарушение сна, изменения настроения)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Образование НЛ в ЭНС, в периферических парасимпатических и симпатических нервах и периферических вегетативных ганглиях</li> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в ядрах системы, отвечающей за ориентацию в пространстве (например, нижних ядрах шва, голубом пятне)</li> </ul>
3	Нарушение сна и возможная дисфункция моторных систем в ранней фазе: асимметричный тремор, ригидность, гипокинезия	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в ядре покрывки ствола мозга и компактной части ЧС</li> <li>– Распространение НЛ по нисходящим проекциям ядер системы, отвечающей за ориентацию в пространстве, перемещаются в центры спинного мозга</li> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в верхних ядрах шва, в ядре Мейнерта и туберомамиллярных ядрах гипоталамуса</li> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в центральном субъядре миндалевидного тела</li> </ul>
4	Дисфункция моторной системы в ранней фазе: тремор, ригидность, гипокинезия	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в срединном и интраламинарных ядрах таламуса</li> <li>– Образование НЛ и ТЛ в антеромедиальной височной коре (транстенториальной и энторинальной областях, гиппокампе)</li> </ul>
5	Отказ двигательной системы поздних стадий: флуктуация, падения, прикованность к постели	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Возникновение НЛ и ТЛ в высших кортикальных областях регуляции вегетативных функций</li> </ul>

	или инвалидной коляске, когнитивные нарушения	– Возникновение НЛ и ТЛ в областях сенсорных ассоциаций высшего порядка и префронтальных полях
<b>6</b>	Отказ двигательной системы поздних стадий: флуктуация, падения, прикованность к постели или инвалидной коляске, когнитивные нарушения, деменция	– Возникновение НЛ и ТЛ в областях сенсорной ассоциации первого порядка и премоторных полях – Возникновение НЛ и ТЛ в первичных сенсорных и первичных моторных зонах

Так, БП представляет собой гетерогенное заболевание с различными клиническими фенотипами. Классификация БП в соответствии с разработанными шкалами помогает врачам и исследователем определить особенности заболевания, что способствует более точной диагностике и прогнозированию исхода.

## **1.2. Нейропатология болезни Паркинсона**

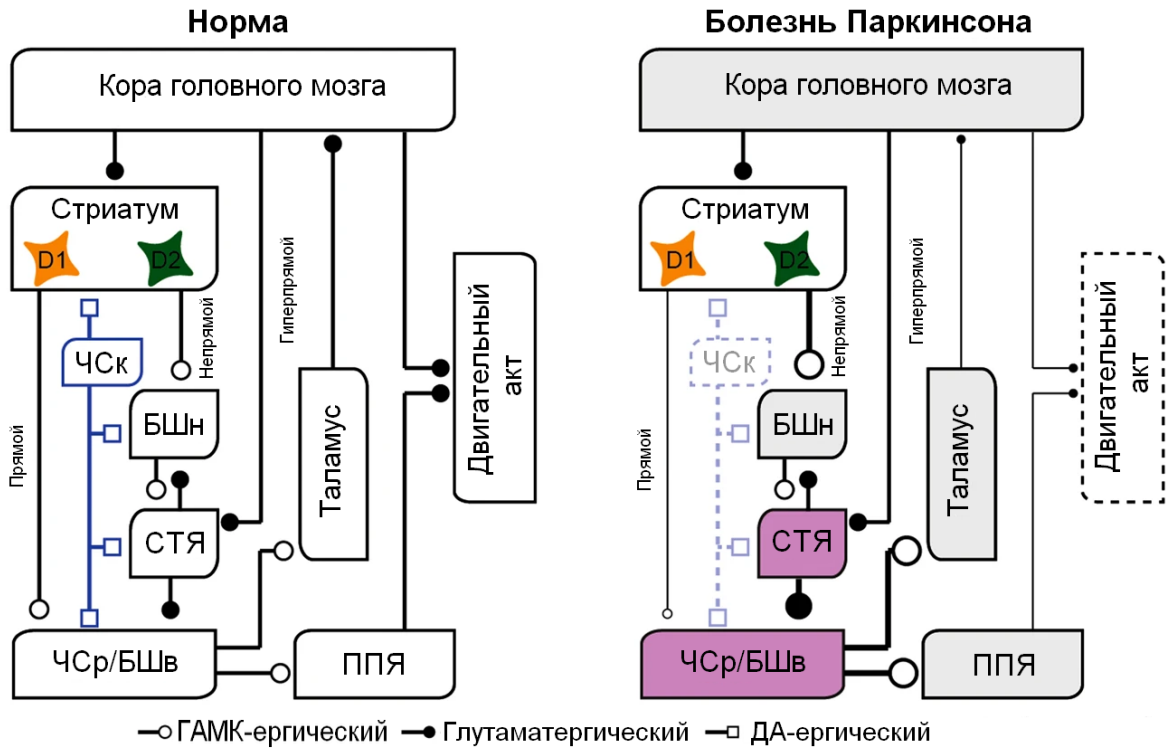
### **1.2.1. Роль дофаминергической системы в функциональных изменениях работы базальных ганглий**

Клинический диагноз БП ставят на основании наличия двигательных симптомов. Возникновение данных симптомов обусловлено гибелью ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС. Прогрессирующая дегенерация в этой области ведет к нарушению гомеостаза дофамина и, как следствие, к функциональным изменениям в работе базальных ганглий [68]. Базальные ганглии – это большая группа подкорковых ядер в переднем и среднем мозге, которые участвуют в регуляции движений благодаря своей взаимосвязи с моторной корой, а также с таламусом, стволom мозга и некоторыми другими структурами мозга. Базальные ганглии состоят из четырех основных ядер: стриатума (путамен, хвостатое ядро и прилежащее ядро), бледный шар (внутренняя и наружная части), субталамические ядра и ЧС (компактная и ретикулярная части) [69].

Тела ДА-ергических нейронов локализованы в ЧС, а их аксоны проецируются в стриатум. Дофамин, высвобождаемый в стриатум из ЧС, действует на ДА-ергические рецепторы DRD1 и DRD2 средних шипиковых нейронов,

которые связаны с прямым и непрямым путем соответственно [70]. При БП дегенерация nigrostriatalных путей приводит к снижению уровня дофамина в стриатуме и, как следствие, снижению стимуляции ДА-ергических рецепторов DRD1 и DRD2 [71, 72]. Это ведет к целому каскаду событий, результатом которых является возникновение двигательных симптомов заболевания. На сегодняшний день показано, что классические двигательные симптомы БП наблюдаются при гибели приблизительно 50-60% ДА-ергических нейронов компактной части черной субстанции и 80%-ном снижении уровня ДА в стриатуме [73, 74]. Изменения в структуре связей базальных ганглий при БП отражены на рисунке 3.





**Рисунок 3.** Схема структуры связей базальных ганглиев в здоровом состоянии и при БП [75] с изменениями. ЧСк – компактная часть черной субстанции; ЧСр – ретикулярная часть черной субстанции; БШн – наружная часть бледного шара; БШв – внутренняя часть бледного шара; СТЯ – субталамическое ядро; ППЯ – педункулопонтинное ядро. В здоровом мозге из коры головного мозга возбуждающие сигналы поступают в базальные ганглии по прямым, непрямым и гиперпрямым путям. Данные сигналы влияют на активность нейронов ЧСр/БШв, регулирующих активность зон, ответственных за регуляцию двигательной функции. ДА-ергические пути (синий цвет) из ЧСк регулируют активность нейронов в базальных ганглиях через D1- и D2-рецепторы. При БП дегенерация ДА-ергических нейронов в ЧСк приводит к снижению уровня дофамина в стриатуме, и как следствие, снижению стимуляции ДА-ергических рецепторов D1 и D2. В связи с этим происходит чрезмерная активация средних шипиковых нейронов непрямого пути, понижение активности нейронов БШн (серый цвет) и растормаживание нейронов СТЯ и ЧСр/БШв (фиолетовый цвет), что в конечном итоге приводит к усилению торможения нейронов двигательных областей ствола мозга и таламуса (серый цвет) и нарушению инициации произвольных движений.

### 1.2.2. Изменения в других нейромедиаторных системах

Важно отметить, что нейродегенеративный процесс при БП выходит за пределы nigro-стриарного пути, что объясняет возникновение немоторных симптомов. При этом нарушения в работе других областей мозга и нейромедиаторных систем могут предшествовать дегенерации ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС. В частности, наблюдаются нарушения в

норадренергической, серотонинергической, холинергической, глутаматергической, ГАМК-ергической и гистаминергической системах в различных областях мозга.

Норадренергическая система, основной структурой которого является голубое пятно, может подвергаться значительным повреждениям при БП предположительно раньше, чем ДА-ергическая система. Дегенерация норадренергических нейронов из голубого пятна у пациентов с БП может достигать 80%, особенно на поздних стадиях заболевания [76], как следствие, у пациентов наблюдается снижение уровня норадреналина [77]. Норадренергическая система оказывает противовоспалительное и нейропротекторное действие при дегенерации ДА-ергических нейронов, и, следовательно, повреждение данной системы может способствовать прогрессированию заболевания [78, 79]. Ингибирование норадренергической нейротрансмиссии приводит к развитию тревоги, депрессии и одновременно с этим к ослаблению когнитивных нарушений [80]. Норадреналин является ключевым нейротрансмиттером эндогенной болевой системы. Поскольку устойчивая боль вызывает торможение норадренергической обратной связи, снижение уровня норадреналина при БП, скорее всего, будет ассоциироваться с усилением болевых симптомов [81].

Показано, что при БП происходит гибель около 40% серотонинергических нейронов ядер шва [82], а снижение уровня серотонина в коре и базальных ганглиях может достигать 50% [83]. Предполагается, что именно снижение уровня серотонина сказывается на развитии у пациентов с БП таких немоторных симптомов, как нарушения настроения, депрессия, нарушения сна, дефицит когнитивных функций и повышенная утомляемость [80, 84].

Нарушения в работе холинергической системы при БП связаны с гибелью холинергических нейронов в базальном ядре Мейнерта [85, 86]. Считается, что холинергическая дисфункция при БП главным образом играет роль в развитии когнитивной дисфункции, деменции, тревоги, апатии и нарушений сна [80, 87].

Кроме того, было высказано предположение, что холинергическая дисфункция также может быть причиной вегетативных нарушений при БП [88].

Дегенерация нигростриатных ДА-ергических нейронов при БП приводит к чрезмерному возбуждению глутаматергических нейронов в базальных ганглиях [89]. Чрезмерные концентрации глутамата или чрезмерная активность глутаматергических нервных окончаний могут привести к повреждению нейронов. Нарушения глутаматергической нейротрансмиссии в базальных ганглиях могут играть роль в развитии многочисленных симптомов у пациентов с БП, от классических двигательных симптомов до немоторных симптомов, таких как тревога, когнитивные нарушения, нарушения настроения и боль [90, 91].

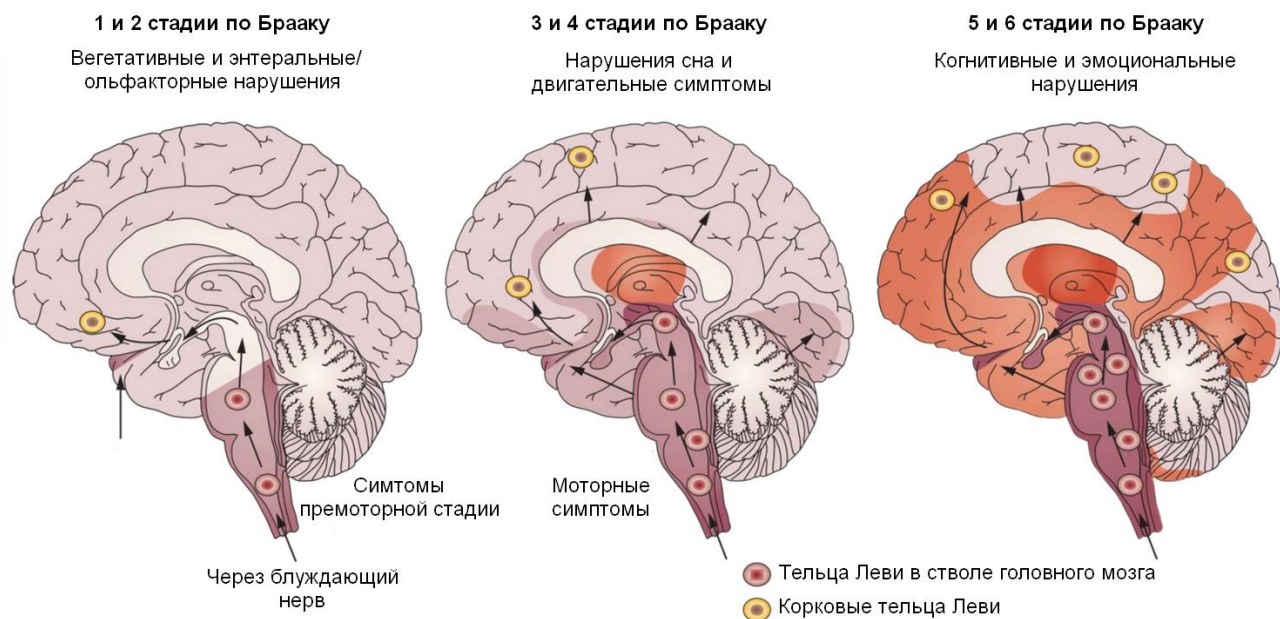
Снижение выработки дофамина при БП нарушает нормальное функционирование ГАМК-ергической системы, нейромедиатором которой является  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) [92]. В целом снижение уровней дофамина приводит к понижению возбудимости ГАМК-ергических интернейронов в стриатуме. Результаты по изменениям уровней ГАМК в базальных ганглиях пациентов с БП противоречивы [93]. Было показано, что при БП происходит значительное снижение концентрации ГАМК в большом ядре шва и вентральном гигантоклеточном ядре, что предположительно приводит к возникновению проблем со сном, в частности к расстройству поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз [94]. Кроме того, изменения в работе ГАМК-ергической системы при БП могут приводить к развитию таких немоторных симптомов, как гипосмия, нарушения желудочно-кишечного тракта, нарушения зрения, когнитивный дефицит [95].

В последние годы появляются данные, указывающие на то, что при БП могут происходить изменения в функционировании гистаминергической системы [96]. При анализе посмертных образцов мозга пациентов с БП было обнаружено значительное накопление ТЛ и НЛ в туберомамиллярном ядре, месте скопления тел гистаминергических нейронов [64]. У пациентов с БП показано увеличение

уровней гистамина в ЧС, путамене и бледном шаре [97]. Нарушения в работе гистаминергической системы могут сказываться на возникновении у пациентов с БП нарушений сна и когнитивной дисфункции.

### **1.2.3. Модель Браака и гипотеза о прионоподобном распространении $\alpha$ -синуклеина**

На сегодняшний день известно, что моторные симптомы, на основе которых ставится диагноз БП, появляются при гибели 50-60% ДА-ергических нейронов в ЧС и снижении уровня дофамина в стриатуме на 70-80% [98, 99]. При этом с момента начала дегенерации ДА-ергических нейронов до проявления моторных симптомов может пройти более 20 лет. В течение длительного продромального периода заболевания часто развиваются немоторные симптомы. В связи с этим возникает вопрос о том, в каких именно областях начинает развиваться БП. Для решения данного вопроса в 2003 г. Брааком и коллегами была разработана шестиступенчатая модель, основанная на распределении ТЛ по различным областям нервной системы [66, 100]. Согласно этой модели, представленной на рисунке 4, патология начинает развиваться в обонятельной луковице и ЭНС, затем распространяется на ПНС и, наконец, достигает ЦНС [100, 101]. Данная модель согласуется с наблюдением в клинической картине пациентов с БП немоторных симптомов (гипосмия, нарушения сна, запоры), предшествующих двигательным симптомам и связанных с ПНС.

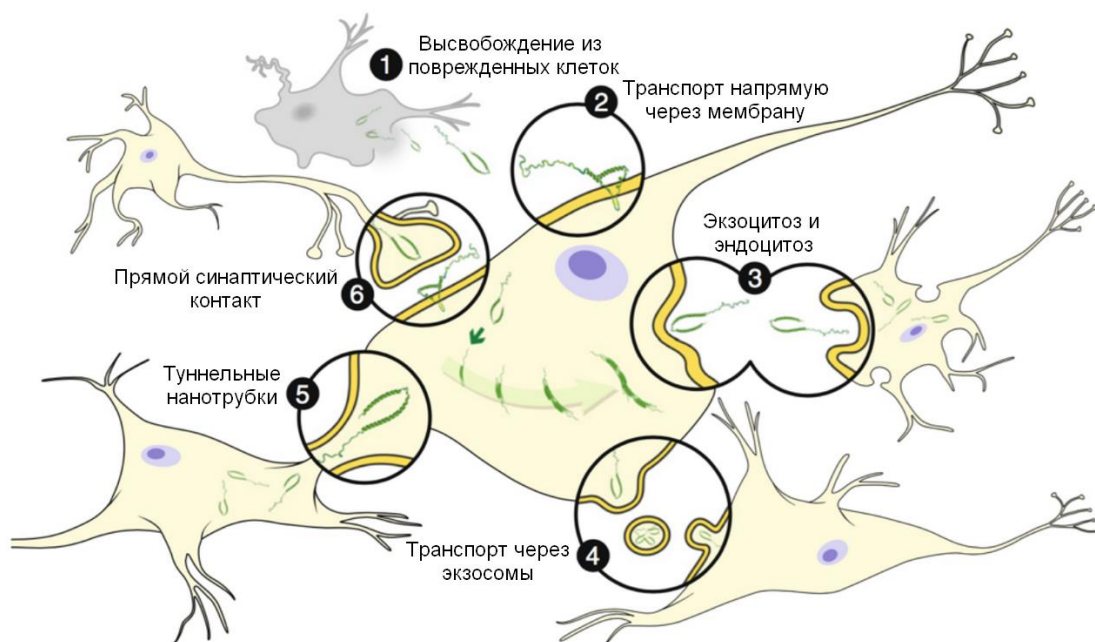


**Рисунок 4.** Модель прогрессирования БП, предложенная Брааком [46] с изменениями. Данная модель показывает, что патология начинает развиваться в ЭНС или обонятельной луковице, а затем распространяясь по блуждающему нерву достигает ЦНС.

Брааком и его коллегами было выдвинуто предположение, что потенциальные неидентифицированные патогены окружающей среды изначально могут попадать в наиболее подверженные влиянию окружающей среды области организма, такие как обонятельные луковицы и ЭНС, и вызывать аномальные изменения в белке  $\alpha$ -синуклеине [64]. Далее возбудитель может достигать немиелинизированных аксонов блуждающего нерва, а затем путем аксонального транспорта дорсального моторного ядра в нижнюю часть ствола мозга. Оттуда заболевание развивается в направлении ядер среднего мозга и некортикальные центры переднего мозга и, в конечном счете, достигает коры головного мозга [66].

Модель Браака тесно связана с гипотезой о том, что белок  $\alpha$ -синуклеин обладает прионоподобными свойствами. То есть патология развивается посредством распространения неправильно свернутых белков от нейрона к нейрону. Данная теория основывается на обнаружении ТЛ в пересаженных пациенту с БП фетальных ДА-ергических нейронах при посмертном анализе мозга [102-104]. Это наблюдение побудило провести ряд исследований, направленных на

выяснение механизма распространения  $\alpha$ -синуклеина между нейронами. В ходе данных исследований было показано, что экзогенный мономерный, олигомерный или фибриллярный  $\alpha$ -синуклеин способен проникать в окружающие клетки [105, 106]. Более того, фибриллярный  $\alpha$ -синуклеин может распространяться посредством аксонального транспорта [107]. Мономерные и агрегированные формы  $\alpha$ -синуклеина в цитозольных везикулах могут высвобождаться путем экзоцитоза [108], а затем поглощаться через эндоцитоз окружающими нейронами. Далее  $\alpha$ -синуклеин в цитозольных везикулах будет либо деградировать в лизосомах, либо высвобождаться в цитозоль [109]. Фибриллярный  $\alpha$ -синуклеин может также напрямую переноситься от нейрона к нейрону посредством образования туннельных нанотрубок [110]. Варианты переноса  $\alpha$ -синуклеина между нейронами показаны на рисунке 5.



**Рисунок 5.** Варианты переноса  $\alpha$ -синуклеина между нейронами [101] с изменениями. 1-2) Внеклеточный  $\alpha$ -синуклеин, высвобождающийся из поврежденных клеток, может транслоцироваться в соседние нейроны напрямую через мембрану. 3)  $\alpha$ -синуклеин может быть перенесен между клетками посредством экзоцитоза и эндоцитоза. 4)  $\alpha$ -синуклеин может быть поглощен соседними клетками через экзосомы. 5)  $\alpha$ -синуклеин свободно перемещается по туннельным нанотрубкам. 6) Передача  $\alpha$ -синуклеина может происходить непосредственно при синаптическом контакте.

Тем не менее, на сегодняшний день как модель Браака, так и гипотеза о прионоподобном распространении  $\alpha$ -синуклеина, являются предметом дискуссий, поскольку не все случаи заболевания соответствуют описанным закономерностям, а у некоторых пациентов с БП ТЛ отсутствуют совсем [111].

#### **1.2.4. Роль микробиоты кишечника**

В соответствии с ранее представленной моделью Браака, описывающей прогрессирование БП, и исходя из гипотезы, что БП может инициироваться в кишечнике, были начаты исследования связи «мозг-кишечник» [112]. Предпосылками для этого являлось то, что до 63% пациентов с БП страдают хроническими запорами, которые предшествуют двигательным симптомам [113], а также обнаружение агрегированных и фосфорилированных форм  $\alpha$ -синуклеина в ЭНС [114]. Такая агрегация  $\alpha$ -синуклеина может быть связана с воспалением и окислительным стрессом в желудочно-кишечном тракте, вызванным транслоцированными бактериями и провоспалительными факторами [115, 116]. Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что БП может быть спровоцирована не потенциальным внешним патогеном и/или токсинами из окружающей среды, а дисбалансом кишечной микробиоты [117]. На трансгенных мышцах со сверхэкспрессией  $\alpha$ -синуклеина было показано, что микробиота кишечника способствует нейровоспалению и развитию двигательных симптомов, а лечение антибиотиками нивелирует эти эффекты [118]. Агрегаты  $\alpha$ -синуклеина, индуцированные микробиотой, могут перемещаться из ЭНС в компактную часть ЧС, тем самым оказывая влияние на прогрессирование БП. Кроме того, липополисахариды, поступающие из кишечника, могут способствовать нарушению гематоэнцефалического барьера, что ведет к развитию нейровоспаления в компактной части ЧС [119, 120].

### 1.3. Специфическая уязвимость ДА-ергических нейронов

Особенностью БП, отличающую ее от других патологий, является гибель ДА-ергических нейронов в компактной части ЧС [121]. Существуют некоторые характеристики ДА-ергических нейронов в ЧС, обуславливающих их уязвимость при развитии БП.

ДА-ергические нейроны в ЧС имеют длинный аксон, который сильно разветвлен и немиелинизирован в области разветвлений. Данные ДА-ергические нейроны образуют большое количество синапсов [122]. Подобная нейронная архитектура требует значительных энергетических затрат как на поддержание биологических функций клетки (синтез белка, поддержание цитоскелета, аксональный транспорт и т.д.), так и для поддержания мембранного потенциала, распространения потенциалов действия и синаптической передачи [123]. Было показано, что ДА-ергические нейроны в ЧС имеют более высокую плотность аксональных митохондрий и более высокую скорость окислительного фосфорилирования по сравнению с ДА-ергическими нейронами вентральной области покрышки и обонятельной луковицы [124]. Огромное количество митохондрий, необходимых для удовлетворения высоких энергетических затрат, также приводит к интенсивной продукции активных форм кислорода (АФК) [125]. Так как ДА-ергические нейроны в ЧС в норме уже находятся в состоянии близком к максимальной производительности, то при наличии факторов риска, ассоциированных с БП, они начнут испытывать клеточную дисфункцию раньше, чем другие популяции нейронов, что приведет к их дегенерации [122].

Во-вторых, на уязвимость ДА-ергических нейронов в ЧС к влиянию внешних воздействий может оказывать влияние метаболизм дофамина. В нормальных условиях большая часть дофамина содержится в синаптических везикулах в условиях низкого рН, что предотвращает его автоокисление. Но при повышении цитозольного уровня дофамина он может метаболизироваться моноаминоксидазой



или подвергаться автоокислению с образованием аддуктов, являющихся источником АФК [126].

Кроме того, отличительной особенностью ДА-ергических нейронов в ЧС является то, что они в отличие от подавляющего большинства нейронов используют кальций для обеспечения медленной ритмичной активности. Открытие кальциевых каналов L-типа приводит к устойчивому поступлению кальция в цитоплазму из внутриклеточного эндоплазматического ретикулума ДА-ергических нейронов ЧС. Попав в цитоплазму, кальций может относительно свободно взаимодействовать с другими белками, в связи с низким содержанием кальциевых буферных белков, таких как кальбиндин [127]. Повышение уровня кальция в цитоплазме индуцирует чрезмерный приток кальция в митохондрии, что способствует развитию митохондриального окислительного стресса [128].

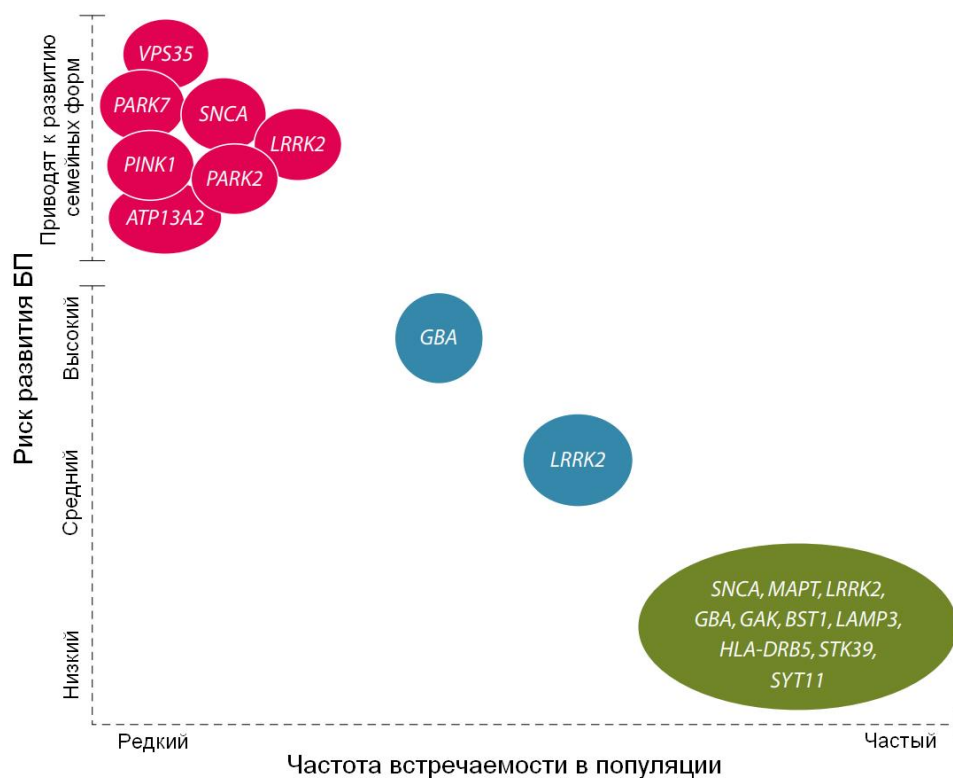
#### **1.4. Факторы, влияющие на риск развития болезни Паркинсона**

Одним из основных факторов риска развития БП является пожилой возраст. Кроме того, известно, что на риск развития болезни и ход ее течения значительным образом влияют генетический фон, окружающая среда и образ жизни [129].

##### **1.4.1. Генетические факторы**

Существует широкий диапазон генетических факторов, влияющих на развитие БП: от полиморфных вариантов с высокой пенетрантностью до вариантов, которые по отдельности оказывают незначительное увеличение риска развития заболевания. Обычно генетические факторы разделяют на две категории: редкие варианты ДНК с высоким уровнем пенетрантности, которые приводят к развитию моногенной или семейной формы БП, и более распространенные варианты с меньшим уровнем риска развития БП, которые обычно проявляются при спорадической форме заболевания (рисунок 6) [129]. Благодаря масштабному мета-анализу полногеномных ассоциативных исследований (genome-wide

association studies, GWAS) идентифицировано 90 независимых генетических факторов риска развития БП [130].



**Рисунок 6.** Генетические факторы, ассоциированные с БП [131] с изменениями. Красным цветом показаны гены, мутации в которых приводят к развитию семейных форм БП; синим цветом показаны гены, полиморфные варианты которых ассоциированы с высоким риском развития БП; зеленым цветом показаны гены, полиморфные варианты которых ассоциированы с низким риском развития БП.

На сегодняшний день с наследственными формами БП связано не менее 23 локусов [132]. Локусы и гены, ассоциированные с развитием БП, представлены в таблице 3.

**Таблица 3.** Локусы и гены, ассоциированные с развитием БП

Локус (хромосома)	Ген/белок	Тип наследования	Начало заболевания	Тельца Леви
<i>PARK1</i> (4q22.1)	<i>SNCA</i> /synuclein alpha	АД	Ранее, позднее	+
<i>PARK2</i> (6q26)	<i>PRKN</i> /parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase	АР	Раннее	-
<i>PARK3</i> (2p13)	<i>PARK3</i> (неизвестно)/Parkinson disease 3	АД	Позднее	-

<i>PARK4</i> (4q22.1)	<i>SNCA</i> /synuclein alpha	АД	Раннее	+
<i>PARK5</i> (4p13)	<i>UCHL1</i> /ubiquitin C-terminal hydrolase L1	АД	Раннее, позднее	-
<i>PARK6</i> (1p36)	<i>PINK1</i> /PTEN induced putative kinase 1	АР	Раннее	-
<i>PARK7</i> (1p36.23)	<i>PARK7</i> /DJ-1, parkinsonism associated deglycase	АР	Раннее	-
<i>PARK8</i> (12q12)	<i>LRRK2</i> /leucine rich repeat kinase 2	АД	Позднее	+
<i>PARK9</i> (1p36.13)	<i>ATP13A2</i> /ATPase 13A2	АР	Раннее	-
<i>PARK10</i> (1p32)	<i>PARK10</i> (неизвестно)/Parkinson disease 10	Неизвестно	Позднее	-
<i>PARK11</i> (2q37.1)	<i>GIGYF2</i> /GRB10 interacting GYF protein 2	АД	Позднее	-
<i>PARK12</i> (Xq21-q25)	<i>PARK12</i> (неизвестно)/Parkinson disease 12	Х-сцепленное наследование	Позднее	-
<i>PARK13</i> (2p13.1)	<i>HTRA2</i> /HtrA serine peptidase 2	АД	Раннее, позднее	-
<i>PARK14</i> (22q13.1)	<i>PLA2G6</i> /phospholipase A2 group VI	АР	Раннее	-
<i>PARK15</i> (22q12.3)	<i>FBXO7</i> /F-box protein 7	АР	Раннее	-
<i>PARK16</i> (1q32)	<i>PARK16</i> (неизвестно)/Parkinson disease 16	Неизвестно	Позднее	-
<i>PARK17</i> (16q11.2)	<i>VPS35</i> /VPS35, retromer complex component	АД	Позднее	-
<i>PARK18</i> (3q27.1)	<i>EIF4G1</i> /eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1	АД	Позднее	-
<i>PARK19</i> (1p31.3)	<i>DNAJC6</i> /DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C6	АР	Раннее	-
<i>PARK20</i> (21q22.1)	<i>SYNJ1</i> /synaptojanin 1	АР	Раннее	-
<i>PARK21</i> (20p13)	<i>TMEM230</i> /transmembrane protein 230	АД	Раннее, позднее	+
<i>PARK22</i> (7p11.2)	<i>CHCHD2</i> /coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2	АД	Раннее, позднее	-
<i>PARK23</i> (15q22.2)	<i>VPS13C</i> /vacuolar protein sorting 13 homolog C	АР	Раннее	-

АД: аутосомно-доминантная форма БП, АР: аутосомно-рецессивная форма БП, +: ТЛ выявлены, -: ТЛ не выявлены.

Генетическая предрасположенность является не единственным фактором риска развития БП. В некоторых исследованиях была обнаружена разница в распространенности заболевания между идентичными этническими группами в разных странах, что может указывать на то, что в патогенезе БП важную роль также могут играть внешние факторы [133, 134].

#### **1.4.2. Внешние факторы, которые могут быть связаны с риском развития болезни Паркинсона**

##### **Пестициды и другие промышленные химикаты**

Одним из указаний на то, что факторы окружающей среды могут влиять на развитие БП, было наблюдение развития паркинсонического синдрома у наркоманов в возрасте 26-42 лет после употребления 1-метил-4-фенилпропионоксипиперидина (МФПП) в качестве синтетического опиоида [135]. МФПП в качестве основной побочной примеси содержит токсин 1,2,3,6-метилфенилтетрагидропиридин (МФТП), который способен преодолевать гематоэнцефалический барьер и, попадая в мозг, метаболизироваться моноаминоксидазой В (МАО-В) в нейротоксичный катион 1-метил-4-фенилпиридиния (МФП+). МФП+ нарушает работу комплекса I электрон-транспортной цепи митохондрий, что приводит к гибели клеток и образованию свободных радикалов [136]. Аналогичным образом было показано, что такие пестициды как ротенон и паракват повышают риск развития БП посредством ингибирования комплекса I дыхательной цепи митохондрий. Также эпидемиологические исследования указывают на связь между проживанием в сельской местности (и связанным с этим воздействием пестицидов) и риском развития БП [137]. Результаты многочисленных исследований показывают ассоциацию занятия фермерством и риском развития БП [138, 139]. Однако, не у всех людей, подвергающихся значительному воздействию токсинов и пестицидов, развивается спорадическая форма БП. Это позволяет предположить, что для развития заболевания необходимо более сложное сочетание факторов. Также была

обнаружена положительная корреляция между распространенностью БП и индустриализацией. В частности, риск развития БП может увеличить профессиональное воздействие ионов металлов, таких как Pb, Cu, Fe, Al, Hg и Mn [140]. Хотя ионы металлов необходимы для активности ферментов, их чрезмерное воздействие может принести вред. Изменение функции ферментов может привести к митохондриальной дисфункции и окислительному стрессу. Также воздействие ионов металлов влияет на агрегационные свойства  $\alpha$ -синуклеина [141].

### **Инфекционно-воспалительные процессы**

В настоящее время существует предположение, что в патогенез БП может вносить вклад воспаление в головном мозге, вызванное черепно-мозговой травмой (ЧМТ) или воздействием инфекционных агентов, особенно в раннем возрасте [142]. При исследовании пациентов, поступающих в отделение неотложной помощи или стационар, было показано, что у пациентов среднего и старшего возраста спустя 5-7 лет после ЧМТ на 44% увеличивается риск развития БП относительно пациентов без ЧМТ [143]. Другие убедительные данные в пользу связи ЧМТ и риска развития БП были получены при исследовании пар близнецов. Исследование показало, что у близнеца с ЧМТ в анамнезе наблюдается 3–4-кратное увеличение риска развития БП относительно близнеца без ЧМТ. При этом было обнаружено, что повторные ЧМТ еще сильнее увеличивают риск развития БП [144]. Также для БП характерно наличие активированной микроглии и провоспалительных цитокинов, свидетельствующих о развитии воспаления. Однако на сегодняшний момент остается неясным, является ли воспаление результатом нейродегенерации либо событием, инициирующим развитие заболевания.

Имеются данные о том, что вирусные инфекции могут представлять собой факторы риска развития БП. Во времена пандемии гриппа в конце 1910-х годов у многих пациентов развивался летаргический энцефалит, хроническая фаза которого сопровождалась паркинсоническими симптомами [145]. Результаты ряда работ показывают наличие положительной связи между вирусом простого герпеса

[146, 147], вирусом гриппа А [148], эпидемический паротитом (свинка) [147] и развитием БП, а также отрицательной связи для кори и цитомегаловируса [148]. Также было показано, что риск развития БП может быть связан с внутриутробным воздействием вируса гриппа. Предположительно, после внутриутробного инфицирования может происходить повреждение ЧС плода, которое будет способствовать развитию БП во взрослом возрасте [149]. В 2020 году массовое распространение коронавирусной инфекции COVID-19, вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2, было признано пандемией. Риск заражения данным заболеванием увеличивается у пожилых людей с хроническими заболеваниями, в частности с неврологическими [150]. Это породило интерес к исследованиям о влиянии инфекции COVID-19 на БП. Было показано, что COVID-19 приводит к усугублению таких двигательных симптомов БП как тремор и ригидность, а также некоторых немоторных симптомов: эмоциональных нарушений, галлюцинаций, когнитивного дефицита, расстройств, связанных со сном, и вегетативной дисфункции [151]. Результаты мета-анализа 2022 года показали, что уровень смертности и госпитализации пожилых людей с БП во время пандемии COVID-19 существенно не отличался от показателей среди населения в целом [152]. Стоит отметить, что с момента начала пандемии COVID-19 еще не прошло достаточно времени для оценки влияния на риск развития БП, так как известно, что для БП характерен длительный продромальный период.

### **Образ жизни и наличие сопутствующих заболеваний**

В последние годы появляются все новые данные, свидетельствующие о том, что сахарный диабет 2-го типа (СД2) является фактором риска развития БП. У данных заболеваний существуют общие физиологические особенности и метаболические пути, такие как окислительный стресс, воспаление, нарушение деградации белков и нарушения когнитивной функции. В связи с этим можно предположить, что у БП и СД2 существуют общие патологические механизмы [153,

154]. Кроме того, многие пациенты с БП, не страдающие диабетом, демонстрируют признаки инсулинорезистентности [155].

Все больше исследований указывают на связь БП и рака [156, 157]. Как и в случае с БП, заболеваемость раком увеличивается с возрастом. Курение также изменяет риск некоторых видов рака, особенно рака легких, хотя и в противоположном направлении по сравнению с риском развития БП. Кроме того, имеются данные, что некоторые гены, связанные с БП, могут быть вовлечены в развитие рака. *PARK2* был идентифицирован как мощный ген-супрессор опухолей, тогда как мутации в *LRRK2* были связаны с повышенным риском развития рака. Недавний мета-анализ, включающий данные по 17 миллионам пациентов, показал, что риск развития БП и рака обратно связаны. Обратная связь была показана как для рака, связанного с курением, так и для не связанного. При этом для меланомы и БП, связь, наоборот являлась положительной [158].

Работы по исследованию связи диеты с риском развития БП показали, что употребление молочных продуктов, особенно молока, повышает риск развития БП [159]. А частое потребление чая и кофе наоборот было ассоциировано со снижением риска развития заболевания [160].

Также имеются многочисленные данные, утверждающие, что курение сигарет связано со снижением риска развития БП [161-163]. По сравнению с никогда не курившими людьми, у людей, бросивших курить риск развития БП снижен на 20%. В недавнем эпидемиологическом исследовании было показано, что для людей, являющихся курильщиками, риск развития БП снижается вдвое [164].

### **1.5. Молекулярно-генетические механизмы болезни Паркинсона**

Точные причины гибели ДА-ергических нейронов при БП остаются неизвестными. Тем не менее, благодаря многочисленным исследованиям в настоящее время выделены различные молекулярные механизмы, которые предположительно могут лежать в основе развития нейродегенеративных

процессов при БП. К таким процессам относятся дисфункция убиквитин-зависимой протеасомной деградации белков, нарушения аутофагии, митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, нейровоспаление, нарушения клеточного транспорта, нарушения метаболизма дофамина, стресс эндоплазматического ретикулума, дифференцировка ДА-ергических нейронов, нарушения сплайсинга, апоптоз, изменения в метаболизме железа [5]. Далее подробно описаны первые шесть процессов, так как они подтверждены большим количеством исследований и с ними ассоциирована большая часть генов семейных форм БП.

### **1.5.1. Дисфункция убиквитин-зависимой протеасомной деградации белков и аутофагии**

Убиквитин-протеасомная система является основным путем деградации дефектных белков в цитоплазме, ядре и эндоплазматическом ретикулуме. Убиквитин-протеасомная деградация белков включает следующие этапы: АТФ-зависимая активация мономеров убиквитина, маркировка дефектных белков убиквитином, перенос убиквитинированных белков в протеасому молекулами шаперонов, распознавание и разворачивание убиквитинированных белков и, наконец, АТФ-зависимая деградация ненужных белков протеасомой. В результате образуются короткие пептидные фрагменты (2-25 аминокислотных остатков), которые далее расщепляются пептидазами на составные части, и затем перерабатываются для образования новых белков [165]. Другим путем деградации дефектных белков является аутофагия. Существует три вида аутофагии: макроаутофагия, микроаутофагия и шаперон-опосредованная аутофагия. Макроаутофагия включает образование двумембранных аутофагосом, которые сливаются с лизосомами и доставляют в них цитоплазматическое содержимое, включая неправильно сформированные или агрегированные белки. Микроаутофагия представляет собой лизосомальный пиноцитоз цитоплазматического содержимого. Шаперон-опосредованная аутофагия зависит



от белка теплового шока HSP70 и его связывания с рецептором лизосомальной поверхности LAMP2A. Высокоспецифичное подмножество цитозольных белков распознается HSC70 и интернализуется рецепторами LAMP2A для дальнейшей деградации [166]. При БП отмечается нарушение работы убиквитин-протеасомной деградации белков и лизосомальной аутофагии, что приводит к накоплению дефектных белков и их агрегации. В свою очередь, это может привести к гибели нейронов. В настоящее время показано, что белки, кодируемые генами семейных форм БП (*PRKN*, *SNCA*, *LRRK2*, *GBA*, *VPS35*, *ATP13A2*), принимают участие в процессах, связанных с деградацией дефектных белков.

Белок паркин является убиквитин-лигазой E3, которая совместно с другими ферментами убиквитин-протеасомной системы участвует в деградации белков. Непосредственной функцией паркина является перенос убиквитина с убиквитин-конъюгирующего фермента (E2) на специфичные субстраты [167]. Нарушение нормального функционирования паркина может приводить к патологическому изменению процессов убиквитинирования и накоплению в клетке поврежденных белков, которые являются субстратами паркина, что, в свою очередь, может вести к гибели нейронов и развитию БП [168]. Мутации в гене *PRKN* являются наиболее частой причиной развития аутосомно-рецессивной ювенильной формы БП [169]. Среди них основную часть составляют миссенс-мутации и мутации с изменением копийности одного или нескольких экзонов (делеции, дупликации) [170].

Одним из основных субстратов паркина является  $\alpha$ -синуклеин. Известно, что данный белок входит в состав ТЛ. Внутриклеточный гомеостаз  $\alpha$ -синуклеина поддерживается за счет действия убиквитин-протеасомной системы и лизосомальной аутофагии. Нарушение в работе любой из этих систем приводит к увеличению уровня  $\alpha$ -синуклеина. При этом существуют доказательства компенсаторного взаимодействия между этими системами [171]. Нарушение процесса деградации  $\alpha$ -синуклеина может привести к накоплению агрегатов данного белка [172]. Белок  $\alpha$ -синуклеин содержит последовательность,

являющуюся сайтом связывания LAMP2A. Было показано, что  $\alpha$ -синуклеин дикого типа деградирует после связывания с рецептором LAMP2A. Мутантный  $\alpha$ -синуклеин, напротив, связывается с этим лизосомальным рецептором с высокой аффинностью, но не импортируется в лизосому. По-видимому, мутантный  $\alpha$ -синуклеин блокирует эти рецепторы, тем самым ингибируя путь шаперон-опосредованной аутофагии. Из этого было сделано предположение, что нарушения шаперон-опосредованной аутофагии могут препятствовать клиренсу  $\alpha$ -синуклеина, способствуя образованию его олигомеров и агрегатов [173]. Данное предположение было подтверждено тем, что у пациентов с БП было отмечено снижение уровней маркеров шаперон-опосредованной аутофагии [174]. Также имеются данные, что фармакологическая стимуляция макроаутофагии снижает уровень внутриклеточного  $\alpha$ -синуклеина в экспериментальных моделях [175] [176]. В ЧС пациентов и экспериментальных моделей БП уровень лизосомальных ферментов снижен, особенно в нейронах, содержащих включения  $\alpha$ -синуклеина [177], и вместе с тем отмечается накопление аутофагосом [178]. Другие исследования показывают, что накопление  $\alpha$ -синуклеина в нейронах также может оказывать влияние на изменения в процессах убиквитин-протеасомной деградации белков и макроаутофагии. Например, олигомеры  $\alpha$ -синуклеина могут ингибировать работу убиквитин-протеасомной системы [179] и макроаутофагии [180, 181]. Накопление различных форм  $\alpha$ -синуклеина (дикий тип, мутантный или посттрансляционная форма) может приводить к снижению функционирования шаперон-опосредованной аутофагии [182]. В совокупности эти наблюдения позволяют предположить наличие замкнутого круга, заключающегося в том, что накопление  $\alpha$ -синуклеина происходит вследствие нарушения протеасомной деградации и аутофагии, что, в свою очередь, приводит к нарушению клиренса  $\alpha$ -синуклеина. Белок  $\alpha$ -синуклеин кодируется геном *SNCA*, это первый ген, для которого была обнаружена связь с БП. На данный момент идентифицировано восемь миссенс-мутаций в данном гене, которые приводят к аутосомно-доминантной форме БП. Среди них наиболее распространенной мутацией является

A53T [183]. Также показано, что приводить к развитию БП могут мутации, связанные с увеличением копияности гена *SNCA*, дупликации и трипликации [184].

Дардарин или *LRRK2* является ферментом, имеющим киназную и ГТФазную активность. Точные функции данного белка на сегодняшний день неизвестны, однако было обнаружено, что данный ген может быть вовлечен в процессы, связанные с лизосомальной аутофагией. Было показано, что мутация G2019S в гене *LRRK2* связана с нарушением лизосомальной аутофагии и повышенной агрегацией  $\alpha$ -синуклеина в ДА-ергических нейронах [185]. Мутации в *LRRK2* (в основном миссенс-мутации) вызывают наиболее часто встречающуюся аутосомно-доминантную наследуемую форму семейной БП [186]. Самыми распространенными мутациями в данном гене являются G2019S и R1441C [187].

Бета-глюкоцереброзидаза (*GBA*) является лизосомальным белком, который может быть вовлечен в патогенез БП. Данный белок катализирует расщепление глюкозилцерамида до церамида и глюкозы. Мутации в *GBA* в гомозиготном или сложном гетерозиготном состоянии приводят к развитию болезни Гоше, являющейся лизосомальной болезнью накопления. Было показано, что гетерозиготные мутации в данном гене являются распространенным генетическим фактором риска развития БП с ранним началом [188] и ассоциированы с нарушением функционирования лизосомальной аутофагии [189].

Белок *VPS35* входит в состав ретромерного комплекса, который играет ключевую роль в сортировке липидов и белков, которые только что синтезировались или подверглись эндоцитозу, и направляет их в лизосому, на клеточную поверхность или в аппарат Гольджи [190]. Исследования показали, что данный белок вероятно участвует в утилизации  $\alpha$ -синуклеина. У мышей с дефицитом *Vps35* наблюдается повышенный уровень  $\alpha$ -синуклеина в ДА-ергических нейронах ЧС [191]. В то же время сверхэкспрессия *Vps35* снижает уровень  $\alpha$ -синуклеина у трансгенных мышей, которые также генетически сверхэкспрессируют  $\alpha$ -синуклеин, и в культивируемых нейронах, подвергающихся

воздействию фибрилл  $\alpha$ -синуклеина [192]. Как дефицит *VPS35*, так и мутация *D620N* связаны со снижением уровня *LAMP2*. *LAMP2* является белком, который способствует транспортировке цитоплазматических белков в лизосому [191]. *D620N* на сегодняшний день является единственной достоверно подтвержденной миссенс-мутацией в гене *VPS35*, которая вызывает аутосомно-доминантную форму БП [193, 194].

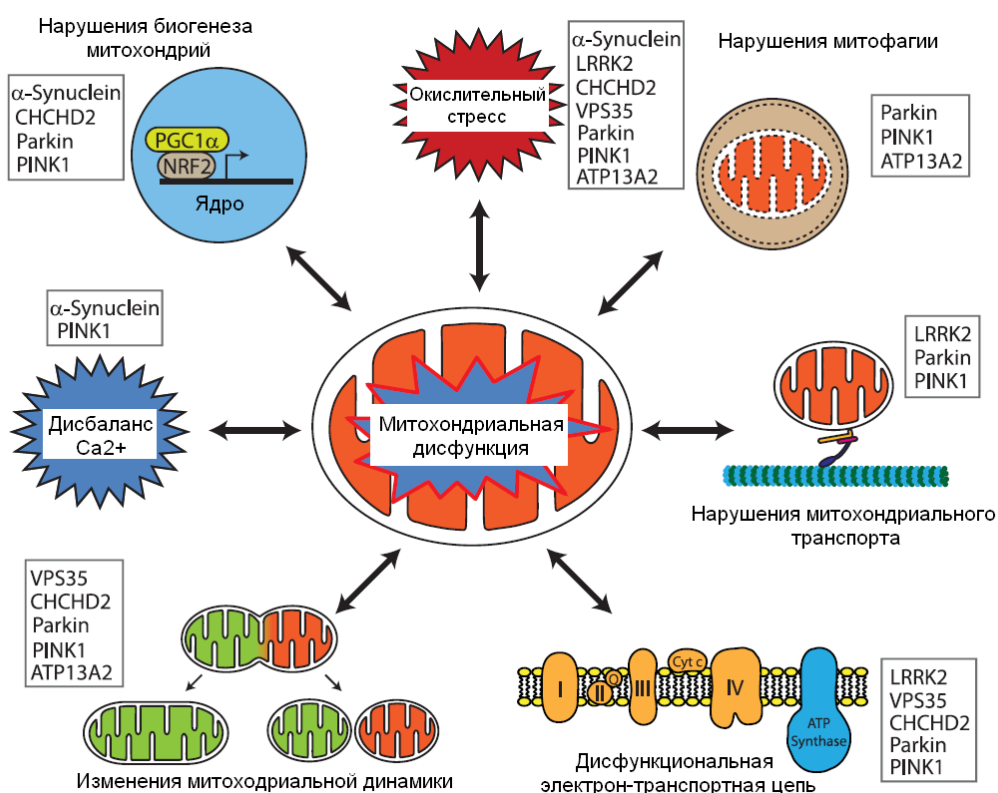
*ATP13A2* – нейрон-специфическая лизосомальная АТФаза, играющая ключевую роль в подкислении лизосом. Исследования на клеточных культурах показали, что белок *ATP13A2* дикого типа преимущественно локализуется в лизосомальной мембране, тогда как мутантные варианты белка остаются в эндоплазматическом ретикулуме, где подвергаются протеасомной деградации. В свою очередь, это приводит к нарушению структуры лизосомальных мембран и, как следствие, нарушению функционирования лизосом [195]. Точечные мутации в гене *ATP13A2* связаны с редким неврологическим заболеванием – синдромом Куфора-Ракеба. Этот синдром является формой рецессивно наследуемого леводопа-чувствительного паркинсонизма с очень ранним началом развития [196]. Дисфункция лизосомальной аутофагии и везикулярного транспорта, вероятно, способствует нейродегенерации у людей с мутациями в *ATP13A2* [197].

### 1.5.2. Митохондриальная дисфункция

Митохондриальная дисфункция уже более 30 лет ассоциируется с нейродегенерацией при БП [198]. Митохондрии головного мозга потребляют около 20% кислорода всего организма, в связи с чем мозг подвергается сильному воздействию метаболитов АФК, образующихся в митохондриальной дыхательной цепи [199]. Одно из первых упоминаний о возможной роли митохондриальной дисфункции в патогенезе БП связано с обнаружением развития паркинсонического синдрома в ответ на введение нейротоксина МФТП. Было показано, что МФТП проникает через гематоэнцефалический барьер, в мозге перерабатывается в МФП+, который способен поглощаться ДА-ергическими нейронами. В ДА-ергических

нейронах МФП+ накапливается в митохондриях и ингибирует комплекс 1 дыхательной цепи митохондрий, что провоцирует гибель нейронов за счет снижения синтеза АТФ и увеличения выработки АФК [200].

На сегодняшний день было показано, что гены *SNCA*, *LRRK2*, *VPS35*, *CHCHD2*, *PRKN*, *PINK1* и *ATP13A2*, связанные с развитием семейных форм БП, кодируют белки, которые играют важную роль в функционировании митохондрий [200]. На рисунке 7 представлены пути развития митохондриальной дисфункции, вовлеченные в патогенез БП, а также белки, которые задействованы в каждый из данных путей.



**Рисунок 7.** Пути развития митохондриальной дисфункции, вовлеченные в патогенез БП [201] с изменениями. Митохондриальная дисфункция, вовлеченная в патогенез БП, может быть следствием нарушения митохондриального биогенеза, повышенной продукции АФК, нарушения митофагии, нарушения митохондриального транспорта, дисфункции электрон-транспортной цепи, изменений динамики митохондрий, кальциевого дисбаланса или комбинации этих путей. На рисунке указаны белки, которые вносят патологический вклад в каждый из процессов, влияющих на развитие митохондриальной дисфункции.

Было показано, что  $\alpha$ -синуклеин может накапливаться в митохондриях, нарушая функционирование комплекса I и усиливая митофагию [202]. Повышенные уровни  $\alpha$ -синуклеина дикого типа и, в большей степени, мутантного  $\alpha$ -синуклеина, связанного с мутациями A53T, E46K и H50Q, приводят к фрагментации митохондрий и выработке АФК *in vitro* и *in vivo* [203]. Кроме того, обнаружено, что  $\alpha$ -синуклеин может быть локализован в митохондриально-ассоциированных мембранах, обеспечивающих связь между эндоплазматической сетью и митохондриями. Данные структуры важны для регуляции  $\text{Ca}^{2+}$ -сигнализации и апоптоза [204].

LRRK2 участвует в инициации митофагии, регулируя подвижность митохондрий [205]. Имеются данные, что у носителей мутаций в *LRRK2* наблюдается повышение уровней делеции митохондриальной ДНК (мтДНК) [206]. Также известно, LRRK2, может взаимодействовать с другими белками, оказывающими воздействие на митохондрии. Например, было показано, что белок DRP1, регулирующий деление митохондрий, действует как эффектор фрагментации митохондрий посредством LRRK2-опосредованного фосфорилирования [207].

Существуют данные, указывающие на связь VPS35 с митохондриальной дисфункцией. Было показано, что ассоциированные с БП мутации в *VPS35* повышают уязвимость к митохондриальному токсину МФП+ *in vitro* [208]. Основная функция VPS35 в митохондриях предположительно заключается в регулировании динамики митохондрий посредством взаимодействия с белками деления/слияния митохондрий. Недавние исследования показали, что мутации в *VPS35* могут вызывать фрагментацию митохондрий, что в свою очередь приводит к развитию нейродегенерации. Это происходит либо за счет уменьшения деградации митохондриальной убиквитин-лигазы 1 E3 (MUL1) или путем усиления оборота комплексов DRP1 посредством везикулярного транспорта из митохондрий в лизосомы [201]. Также было показано, что повышенная фрагментация

митохондрий, вызванная мутацией D620N в гене *VPS35*, нарушает сборку и активность митохондриального комплекса I [209].

*CHCHD2* представляет собой белок митохондриального межмембранного пространства, который играет важную роль в регуляции потока электронов в митохондриальной цепи переноса электронов. В нормальных условиях *CHCHD2* в основном существует в митохондриях, связанных с митохондриальным комплексом IV. Снижение экспрессии *CHCHD2* приводит к падению уровней активности митохондриального комплекса IV, что приводит к увеличению выработки АФК и фрагментации митохондрий. В условиях стресса *CHCHD2* транслоцируется в ядро и функционирует как транскрипционный фактор, регулируя экспрессию изоформы субъединицы 4 митохондриального комплекса IV (*COX4I2*) [210]. На дрожозофилах было показано, что мутации в *CHCHD2*, ассоциированные с БП, приводили к структурным и биохимическим митохондриальным аномалиям, что вело к ДА-ергической нейродегенерации и двигательной дисфункции [211]. Мутация T61I в гене *CHCHD2* ассоциирована с аутосомно-доминантной формой БП с поздним началом.

В настоящее время установлено, что *PRKN* тесно связан с регуляцией митохондриального гомеостаза. При дефиците паркина наблюдается нарушение морфологии и функционирования митохондрий [212]. В фибробластах, полученных от пациентов с мутациями в гене паркина, наблюдалось снижение активности комплекса I и производства АТФ, связанного с комплексом I [213]. Также было показано, что большинство мишеней паркина для убиквитинирования локализовано в митохондриях [214]. На ранних стадиях митохондриальной дегенерации паркин транслоцируется в дисфункциональные митохондрии после чего активируется РТЕН-индуцированной киназой 1 (*PINK1*), другим белком, ассоциированным с БП, что приводит к убиквитинированию белков наружной мембраны митохондрий и их последующей протеасомной дегенерации. Митофагия представляет собой процесс, во время которого происходит удаление

дисфункциональных митохондрий. На грызунах было показано, что в дистальных аксонах нейронов может происходить паркин-опосредованная митофагия [215]. Помимо участия в процессе митофагии, паркин участвует в регуляции митохондриального биогенеза. Паркин опосредует деградацию взаимодействующего с паркином субстрата (PARIS), репрессора активности PGC1 $\alpha$ , что приводит к ядерной транслокации PGC1 $\alpha$  и активации транскрипции митохондриально-ассоциированных генов. Нарушения функции паркина позволяет PARIS накапливаться и подавлять биогенез митохондрий, что приводит к снижению массы митохондрий и нарушению их функционирования [216, 217].

PINK1 представляет собой митохондриальную серин/треониновую киназу, которая играет важную роль в поддержании митохондриального гомеостаза. Наиболее широко изученной из них является функция PINK1 в митофагии; удаление поврежденных митохондрий путем рекрутирования и активации паркина [218]. Было показано, что нарушение функционирования PINK1 вызывает широкий спектр митохондриальной дисфункции. Во многом это является результатом нарушения PINK1/Parkin-опосредованной митофагии [212]. Кроме того, PINK1 также регулирует митохондриальный гомеостаз рядом других способов. Так, было обнаружено, что дефицит PINK1 приводит к перегрузке митохондрий Ca<sup>2+</sup> и специфическому снижению митохондриальных комплексов I и III [219, 220]. С другой стороны, было показано, что PINK1 усиливает деление митохондрий за счет увеличения опосредованной протеинкиназой A (PKA) активации DRP1 и модулирует митохондриальный биогенез посредством регуляции паркин-опосредованной деградации PARIS [221, 222]. Мутации в гене *PINK1* являются второй наиболее распространенной причиной аутосомно-рецессивной БП с ранним началом. Это могут быть точечные мутации, мутации со сдвигом рамки считывания, а также небольшие или целые делеции гена, приводящие к дестабилизации конформации белка или нарушению его ферментативной активности [169, 223].



Было показано, что при дефиците АТР13А2 наблюдается митохондриальная дисфункция, включая снижение выработки АТФ, повышенную фрагментацию митохондрий и увеличение продукции АФК [224, 225]. Кроме того, было обнаружено, что нокаут АТР13А2 ухудшает гликолиз, что усугубляет митохондриальную дисфункцию [226]. Локализация АТР13А2 вне митохондрий привела к предположению, что данный белок может косвенно регулировать функционирование митохондрий. В итоге было показано, что дефицит АТР13А2 вызывает нарушение обмена  $Zn^{2+}$  за счет нарушения везикулярной секвестрации, что приводит к митохондриальной дисфункции [225].

### 1.5.3. Окислительный стресс

Считается, что окислительный стресс играет определенную роль в нейродегенерации, связанной с БП [227]. Нейроны особенно уязвимы к окислительному стрессу из-за высокого содержания ненасыщенных липидов, а метаболизм дофамина также приводит к образованию активных форм кислорода (АФК). Отложение железа, дисфункция митохондрий, воспаление, опосредованное активацией микроглии, и снижение уровня антиоксидантов и антиоксидантных ферментов также способствуют повышению уровня АФК, что подвергает ДА-ергические нейроны хроническому окислительному стрессу [228]. По крайней мере, пять белков ( $\alpha$ -синуклеин, паркин, PINK1, DJ1, дардарин), кодируемых генами моногенных форм БП, принимают участие в процессах, связанных с окислительным стрессом.

Имеются данные, что окислительный стресс при БП может быть связан с наличием определенных вариантов генов, ассоциированных с семейными формами заболевания. Мутации в гене *SNCA* способствуют агрегации  $\alpha$ -синкулеина и окислительному стрессу, а снижение способности к поглощению АФК может еще больше усугублять агрегацию  $\alpha$ -синкулеина [229]. Было показано, что сверхэкспрессия мутантного *SNCA* повышает чувствительность нейрональных клеток к окислительному стрессу [230]. Мутации в гене *PRKN* приводят к

замедлению оборота мутантного белка и повышению уровня маркеров окислительного стресса, таких как белковые карбонилы, перекиси липидов и нитрованные белки [231]. Сверхэкспрессия гена *PINK1* обладает нейропротекторными свойствами и защищает от гибели клеток, вызванной окислительным стрессом, путем ингибирования высвобождения цитохрома с из митохондрий [232]. *PINK1* вместе с паркином участвует в удалении дисфункциональных митохондрий [233]. Дефицит *PINK1* или паркина подавляет аутофагию дисфункциональных митохондрий, что может привести к увеличению уровней АФК и последующей гибели клеток в ЧС. Белок DJ1, кодируемый геном *PARK7*, является нейропротекторным белком, задействованным в антиокислительном, антиапоптотическом и противовоспалительном путях. DJ-1 защищает DA-ергические нейроны ЧС от окислительного стресса. В гене *PARK7* обнаружены как точковые мутации, так и экзонные делеции и трипликации. Все описанные мутации приводят к развитию редкой формы аутосомно-рецессивной БП с ранним началом развития заболевания [234]. Результатами мутаций в гене *LRRK2* являются нарушения динамики синтеза и деления митохондрий, митофагии, повреждения мтДНК. Нарушение данных процессов способствует повышенной продукции АФК, ингибированию активности пероксидазы и, как следствие, усилению окислительного стресса [235].

#### 1.5.4. Нейровоспаление

Нейровоспаление является отличительной чертой БП и одним из основных факторов, влияющих на развитие дегенерации DA-ергических нейронов. Хотя воспалительный ответ возникает в физиологических условиях для поддержания гомеостаза ЦНС, пагубное влияние воспаления может появиться в результате его хронической активации. Контроль над воспалением в ЦНС осуществляют микроглиальные клетки и периваскулярные макрофаги. Микроглиальные клетки секретируют нейротрофические факторы, удаляют токсические вещества и участвуют в восстановлении и ремоделировании синапсов. В норме микроглия

способна оценивать микроокружение на предмет обнаружения инфекции и клеточного стресса, а также реагировать на иммуномодулирующие молекулы. При нарушении микроокружения ЦНС микроглиальные клетки приобретают либо про-, либо противовоспалительный фенотип в зависимости от изменений в ЦНС, которые необходимо купировать. В условиях первичной нейродегенерации и/или периферических воспалительных процессов чрезмерная активация провоспалительной микроглии может привести к развитию хронического воспаления. В этих условиях могут возникнуть пагубные процессы, которые в конечном итоге приведут к гибели нейронов [236, 237].

Было показано, что при БП микроглия приобретает провоспалительный фенотип (крупный размер, амебоидная форма), а также наблюдается повышение уровней провоспалительных цитокинов IL1 $\beta$ , IL6 и TNF $\alpha$  в стриатуме [238]. Активация микроглии была обнаружена при моделировании БП с помощью МФТП на приматах спустя много лет после воздействия токсина, что позволяет предположить, что активированные глиальные клетки могут играть роль в прогрессирующей потере нейронов в течение длительного времени [239]. Один из механизмов, связывающих нейровоспаление с патофизиологией БП, ассоциирован с его ролью в инициации агрегации и распространения  $\alpha$ -синуклеина и активации микроглиальных клеток. Высокий уровень  $\alpha$ -синуклеин-специфических T-клеточных реакций может наблюдаться за несколько лет до манифестации и диагностики БП, что указывает на роль нейровоспаления в патогенезе БП, а также возможную мишень для ранней диагностики и лечения [240]. Результаты исследований на крысах, сверхэкспрессирующих  $\alpha$ -синуклеин, подтверждают гипотезу о том, что ослабление нейровоспаления может облегчить симптомы ранней стадии БП. В частности, было показано, что направленное воздействие на воспалительный ответ у крыс со сверхэкспрессией  $\alpha$ -синуклеина путем введения интерферона и резолвина D1 предотвращает воспаление, а также дисфункцию нейронов и двигательные нарушения [241].

Другой актуальный аспект патофизиологии БП связан с периферическим воспалением и его возможной связью с центральным воспалением в процессе нейродегенерации [242]. Микроглиальные клетки макрофагов в ответ на клеточный стресс и повреждения запускают выработку цитокинов и генерацию АФК [243]. Митохондриальные АФК были названы основными факторами, способствующими развитию воспаления, поскольку в ответ на стресс они передают сигналы опасности во внутриклеточный или внеклеточный компартмент [244, 245]. Молекулы сигналов опасности или DAMP (damage-associated molecular pattern) воспринимаются паттерн-распознающими рецепторами (pattern recognition receptors, PRR) [246]. Митохондриально-АФК-опосредованное воспаление может также развиваться через активацию инфламмосомы NLRP3, и стимулятора генов интерферона [245]. Активация инфламмосомного пути NLRP3 может вызывать образование пор в плазматической мембране, что запускает форму клеточной гибели, называемую пироптозом. В долгосрочной перспективе устойчивая активация инфламмосомы может привести к обширному повреждению тканей и высвобождению внутриклеточных и внеклеточных DAMP, вызывающих воспаление. По пути в мозг провоспалительные цитокины, продуцируемые на периферии, преодолевают гематоэнцефалический барьер и попадают в ЦНС, где связываются с микроглиальными рецепторами, стимулируют активацию NLRP3 и тем самым вызывают нейровоспаление [247]. Таким образом, нейровоспаление и митохондриальная дисфункция тесно связаны друг с другом.

### **1.5.5. Нарушения клеточного транспорта**

К настоящему моменту появились данные о том, что важную роль в патогенезе БП могут играть нарушения клеточного транспорта [248, 249]. Часть белков, кодируемых генами семейных форм БП (*SNCA*, *VPS35*, *LRRK2*, *ATP13A2*), принимают участие в процессах, связанных с транспортом.

Белок  $\alpha$ -синуклеин в пресинаптических окончаниях участвует в процессах эндо- и экзоцитоза. Мутантный  $\alpha$ -синуклеин способствует замедлению данных

процессов [250, 251]. Было показано, что сверхэкспрессия а-синуклеина нарушает функционирование всех этапов везикулярного транспорта. Избыточный уровень а-синуклеина ингибирует стыковку везикул эндоплазматического ретикулума с аппаратом Гольджи, что приводит к стрессу эндоплазматического ретикулума [252]. Кроме того, в ДА-ергических нейронах пациентов а-синуклеин также нарушает нацеливание везикул Гольджи на лизосому. [253]

VPS35 является неотъемлемой частью ретромерного комплекса, который ассоциируется с эндосомой, способствуя ее транспорту к аппарату Гольджи и плазматической мембране, а также обеспечивает рециркуляцию трансмембранных белковых частиц [254]. Наличие мутаций в гене *VPS35* приводит к увеличению числа везикул и нейротрансмиттеров в них, при этом снижается скорость эндоцитоза [255, 256].

LRRK2 также связан с везикулярным трафиком. Наиболее изученными мишенями киназной активности LRRK2 являются Rab ГТФазы. Белки Rab циклически перемещаются между различными субклеточными компартментами, используя свою ГТФазную активность для переключения между связыванием гуанозинтрифосфата (ГТФ) или гуанозиндифосфата (ГДФ). Фосфорилирование LRRK2 фиксирует белки Rab в активном состоянии, когда они локализируются в эндолизосомальных компартментах и способствуют высвобождению лизосомального содержимого для предотвращения лизосомальной перегрузки [257, 258]. Также LRRK2 фосфорилирует эндофилин А, принимающий участие в формировании и отщеплении покрытых клатрином эндосомных везикул в постсинаптическом нейроне [259]. Изменение киназной активности LRRK2 приводит к патологическому фосфорилированию белков-субстратов и к неправильному перераспределению везикул в пресинаптической области [260].

ATP13A2 сортирует накопленные поврежденные цитоплазматические компоненты для их дальнейшего удаления во внеклеточное пространство путем экзоцитоза. Мутации в гене *ATP13A2* приводят к накоплению поврежденных

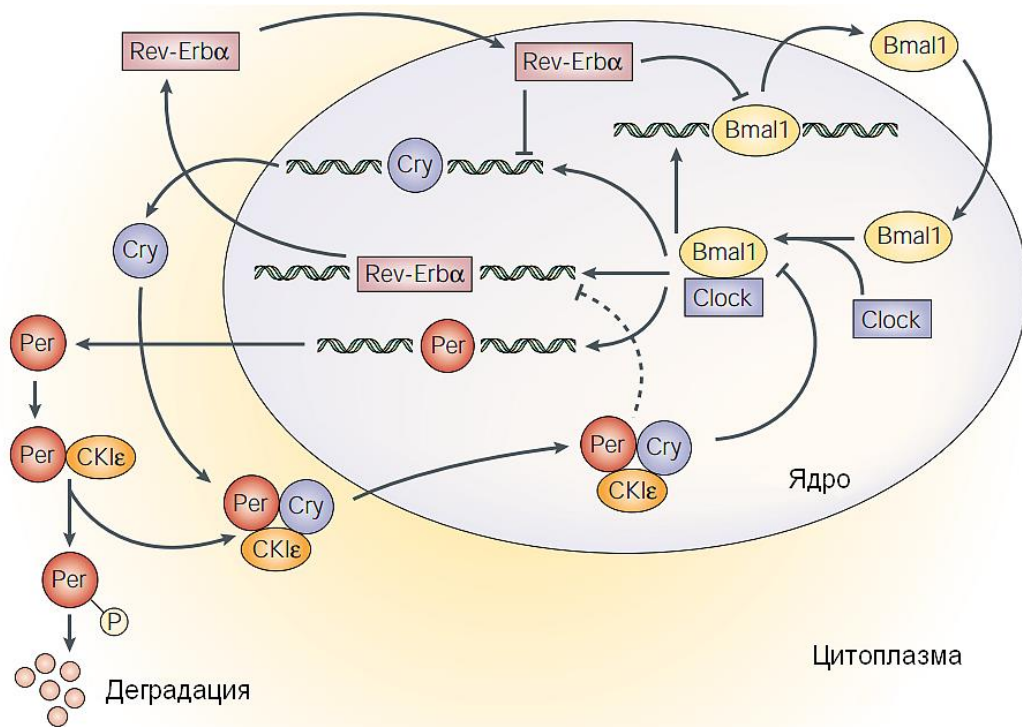
органелл и других компонентов в клетке, а также к выходу избыточного количества везикул в межклеточное пространство [261, 262].

## **1.6. Циркадные ритмы и болезнь Паркинсона**

### **1.6.1. Общие сведения о циркадной системе**

Циркадные ритмы (от лат. «circa diem» – около суток) – это примерно 24-часовые циклы в физиологических процессах организмов, генерирующиеся эндогенно и могут регулироваться внешними стимулами [263]. У млекопитающих главные часы циркадной сети расположены в двух группах нейронов в переднем гипоталамусе, называемых супрахиазматическое ядро. Супрахиазматическое ядро состоит из приблизительно 20000 специализированных нейронов, которые получают прямой синаптический вход от сетчатки, синхронизируя активность организма с внешним циклом смены дня и ночи. Супрахиазматического ядро поддерживает 24-часовое время и синхронизирует клеточные часы по всему телу посредством нейрогормональной модуляции [264].

На молекулярном уровне характеристики циркадных ритмов основаны на изменениях экспрессии генов, кодирующих белки, которые образуют петли обратной связи транскрипции-трансляции, настроенные на 24-часовой период. Взаимодействия компонентов молекулярных часов показаны на рисунке 8. Супрахиазматическое ядро передает свой циркадный сигнал в периферические ткани через нервные и гормональные механизмы, синхронизируя циркадные колебания по всему телу [265].



**Рисунок 8.** Петли обратной связи основных циркадных генов млекопитающих [266] с изменениями. Циркадные ритмы генерируются петлями обратной связи основных циркадных генов. В нейронах супрахиазматического ядра внутриклеточный уровень *Clock* остается стабильным в течение 24 часов, в то время как уровень экспрессии *Bmal1* высок в начале субъективного дня и низок в начале субъективной ночи. Высокий уровень *Bmal1* способствует образованию гетеродимеров *Bmal1-Clock*. Они связываются с последовательностями E-box в промоторах генов *Cry*, *Per* и *Rev-Erba* и активируют транскрипцию в начале циркадных суток. После транскрипции и трансляции белок *Rev-Erba* попадает в ядро и подавляет транскрипцию генов *Bmal1* и *Cry*. По мере накопления в цитоплазме белки *Per* фосфорилируются (P) под действием *CKIε*. Фосфорилированные формы *Per* нестабильны и деградируют путем убиквитинирования. Однако в конце субъективного дня *Cry* накапливается в цитоплазме, способствуя образованию стабильных комплексов *CKIε/Per/Cry*, которые в начале субъективной ночи попадают в ядро. Попадая в ядро, *Cry1* нарушает работу транскрипционного комплекса *Clock/Bmal1*, что приводит к ингибированию транскрипции *Cry*, *Per* и *Rev-Erba*, а также к ингибированию транскрипции *Bmal1*. Взаимодействующие петли положительной и отрицательной обратной связи циркадных генов обеспечивают низкий уровень *Per* и *Cry* и высокий уровень *Bmal1* в начале нового циркадного дня. Сплошные линии указывают на прямую регуляцию, пунктирные на косвенную.

### 1.6.2. Нарушения циркадных ритмов при болезни Паркинсона

В последние годы связь между циркадными ритмами и БП является предметом многочисленных исследований. Предпосылками к этому послужил тот факт, что у многих пациентов с БП развиваются различные расстройства, связанные со сном. При этом нарушения сна могут предшествовать развитию

моторных симптомов, по которым ставят клинический диагноз заболевания [267]. Распространенность нарушений сна при БП составляет приблизительно от 40 до 90%. К ним относятся бессонница, чрезмерная дневная сонливость, расстройство поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз и синдром беспокойных ног [268].

Патофизиологические механизмы, которые приводят к развитию нарушений сна при БП, являются многофакторными. Во-первых, нейродегенеративные процессы, присущие самому заболеванию, могут затрагивать области, регулирующие цикл сон-бодрствование. Может наблюдаться дегенерация норадренергических нейронов в голубом пятне [269], холинергических нейронов в педунколопонтинном ядре и базальном отделе переднего мозга [270], серотонинергических нейронов в ядре шва [271], ДА-ергических нейронов в ЧС, вентральной области покрышки и вентральном околотоводопроводном сером веществе [272], а также орексинергических нейронов в латеральном гипоталамусе [273]. Во-вторых, на сон может оказывать влияние противопаркинсоническая терапия. Было показано, что после лечения леводопой или агонистами дофамина у пациентов заметно повышается сонливость [274, 275].

В исследованиях, посвященных БП, описаны нарушения циркадных ритмов на поведенческом, физиологическом и молекулярном уровнях. В литературе отмечается, что в целом для пациентов с БП характерно уменьшение амплитуды цикла отдыха-активности [276]. Также происходит десинхронизация ритмов в функционировании периферических органов. Так, у пациентов было обнаружено инвертирование или снижение ритма артериального давления [277], постпрандиальная гипотензия (снижение артериального давления после приема пищи) [278] утрата суточной вариабельности сердечного ритма и терморегуляции [279, 280]. Нарушения ритмов выведения жидкости почками также относятся к числу наиболее распространенных немоторных симптомов при БП. Суточный ритм выделения мочи у здоровых людей характеризуется максимальным выведением



мочи в первой половине дня и минимальным в период около полуночи. Напротив, у пациентов с БП днем выделяется меньший объем мочи (43%), чем в ночное время (57%) [281]. Кроме того, у пациентов с БП обнаружено изменение гормональных ритмов: наблюдается стойкое повышение уровня кортизола, а также снижение уровня циркулирующего мелатонина, выработка которого находится под контролем супрахиазматического ядра [282] [283].

При исследовании пациентов с БП, а также при моделировании данного заболевания на животных, было показано, что циркадные ритмы могут быть вовлечены в нейродегенеративные процессы на молекулярном уровне. Было показано снижение экспрессии генов *BMAL1* и *BMAL2* [284, 285], а также утрата суточного ритма экспрессии *BMAL1* [282] в клетках крови пациентов с БП. Кроме того, у пациентов с БП наблюдалась значимое увеличение экспрессии *PER2* и *REV-ERBa* в 4 часа утра по сравнению с контрольной группой [282]. На мышинных моделях БП нарушение циркадного кровотока с использованием не 24-часовых циклов смены света и темноты привело к усилению глиальной активации и нейровоспалению. Циркадная дисфункция, по-видимому, ведет к нейровоспалению, которое, в свою очередь, влияет на нейродегенерацию. Делеция гена *Bmal1* в мозге мышей нарушает все функции циркадных часов и вызывает широкую активацию астроцитов и синаптическую дегенерацию, что подчеркивает важность циркадных ритмов в поддержании врожденного иммунного гомеостаза в мозге [264]. Одним из возможных механизмов, с помощью которых *BMAL1* может регулировать нейровоспаление, является регуляция транскрипции *REV-ERBa* (или *NR1D1*). *REV-ERBa* участвует в регуляции различных процессов: метаболизм, функция макрофагов и воспаление. Делеция гена *REV-ERBa* у мышей вызывала спонтанную активность микроглии в гиппокампе, повышенную экспрессию генов провоспалительных цитокинов, а также вторичный астроглиоз [286].

Было показано, что ДА-ергическая система и циркадные ритмы могут быть взаимосвязаны. Ген тирозин-гидроксилазы, основного фермента синтеза

дофамина, регулируется циркадным геном *CLOCK*. Также циркадные гены могут влиять на ДА-ергическую активность в вентральной области покрышки на посттранскрипционном уровне. Дофамин, в свою очередь, также может влиять на циркадные. Дофамин может усиливать транскрипционную активность комплекса *CLOCK/BMAL*. Также сообщалось, что экспрессия гена *PER2* может быть изменена путем активации ДА-ергического рецептора *DRD2*. Агонисты рецептора *DRD2* ингибируют экспрессию генов *CLOCK* и *PER1*, тогда как агонисты рецептора *DRD1* усиливают экспрессию *PER1*, *CLOCK*, *NPAS2* и *BMAL1*. Было обнаружено резкое снижение транскрипции гена *PER1* в сетчатке трансгенных мышей с нокаутом гена *DRD2*-рецептора [287].

Таким образом, имеющиеся на сегодняшний день литературные данные указывают на возможное наличие циркадной дисфункции при БП, которая является потенциальной причиной многих немоторных симптомов заболевания и способствует снижению качества жизни пациентов. Тем не менее, изменения в функционировании циркадного поведения при БП изучены недостаточно, и данный процесс продолжает представлять интерес для более глубокого исследования. На данный момент неясен точный характер связи между развитием БП и циркадной системой, а также степень вовлеченности циркадной дисфункции в развитии нейродегенерации при БП на ранних стадиях заболевания.

## **1.7. Подходы к изучению транскриптома пациентов с болезнью Паркинсона**

### **1.7.1. Исследование транскриптома в периферической крови**

На сегодняшний день обнаружено, что при БП могут происходить выраженные изменения на уровне транскриптома. При этом ведется изучение изменений экспрессии как отдельных генов, так и проведение полнотранскриптомных исследований. Одним из наиболее доступных объектов для проведения подобных исследований является периферическая кровь. Процесс забора крови является малоинвазивной, недорогой и сравнительно простой процедурой. Опубликованные данные указывают на то, что клетки крови, в

частности, лимфоциты, могут быть моделью для исследования процессов, происходящих в мозге при БП. Было показано, что в клетках крови, также, как и в ДА-ергических нейронах, экспрессируются гены, кодирующие белки, ассоциированные с ДА-ергической передачей сигнала: тирозингидроксилаза [288], переносчик дофамина [289] и рецепторы дофамина [290].

Одним из подходов к исследованию транскриптома в периферической крови пациентов с БП является изучение изменений экспрессии отдельных генов с помощью ПЦР в реальном времени [291]. Данный метод является золотым стандартом количественного определения РНК исследуемого гена. Гены для исследования могут быть отобраны на основании литературных данных, а также в результате проведения полнотранскриптомного анализа. В результате многочисленных работ было выявлено большое количество кандидатных генов, которые могут быть вовлечены в патогенез БП на уровне мРНК [14, 18, 19].

Проведение полнотранскриптомного анализа является другим подходом к исследованию транскриптома. Данный тип исследования осуществляется с использованием микрочипов или секвенирования РНК (RNA-seq). В таблицах 4 и 5 представлена информация о работах, в которых был проведен полнотранскриптомный анализ в периферической крови пациентов с БП, а также генах и процессах, которые были выявлены благодаря этим работам.

**Таблица 4.** Обзор транскриптомных исследований с 2007 г. по 2020 г. в образцах крови, полученных от пациентов с БП. На основании работы *Wongageiro* и соавт., а также диссертации Руденок М.М. [292, 293] с изменениями

Год исследования, автор	Исследуемые образцы	Выборка	Метод	Валидация	Дифференциальная экспрессия	Выявленные гены/процессы
2007, Scherzer et al. [14]	Венозная кровь	БП=50 ЗК=22	Микро чип	ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ)	22 ДЭГ	<i>BCL11B, LRPPRC, ST13</i> , убиквитин-протеасомная система, функционирование митохондрий, апоптоз, транскрипция и трансляция, регуляция клеточного цикла, сигнальная трансдукция, транспорт белков
2008, Soreq et al. [294]	Венозная кровь	БП=50 ЗК=22	Микро чип	ПЦР с ОТ	717 ДЭГ	<i>ALAS2, SELENBP1, SNCA, RPS4Y1, ST13</i> , иммунная функция, транскрипция и трансляция, развитие мозга
2010, Shehadeh et al. [295]	Венозная кровь	БП=17 ЗК=11	Микро чип	ПЦР с ОТ	58 ДЭГ	<i>RRM2</i> , связывание белков, процессинг РНК
2011, Kedmi et al. [296]	Мононуклеарные клетки периферической крови	БП=30 ЗК=29	Микро чип	ПЦР с ОТ	115 ДЭГ	<i>CD22, CD19, CD79A, IGHD, IGHM, PAX5</i> , функционирование иммунной системы, сигнальная трансдукция, нейротрансмиссия, убиквитин-протеасомная система, функционирование митохондрий, окислительный стресс, апоптоз
2011, Mutez et al. [297]	Мононуклеарные клетки периферической крови	ЗК=7 ЗК=1 БП <sub>LRK2</sub> =10	Микро чип	ПЦР с ОТ	132 ДЭГ	<i>ALAS2, ARG1, DUSP10, AHSP, IFNG, LTF, SELENBP1</i> , апоптоз, клеточная адгезия, сигнальная трансдукция, убиквитин-протеасомная система, цитоскелет, функционирование митохондрий, функционирование иммунной системы
2012, Soreq et al. [298]	Лейкоциты	БП=7 ЗК=6	Микро чип	ПЦР с ОТ	173 ДЭГ	<i>SNCA, PARK7</i> , нейрональное развитие
2013, Karlsson et al. [15]	Венозная кровь	БП=79 ЗК=75	Микро чип	Нет	1116 ДЭГ	<i>LRPPRC, BCL2, SRSF8, HSPA8, UBE2K, EGLN1</i> , функционирование митохондрий, окислительный стресс, функционирование иммунной системы, апоптоз, сигнальная трансдукция, убиквитин-протеасомная система

2013, Soreq et al. [299]	Венозная кровь	БП=24 ЗК=17	Биоинформатический анализ	Нет	173 ДЭГ	<i>SNCA, PARK7</i> , нейрональное развитие
2014, Alieva et al. [300]	Венозная кровь	БП=4 ЗК=4	Микро чип	Нет	1429 ДЭГ	Функционирование иммунной системы, везикулярно-опосредованный транспорт, сигнальная трансдукция, транспорт белков, альтернативный сплайсинг, функционирование лизосом
2014, Mutez et al. [301]	Мононуклеарные клетки периферической крови	БП=29 ЗК=20	Микро чип	Комплексная валидационная платформа	120 ДЭГ	<i>ALAS2, EPB42, SELENBP1, SLC4A1</i> , окислительное фосфорилирование, функционирование митохондрий, метаболизм металлов, эндоцитоз, функционирование иммунной системы, убиквитин-протеасомная система, EIF2-сигналинг
2014, Sun et al. [302]	Венозная кровь	БП=50 ЗК=22	Биоинформатический анализ	Нет	11 ДЭГ	<i>DLG1, XIST, DDX3Y, RPS4Y1</i> , mTOR-сигналинг, сигналинг инсулина
2014, Zhang et al. [303]	Венозная кровь	БП=77 ЗК=48	Мета-анализ	Нет	181 ДЭГ	<i>GFAP, IL3</i> , транскрипция и трансляция, сигнальная трансдукция, клеточная дифференциация, нейрональное развитие, функционирование иммунной системы, синаптическая трансмиссия, экзоцитоз
2015, Calligaris et al. [17]	Венозная кровь	БП=40 ЗК=20	Микро чип	ПЦР с ОТ	54 ДЭГ	<i>CBX5, TCF3, DOCK10, MAN1C1</i> , функционирование иммунной системы, эпигенетическая регуляция, организация хроматина, метаболизм липидов, апоптоз, функционирование митохондрий
2015, Infante et al. [304]	Венозная кровь	БП <sub>LRRK2</sub> =20 ЗК=20	RNAse q	Специализированный валидационный набор	13 ДЭГ	<i>ADARB2, CEACAM6, CNTNAP2, COL19A1, DEFA4, DRAXIN, FCER2, HBG1, NCAPG2, NECTIN2, SLC2A14, SNCA, TCL1B</i> , функционирование иммунной системы,

						окислительный стресс, метаболизм глюкозы, Акт-сигналинг
2015, Liu et al. [305]	Мононуклеарные клетки периферической крови	БП=10 ЗК=8	Биоинформатический анализ	Нет	225 ДЭГ	<i>SYN1, GRIN1, GRIN2D, DLGAP3</i> , нейротрансмиссия, сигналинг кальция
2015, Santiago and Potashkin [306]	Венозная кровь	БП=83 ЗК=46	Мета-анализ	ПЦР с ОТ	2781 ДЭГ	<i>HNF4A, PTBP1</i> , функционирование иммунной системы, транспорт белка, MAPK-сигналинг, метаболизм углеводов, сигналинг рака, mTOR-сигналинг
2016, Infante et al. [304]	Венозная кровь	БП=20 БП <sub>LRRK2</sub> =20 ЗК=20	RNAseq	Нет	696 ДЭГ (БП <sub>LRRK2</sub> ), 297 ДЭГ (БП)	<i>HBD, HBG1, HBM</i> , коагулирующая система крови, кроветворение, клеточная адгезия, внеклеточный матрикс, функционирование иммунной системы
2016, Kobo et al. [307]	Лейкоциты	БП <sub>GBA</sub> =59 ЗК=59	Микро чип	ПЦР с ОТ	26 ДЭГ	<i>CD180, CD19, CD22, CD79A, FCRL1</i> , функционирование иммунной системы, плазматическая мембрана, кроветворение
2016, Li et al. [308]	Венозная кровь	БП=50 ЗК=22	Биоинформатический анализ	Специализированный валидационный набор	42 ДЭГ	PPAR-сигналинг, mTOR-сигналинг, метаболизм липидов, функционирование иммунной системы
2016, Nkiliza et al. [309]	Мононуклеарные клетки периферической крови	БП=7 БП <sub>ATXN2</sub> =7 ЗК=13	Микро чип	ПЦР с ОТ	1320 ДЭГ	RNA-связывание, mTOR-сигналинг, EIF2-сигналинг, Акт-сигналинг, функционирование нервной системы, апоптоз, окислительный стресс, функционирование митохондрий
2016, Pinho et al. [310]	Венозная кровь	БП <sub>с ранним началом</sub> =34 БП <sub>с поздним началом</sub> =34	Микро чип	ПЦР с ОТ	221 ДЭГ	<i>RAD18, ABCA1, AGAP1, FOXP1, PPAT, NUB1, AKT2, ABI2</i> , репарация ДНК, белковый транспорт, процессы транскрипции, функционирование иммунной системы, функционирование митохондрий

2017, Dong et al. [311]	Мононуклеарные клетки периферической крови	БП=35 ЗК=22	Биоинформатический анализ	Нет	391 ДЭГ	Метаболизм аминокислот, метаболизм катехоламинов, метаболизм ДА
2018, Schlachetzki et al. [312]	Моноциты из мононуклеарных клеток периферической крови	БП=10 ЗК=10	RNAseq	Нет	3054 ДЭГ	<i>FOS</i> , <i>JUNB</i> , регуляция иммунного ответа, синаптическая трансмиссия
2019, Jiang et al. [313]	Периферическая кровь	БП=3 ЗК=8	Микрочип	ПЦР с ОТ	1229 ДЭГ	<i>GPX3</i> , <i>SLC25A20</i> , <i>LRRN3</i> , <i>POLR1D</i> , регуляция циркадных ритмов, внеклеточное пространство, некроз опухоли
2019, Wang et al. [314]	Периферическая кровь	БП=205 ЗК=233	Микрочип	Нет	1045 ДЭГ	<i>SNCA</i> , <i>ARG1</i> , <i>ARHGAP27</i> , <i>FCER1G</i> , <i>GPR97</i> , <i>IL1RN</i> , <i>MCTP2</i> , активация гранулоцитов, активация нейтрофилов, нейтрофил-опосредованный иммунитет
2020, Kelly et al. [315]	Венозная кровь	БП=204 ЗК=230	Микрочип	Нет	21 ДЭГ	Метаболические пути ожирения, сигналинг инсулина, липолиз в адипоцитах
2020, Hu et al. [316]	Лейкоциты	БП=43 ЗК=43	RNASeq	ПЦР с ОТ	417 ДЭГ	<i>CCL5</i> , <i>CD28</i> , <i>CD3E</i> , <i>IL23A</i> , <i>IL2RA</i> , <i>PRKCQ</i> , <i>TMIGD2</i> , <i>TNFSF9</i> , <i>ZAP70</i> , убиквитин-протеасомная система, пролиферация лейкоцитов, функционирование митохондрий

БП – выборка пациентов с болезнью Паркинсона; БП<sub>LRRK2</sub> – БП, вызванное мутацией в гене *LRRK2*; БП<sub>GBA</sub> – БП, вызванное мутацией в гене *GBA*; БП<sub>ATXN2</sub> - БП, вызванное мутацией в гене *ATXN2*; ДЭГ – дифференциально экспрессирующиеся гены; ЗК – выборка неврологически здоровых добровольцев; RNAseq – секвенирование РНК; Биоинформатический анализ – в работе применяется новый биоинформатический подход к ранее полученным данным.

**Таблица 5.** Обзор транскриптомных исследований с 2020 г. по 2023 г. в образцах крови, полученных от пациентов с БП

2020, Riboldi et al. [317]	Моноциты из мононуклеарных клеток периферической крови	БП=56 ЗК=66 БП <sub>GBA</sub> =23	RNA-seq	Нет	512 ДЭГ (БП <sub>GBA</sub> ), 1543 ДЭГ (БП)	<i>ATP2A2, RIPOR1, SYNJ1, ATP13A2, LRRK2, FUCA2, HEXB, RPTOR, HPS3, FILIP1L</i> , активация миелоидного компартмента, экзоцитоз, секреция везикул, транскрипция/метаболизм РНК, синаптическая передача сигнала, опосредованная кальцием, киназная активность
2020, Wang et al. [318]	Периферическая кровь	БП=424 ЗК=346	Мета-анализ	Нет	1629 ДЭГ	<i>PRKCD, PLAUR, GABARAPL1, PRDX2</i> , апоптоз, негативная регуляция пролиферации клеток, сигнальный путь MAPK, сигнальный путь Wnt, взаимодействие нейроактивных лиганда и рецептора, окислительное фосфорилирование
2021, Kurvits et al. [319]	Венозная кровь	БП=12 ЗК=12	RNA-seq	ПЦР с ОТ	25 ДЭГ	<i>A2M, LINC00612, FAM219B, KIR2DL3, OGT, ENOSF1, MIAT, IL18R1, UBE2J1</i>
2021, Henderson et al. [320]	Периферическая кровь	БП=15 ЗК=15	RNA-seq	Нет	562 ДЭГ	<i>FOSB, ETV7, TCF4, ZNF142, BLC2A1, CDK14, CLEC2B, COMMD6, KLC3, LSM3, LSMEM1, LY96, PC, TARS2, TUBB6, ZDHHC11, RPL34, RPS24, S100A8</i> , транскрипционные процессы, функционирование митохондрий, связывание нуклеиновых кислот, клеточное дыхание, транспорт электронов
2021, Craig et al. [321]	Периферическая кровь	БП=423 ЗК=196 БП <sub>GBA</sub> =30 8 БП <sub>LRRK2</sub> =5 58 БП <sub>SNCA</sub> =2 9	RNA-seq	Нет	2019 ДЭГ	<i>LRRK2, FCGR2A, BST1, SIPA1L2, RNF141, SYT17</i> , дегрануляция нейтрофилов, воспаление, развитие эритроцитов, обнаружение химического стимула при восприятии запаха
2022, Augustine et al. [322]	Периферическая кровь	БП=348 ЗК=304	Мета-анализ	Нет	2152 ДЭГ	<i>PTGDS, MMP9, CCKAR, PBX1</i> , структурная составляющая цитоскелета, дифференцировка



						миелоидных клеток, активация нейтрофилов, нейтрофил-опосредованный иммунитет, дегрануляция нейтрофилов, фагосомы и лизосомы
2022, Semenova et al. [323]	Периферическая кровь	БП=3 ЗК=3	RNA-seq	ПЦР с ОТ	1512 ДЭГ	<i>PTGDS, ADORA2A, MTA1</i> , циркадные ритмы
2023, Guo et al. [324]	Периферическая кровь	БП=205 ЗК=233	Мета-анализ	ПЦР с ОТ	1001 ДЭГ	<i>PLOD3, LRRN3</i>
2023, Irmady et al. [325]	Периферическая кровь	БП <sub>с ранним началом</sub> =14 9 БП <sub>с поздним началом</sub> =33 0 ЗК=195	RNA-seq	Нет	1584 ДЭГ	<i>SNCA, TOMM70, FCAR, IL1R2, HSPA6, PROK2, CHRNA10</i> , внешний компонент мембраны постсинаптической мембраны, метаболизм глутамина, регуляция развития нейронов, сигнальный путь Toll-подобного рецептора, распространение митохондрий, регуляция активности янускиназы
2023, Elango et al. [326]	Периферическая кровь	БП=84 ЗК=55	Мета-анализ	Нет	540 ДЭГ	<i>SRC, ESR1, FOS, XPO1, mTOR, RPL11, RPLP0, RPL6, RPS5, SUMO1</i> , синаптическая передача сигнала, организация синапсов тормозных нейронов, mTOR-сигналинг, AMPK-сигналинг, аутофагия
2023, Li et al. [327]	Периферическая кровь	БП=691 ЗК=594	RNA-seq	Нет	2432 ДЭГ	<i>LILRB3, LRRN3</i>

БП – выборка пациентов с болезнью Паркинсона; БП<sub>LRRK2</sub> – БП, вызванное мутацией в гене *LRRK2*; БП<sub>GBA</sub> – БП, вызванное мутацией в гене *GBA*; ДЭГ – дифференциально экспрессирующиеся гены; ЗК – выборка неврологически здоровых добровольцев; RNAseq – секвенирование РНК.

Как видно из таблиц 4 и 5, в периферической крови пациентов с БП на сегодняшний день проведено большое количество полнотранскриптомных исследований с использованием как микрочипов, так и RNA-seq. Кроме того, ряд авторов прибегает к применению новых биоинформатических подходов к ранее полученным данным или объединению наборов данных из нескольких работ. Последний подход является полезным, так как может помочь выявить дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ) и процессы, которые оказываются значимыми одновременно в нескольких исследованиях. С одной стороны, благодаря полнотранскриптомным исследованиям в периферической крови пациентов с БП были подтверждены хорошо известные процессы, вовлеченные в патогенез данного заболевания. Показано, что ДЭГ в данных работах, ассоциированы с убиквитин-протеасомной деградацией белков [14, 15, 297, 301, 316], митохондриальной дисфункцией [14, 15, 17, 297, 301, 309, 310, 316, 320], окислительным стрессом [15, 17, 304, 309], апоптозом [14, 15, 17, 297, 309, 318], аутофагией [322, 326], воспалением [301, 304, 307, 308, 314, 321], клеточным транспортом [14, 300, 301, 303, 310, 317]. С другой стороны, была показана связь БП с нейрональным развитием [294, 298, 299, 303, 325], транскрипцией и трансляцией [14, 294, 303, 317, 320], синаптической передачей сигнала [14, 15, 296, 297, 303, 305, 312, 325, 326], метаболизмом липидов [17, 308, 315], функционированием цитоскелета [297], регуляцией цикла сон-бодрствование [313, 323] и некоторыми другими процессами.

### **1.7.2. Близнецовые исследования**

Исследование транскриптома монозиготных близнецов, дискордантных по БП, может быть полезным и уникальным инструментом для изучения факторов, которые могут влиять на развитие и прогрессирование данного заболевания. Подобные исследования позволяют сократить влияние генетического вклада в выявляемые изменения экспрессии генов, поскольку монозиготные близнецы обладают одинаковым генотипом. Кроме того, монозиготные близнецы имеют

одинаковый возраст, пол, а также часто схожие условия среды [328]. Интересно, что, несмотря на идентичный генетический фон, конкордантность по БП среди монозиготных близнецовых пар составляет всего около 20% [329].

На сегодняшний день проведен ряд работ, в которых исследовали молекулярные маркеры БП у монозиготных близнецов, дискордантных по данному заболеванию. Одна из первых таких работ была проведена Woodard и др. в 2014 году, где на одной паре близнецов, дискордантных по БП, с мутацией в гене *GBA*, у близнеца с БП было показано значимое увеличение экспрессии *MAOB* и снижение уровня дофамина в ДА-ергических нейронах среднего мозга, полученных из ИПСК [330]. В работе Kaut и др. 2017 было проведено исследование геномного метилирования в мононуклеарных клетках периферической крови 31 пары близнецов, дискордантных по БП, среди которых 12 пар были монозиготными близнецами. Было выявлено 62 CpG-сайта в 15 генах с дифференциальным метилированием между близнецами с БП и здоровыми близнецами. Для трех генов, *MIR886*, *PDE4D*, *TRIM34*, было выявлено сразу несколько CpG-сайтов [331]. В 2020 году Mazzetti и др. в результате изучения накопления олигомеров  $\alpha$ -синуклеина в биоптатах кожи у 19 пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП, показали, что олигомеры  $\alpha$ -синуклеина преимущественно накапливаются в синаптических окончаниях вегетативных нервных волокон кожи у близнецов с БП [332]. Работа 2021 года Dulovic-Mahlow и др. была посвящена исследованию митохондриальных фенотипов в фибробластах пяти пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП. У близнецов с БП наблюдались изменения в морфологии митохондрий, снижение уровня клеточного АТФ, активация белка SOD2, а также увеличение экспрессии гена *PPARGC1A* [333].

Вместе с тем, наша лаборатория сосредоточилась на проведении транскриптомного профилирования разных типов клеток монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Уже были проведены работы с исследованием фибробластов [334], а также ИПСК и нейрональных клеток-предшественников

(НКП) [335]. В результате данных работ были получены интересные данные. При исследовании фибробластов были идентифицированы ДЭГ, вовлеченные в такие биологические процессы, как глутаматергическая синаптическая передача, потенциал действия и дифференцировка жировых клеток [334]. В работе с исследованием НКП наблюдалось увеличение экспрессии *TNF*. При изучении взаимодействия генов и их участия в биологических процессах, была выдвинута гипотеза о том, что *TNF* может играть решающую роль в связанных с БП изменениях, происходящих в НКП близнецов с БП. Также было выдвинуто предположение, что *INHBA*, *WNT7A* и *DKK1* могут быть возможными нижестоящими эффекторами *TNF* [335].

В настоящее время отсутствуют работы, посвященные проведению транскриптомного анализа в периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Проведение подобных работ может быть очень перспективным направлением, поскольку кровь является наиболее доступной тканью, а изучение монозиготных близнецов, дискордантных по БП, позволит уточнить, какие независимые от генетики факторы влияют на патогенез заболевания.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Характеристика анализируемых выборок пациентов

В ходе настоящей работы были исследованы следующие выборки:

1) Монозиготные близнецы, дискордантные по БП.

В исследовании принимали участие три пары фенотипически и генетически монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Близнецы имеют славянское происхождение. БП была диагностирована в Государственном Бюджетном Учреждении Здравоохранения «Приморская краевая клиническая больница № 1». Участники исследования не имели семейной истории БП. Пациенты находились на 2-4 стадиях шкалы Хен-Яра и имели смешанную форму БП. Длительность заболевания составила не менее 7 лет. У здоровых сестер не было никаких признаков БП во время сбора биологического материала. Близнецы жили в одном районе, и их работа не была связана с контактом с опасными факторами, такими как пестициды и тяжелые металлы. В их истории болезни не было информации о наличии травм головы. Пол, возраст и стадия заболевания представлены в таблице 6.

**Таблица 6.** Характеристика монозиготных близнецов, дискордантных по БП

Номер пары	Статус диагностирования БП	Пол	Год рождения	Дата постановки диагноза	Стадия БП по шкале Хен-Яра
Пара №1	Здоров	Ж	1956	—	—
	БП	Ж	1956	2002	2
Пара №2	Здоров	Ж	1947	—	—
	БП	Ж	1947	2007	4
Пара №3	Здоров	Ж	1949	—	—
	БП	Ж	1949	2001	3

2) Группы пациентов с ранней стадией БП.

Было исследовано 2 выборки пациентов с недавно поставленным диагнозом «болезнь Паркинсона» – БП1 и БП2. Для постановки диагноза пациенты были исследованы по международной унифицированной оценочной шкале БП (Unified

Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS) и шкале Хен-Яра [62]. Все пациенты из данных выборок находились на самых ранних клинических стадиях БП (1-2 стадии по шкале Хен-Яра). Соотношение полов составило примерно 1: 1. Форма БП была преимущественно смешанной. Для анализа были взяты только те пациенты, у которых отсутствовали наиболее частые мутации, ассоциированные с БП. Выборка БП1 включала 45 пациентов, получавших и не получавших терапию. Средний возраст  $\pm$  стандартное отклонение пациентов составили  $55,6 \pm 7,6$  лет. Выборка БП2 включала 56 пациентов, получавших и не получавших терапию. Средний возраст  $\pm$  стандартное отклонение пациентов составили  $58,6 \pm 10,8$  лет.

3) В качестве групп сравнения в настоящей работе исследовались следующие выборки:

- 23 пациента с различными неврологическими заболеваниями (боковой амиотрофический склероз, болезнь Мари-Шарко, болезнь Вильсона-Коновалова, мозжечковая атаксия и др.). Средний возраст  $\pm$  стандартное отклонение составили  $46,1 \pm 14,5$  лет.
- 44 неврологически здоровых добровольца. Средний возраст  $\pm$  стандартное отклонение составили  $50,0 \pm 12,4$  лет.

В группы больных с различными неврологическими патологиями и группы контроля отбирались лица славянского происхождения обоих полов. Все больные и неврологически здоровые добровольцы были отобраны в Научном центре неврологии, г. Москва. Все образцы крови были взяты с информированного согласия исследуемых лиц.

## **2.2. Секвенирование РНК и анализ полученных данных**

Для секвенирования РНК из тотальной РНК периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по БП, была выделена фракция поли(А). Библиотеки для секвенирования готовили из поли(А)-фракции с использованием набора реагентов NEBNext® mRNA Library Prep Reagent Set (NEB, Rowley, MA,

USA). Секвенирование проводили с использованием HiSeq1500 (Illumina, San Diego, CA, USA), производя не менее 5 миллионов чтений длиной 50 оснований на библиотеку.

Сырые файлы FASTQ были обработаны посредством тримминга с целью удаления неоднозначных нуклеотидов и оснований низкого качества в программе AdapterRemovalV2 [336]. В случае первого близнеца, для которого не было получено одного сиквенса высокого качества было получено несколько библиотек ридов, которые были собраны в одну после проверки на корреляцию между повторностями ( $R^2$  Спирмана  $> 0.95$ ). Было произведено выравнивание очищенных FASTQ файлов относительно транскриптома, полученного из генома GRCH38 и аннотации гена GRCH38.91 с использованием команды RSEM [337] `rsem-prepare-reference` с включенной опцией `-star`, чтобы также генерировать индексы STAR [338]. Картирование было проведено с помощью STAR и RSEM, использовалась команда `rsem-calculate-expression` с включенной опцией `—star`. Полученные псевдоотсчеты были нормализованы при помощи алгоритма TMM, реализованного в команде «`calcNormFactors`» из R-пакета «`edgeR`» [339], и алгоритма CPM, реализованного в команде «`voom`» из R-пакета «`limma`» [340]. Нормализованные риды были обработаны с использованием команд «`voom`» (оценка отношения среднее/дисперсия, расчет весовых коэффициентов наблюдения), «`lmFit`» (создание линейной модели для описания наблюдений) и «`eBayes`» (расчет параметров линейной модели) из R-пакета «`limma`» [340]. Гены считались дифференциально экспрессирующимися при  $\text{fold change (FC)} > 1,5$  и  $p\text{-value } t\text{-критерия от limma с поправкой FDR} < 0,05$ .

### 2.3. Выделение тотальной РНК из крови

Для выделения тотальной РНК взятие образцов периферической крови осуществляли в 8 часов утра натощак. Выделение тотальной РНК проводили из 200 мкл цельной крови с использованием набора ZR Whole-Blood Total RNA Kit™ («Zymo Research Corp.», США) согласно рекомендациям производителя.

Концентрацию выделенной тотальной РНК измеряли с помощью набора Quant-iT RNA BR Assay Kit и флуориметра Qubit 3.0 («Invitrogen», США). После выделения в полученный раствор тотальной РНК добавляли тРНК дрожжей (концентрация 1 мг/мл) [341].

#### 2.4. Анализ экспрессии отдельных генов-кандидатов

Анализ изменения относительных уровней мРНК генов проводили с использованием реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan зондов. В качестве референсных генов для нормализации данных на основании ранее проведенной работы были выбраны гены *SARS* и *PSMD6* [342]. Реакция обратной транскрипции была проведена с использованием набора RevertAid™ H Minus Reverse Transcriptase kit («Thermo Fisher Scientific», США) согласно рекомендациям производителя. Реакция проводилась на амплификаторе T3 Thermocycler (T3 Thermoblock, «Biometra», Германия). Была использована смесь random hexamer primer («Thermo Fisher Scientific», США) и Oligo(dT)18 primer («Thermo Fisher Scientific», США) в соотношении 3:2 соответственно.

При проведении ПЦР в реальном времени в качестве матрицы использовались кДНК, полученные в ходе реакции обратной транскрипции. Перед добавлением в реакционную смесь кДНК разводили в водном растворе тРНК дрожжей (100 нг/мкл) до концентрации 0,02 нг/мкл [341]. ПЦР в реальном времени проводилась на амплификаторе QuantStudio 3 (Applied Biosystems, США). Состав реакционной смеси объемом 30 мкл состоял из 5 мкл кДНК (0,02 нг/мкл), 3 мкл ПЦР-буфера ( $\times 10$ ) (Синтол, Россия), 3 мкл 25 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 пМ праймеров (Евроген, Россия), 2,5 пМ зонда («ДНК-синтез», Россия), по 200 мкМ каждого dNTP и 1 ферментной единицы ДНК-полимеразы Taq («Синтол», Россия). Для проведения амплификации использован следующий температурный режим: 50°C – 60 сек., далее 40 циклов 95°C – 15 сек. и 61°C – 30 сек., далее 25°C – 30 сек. Каждый



образец был проанализирован в трех повторностях, чтобы скорректировать различия в качестве образцов и эффективности реакции обратной транскрипции.

## 2.5. Биоинформатическая обработка данных

Анализ обогащения дифференциально экспрессирующихся генов по Gene Ontology Biological Processes (GO BP) [343] был проведен в программе Cytoscape v.3.9.0 с использованием приложений ClueGO v.2.5.8 [344] и CluePedia v.1.5.8 [345]. Значимо обогащенные кластеры генов были отобраны на основе одностороннего гипергеометрического теста с поправкой Benjamini-Hochberg ( $p$ -value  $<0.01$ ). Группы кластеров метаболических процессов были сформированы на основе общего количества генов по отношению к кластеру ( $>50\%$ ). Были отобраны terms GO BP с 3-го по 6-ой уровни иерархии, для которых процент ассоциированных генов составлял  $>20\%$ . Группы метаболических процессов были сформированы на основе наличия общих генов между ними. Для отбора генов, связанных с БП, была использована программа Pathway Studio v. 12.4.0.5 (Elsevier, Amsterdam, the Netherlands). Запрос включал в себя ключевое слово «Parkinson».

Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов для анализа экспрессии генов-кандидатов с помощью ПЦР в реальном времени были подобраны с использованием программы Beacon Designer 7.0 (Premier Biosoft, США) и нуклеотидных последовательностей генов-кандидатов (*ADORA2A*, *MTA1*, *NR1D1*, *OPRL1*, *TP53*, *PTGDS*, *DNM2*, *HNMT*, *NSF*, *PTGS2*) и генов «домашнего хозяйства» (*SARS*, *PSMD6*) из базы данных NCBI. Проверка специфичности праймеров и зондов была проведена с помощью Primer3 and BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) [346]. Последовательности ген-специфичных праймеров и зондов представлены в таблице 7.

Таблица 7. Последовательности ген-специфичных праймеров и зондов

Ген	Нуклеотидные последовательности систем праймеров и зондов TaqMan
<i>SARS1</i> NM_001330669.1*	Зонд: 5'-VIC-TCGCCACTCGCTGTCTGCCTTCACCA-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CCCAGCCCTCATCCGAGAG-3' Обратный праймер: 5'-TGTTCAAGTTGTCTGCCCGAAATC-3'
<i>PSMD6</i> NM_001271779.1	Зонд: 5'-VIC-AGGCGGTTTCTCCTGTCCCAGTCTCCTC-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-AACACAGAAAAGGCCAAAAGCTTAAT-3' Обратный праймер: 5'-AATAGCCACACAATAAAGACCCTGAT-3'
<i>MTA1</i> NM_004689.4	Зонд: 5'-VIC-ATTTCCCCTTCTCGCCGTTGTCCG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-ACATCTCCAGCACCTCATCG-3' Обратный праймер: 5'-TCGGGCAGGTCCACCATT-3'
<i>TP53</i> NM_001126114.2	Зонд: 5'-VIC-GTGTGGTGGTGGCCSTATGAGCCG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-GCGTGTGGAGTATTTGGATGAC-3' Обратный праймер: 5'-ATGTAGTTGTAGTGGATGGTGGTA-3'
<i>ADORA2A</i> NM_001278497.1	Зонд: 5'-VIC-AATGATGCCCTTAGCCCTCGTGCCG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CATCGCCATTGACCGCTACA-3' Обратный праймер: 5'-GTTCCAACCTAGCATGGGAGTC-3'
<i>NR1D1</i> NM_021724.5	Зонд: 5'-VIC-GTGATGACGCCACCTGTGTTGTTGTTG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CCAGTTTGAATGACCGCTCTCA-3' Обратный праймер: 5'-GCTGCCATTGGAGTTGTCACTA-3'
<i>OPRL1</i> NM_001318853.2	Зонд: 5'-VIC-GCTCCTGGGGAACCTGTCTTGTCA-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CATCGTGGGGCTCTACCTG-3' Обратный праймер: 5'-ATTGGTGGCTGTCTTCATTTTGG-3'
<i>PTGDS</i> NM_000954.6	Зонд: 5'-VIC-TTCACAGAGGATACCATTGTCTTCTCCTGCC-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-GGAGAAATTCACCGCCTTCTG-3' Обратный праймер: 5'-AGCCCTGGGGAGTCCTATT-3'
<i>DNM2</i> NM_001005360.2	Зонд: 5'-VIC-TTGGAGAACAAGTTGCTCCC-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-TCACCAAGCTTGACCTGATG-3' Обратный праймер: 5'-CGCCAATGTAGCCTCTTCTC-3'
<i>HNMT</i> NM_006895.3	Зонд: 5'-VIC-CAACCATTCCACGGAACACCAGTGC-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-ACCACGGGAAATATGTTGAATCTTTC-3' Обратный праймер: 5'-CGCCTATGCTTAGAATCTTAATTTCTGAT-3'
<i>NSF</i> NM_006178.3	Зонд: 5'-VIC-AAGACACATCCATCGGTGGTTCCAGG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CTCTCCCAATCACAGGTACACATTTA-3' Обратный праймер: 5'-TGCCCAATAGAAAGCCAGC-3'
<i>AHCY</i> NM_001322086.2	Зонд: 5'-VIC-CATTGTGTGGATGCTGAAACTGAACCC-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-TAGTTCATCAAGTTGCTACCAGAGT-3' Обратный праймер: 5'-TACCGCTCCCGCATACG-3'
<i>GPR157</i> NM_024980.5	Зонд: 5'-VIC-GCCTCGCACAGATCGCCTG-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CTCTACTTGTACCTCAGCATCG-3' Обратный праймер: 5'-GCGTCATAGCCAATCTTCTTCA-3'
<i>NAGLU</i> NM_000263.4	Зонд: 5'-VIC-CGCTCCTTCGGCATGACCCCA-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-CCCCTCCTGGCACATCAAG-3' Обратный праймер: 5'-GCCCATCTTCGTGACATTGAC-3'
<i>SRD5A1</i> NM_001324323.2	Зонд: 5'-VIC-TTCCTCCTCGCATCAGAAATGGGT-BHQ2-3' Прямой праймер: 5'-ATGGTCAGAATGGAAACAATAACAAG-3' Обратный праймер: 5'-GCCGTTACAGGTACAGAACATAA-3'

\* Инвентарные номера (Accession numbers) в базе данных GenBank (NCBI-GenBank Release 254.0). **VIC** – флуоресцентный краситель, **BHQ2** – тушитель флуоресценции.

Расчет относительных уровней экспрессии проводился с использованием метода сравнения пороговых уровней амплификации  $\Delta\Delta C_t$  [347]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ “Statistica for Windows 8.0” (StatSoft, Inc. (2007)), STATISTICA (version 8.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)) и программного обеспечения MS Excel 2019 (Microsoft). Для оценки относительных уровней экспрессии генов применяли непараметрический U-тест Манна-Уитни.

Сеть взаимодействия генов была построена в программе Pathway Studio v. 12.4.0.5 (Elsevier, Amsterdam, the Netherlands) с использованием таких ключевых слов, как «Parkinson», «neurodegeneration», «mitochondria», «oxidative stress», «apoptosis», «autophagy», «protein ubiquitination».

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Полнотранскриптомный анализ в периферической крови трех пар монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона

Был проведен полнотранскриптомный анализ в периферической крови трех пар монозиготных близнецов, дискордантных по БП, в ходе которого было идентифицировано 1512 дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ). Для этих ДЭГ был проведен анализ обогащения с использованием базы GO BP. Выявленные биологические процессы представлены в таблице 8.

**Таблица 8.** Результаты анализа обогащения данных, полученных при проведении RNA-Seq анализа в периферической крови близнецов, дискордантных по БП

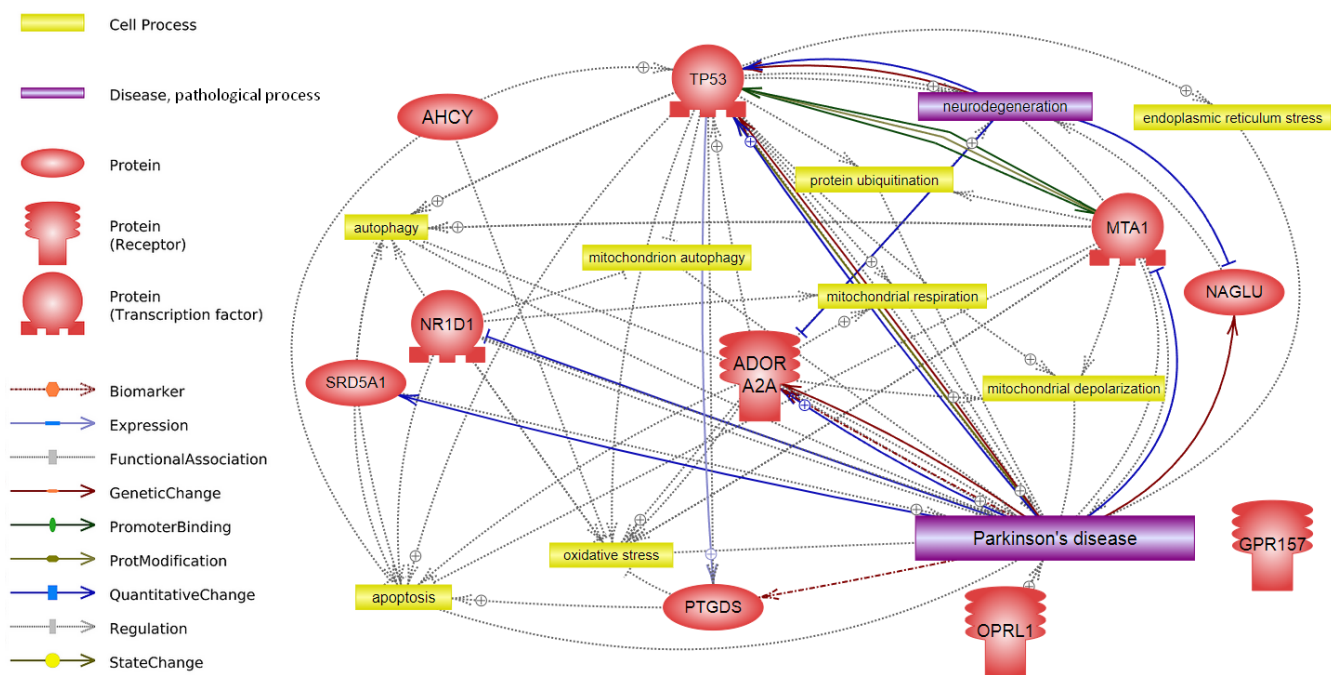
GO Term (GO ID)	Benjamini-Hochberg Adjustment p-Value of Hypergeometric Test for Enrichment	GO Group <sup>1</sup>	Number Of DEG, Associated with GO Group	Group PValue Corrected with Benjamini-Hochberg	Процент генов, ассоциированных с БП <sup>2</sup>
circadian behavior (GO:0048512)	$7,05 \times 10^{-3}$	I	10	$2,38 \times 10^{-3}$	80,00
negative regulation of glucose catabolic process to lactate via pyruvate (GO:1904024)	$5,15 \times 10^{-3}$	II	6	$2,10 \times 10^{-3}$	50,00
glucose catabolic process to lactate via pyruvate (GO:0019661)	$7,82 \times 10^{-3}$				
negative regulation of mitophagy (GO:1901525)	$7,82 \times 10^{-3}$				
lactate metabolic process (GO:0006089)	$8,56 \times 10^{-3}$				
response to testosterone (GO:0033574)	$5,13 \times 10^{-3}$	III	12	$4,33 \times 10^{-3}$	41,66
cellular response to testosterone stimulus (GO:0071394)	$9,62 \times 10^{-3}$				
protein transmembrane import into intracellular organelle (GO:0044743)	$8,25 \times 10^{-3}$	IV	8	$3,31 \times 10^{-3}$	25,00
positive regulation of ligase activity (GO:0051351)	$8,83 \times 10^{-3}$	V	4	$3,31 \times 10^{-3}$	25,00

regulation of triglyceride biosynthetic process (GO:0010866)	$7,91 \times 10^{-3}$	VI	6	$2,60 \times 10^{-3}$	16,66
regulation of ATP biosynthetic process (GO:2001169)	$8,61 \times 10^{-3}$	VII	6	$3,33 \times 10^{-3}$	16,66
cytoplasmic sequestering of protein (GO:0051220)	$5,19 \times 10^{-3}$	VIII	7	$1,95 \times 10^{-3}$	14,29
cytoplasmic sequestering of transcription factor (GO:0042994)	$8,56 \times 10^{-3}$				
branched-chain amino acid metabolic process (GO:0009081)	$7,39 \times 10^{-3}$	IX	8	$2,53 \times 10^{-3}$	0
leucine metabolic process (GO:0006551)	$7,46 \times 10^{-3}$				

<sup>1</sup> Term groups were formed based on common genes per term (>50%).

<sup>2</sup> Оценка возможной вовлеченности генов из GO Group в патогенез БП на основе анализа данных литературы с использованием Pathway Studio.

В таблице 8 видно, что полученные биологические процессы образуют девять групп, не связанных между собой. Для генов из этих групп с помощью программы Pathway Studio была проведена оценка возможной вовлеченности в патогенез БП. Результаты данной оценки представлены в последнем столбце таблицы 8. Показано, что наибольший процент генов, ассоциированных с БП, приходится на группу «circadian behavior». В связи с чем именно эта группа была выбрана нами для дальнейшего более подробного исследования. Всего в кластер «circadian behavior» вошло 10 генов. Как видно из рисунка 9, 9 из 10 генов могут быть связаны с патогенезом БП. При этом для гена *АНСУ* в настоящий момент не показано прямой связи с БП, но имеются данные о вовлеченности в процессы, характерные для этого заболевания (окислительный стресс, апоптоз).



**Рисунок 9.** Сеть взаимодействия генов циркадного поведения, построенная с использованием Pathway Studio v. 12.4.0.5.

В настоящее время имеются данные о том, что при БП может наблюдаться дисфункция циркадных ритмов [348]. В литературе описано, что в целом для пациентов с БП характерно уменьшение амплитуды цикла отдыха-активности [276]. У них часто встречается ночная гипертензия, инвертированный ритм артериального давления, нарушения суточной терморегуляции и гормональных ритмов [279]. Основными поведенческими маркерами циркадных ритмов являются характеристики цикла сон-бодрствование. Расстройства, связанные со сном, являются наиболее распространенной группой немоторных симптомов при БП. К ним относятся бессонница, чрезмерная сонливость в дневное время, расстройство поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз и синдром беспокойных ног [287]. Кроме того, на молекулярном уровне было показано изменение экспрессии некоторых циркадных генов у пациентов с БП [282, 284, 285, 349, 350]. Так, идентифицированное нами изменение экспрессии генов, входящих в кластер «circadian behavior», может говорить о вовлеченности данного процесса в БП, что подтверждает ранее полученные данные.

Далее нами был проведен анализ изменения экспрессии на уровне мРНК с помощью ПЦР в реальном времени для генов, входящих в кластер «circadian behavior»: *ADORA2A*, *AHCY*, *GPR157*, *MTA1*, *NAGLU*, *NR1D1*, *OPRL1*, *PTGDS*, *SRD5A1*, *TP53*. При этом необходимо отметить, что представленность транскриптов генов *AHCY*, *GPR157*, *NAGLU* и *SRD5A1* была ниже уровня детекции используемого в работе метода. Результаты экспрессионного анализа для остальных генов представлены в таблице 9.

**Таблица 9.** Результаты анализа изменения относительных уровней мРНК исследуемых генов в периферической крови близнецов, дискордантных по БП

Ген	Fold change
<i>ADORA2A</i>	<b>1,81<sup>1</sup></b> 1,34-2,16 <sup>2</sup>
<i>MTA1</i>	<b>1,54</b> 1,05-1,86
<i>NR1D1</i>	0,77 0,36-1,2
<i>OPRL1</i>	1,19 1,08-2,08
<i>TP53</i>	0,91 0,69-1,23
<i>PTGDS</i>	<b>2,67</b> 2,25-2,98

<sup>1</sup>медиана, <sup>2</sup>25-75 процентиля. Значения с  $p < 0,05$  выделены жирным шрифтом. Уровень экспрессии в контроле принят за единицу.

Из таблицы 9 видно, что для трех генов (*ADORA2A*, *MTA1* и *PTGDS*) было обнаружено статистически значимое повышение относительных уровней экспрессии мРНК.

Наибольшее изменение экспрессии в нашей работе наблюдалось для гена *PTGDS*. Данный ген кодирует синтазу простагландина D2, катализирующую превращение простагландина H2 в простагландин D2 (PGD2) [351]. На

сегодняшний день известно, что путь *PTGDS*-*PGD2*-рецептор *DP1* (*DP1R*) участвует в регуляции сна [352]. На модельных животных показано, что повышенная экспрессия *PTGDS* приводит к увеличению фазы медленного сна [353], а *PGD2* производит индуцирующий сон эффект [354, 355]. Повышенные уровни *PTGDS* наблюдаются у пациентов с нарколепсией и повышенной сонливостью [356]. В нашей работе наблюдалось увеличение экспрессии *PTGDS* в 2,7 раза у близнецов с БП относительно здоровых близнецов. Выявленное нами достоверное повышение экспрессии *PTGDS* может свидетельствовать о возможных нарушениях, связанных с длительностями разных фаз сна, у близнецов с БП и приводить к возникновению у них повышенной сонливости. Кроме того, благодаря работам на культурах клеток нейробластомы человека было обнаружено, что *PTGDS* может обладать противовоспалительной и противоокислительной функцией, препятствовать гибели клеток, вызванной чрезмерным накоплением активных форм кислорода [357, 358]. Противовоспалительная роль *PTGDS* подтвердилась также в исследовании тканей мозга и культур астроцитов мышей. В том числе, было отмечено, что белок DJ-1, ассоциированный с БП, осуществляет противовоспалительное действие именно посредством регуляции экспрессии *PTGDS* [359]. Таким образом, *PTGDS* потенциально может предотвращать окислительный стресс и апоптоз, наблюдающиеся при нейродегенеративных заболеваниях, в частности при БП. Увеличение экспрессии *PTGDS* в нашей работе может быть обусловлено развитием компенсаторных механизмов, направленных против усиления окислительного стресса и воспаления. В настоящее время доказано, что при БП происходит гибель ДА-ергических нейронов в ЧС, и в гибели этих нейронов в том числе задействованы такие процессы, как окислительный стресс и воспаление [360]. Наши результаты коррелируют с данными, полученными в ранее проведенных исследованиях [16, 313]. Однако, необходимо отметить, что результаты этих работ были получены в результате полнотранскриптомного анализа без последующей верификации с помощью ПЦР



в реальном времени. Исходя из всего вышесказанного, можно предположить, что изменение экспрессии *PTGDS* может иметь важное значение в патогенезе БП.

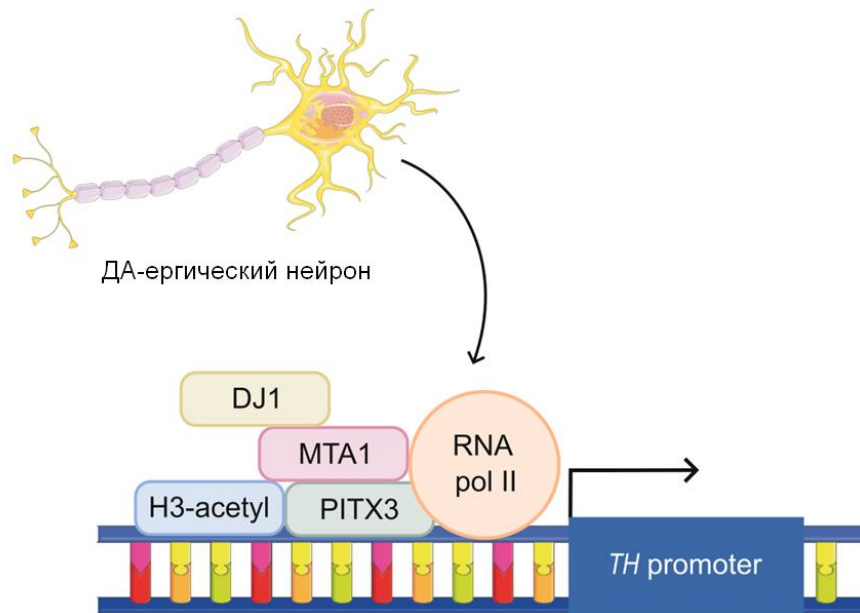
На сегодняшний день имеются данные о том, что путь *PTGDS*-*PGD2*-*DP1R* и *ADORA2A*, взаимодействуя друг с другом, участвуют в регуляции сна. В работах на грызунах было продемонстрировано, что передача сигналов посредством рецептора аденозина *A2A* необходима для сна, индуцированного *PGD2* [361, 362]. Наряду с этим введение *PGD2* мышам приводило к увеличению у них внеклеточного уровня аденозина посредством стимуляции рецептора *DP1R* [355]. В нашей работе наблюдалось увеличение экспрессии *ADORA2A* в 1,8 раза у близнецов с БП. Белок, кодируемый геном *ADORA2A*, представляет собой связанный с G-белком аденозиновый рецептор подтипа *A2A*. Рецептор *A2A* экспрессируется в головном мозге, преимущественно в стриатуме, где он оказывает влияние на функционирование нейронов. Было показано, что введение агониста рецептора *A2A* в разные зоны мозга грызунов способствует значительному увеличению продолжительности медленного и быстрого сна. Предполагается, что данный эффект опосредован тем, что активация рецептора *A2A* ингибирует гистаминергическую передачу благодаря увеличению высвобождения ГАМК в туберомамиллярном ядре [363]. Обнаруженное нами увеличение экспрессии *ADORA2A* может оказывать влияние на цикл сон-бодрствование у близнецов с БП. Так же, как и в случае гена *PTGDS*, вероятно, что повышение экспрессии *ADORA2A* повлечет за собой сомногенный эффект. Поскольку в нашей работе наблюдался одновременный рост *PTGDS* и *ADORA2A*, можно предположить, что пути белков данных генов взаимодействуют друг с другом и при БП.

В последние годы аденозиновый рецептор *A2A* все чаще упоминается в качестве потенциальной мишени для лечения симптомов БП [364, 365]. При этом положительное воздействие достигается благодаря ингибированию *A2A*. Однако механизм защитного действия ингибирования *ADORA2A* при БП остается неясным [366]. Одним из возможных вариантов является то, что изменение

передачи сигналов посредством рецептора A2A имеет важное значение для  $\alpha$ -синуклеин-индуцированной активации астроцитов и NF- $\kappa$ B. Инъекция мутантных фибрилл  $\alpha$ -синуклеина в гиппокамп мышей индуцировала экспрессию рецептора A2A, а также обширный глиоз и нейровоспаление [367]. Нокаут *ADORA2A* ослаблял образование агрегатов синуклеина, астроглиоз, активацию NF- $\kappa$ B и апоптоз нейронов [367, 368]. Таким образом, подавление активности рецептора A2A, будет предотвращать развитие воспалительных процессов, приводящих к гибели нейронов. Доказано, что внутриклеточное накопление агрегатов  $\alpha$ -синуклеина является одной из ключевых характеристик БП [360]. В связи с этим увеличение экспрессии *ADORA2A* у близнецов с БП в 1,8 раза может являться следствием накопления  $\alpha$ -синуклеина и способствовать усилению патологического процесса. В то же время известно, что рецептор *ADORA2A* может участвовать в двигательной функции благодаря взаимодействию с рецептором дофамина D2 [369]. Было показано, что рецепторы *ADORA2A* могут образовывать гетеродимеры с рецепторами D2, подавляя тем самым ДА-ергическую передачу сигналов [370]. Исходя из этого, мы предполагаем, что увеличение экспрессии гена *ADORA2A* может оказывать негативное воздействие на двигательную функцию у пациентов с БП. Полученные нами результаты согласуются с данными других исследований, где наблюдалось увеличение экспрессии рецептора A2A как на уровне мРНК, так и на уровне белка у пациентов с БП [371-373].

Еще одним геном, для которого наблюдалось статистически значимое изменение экспрессии в настоящем исследовании, был *MTA1*. Экспрессия *MTA1* была в 1,5 раза больше у близнецов с БП относительно их здоровых сиблингов. Ген *MTA1* кодирует ассоциированный с метастазами белок 1. *MTA1* модулирует экспрессию генов-мишеней, функционируя в качестве корепрессора или коактиватора [374]. С помощью работы, проведенной на мышах, было показано, что *MTA1* участвует в регуляции циркадных ритмов посредством регуляции транскрипции гена *CRY1*. Также *MTA1* может взаимодействовать с комплексом

CLOCK-BMAL1, привлекая его на свой промотор, содержащий E-box. Благодаря этому механизму происходит стимуляция транскрипции самого *MTA1*. Интересно, что у мышей с нокаутом *MTA1* происходила утрата ритмичной экспрессии основных циркадных генов [375]. Так как при БП часто наблюдаются нарушения циркадных ритмов, в том числе изменение экспрессии основных циркадных генов, мы предполагаем, что повышение экспрессии *MTA1* у близнецов с БП может быть адаптивным механизмом для поддержания циркадной ритмичности на молекулярном уровне. Вместе с тем, белок MTA1 функционирует как коактиватор транскрипции тирозингидроксилазы (*TH*), основного фермента синтеза дофамина (рисунок 10). Для осуществления данной функции MTA1 образует иницирующий комплекс вместе с DJ-1 и PolII на промоторе гена *TH* [376]. В нашей работе у близнецов с БП наблюдалось увеличение экспрессии *MTA1* в 1,5 раза относительно здоровых близнецов. Увеличение экспрессии *MTA1* может приводить к увеличению экспрессии *TH* с последующим возрастанием интенсивности синтеза дофамина. Так, мы предполагаем, что MTA1 может принимать участие в развитии компенсаторных механизмов при БП.



**Рисунок 10.** MTA1 действует как коактиватор транскрипции тирозингидроксилазы (*TH*) через взаимодействие с DJ1, PITX3, Pol II и белками ремоделирования хроматина белками.

### 3.2. Анализ изменения экспрессии отдельных генов в периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона, находящихся на ранних клинических стадиях развития заболевания

Анализ изменения экспрессии на уровне мРНК отдельных кандидатных генов имеет важное значение при изучении ранних стадий БП. Такой подход может помочь пониманию механизмов патогенеза данного нейродегенеративного заболевания, а также поиску биомаркеров для ранней диагностики риска развития БП. Для проведения анализа изменения экспрессии в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП были отобраны гены *ADORA2A*, *MTA1* и *PTGDS*, для которых было обнаружено достоверное изменение экспрессии в периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по БП. Кроме того, на основании работ, проведенных в лаборатории ранее, и анализа литературных данных были отобраны гены: *DNM2*, *HNMT*, *NSF*, *PTGS2*.

К первой группе генов, отобранных для анализа изменения экспрессии на уровне мРНК в группах пациентов с ранними стадиями БП, относились *ADORA2A*, *MTA1* и *PTGDS*. Результаты анализа изменения экспрессии для этих генов представлены в таблице 10.

**Таблица 10.** Результаты анализа изменения относительных уровней мРНК генов *ADORA2A*, *MTA1* и *PTGDS* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП

Ген	БП-2 нелеч <sup>1</sup>	БП-2 леч <sup>2</sup>	Неврологический контроль
<i>ADORA2A</i>	1,25 <sup>3</sup> 0,97-1,67 <sup>4</sup>	<b>1,48</b> 1,10-2,31	1,25 0,79-1,51
<i>MTA1</i>	<b>0,74</b> 0,49-1,00	1,02 0,63-1,71	1,21 1,02-1,49
<i>PTGDS</i>	0,67 0,40-1,56	0,89 0,63-1,87	<b>2,71</b> 1,95-5,51

<sup>1</sup>БП-2 нелеч – пациенты с БП, не получавших терапию; <sup>2</sup>БП-2 леч – пациенты с БП, получавшие терапию; <sup>3</sup>медиана, <sup>4</sup>25-75 перцентили. Значения с  $p < 0,05$  выделены жирным шрифтом. Уровень экспрессии в контроле принят за единицу.

Как видно из таблицы 10, достоверные результаты в группах пациентов с ранними стадиями БП были получены для генов *ADORA2A* и *MTA1*. В целом можно сказать, что полученные нами значения уровней мРНК исследуемых генов в группе пациентов с ранними стадиями БП не совпали со значениями, полученными в периферической крови близнецов, дискордантных по БП. Такой результат может быть объяснен тем, что близнецы с БП находились на более развернутых стадиях заболевания и более длительное время получали терапию, чем пациенты с ранними стадиями.

Для гена *ADORA2A* нами было обнаружено достоверное увеличение экспрессии только в группе пациентов с ранними стадиями БП, получавших терапию. В работе Calon и соавт. сравнивали уровни мРНК *ADORA2A* в постмортальных образцах мозга пациентов с БП, у которых была дискинезия, вызванная терапией леводопой, а также пациентов, у которых дискинезии не наблюдалось. Интересно, что в группе пациентов с дискинезией уровни мРНК *ADORA2A* значительно превалировали относительно показателей в группе пациентов без нее [372]. Вероятно, что *ADORA2A* вовлечен в процессы, подверженные воздействию терапии противопаркинсоническими препаратами. Аналогичное возрастание экспрессии данного гена было получено нами и для близнецов с БП, находившихся на более поздних стадиях (2-4 по шкале Хен-Яра) и получавших терапию.

Как уже было сказано ранее, *MTA1* является коактиватором транскрипции тирозингидроксилазы, основного фермента синтеза дофамина [376]. Из таблицы 10 видно, что у пациентов с ранними стадиями БП, не получавших терапию, наблюдалось статистически значимое снижение уровней транскриптов *MTA1*. В то же время у близнецов с БП экспрессия *MTA1* возрастала в 1,5 раза относительно здоровых близнецов. Данное отличие может быть связано с тем, что близнецы с БП находились на более поздних стадиях БП. Полученные нами данные могут быть объяснены тем, что на ранних стадиях патогенеза снижение уровней мРНК *MTA1*

может быть следствием гибели ДА-ергических нейронов. В свою очередь, рост экспрессии данного гена у близнецов с более поздними стадиями БП, объясняется тем, что клетка пытается восполнить интенсивность синтеза дофамина, через увеличение экспрессии *TH*. Среди опубликованных литературных данных только в работе Kumar и соавт. 2016 г. был изучен уровень экспрессии *MTA1* при БП, где было показано снижение экспрессии *MTA1* в черной субстанции у пациентов с БП [377]. Важно отметить, что в работе Kumar были использованы постмортальные образцы мозга. Из этого можно предположить, что пациенты находились на поздних самых тяжелых стадиях БП, когда пройдено активное медикаментозное лечение и возможно наличие сопутствующих заболеваний. Вероятно, что на более поздних стадиях заболевания клетки черной субстанции уже не имеют ресурсов, необходимых для поддержания компенсаторных механизмов, чем обусловлен более низкий уровень экспрессии *MTA1*.

Что касается гена *PTGDS*, изменения его экспрессии наблюдались только в группе неврологического контроля. Данный результат может указывать на то, что данный ген не играет существенной роли в патогенезе ранних стадий БП.

Далее мы провели экспрессионный анализ для гена *DNM2*. Ген *DNM2* был отобран в результате полнотранскриптомного анализа периферической крови пациентов с БП [300]. Продукт данного гена участвует в мембранном транспорте. Этот процесс является интересным в контексте исследования БП, так как к настоящему времени появились данные, что нарушения мембранного транспорта могут иметь важную роль в патогенезе БП [248, 249]. Результаты представлены в таблице 11.

**Таблица 11.** Результаты анализа изменения относительных уровней мРНК гена *DNM2* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП

Ген	БП-1 нелеч <sup>1</sup>	БП-1 леч <sup>2</sup>	Неврологический контроль
<i>DNM2</i>	0,89 <sup>3</sup> 0,48-1,29 <sup>4</sup>	<b>0,29</b> <b>0,26-0,582</b>	0,81 0,39-1,18

<sup>1</sup>БП-1 нелеч – пациенты с БП, не получавшие терапию; <sup>2</sup>БП-1 леч – пациенты с БП, получавшие терапию; <sup>3</sup>медиана, <sup>4</sup>25-75 перцентили. Значения с  $p < 0,05$  выделены жирным шрифтом. Уровень экспрессии в контроле принят за единицу.

Из таблицы 11 видно, что достоверные изменения экспрессии для гена *DNM2* были получены только в выборке пациентов с БП, получавших терапию. Ген *DNM2* кодирует белок динамин-2, который является ГТФазой, отвечающей за расщепление везикул. Данный белок играет важную роль в опосредованном клатрином эндоцитозе и динамике цитоскелета [378, 379]. Было показано, что с семейством белков динаминов, в частности с динамином-2, взаимодействует белок, кодируемый геном *LRRK2*. Мутации в гене *LRRK2* ассоциированы с аутосомно-доминантной формой БП [380]. Экспрессия *DNM2* снижалась в 3,5 раза в периферической крови пациентов с БП, получавших терапию, и не изменялась в группах неврологического контроля и пациентов с БП, не получавших терапию. Данный результат может говорить о том, что данный ген не играет важной роли в патогенезе БП на ранних стадиях, но подвергается воздействию терапии агонистами дофамина. В настоящее время имеются данные об усилении интернализации ДА-ергических рецепторов в ответ на введение агонистов дофамина, в результате чего происходит снижение количества функциональных рецепторов на поверхности клетки [381-383]. В одной из работ Kabbani с коллегами показали, что процесс интернализации ДА-ергических D2 рецепторов в ответ на введение агонистов дофамина, по-видимому, опосредован динамином-2 [384]. Исходя из этого, снижение экспрессии *DNM2* у пациентов с ранней стадией БП, получавших терапию агонистами дофамина, может указывать на усиление

компенсаторных механизмов, связанных со снижением интернализации ДА-ергических рецепторов в результате уменьшения уровня динамина-2.

Также экспрессионный анализ был проведен для генов *HNMT*, *NSF* и *PTGS2*. Результаты представлены в таблице 12.

**Таблица 12.** Результаты анализа изменения относительных уровней мРНК генов *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП

Ген	БП-2 нелеч <sup>1</sup>	БП-2 леч <sup>2</sup>	Неврологический контроль
<i>HNMT</i>	<b>1,43<sup>3</sup></b> <b>0,93-2,14<sup>4</sup></b>	<b>1,78</b> <b>1,33-1,97</b>	1,10 0,81-2,04
<i>NSF</i>	<b>1,39</b> <b>1,12-1,86</b>	<b>1,53</b> <b>1,28-2,25</b>	1,21 0,63-1,78
<i>PTGS2</i>	<b>4,75</b> <b>2,70-8,59</b>	<b>6,76</b> <b>2,51-8,00</b>	3,20 0,74-8,41

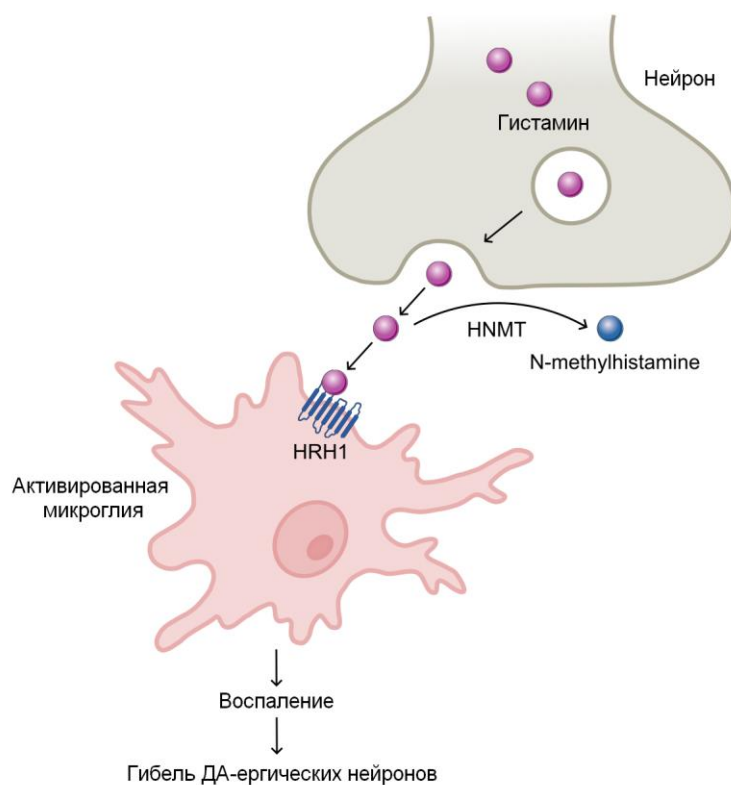
<sup>1</sup>БП-2 нелеч – пациенты с БП, не получавших терапию; <sup>2</sup>БП-2 леч – пациенты с БП, получавших терапию; <sup>3</sup>медиана, <sup>4</sup>25-75 процентиля. Значения с  $p < 0,05$  выделены жирным шрифтом. Уровень экспрессии в контроле принят за единицу.

Как видно из данных, представленных в таблице 12, для всех трех генов (*HNMT*, *NSF* и *PTGS2*) было выявлено достоверное увеличение экспрессии у пациентов с БП. Изменения наблюдались как в группе пациентов с БП, не получавших терапию, так и в группе пациентов с БП, получавших терапию. При этом полученные изменения экспрессии являются специфическими для БП, поскольку в группе неврологического контроля для данных генов не было обнаружено достоверных отличий относительно группы здорового контроля.

Первый ген, для которого были получены достоверные изменения экспрессии в периферической крови пациентов с БП – *HNMT*. Данный ген кодирует фермент метаболизма гистамина – гистамин N-метилтрансферазу, которая осуществляет метилирование гистамина в присутствии S-аденозил-1-метионина с



образованием N-метилгистамина [385]. В нашей работе наблюдалось увеличение уровней мРНК *HNMT* в периферической крови пациентов с БП. Имеются данные о том, что для пациентов с БП характерно увеличение уровней гистамина. Так, повышенные уровни гистамина были обнаружены в постмортальных образцах мозга – в черной субстанции (ЧС), бледном шаре и путамене [96]. Кроме того, повышенные уровни гистамина наблюдались в крови пациентов с БП, не получавших терапию [386]. Известно, что повышенные уровни гистамина могут способствовать дегенерации ДА-ергических нейронов и запуску воспалительных сигнальных процессов [96, 387]. Гистамин посредством взаимодействия с гистаминергическим рецептором H1 (HRH1) вызывает активацию микроглии и, в конечном итоге, гибель ДА-ергических нейронов (рисунок 11) [388]. В связи с этим можно предположить, что увеличение экспрессии мРНК *HNMT* может являться защитным механизмом, заключающемся в усилении метаболизма чрезмерного уровня гистамина. Подобное увеличение уровней мРНК *HNMT* было ранее зафиксировано в тканях ЧС и путамена у пациентов с БП [389].



**Рисунок 11.** Высвобожденный из нейронов гистамин связывается с гистаминергическим рецептором H1 (HRH1) на поверхности микроглии, тем самым приводя к ее активации. В свою очередь активация микроглии может приводить к гибели DA-ергических нейронов. Часть высвобожденных молекул гистамина метаболизируется до N-метилгистамина с помощью фермента гистамин-N-метилтрансферазы (HNMT).

Вторым геном, продемонстрировавшим достоверное изменение экспрессии, был *NSF*. Ген *NSF* кодирует N-этилмалеимид-чувствительный фактор, который участвует в слиянии внутриклеточных мембран. Данную функцию он выполняет посредством влияния на сборку и разборку SNARE-комплекса [390]. В частности, NSF задействован в нейротрансмиссии, обеспечивая слияние синаптических везикул с пресинаптической мембраной. Многочисленные исследования показали, что истощение цитозольного NSF нарушает механизм слияния мембран и приводит к накоплению внутриклеточных везикул. Накапливаются данные, свидетельствующие о вовлеченности *NSF* в патогенез БП. У пациентов с БП с мутацией G2019S в гене *LRRK2* в образцах базальных ганглиев, а также в клеточных и животных моделях с данной мутацией, были обнаружены белковые агрегаты, содержащие NSF. Известно, что *LRRK2* фосфорилирует NSF, а

фосфолированный NSF, в свою очередь, обладает повышенной АТФазной активностью и способен быстрее разбирать комплекс SNARE *in vitro*. В связи с этим авторы предположили, что мутация G2019S будет приводить к патологическому фосфорилированию NSF, и как следствие, динамика синаптических везикул может быть нарушена [391, 392]. Исследование на дрозофилах с мутациями в гене *comt*, кодирующем NSF, показало, что нарушение функции данного гена приводит к сокращению продолжительности жизни мух и прогрессирующей нейродегенерации, включая гибель ДА-ергических нейронов. Авторы предполагают, что это обусловлено нарушением транспорта лизосомальных протеаз, которое приводит к неспособности поддерживать аутофагию. Увеличенная экспрессия NSF, напротив, предотвращала индуцированную  $\alpha$ -синуклеином токсичность ДА-ергических нейронов в модели БП на мухах [393]. Так, наблюдаемые нами данные об увеличении экспрессии NSF у пациентов с БП могут говорить о развитии компенсаторных механизмов, обуславливающих более активный транспорт синаптических везикул.

Наибольшее изменение экспрессии было получено для гена *PTGS2*. Экспрессия *PTGS2* возрастала более чем в 4 раза в группе пациентов с БП, не получавших терапию, и более чем в 6 раз в группе пациентов с БП, получавших терапию. Ген *PTGS2* кодирует циклооксигеназу-2 (COX2), основной фермент, ответственный за превращение арахидоновой кислоты в простагландин (PG) H<sub>2</sub>, который является основным предшественником различных PG, но в особенности PGE<sub>2</sub> [394]. Известно, что экспрессия COX2 в основном повышается под воздействием воспалительных стимулов. На сегодняшний день имеются данные о том, что COX2 задействован в патофизиологии БП, однако его точная роль до сих пор неясна [395]. Участие COX2 в нейродегенерации при БП подтверждалось тем фактом, что мыши с нокаутом данного гена меньше подвергались МФТП-индуцированной нейродегенерации относительно мышей дикого типа [396, 397]. Кроме того, ингибирование COX2 ацетилсалициловой кислотой и салицилатом

обеспечивало нейропротекцию у мышей с МФТП-индуцированной моделью БП [398, 399]. Таким образом, можно предположить, что увеличение экспрессии *PTGS2*, наблюдаемое у пациентов с БП, свидетельствует о развитии воспалительных процессов, которое вероятно будет приводить к еще большей гибели ДА-ергических нейронов и тем самым усиливать нейродегенерацию. Наши данные согласуются с данными, полученными в ранее проведенных исследованиях. Увеличение экспрессии *COX2* было обнаружено в постмортальных образцах ДА-ергических нейронах в черной субстанции мышей с МФТП-индуцированной моделью БП, а также в аналогичных образцах пациентов с БП [397].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное, прогрессирующее с возрастом нейродегенеративное заболевание. В первую очередь БП характеризуется гибелью дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции, что приводит к появлению моторных симптомов. Именно по их наличию ставят клинический диагноз заболевания. Однако моторные симптомы проявляются только после гибели около 70% дофаминергических нейронов, а сама дегенерация нейронов развивается в течение многих лет до этого. В связи с острой проблемой длительного скрытого периода БП необходим поиск генов и механизмов, которые задействованы в развитии патологического процесса на самых ранних стадиях заболевания и могут быть связаны с моторными и немоторными (нарушения сна, гипосмия, запоры, депрессия) симптомами. Такой поиск может быть основан на изучении РНК маркеров. Одним из наиболее доступных объектов для проведения транскриптомных исследований является периферическая кровь. Опубликованные данные указывают на то, что клетки крови, в частности, лимфоциты, могут быть моделью для исследования процессов, происходящих в мозге при БП.

В качестве первого этапа исследования транскриптома в периферической крови пациентов с БП может быть использован полнотранскриптомный анализ, который позволяет выявить процессы и группы генов, ассоциированные с данным заболеванием. Далее гены, отобранные в результате полнотранскриптомного анализа, должны быть проверены с применением ПЦР в реальном времени. Данный метод в настоящее время является золотым стандартом количественного определения РНК исследуемого гена. Анализ изменения экспрессии отдельных кандидатных генов имеет важное значение при изучении ранних стадий БП, так как может помочь пониманию механизмов патогенеза данного нейродегенеративного заболевания, а также поиску биомаркеров для ранней диагностики риска развития БП.

Настоящая работа была посвящена исследованию изменения экспрессии на транскриптомном уровне в периферической крови пациентов с БП. Для достижения этой цели, нами впервые был проведен полнотранскриптомный анализ периферической крови монозиготных близнецов, дискордатных по БП, и не несущих при этом мутаций, ассоциированных с данным заболеванием. Исследование транскриптома монозиготных близнецов, дискордантных по БП, позволяет сократить влияние генетического вклада в выявляемые изменения экспрессии генов, поскольку монозиготные близнецы обладают одинаковым генотипом. В ходе анализа обогащения был идентифицирован метаболический процесс «циркадные ритмы» в качестве приоритетного процесса для более подробного изучения. Дифференциальная экспрессия генов, ассоциированных с данным процессом, подтвердила вовлеченность этого процесса в патогенез БП. При верификации полученных данных с помощью ПЦР в реальном времени было обнаружено, что три гена из кластера циркадное поведение – *PTGDS*, *ADORA2A* и *MTA1* продемонстрировали достоверное увеличение экспрессии на уровне мРНК у близнецов с БП, в связи с чем были отобраны для дальнейшего анализа изменения экспрессии в периферической крови пациентов с самыми ранними стадиями БП. Кроме того, на основании работ, проведенных в лаборатории ранее, и анализа литературных данных были отобраны гены: *DNM2*, *HNMT*, *NSF*, *PTGS2*.

Экспрессионный анализ в периферической крови пациентов с ранними стадиями БП показал достоверное изменение уровней мРНК генов *MTA1*, *HNMT*, *NSF* и *PTGS2*. Данные гены могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров ранних стадий БП. Также было обнаружено изменение уровней экспрессии генов *ADORA2A* и *DNM2* у пациентов с БП, получавших терапию, в связи с чем можно предположить, что данные гены вовлечены в процессы, подверженные воздействию терапии противопаркинсоническими препаратами.

## ВЫВОДЫ

1. Транскриптомный анализ периферической крови монозиготных близнецов, дискордантных по болезни Паркинсона, показал, что экспрессия трех ассоциированных с биологическим процессом «циркадные ритмы» (по классификации Gene Ontology) генов *PTGDS*, *ADORA2A* и *MTA1* достоверно увеличивается у близнецов с болезнью Паркинсона. Это говорит о вовлеченности данного процесса в патогенез болезни Паркинсона.
2. Показано, что уровень мРНК гена коактиватора тирозингидроксилазы *MTA1* снижается на ранних стадиях болезни Паркинсона. Снижение уровня мРНК *MTA1* может отражать процессы, связанные с гибелью дофаминергических нейронов.
3. У получавших противопаркинсоническую терапию пациентов было обнаружено увеличение экспрессии гена *ADORA2A*, кодирующего рецептор аденозина A<sub>2A</sub>. Повышение экспрессии этого гена может вести к снижению эффективности терапии агонистами дофамина.
4. В периферической крови пациентов с ранними стадиями болезни Паркинсона, получавших терапию, впервые было обнаружено снижение уровня мРНК гена *DNM2*, кодирующего динамин-2. Снижение экспрессии этого гена может повышать эффективность терапии агонистами дофамина через снижение интернализации рецепторов дофамина.
5. Показано достоверное, специфическое для болезни Паркинсона и независимое от противопаркинсонической терапии увеличение экспрессии генов *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* в периферической крови пациентов с ранними стадиями болезни Паркинсона. Данные гены могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров ранних стадий болезни Паркинсона.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	— аутосомно-доминантная форма болезни Паркинсона
АР	— аутосомно-рецессивная форма болезни Паркинсона
АФК	— активные формы кислорода
БП	— болезнь Паркинсона
БШв	— внутренняя часть бледного шара
БШн	— наружная часть бледного шара
ГАМК	— $\gamma$ -аминомасляная кислота
ГДФ	— гуанозиндифосфат
ГТФ	— гуанозинтрифосфат
ДА	— дофамин
ДА-ергическая система	— дофаминергическая система
ДА-ергический нейрон	— дофаминергический нейрон
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЭГ	— дифференциально экспрессирующийся ген
кДНК	— комплементарная ДНК
мРНК	— матричная РНК
МАО-В	— моноаминоксидаза В
мтДНК	— митохондриальная ДНК
МФП <sup>+</sup>	— 1-метил-4-фенилпиридин-ион
МФПП	— 1-метил-4-фенил-пропионоксипиперидин
МФТП	— 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин
НКП	— нейрональные клетки-предшественники
НЛ	— нейриты Леви



ОТ	— обратная транскрипция
ПНС	— периферический отдел нервной системы
ППЯ	— педункулопонтитное ядро
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СД2	— сахарный диабет 2-го типа
СТЯ	— субсталамическое ядро
ТЛ	— тельца Леви
тРНК	— транспортная РНК
ЦНС	— центральная нервная система
ЧМТ	— черепно-мозговая травма
ЧС	— черная субстанция
ЧСк	— компактная часть черной субстанции
ЧСр	— ретикулярная часть черной субстанции
ЭНС	— энтеральная нервная система
DAMP	— damage-associated molecular pattern, молекулы сигналов опасности
dNTP	— deoxynucleotide triphosphate, дезоксинуклеотид трифосфат
GWAS	— genome-wide association study, полногеномное ассоциативное исследование
RNA-seq	— RNA sequencing, секвенирование РНК

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Balestrino R., Schapira A. H. V. Parkinson disease // *Eur J Neurol.* – 2020. – Т. 27, № 1. – С. 27-42.
2. Lee A., Gilbert R. M. Epidemiology of Parkinson Disease // *Neurol Clin.* – 2016. – Т. 34, № 4. – С. 955-965.
3. Bloem B. R., Okun M. S., Klein C. Parkinson's disease // *Lancet.* – 2021. – Т. 397, № 10291. – С. 2284-2303.
4. Kalia L. V., Lang A. E. Parkinson's disease // *Lancet.* – 2015. – Т. 386, № 9996. – С. 896-912.
5. Zeng X. S., Geng W. S., Jia J. J., Chen L., Zhang P. P. Cellular and Molecular Basis of Neurodegeneration in Parkinson Disease // *Front Aging Neurosci.* – 2018. – Т. 10. – С. 109.
6. Schapira A. H. V., Chaudhuri K. R., Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease // *Nat Rev Neurosci.* – 2017. – Т. 18, № 7. – С. 435-450.
7. Shan L., Dauvilliers Y., Siegel J. M. Interactions of the histamine and hypocretin systems in CNS disorders // *Nat Rev Neurol.* – 2015. – Т. 11, № 7. – С. 401-13.
8. Lesage S., Brice A. Parkinson's disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors // *Hum Mol Genet.* – 2009. – Т. 18, № R1. – С. R48-59.
9. Shadrina M. I., Slominsky P. A., Limborska S. A. Molecular mechanisms of pathogenesis of Parkinson's disease // *Int Rev Cell Mol Biol.* – 2010. – Т. 281. – С. 229-66.
10. Borrazeiro G., Haylett W., Seedat S. A review of genome-wide transcriptomics studies in Parkinson's disease // . – 2018. – Т. 47, № 1. – С. 1-16.
11. Simunovic F., Yi M., Wang Y., Macey L., Brown L. T., Krichevsky A. M., Andersen S. L., Stephens R. M., Benes F. M., Sonntag K. C. Gene expression profiling of substantia nigra dopamine neurons: further insights into Parkinson's disease pathology // *Brain.* – 2009. – Т. 132, № Pt 7. – С. 1795-809.
12. Bossers K., Meerhoff G., Balesar R., van Dongen J. W., Kruse C. G., Swaab D. F., Verhaagen J. Analysis of gene expression in Parkinson's disease: possible involvement of neurotrophic support and axon guidance in dopaminergic cell death // *Brain Pathol.* – 2009. – Т. 19, № 1. – С. 91-107.
13. Grünblatt E., Mandel S., Jacob-Hirsch J., Zeligson S., Amariglio N., Rechavi G., Li J., Ravid R., Roggendorf W., Riederer P., Youdim M. B. Gene expression profiling of parkinsonian substantia nigra pars compacta; alterations in ubiquitin-proteasome, heat shock protein, iron and oxidative stress regulated proteins, cell adhesion/cellular matrix and vesicle trafficking genes // *J Neural Transm (Vienna).* – 2004. – Т. 111, № 12. – С. 1543-73.
14. Scherzer C. R., Eklund A. C., Morse L. J., Liao Z., Locascio J. J., Fefer D., Schwarzschild M. A., Schlossmacher M. G., Hauser M. A., Vance J. M., Sudarsky L. R., Standaert D. G., Growdon J. H.,

- Jensen R. V., Gullans S. R. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2007. – T. 104, № 3. – C. 955-60.
15. Karlsson M. K., Sharma P., Aasly J., Toft M., Skogar O., Saebo S., Lonneborg A. Found in transcription: accurate Parkinson's disease classification in peripheral blood // *J Parkinsons Dis.* – 2013. – T. 3, № 1. – C. 19-29.
16. Shamir R., Klein C., Amar D., Vollstedt E. J., Bonin M., Usenovic M., Wong Y. C., Maver A., Poths S., Safer H., Corvol J. C., Lesage S., Lavi O., Deuschl G., Kuhlentbauer G., Pawlack H., Ulitsky I., Kasten M., Riess O., Brice A., Peterlin B., Krainc D. Analysis of blood-based gene expression in idiopathic Parkinson disease // *Neurology.* – 2017. – T. 89, № 16. – C. 1676-1683.
17. Calligaris R., Banica M., Roncaglia P., Robotti E., Finaurini S., Vlachouli C., Antonutti L., Iorio F., Carissimo A., Cattaruzza T., Ceiner A., Lazarevic D., Cucca A., Pangher N., Marengo E., di Bernardo D., Pizzolato G., Gustincich S. Blood transcriptomics of drug-naive sporadic Parkinson's disease patients // *BMC Genomics.* – 2015. – T. 16. – C. 876.
18. Pinho R., Guedes L. C., Soreq L., Lobo P. P., Mestre T., Coelho M., Rosa M. M., Goncalves N., Wales P., Mendes T., Gerhardt E., Fahlbusch C., Bonifati V., Bonin M., Miltenberger-Miltenyi G., Borovecki F., Soreq H., Ferreira J. J., T F. O. Gene Expression Differences in Peripheral Blood of Parkinson's Disease Patients with Distinct Progression Profiles // *PLoS One.* – 2016. – T. 11, № 6. – C. e0157852.
19. Alieva A., Filatova E. V., Karabanov A. V., Illarioshkin S. N., Slominsky P. A., Shadrina M. I. Potential Biomarkers of the Earliest Clinical Stages of Parkinson's Disease // *Parkinsons Dis.* – 2015. – T. 2015. – C. 294396.
20. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. 1817 // *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* – 2002. – T. 14, № 2. – C. 223-36; discussion 222.
21. Goetz C. G. Charcot on Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 1986. – T. 1, № 1. – C. 27-32.
22. Holdorff B., Rodrigues e Silva A. M., Dodel R. Centenary of Lewy bodies (1912-2012) // *J Neural Transm (Vienna).* – 2013. – T. 120, № 4. – C. 509-16.
23. Fahn S. The 200-year journey of Parkinson disease: Reflecting on the past and looking towards the future // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2018. – T. 46 Suppl 1. – C. S1-S5.
24. Ehringer H., Hornykiewicz O., Lechner K. The effect of chlorpromazine on catecholamine and 5-hydroxytryptamine metabolism in the rat brain // *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol.* – 1960. – T. 239. – C. 507-19.
25. Birkmayer W., Hornykiewicz O. [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia] // *Wien Klin Wochenschr.* – 1961. – T. 73. – C. 787-8.

26. Alonso M. E., Otero E., D'Regules R., Figueroa H. H. Parkinson's disease: a genetic study // *Can J Neurol Sci.* – 1986. – Т. 13, № 3. – С. 248-51.
27. Polymeropoulos M. H., Lavedan C., Leroy E., Ide S. E., Dehejia A., Dutra A., Pike B., Root H., Rubenstein J., Boyer R., Stenroos E. S., Chandrasekharappa S., Athanassiadou A., Papapetropoulos T., Johnson W. G., Lazzarini A. M., Duvoisin R. C., Di Iorio G., Golbe L. I., Nussbaum R. L. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease // *Science.* – 1997. – Т. 276, № 5321. – С. 2045-7.
28. Spillantini M. G., Schmidt M. L., Lee V. M., Trojanowski J. Q., Jakes R., Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies // *Nature.* – 1997. – Т. 388, № 6645. – С. 839-40.
29. Dexter D. T., Jenner P. Parkinson disease: from pathology to molecular disease mechanisms // *Free Radic Biol Med.* – 2013. – Т. 62. – С. 132-144.
30. Ye H., Robak L. A., Yu M., Cykowski M., Shulman J. M. Genetics and Pathogenesis of Parkinson's Syndrome // *Annu Rev Pathol.* – 2023. – Т. 18. – С. 95-121.
31. Group G. B. D. N. D. C. Global, regional, and national burden of neurological disorders during 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *Lancet Neurol.* – 2017. – Т. 16, № 11. – С. 877-897.
32. Collaborators G. B. D. P. s. D. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // *Lancet Neurol.* – 2018. – Т. 17, № 11. – С. 939-953.
33. Раздорская В. В. В. О. Н., Юдина Г. К. Болезнь Паркинсона в России: распространенность и заболеваемость (обзор) // *Neurology.* – 2016. – Т. 12, № 3. – С. 379-384.
34. Kontakos N., Stokes J. Monograph series on aging-related diseases: XII. Parkinson's disease--recent developments and new directions // *Chronic Dis Can.* – 1999. – Т. 20, № 2. – С. 58-76.
35. Горбунова В.Н. С.-В. Е. А., Красильников В. В. Молекулярная неврология // СПб, Интермедика. – 2000.
36. Obeso J. A., Stamelou M., Goetz C. G., Poewe W., Lang A. E., Weintraub D., Burn D., Halliday G. M., Bezard E., Przedborski S., Lehericy S., Brooks D. J., Rothwell J. C., Hallett M., DeLong M. R., Marras C., Tanner C. M., Ross G. W., Langston J. W., Klein C., Bonifati V., Jankovic J., Lozano A. M., Deuschl G., Bergman H., Tolosa E., Rodriguez-Violante M., Fahn S., Postuma R. B., Berg D., Marek K., Standaert D. G., Surmeier D. J., Olanow C. W., Kordower J. H., Calabresi P., Schapira A. H. V., Stoessl A. J. Past, present, and future of Parkinson's disease: A special essay on the 200th Anniversary of the Shaking Palsy // *Mov Disord.* – 2017. – Т. 32, № 9. – С. 1264-1310.
37. Berardelli A., Rothwell J. C., Thompson P. D., Hallett M. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease // *Brain.* – 2001. – Т. 124, № Pt 11. – С. 2131-46.

38. Zesiewicz T. A. Parkinson Disease // *Continuum (Minneap Minn)*. – 2019. – T. 25, № 4. – C. 896-918.
39. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis // *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2008. – T. 79, № 4. – C. 368-76.
40. Espay A. J., Morgante F., Merola A., Fasano A., Marsili L., Fox S. H., Bezard E., Picconi B., Calabresi P., Lang A. E. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson disease: Current and evolving concepts // *Ann Neurol*. – 2018. – T. 84, № 6. – C. 797-811.
41. Aquino C. C., Fox S. H. Clinical spectrum of levodopa-induced complications // *Mov Disord*. – 2015. – T. 30, № 1. – C. 80-9.
42. Tolosa E., Compta Y. Dystonia in Parkinson's disease // *J Neurol*. – 2006. – T. 253 Suppl 7. – C. VII7-13.
43. Chaudhuri K. R., Healy D. G., Schapira A. H., National Institute for Clinical E. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management // *Lancet Neurol*. – 2006. – T. 5, № 3. – C. 235-45.
44. Massano J., Bhatia K. P. Clinical approach to Parkinson's disease: features, diagnosis, and principles of management // *Cold Spring Harb Perspect Med*. – 2012. – T. 2, № 6. – C. a008870.
45. Wishart S., Macphee G. J. Evaluation and management of the non-motor features of Parkinson's disease // *Ther Adv Chronic Dis*. – 2011. – T. 2, № 2. – C. 69-85.
46. Doty R. L., Deems D. A., Stellar S. Olfactory dysfunction in parkinsonism: a general deficit unrelated to neurologic signs, disease stage, or disease duration // *Neurology*. – 1988. – T. 38, № 8. – C. 1237-44.
47. Nowacka B., Lubinski W., Honczarenko K., Potemkowski A., Safranow K. Ophthalmological features of Parkinson disease // *Med Sci Monit*. – 2014. – T. 20. – C. 2243-9.
48. Valkovic P., Minar M., Singliarova H., Harsany J., Hanakova M., Martinkova J., Benetin J. Pain in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Study of Its Prevalence, Types, and Relationship to Depression and Quality of Life // *PLoS One*. – 2015. – T. 10, № 8. – C. e0136541.
49. Marsh L. Depression and Parkinson's disease: current knowledge // *Curr Neurol Neurosci Rep*. – 2013. – T. 13, № 12. – C. 409.
50. den Brok M. G., van Dalen J. W., van Gool W. A., Moll van Charante E. P., de Bie R. M., Richard E. Apathy in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis // *Mov Disord*. – 2015. – T. 30, № 6. – C. 759-69.
51. Pfeiffer R. F. Non-motor symptoms in Parkinson's disease // *Parkinsonism Relat Disord*. – 2016. – T. 22 Suppl 1. – C. S119-22.
52. Palma J. A., Kaufmann H. Orthostatic Hypotension in Parkinson Disease // *Clin Geriatr Med*. – 2020. – T. 36, № 1. – C. 53-67.

53. Fasano A., Visanji N. P., Liu L. W., Lang A. E., Pfeiffer R. F. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease // *Lancet Neurol.* – 2015. – T. 14, № 6. – C. 625-39.
54. Winge K. Lower urinary tract dysfunction in patients with parkinsonism and other neurodegenerative disorders // *Handb Clin Neurol.* – 2015. – T. 130. – C. 335-56.
55. Sakakibara R., Panicker J., Finazzi-Agro E., Iacovelli V., Bruschini H., Parkinson's Disease Subcommittee T. N. P. C. i. T. I. C. S. A guideline for the management of bladder dysfunction in Parkinson's disease and other gait disorders // *Neurourol Urodyn.* – 2016. – T. 35, № 5. – C. 551-63.
56. Stefani A., Hogl B. Sleep in Parkinson's disease // *Neuropsychopharmacology.* – 2020. – T. 45, № 1. – C. 121-128.
57. Thenganatt M. A., Jankovic J. Parkinson disease subtypes // *JAMA Neurol.* – 2014. – T. 71, № 4. – C. 499-504.
58. Zaidel A., Arkadir D., Israel Z., Bergman H. Akineto-rigid vs. tremor syndromes in Parkinsonism // *Curr Opin Neurol.* – 2009. – T. 22, № 4. – C. 387-93.
59. Kang G. A., Bronstein J. M., Masterman D. L., Redelings M., Crum J. A., Ritz B. Clinical characteristics in early Parkinson's disease in a central California population-based study // *Mov Disord.* – 2005. – T. 20, № 9. – C. 1133-42.
60. Benamer H. Parkinsonism and tremor disorders. A clinical approach // *Libyan J Med.* – 2007. – T. 2, № 2. – C. 66-72.
61. Perlmutter J. S. Assessment of Parkinson disease manifestations // *Curr Protoc Neurosci.* – 2009. – T. Chapter 10. – C. Unit10 1.
62. Goetz C. G., Poewe W., Rascol O., Sampaio C., Stebbins G. T., Counsell C., Giladi N., Holloway R. G., Moore C. G., Wenning G. K., Yahr M. D., Seidl L., Movement Disorder Society Task Force on Rating Scales for Parkinson's D. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: status and recommendations // *Mov Disord.* – 2004. – T. 19, № 9. – C. 1020-8.
63. Movement Disorder Society Task Force on Rating Scales for Parkinson's D. The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): status and recommendations // *Mov Disord.* – 2003. – T. 18, № 7. – C. 738-50.
64. Braak H., Del Tredici K., Rub U., de Vos R. A., Jansen Steur E. N., Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease // *Neurobiol Aging.* – 2003. – T. 24, № 2. – C. 197-211.
65. Braak H., Ghebremedhin E., Rub U., Bratzke H., Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology // *Cell Tissue Res.* – 2004. – T. 318, № 1. – C. 121-34.
66. Braak H., Del Tredici K. Neuropathological Staging of Brain Pathology in Sporadic Parkinson's disease: Separating the Wheat from the Chaff // *J Parkinsons Dis.* – 2017. – T. 7, № s1. – C. S71-S85.

67. Lee F. J., Liu F. Genetic factors involved in the pathogenesis of Parkinson's disease // *Brain Res Rev.* – 2008. – T. 58, № 2. – C. 354-64.
68. DeLong M. R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin // *Trends Neurosci.* – 1990. – T. 13, № 7. – C. 281-5.
69. Lanciego J. L., Luquin N., Obeso J. A. Functional neuroanatomy of the basal ganglia // *Cold Spring Harb Perspect Med.* – 2012. – T. 2, № 12. – C. a009621.
70. Fazl A., Fleisher J. Anatomy, Physiology, and Clinical Syndromes of the Basal Ganglia: A Brief Review // *Semin Pediatr Neurol.* – 2018. – T. 25. – C. 2-9.
71. Obeso J. A., Marin C., Rodriguez-Oroz C., Blesa J., Benitez-Temino B., Mena-Segovia J., Rodriguez M., Olanow C. W. The basal ganglia in Parkinson's disease: current concepts and unexplained observations // *Ann Neurol.* – 2008. – T. 64 Suppl 2. – C. S30-46.
72. Blandini F., Nappi G., Tassorelli C., Martignoni E. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease // *Prog Neurobiol.* – 2000. – T. 62, № 1. – C. 63-88.
73. Fowler C. J. Update on the neurology of Parkinson's disease // *NeuroUrol Urodyn.* – 2007. – T. 26, № 1. – C. 103-9.
74. Schneider S. A., Obeso J. A. Clinical and pathological features of Parkinson's disease // *Curr Top Behav Neurosci.* – 2015. – T. 22. – C. 205-20.
75. Chu H. Y. Synaptic and cellular plasticity in Parkinson's disease // *Acta Pharmacol Sin.* – 2020. – T. 41, № 4. – C. 447-452.
76. Del Tredici K., Braak H. Dysfunction of the locus coeruleus-norepinephrine system and related circuitry in Parkinson's disease-related dementia // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 2013. – T. 84, № 7. – C. 774-83.
77. Barbic F., Perego F., Canesi M., Gianni M., Biagiotti S., Costantino G., Pezzoli G., Porta A., Malliani A., Furlan R. Early abnormalities of vascular and cardiac autonomic control in Parkinson's disease without orthostatic hypotension // *Hypertension.* – 2007. – T. 49, № 1. – C. 120-6.
78. Paredes-Rodriguez E., Vegas-Suarez S., Morera-Herreras T., De Deurwaerdere P., Miguelez C. The Noradrenergic System in Parkinson's Disease // *Front Pharmacol.* – 2020. – T. 11. – C. 435.
79. Fornai F., di Poggio A. B., Pellegrini A., Ruggieri S., Paparelli A. Noradrenaline in Parkinson's disease: from disease progression to current therapeutics // *Curr Med Chem.* – 2007. – T. 14, № 22. – C. 2330-4.
80. Barone P. Neurotransmission in Parkinson's disease: beyond dopamine // *Eur J Neurol.* – 2010. – T. 17, № 3. – C. 364-76.
81. Pertovaara A. Noradrenergic pain modulation // *Prog Neurobiol.* – 2006. – T. 80, № 2. – C. 53-83.

82. Politis M., Loane C. Serotonergic dysfunction in Parkinson's disease and its relevance to disability // *ScientificWorldJournal*. – 2011. – T. 11. – C. 1726-34.
83. Scatton B., Javoy-Agid F., Rouquier L., Dubois B., Agid Y. Reduction of cortical dopamine, noradrenaline, serotonin and their metabolites in Parkinson's disease // *Brain Res.* – 1983. – T. 275, № 2. – C. 321-8.
84. Lemke M. R. Depressive symptoms in Parkinson's disease // *Eur J Neurol.* – 2008. – T. 15 Suppl 1. – C. 21-5.
85. Perry E. K., Curtis M., Dick D. J., Candy J. M., Atack J. R., Bloxham C. A., Blessed G., Fairbairn A., Tomlinson B. E., Perry R. H. Cholinergic correlates of cognitive impairment in Parkinson's disease: comparisons with Alzheimer's disease // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 1985. – T. 48, № 5. – C. 413-21.
86. Whitehouse P. J., Hedreen J. C., White C. L., 3rd, Price D. L. Basal forebrain neurons in the dementia of Parkinson disease // *Ann Neurol.* – 1983. – T. 13, № 3. – C. 243-8.
87. Williams-Gray C. H., Foltynie T., Lewis S. J., Barker R. A. Cognitive deficits and psychosis in Parkinson's disease: a review of pathophysiology and therapeutic options // *CNS Drugs.* – 2006. – T. 20, № 6. – C. 477-505.
88. Vernino S., Sandroni P., Singer W., Low P. A. Invited Article: Autonomic ganglia: target and novel therapeutic tool // *Neurology.* – 2008. – T. 70, № 20. – C. 1926-32.
89. Lange K. W., Kornhuber J., Riederer P. Dopamine/glutamate interactions in Parkinson's disease // *Neurosci Biobehav Rev.* – 1997. – T. 21, № 4. – C. 393-400.
90. Pagonabarraga J., Tinazzi M., Caccia C., Jost W. H. The role of glutamatergic neurotransmission in the motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease: Clinical cases and a review of the literature // *J Clin Neurosci.* – 2021. – T. 90. – C. 178-183.
91. O'Neill M. J., Dix S. AMPA receptor potentiators as cognitive enhancers // *IDrugs.* – 2007. – T. 10, № 3. – C. 185-92.
92. Huang Z. J., Paul A. The diversity of GABAergic neurons and neural communication elements // *Nat Rev Neurosci.* – 2019. – T. 20, № 9. – C. 563-572.
93. Terkelsen M. H., Hvingelby V. S., Pavese N. Molecular Imaging of the GABAergic System in Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonisms // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2022. – T. 22, № 12. – C. 867-879.
94. Iranzo A. The REM sleep circuit and how its impairment leads to REM sleep behavior disorder // *Cell Tissue Res.* – 2018. – T. 373, № 1. – C. 245-266.



95. Murueta-Goyena A., Andikoetxea A., Gomez-Esteban J. C., Gabilondo I. Contribution of the GABAergic System to Non-Motor Manifestations in Premotor and Early Stages of Parkinson's Disease // *Front Pharmacol.* – 2019. – T. 10. – C. 1294.
96. Anichtchik O. V., Rinne J. O., Kalimo H., Panula P. An altered histaminergic innervation of the substantia nigra in Parkinson's disease // *Exp Neurol.* – 2000. – T. 163, № 1. – C. 20-30.
97. Rinne J. O., Anichtchik O. V., Eriksson K. S., Kaslin J., Tuomisto L., Kalimo H., Roytta M., Panula P. Increased brain histamine levels in Parkinson's disease but not in multiple system atrophy // *J Neurochem.* – 2002. – T. 81, № 5. – C. 954-60.
98. Weintraub D., Comella C. L., Horn S. Parkinson's disease--Part 1: Pathophysiology, symptoms, burden, diagnosis, and assessment // *Am J Manag Care.* – 2008. – T. 14, № 2 Suppl. – C. S40-8.
99. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease // *J Neurochem.* – 2016. – T. 139 Suppl 1. – C. 318-324.
100. Braak H., Rub U., Gai W. P., Del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen // *J Neural Transm (Vienna).* – 2003. – T. 110, № 5. – C. 517-36.
101. Visanji N. P., Brooks P. L., Hazrati L. N., Lang A. E. The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future // *Acta Neuropathol Commun.* – 2013. – T. 1. – C. 2.
102. Kordower J. H., Chu Y., Hauser R. A., Freeman T. B., Olanow C. W. Lewy body-like pathology in long-term embryonic nigral transplants in Parkinson's disease // *Nat Med.* – 2008. – T. 14, № 5. – C. 504-6.
103. Kordower J. H., Chu Y., Hauser R. A., Olanow C. W., Freeman T. B. Transplanted dopaminergic neurons develop PD pathologic changes: a second case report // *Mov Disord.* – 2008. – T. 23, № 16. – C. 2303-6.
104. Kurowska Z., Englund E., Widner H., Lindvall O., Li J. Y., Brundin P. Signs of degeneration in 12-22-year old grafts of mesencephalic dopamine neurons in patients with Parkinson's disease // *J Parkinsons Dis.* – 2011. – T. 1, № 1. – C. 83-92.
105. Desplats P., Lee H. J., Bae E. J., Patrick C., Rockenstein E., Crews L., Spencer B., Masliah E., Lee S. J. Inclusion formation and neuronal cell death through neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2009. – T. 106, № 31. – C. 13010-5.
106. Hansen C., Angot E., Bergstrom A. L., Steiner J. A., Pieri L., Paul G., Outeiro T. F., Melki R., Kallunki P., Fog K., Li J. Y., Brundin P. alpha-Synuclein propagates from mouse brain to grafted dopaminergic neurons and seeds aggregation in cultured human cells // *J Clin Invest.* – 2011. – T. 121, № 2. – C. 715-25.

107. Freundt E. C., Maynard N., Clancy E. K., Roy S., Bousset L., Sourigues Y., Covert M., Melki R., Kirkegaard K., Brahic M. Neuron-to-neuron transmission of alpha-synuclein fibrils through axonal transport // *Ann Neurol.* – 2012. – T. 72, № 4. – C. 517-24.
108. Lee H. J., Patel S., Lee S. J. Intravesicular localization and exocytosis of alpha-synuclein and its aggregates // *J Neurosci.* – 2005. – T. 25, № 25. – C. 6016-24.
109. Grozdanov V., Danzer K. M. Release and uptake of pathologic alpha-synuclein // *Cell Tissue Res.* – 2018. – T. 373, № 1. – C. 175-182.
110. Abounit S., Bousset L., Loria F., Zhu S., de Chaumont F., Pieri L., Olivo-Marin J. C., Melki R., Zurzolo C. Tunneling nanotubes spread fibrillar alpha-synuclein by intercellular trafficking of lysosomes // *EMBO J.* – 2016. – T. 35, № 19. – C. 2120-2138.
111. Surmeier D. J., Obeso J. A., Halliday G. M. Parkinson's Disease Is Not Simply a Prion Disorder // *J Neurosci.* – 2017. – T. 37, № 41. – C. 9799-9807.
112. Klingenhoefer L., Reichmann H. Pathogenesis of Parkinson disease--the gut-brain axis and environmental factors // *Nat Rev Neurol.* – 2015. – T. 11, № 11. – C. 625-36.
113. Stocchi F., Torti M. Constipation in Parkinson's Disease // *Int Rev Neurobiol.* – 2017. – T. 134. – C. 811-826.
114. Shannon K. M., Keshavarzian A., Dodiya H. B., Jakate S., Kordower J. H. Is alpha-synuclein in the colon a biomarker for premotor Parkinson's disease? Evidence from 3 cases // *Mov Disord.* – 2012. – T. 27, № 6. – C. 716-9.
115. Glass C. K., Saijo K., Winner B., Marchetto M. C., Gage F. H. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration // *Cell.* – 2010. – T. 140, № 6. – C. 918-34.
116. Forsyth C. B., Shannon K. M., Kordower J. H., Voigt R. M., Shaikh M., Jaglin J. A., Estes J. D., Dodiya H. B., Keshavarzian A. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease // *PLoS One.* – 2011. – T. 6, № 12. – C. e28032.
117. Sun M. F., Shen Y. Q. Dysbiosis of gut microbiota and microbial metabolites in Parkinson's Disease // *Ageing Res Rev.* – 2018. – T. 45. – C. 53-61.
118. Sampson T. R., Debelius J. W., Thron T., Janssen S., Shastri G. G., Ilhan Z. E., Challis C., Schretter C. E., Rocha S., Gradinaru V., Chesselet M. F., Keshavarzian A., Shannon K. M., Krajmalnik-Brown R., Wittung-Stafshede P., Knight R., Mazmanian S. K. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease // *Cell.* – 2016. – T. 167, № 6. – C. 1469-1480 e12.

119. Banks W. A., Dohgu S., Lynch J. L., Fleegal-DeMotta M. A., Erickson M. A., Nakaoke R., Vo T. Q. Nitric oxide isoenzymes regulate lipopolysaccharide-enhanced insulin transport across the blood-brain barrier // *Endocrinology*. – 2008. – T. 149, № 4. – C. 1514-23.
120. Banks W. A., Erickson M. A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction // *Neurobiol Dis*. – 2010. – T. 37, № 1. – C. 26-32.
121. Mamelak M. Parkinson's Disease, the Dopaminergic Neuron and Gammahydroxybutyrate // *Neurol Ther*. – 2018. – T. 7, № 1. – C. 5-11.
122. Wong Y. C., Luk K., Purtell K., Burke Nanni S., Stoessl A. J., Trudeau L. E., Yue Z., Krainc D., Oertel W., Obeso J. A., Volpicelli-Daley L. A. Neuronal vulnerability in Parkinson disease: Should the focus be on axons and synaptic terminals? // *Mov Disord*. – 2019. – T. 34, № 10. – C. 1406-1422.
123. Bolam J. P., Pissadaki E. K. Living on the edge with too many mouths to feed: why dopamine neurons die // *Mov Disord*. – 2012. – T. 27, № 12. – C. 1478-83.
124. Pacelli C., Giguere N., Bourque M. J., Levesque M., Slack R. S., Trudeau L. E. Elevated Mitochondrial Bioenergetics and Axonal Arborization Size Are Key Contributors to the Vulnerability of Dopamine Neurons // *Curr Biol*. – 2015. – T. 25, № 18. – C. 2349-60.
125. Guo J. D., Zhao X., Li Y., Li G. R., Liu X. L. Damage to dopaminergic neurons by oxidative stress in Parkinson's disease (Review) // *Int J Mol Med*. – 2018. – T. 41, № 4. – C. 1817-1825.
126. Surmeier D. J., Guzman J. N., Sanchez-Padilla J., Schumacker P. T. The role of calcium and mitochondrial oxidant stress in the loss of substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons in Parkinson's disease // *Neuroscience*. – 2011. – T. 198. – C. 221-31.
127. Surmeier D. J. Determinants of dopaminergic neuron loss in Parkinson's disease // *FEBS J*. – 2018. – T. 285, № 19. – C. 3657-3668.
128. Dey K., Bazala M. A., Kuznicki J. Targeting mitochondrial calcium pathways as a potential treatment against Parkinson's disease // *Cell Calcium*. – 2020. – T. 89. – C. 102216.
129. Blauwendraat C., Nalls M. A., Singleton A. B. The genetic architecture of Parkinson's disease // *Lancet Neurol*. – 2020. – T. 19, № 2. – C. 170-178.
130. Nalls M. A., Blauwendraat C., Vallerga C. L., Heilbron K., Bandres-Ciga S., Chang D., Tan M., Kia D. A., Noyce A. J., Xue A., Bras J., Young E., von Coelln R., Simon-Sanchez J., Schulte C., Sharma M., Krohn L., Pihlstrom L., Siitonen A., Iwaki H., Leonard H., Faghri F., Gibbs J. R., Hernandez D. G., Scholz S. W., Botia J. A., Martinez M., Corvol J. C., Lesage S., Jankovic J., Shulman L. M., Sutherland M., Tienari P., Majamaa K., Toft M., Andreassen O. A., Bangale T., Brice A., Yang J., Gan-Or Z., Gasser T., Heutink P., Shulman J. M., Wood N. W., Hinds D. A., Hardy J. A., Morris H. R., Gratten J., Visscher P. M., Graham R. R., Singleton A. B., and Me Research T., System Genomics of Parkinson's Disease C., International Parkinson's Disease Genomics C. Identification of novel risk loci, causal

insights, and heritable risk for Parkinson's disease: a meta-analysis of genome-wide association studies // *Lancet Neurol.* – 2019. – T. 18, № 12. – C. 1091-1102.

131. van der Brug M. P., Singleton A., Gasser T., Lewis P. A. Parkinson's disease: From human genetics to clinical trials // *Sci Transl Med.* – 2015. – T. 7, № 305. – C. 205ps20.

132. Deng H., Wang P., Jankovic J. The genetics of Parkinson disease // *Ageing Res Rev.* – 2018. – T. 42. – C. 72-85.

133. Richards M., Chaudhuri K. R. Parkinson's disease in populations of African origin: a review // *Neuroepidemiology.* – 1996. – T. 15, № 4. – C. 214-21.

134. Schoenberg B. S., Osuntokun B. O., Adeuja A. O., Bademosi O., Nottidge V., Anderson D. W., Haerer A. F. Comparison of the prevalence of Parkinson's disease in black populations in the rural United States and in rural Nigeria: door-to-door community studies // *Neurology.* – 1988. – T. 38, № 4. – C. 645-6.

135. Langston J. W., Ballard P., Tetrud J. W., Irwin I. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis // *Science.* – 1983. – T. 219, № 4587. – C. 979-80.

136. Przedborski S., Jackson-Lewis V., Djaldetti R., Liberatore G., Vila M., Vukosavic S., Almer G. The parkinsonian toxin MPTP: action and mechanism // *Restor Neurol Neurosci.* – 2000. – T. 16, № 2. – C. 135-142.

137. Tanner C. M., Kamel F., Ross G. W., Hoppin J. A., Goldman S. M., Korell M., Marras C., Bhudhikanok G. S., Kasten M., Chade A. R., Comyns K., Richards M. B., Meng C., Priestley B., Fernandez H. H., Cambi F., Umbach D. M., Blair A., Sandler D. P., Langston J. W. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease // *Environ Health Perspect.* – 2011. – T. 119, № 6. – C. 866-72.

138. Gorell J. M., Johnson C. C., Rybicki B. A., Peterson E. L., Richardson R. J. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living // *Neurology.* – 1998. – T. 50, № 5. – C. 1346-50.

139. Breckenridge C. B., Berry C., Chang E. T., Sielken R. L., Jr., Mandel J. S. 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. – T. 11, № 4. – C. e0151841.

140. Bellou V., Belbasis L., Tzoulaki I., Evangelou E., Ioannidis J. P. Environmental risk factors and Parkinson's disease: An umbrella review of meta-analyses // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2016. – T. 23. – C. 1-9.

141. Bisaglia M., Tessari I., Mammi S., Bubacco L. Interaction between alpha-synuclein and metal ions, still looking for a role in the pathogenesis of Parkinson's disease // *Neuromolecular Med.* – 2009. – T. 11, № 4. – C. 239-51.

142. Logroschino G. The role of early life environmental risk factors in Parkinson disease: what is the evidence? // *Environ Health Perspect.* – 2005. – T. 113, № 9. – C. 1234-8.
143. Gardner R. C., Burke J. F., Nettiksimmons J., Goldman S., Tanner C. M., Yaffe K. Traumatic brain injury in later life increases risk for Parkinson disease // *Ann Neurol.* – 2015. – T. 77, № 6. – C. 987-95.
144. Goldman S. M., Tanner C. M., Oakes D., Bhudhikanok G. S., Gupta A., Langston J. W. Head injury and Parkinson's disease risk in twins // *Ann Neurol.* – 2006. – T. 60, № 1. – C. 65-72.
145. Hoffman L. A., Vilensky J. A. Encephalitis lethargica: 100 years after the epidemic // *Brain.* – 2017. – T. 140, № 8. – C. 2246-2251.
146. Marttila R. J., Rinne U. K., Tiilikainen A. Virus antibodies in Parkinson's disease. Herpes simplex and measles virus antibodies in serum and CSF and their relation to HLA types // *J Neurol Sci.* – 1982. – T. 54, № 2. – C. 227-38.
147. 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. – T. 123, № 5. – C. 329-32.
148. Harris M. A., Tsui J. K., Marion S. A., Shen H., Teschke K. Association of Parkinson's disease with infections and occupational exposure to possible vectors // *Mov Disord.* – 2012. – T. 27, № 9. – C. 1111-7.
149. Mattock C., Marmot M., Stern G. Could Parkinson's disease follow intra-uterine influenza?: a speculative hypothesis // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* – 1988. – T. 51, № 6. – C. 753-6.
150. Vignatelli L., Zenesini C., Belotti L. M. B., Baldin E., Bonavina G., Calandra-Buonaura G., Cortelli P., Descovich C., Fabbri G., Giannini G., Guarino M., Pantieri R., Samoggia G., Scaglione C., Trombetti S., D'Alessandro R., Nonino F., ParkLink Bologna g. Risk of Hospitalization and Death for COVID-19 in People with Parkinson's Disease or Parkinsonism // *Mov Disord.* – 2021. – T. 36, № 1. – C. 1-10.
151. Huang P., Zhang L. Y., Tan Y. Y., Chen S. D. Links between COVID-19 and Parkinson's disease/Alzheimer's disease: reciprocal impacts, medical care strategies and underlying mechanisms // *Transl Neurodegener.* – 2023. – T. 12, № 1. – C. 5.
152. Afraie M., Moradi G., Mohammadzede P., Azami M., Riyahifar S., Moradi Y. COVID-19 and Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis // *Acta Neurol Belg.* – 2023. – T. 123, № 4. – C. 1209-1223.
153. Santiago J. A., Potashkin J. A. System-based approaches to decode the molecular links in Parkinson's disease and diabetes // *Neurobiol Dis.* – 2014. – T. 72 Pt A. – C. 84-91.
154. Yang Y. W., Hsieh T. F., Li C. I., Liu C. S., Lin W. Y., Chiang J. H., Li T. C., Lin C. C. Increased risk of Parkinson disease with diabetes mellitus in a population-based study // *Medicine (Baltimore).* – 2017. – T. 96, № 3. – C. e5921.

155. Dunn L., Allen G. F., Mamais A., Ling H., Li A., Duberley K. E., Hargreaves I. P., Pope S., Holton J. L., Lees A., Heales S. J., Bandopadhyay R. Dysregulation of glucose metabolism is an early event in sporadic Parkinson's disease // *Neurobiol Aging*. – 2014. – T. 35, № 5. – C. 1111-5.
156. Devine M. J., Plun-Favreau H., Wood N. W. Parkinson's disease and cancer: two wars, one front // *Nat Rev Cancer*. – 2011. – T. 11, № 11. – C. 812-23.
157. Lee J. Y. S., Ng J. H., Saffari S. E., Tan E. K. Parkinson's disease and cancer: a systematic review and meta-analysis on the influence of lifestyle habits, genetic variants, and gender // *Aging (Albany NY)*. – 2022. – T. 14, № 5. – C. 2148-2173.
158. Zhang X., Guarin D., Mohammadzadehhonarvar N., Chen X., Gao X. Parkinson's disease and cancer: a systematic review and meta-analysis of over 17 million participants // *BMJ Open*. – 2021. – T. 11, № 7. – C. e046329.
159. Chen H., Zhang S. M., Hernan M. A., Willett W. C., Ascherio A. Diet and Parkinson's disease: a potential role of dairy products in men // *Ann Neurol*. – 2002. – T. 52, № 6. – C. 793-801.
160. Palacios N., Gao X., McCullough M. L., Schwarzschild M. A., Shah R., Gapstur S., Ascherio A. Caffeine and risk of Parkinson's disease in a large cohort of men and women // *Mov Disord*. – 2012. – T. 27, № 10. – C. 1276-82.
161. Kiyohara C., Kusuhara S. Cigarette smoking and Parkinson's disease: a meta-analysis // *Fukuoka Igaku Zasshi*. – 2011. – T. 102, № 8. – C. 254-65.
162. Ritz B., Ascherio A., Checkoway H., Marder K. S., Nelson L. M., Rocca W. A., Ross G. W., Strickland D., Van Den Eeden S. K., Gorell J. Pooled analysis of tobacco use and risk of Parkinson disease // *Arch Neurol*. – 2007. – T. 64, № 7. – C. 990-7.
163. Li X., Li W., Liu G., Shen X., Tang Y. Association between cigarette smoking and Parkinson's disease: A meta-analysis // *Arch Gerontol Geriatr*. – 2015. – T. 61, № 3. – C. 510-6.
164. Gallo V., Vineis P., Cancellieri M., Chiodini P., Barker R. A., Brayne C., Pearce N., Vermeulen R., Panico S., Bueno-de-Mesquita B., Vanacore N., Forsgren L., Ramat S., Ardanaz E., Arriola L., Peterson J., Hansson O., Gavrila D., Sacerdote C., Sieri S., Kuhn T., Katzke V. A., van der Schouw Y. T., Kyrozi A., Masala G., Mattiello A., Perneczky R., Middleton L., Saracci R., Riboli E. Exploring causality of the association between smoking and Parkinson's disease // *Int J Epidemiol*. – 2019. – T. 48, № 3. – C. 912-925.
165. Olanow C. W., McNaught K. S. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's disease // *Mov Disord*. – 2006. – T. 21, № 11. – C. 1806-23.
166. Majeski A. E., Dice J. F. Mechanisms of chaperone-mediated autophagy // *Int J Biochem Cell Biol*. – 2004. – T. 36, № 12. – C. 2435-44.

167. Betarbet R., Sherer T. B., Greenamyre J. T. Ubiquitin-proteasome system and Parkinson's diseases // *Exp Neurol.* – 2005. – T. 191 Suppl 1. – C. S17-27.
168. Fornai F., Schluter O. M., Lenzi P., Gesi M., Ruffoli R., Ferrucci M., Lazzeri G., Busceti C. L., Pontarelli F., Battaglia G., Pellegrini A., Nicoletti F., Ruggieri S., Paparelli A., Sudhof T. C. Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and alpha-synuclein // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2005. – T. 102, № 9. – C. 3413-8.
169. Lill C. M. Genetics of Parkinson's disease // *Mol Cell Probes.* – 2016. – T. 30, № 6. – C. 386-396.
170. Periquet M., Lucking C., Vaughan J., Bonifati V., Durr A., De Michele G., Horstink M., Farrer M., Illarioshkin S. N., Pollak P., Borg M., Brefel-Courbon C., Deneffe P., Meco G., Gasser T., Breteler M. M., Wood N., Agid Y., Brice A., French Parkinson's Disease Genetics Study Group. The European Consortium on Genetic Susceptibility in Parkinson's D. Origin of the mutations in the parkin gene in Europe: exon rearrangements are independent recurrent events, whereas point mutations may result from Founder effects // *Am J Hum Genet.* – 2001. – T. 68, № 3. – C. 617-26.
171. Xilouri M., Vogiatzi T., Vekrellis K., Park D., Stefanis L. Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy // *PLoS One.* – 2009. – T. 4, № 5. – C. e5515.
172. Lindersson E., Beedholm R., Hojrup P., Moos T., Gai W., Hendil K. B., Jensen P. H. Proteasomal inhibition by alpha-synuclein filaments and oligomers // *J Biol Chem.* – 2004. – T. 279, № 13. – C. 12924-34.
173. Cuervo A. M., Stefanis L., Fredenburg R., Lansbury P. T., Sulzer D. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy // *Science.* – 2004. – T. 305, № 5688. – C. 1292-5.
174. Alvarez-Erviti L., Rodriguez-Oroz M. C., Cooper J. M., Caballero C., Ferrer I., Obeso J. A., Schapira A. H. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains // *Arch Neurol.* – 2010. – T. 67, № 12. – C. 1464-72.
175. Sarkar S., Davies J. E., Huang Z., Tunnacliffe A., Rubinsztein D. C. Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein // *J Biol Chem.* – 2007. – T. 282, № 8. – C. 5641-52.
176. Steele J. W., Ju S., Lachenmayer M. L., Liken J., Stock A., Kim S. H., Delgado L. M., Alfaro I. E., Bernales S., Verdile G., Bharadwaj P., Gupta V., Barr R., Friss A., Dolios G., Wang R., Ringe D., Protter A. A., Martins R. N., Ehrlich M. E., Yue Z., Petsko G. A., Gandy S. Latrepirdine stimulates autophagy and reduces accumulation of alpha-synuclein in cells and in mouse brain // *Mol Psychiatry.* – 2013. – T. 18, № 8. – C. 882-8.

177. Chu Y., Dodiya H., Aebischer P., Olanow C. W., Kordower J. H. Alterations in lysosomal and proteasomal markers in Parkinson's disease: relationship to alpha-synuclein inclusions // *Neurobiol Dis.* – 2009. – T. 35, № 3. – C. 385-98.
178. Anglade P., Vyas S., Javoy-Agid F., Herrero M. T., Michel P. P., Marquez J., Mouatt-Prigent A., Ruberg M., Hirsch E. C., Agid Y. Apoptosis and autophagy in nigral neurons of patients with Parkinson's disease // *Histol Histopathol.* – 1997. – T. 12, № 1. – C. 25-31.
179. Emmanouilidou E., Stefanis L., Vekrellis K. Cell-produced alpha-synuclein oligomers are targeted to, and impair, the 26S proteasome // *Neurobiol Aging.* – 2010. – T. 31, № 6. – C. 953-68.
180. Winslow A. R., Chen C. W., Corrochano S., Acevedo-Arozena A., Gordon D. E., Peden A. A., Lichtenberg M., Menzies F. M., Ravikumar B., Imarisio S., Brown S., O'Kane C. J., Rubinsztein D. C. alpha-Synuclein impairs macroautophagy: implications for Parkinson's disease // *J Cell Biol.* – 2010. – T. 190, № 6. – C. 1023-37.
181. Tanik S. A., Schultheiss C. E., Volpicelli-Daley L. A., Brunden K. R., Lee V. M. Lewy body-like alpha-synuclein aggregates resist degradation and impair macroautophagy // *J Biol Chem.* – 2013. – T. 288, № 21. – C. 15194-210.
182. Martinez-Vicente M., Tallozy Z., Kaushik S., Massey A. C., Mazzulli J., Mosharov E. V., Hodara R., Fredenburg R., Wu D. C., Follenzi A., Dauer W., Przedborski S., Ischiropoulos H., Lansbury P. T., Sulzer D., Cuervo A. M. Dopamine-modified alpha-synuclein blocks chaperone-mediated autophagy // *J Clin Invest.* – 2008. – T. 118, № 2. – C. 777-88.
183. Trinh J., Zeldenrust F. M. J., Huang J., Kasten M., Schaake S., Petkovic S., Madoev H., Grunewald A., Almuammar S., Konig I. R., Lill C. M., Lohmann K., Klein C., Marras C. Genotype-phenotype relations for the Parkinson's disease genes SNCA, LRRK2, VPS35: MDSGene systematic review // *Mov Disord.* – 2018. – T. 33, № 12. – C. 1857-1870.
184. Book A., Guella I., Candido T., Brice A., Hattori N., Jeon B., Farrer M. J., Consortium S. M. I. o. t. G. A Meta-Analysis of alpha-Synuclein Multiplication in Familial Parkinsonism // *Front Neurol.* – 2018. – T. 9. – C. 1021.
185. Volpicelli-Daley L. A., Abdelmotilib H., Liu Z., Stoyka L., Daher J. P., Milnerwood A. J., Unni V. K., Hirst W. D., Yue Z., Zhao H. T., Fraser K., Kennedy R. E., West A. B. G2019S-LRRK2 Expression Augments alpha-Synuclein Sequestration into Inclusions in Neurons // *J Neurosci.* – 2016. – T. 36, № 28. – C. 7415-27.
186. Zimprich A., Biskup S., Leitner P., Lichtner P., Farrer M., Lincoln S., Kachergus J., Hulihan M., Uitti R. J., Calne D. B., Stoessl A. J., Pfeiffer R. F., Patenge N., Carbajal I. C., Vieregge P., Asmus F., Muller-Myhsok B., Dickson D. W., Meitinger T., Strom T. M., Wszolek Z. K., Gasser T. Mutations in



- LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology // *Neuron*. – 2004. – T. 44, № 4. – C. 601-7.
187. Madureira M., Connor-Robson N., Wade-Martins R. "LRRK2: Autophagy and Lysosomal Activity" // *Front Neurosci*. – 2020. – T. 14. – C. 498.
188. Sidransky E., Nalls M. A., Aasly J. O., Aharon-Peretz J., Annesi G., Barbosa E. R., Bar-Shira A., Berg D., Bras J., Brice A., Chen C. M., Clark L. N., Condroyer C., De Marco E. V., Durr A., Eblan M. J., Fahn S., Farrer M. J., Fung H. C., Gan-Or Z., Gasser T., Gershoni-Baruch R., Giladi N., Griffith A., Gurevich T., Januario C., Kropp P., Lang A. E., Lee-Chen G. J., Lesage S., Marder K., Mata I. F., Mirelman A., Mitsui J., Mizuta I., Nicoletti G., Oliveira C., Ottman R., Orr-Urtreger A., Pereira L. V., Quattrone A., Rogaeva E., Rolfs A., Rosenbaum H., Rozenberg R., Samii A., Samaddar T., Schulte C., Sharma M., Singleton A., Spitz M., Tan E. K., Tayebi N., Toda T., Troiano A. R., Tsuji S., Wittstock M., Wolfsberg T. G., Wu Y. R., Zabetian C. P., Zhao Y., Ziegler S. G. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease // *N Engl J Med*. – 2009. – T. 361, № 17. – C. 1651-61.
189. Fernandes H. J., Hartfield E. M., Christian H. C., Emmanouilidou E., Zheng Y., Booth H., Bogetofte H., Lang C., Ryan B. J., Sardi S. P., Badger J., Vowles J., Evetts S., Tofaris G. K., Vekrellis K., Talbot K., Hu M. T., James W., Cowley S. A., Wade-Martins R. ER Stress and Autophagic Perturbations Lead to Elevated Extracellular alpha-Synuclein in GBA-N370S Parkinson's iPSC-Derived Dopamine Neurons // *Stem Cell Reports*. – 2016. – T. 6, № 3. – C. 342-56.
190. Seaman M., Freeman C. L. Analysis of the Retromer complex-WASH complex interaction illuminates new avenues to explore in Parkinson disease // *Commun Integr Biol*. – 2014. – T. 7. – C. e29483.
191. Tang F. L., Erion J. R., Tian Y., Liu W., Yin D. M., Ye J., Tang B., Mei L., Xiong W. C. VPS35 in Dopamine Neurons Is Required for Endosome-to-Golgi Retrieval of Lamp2a, a Receptor of Chaperone-Mediated Autophagy That Is Critical for alpha-Synuclein Degradation and Prevention of Pathogenesis of Parkinson's Disease // *J Neurosci*. – 2015. – T. 35, № 29. – C. 10613-28.
192. Dhungel N., Eleuteri S., Li L. B., Kramer N. J., Chartron J. W., Spencer B., Kosberg K., Fields J. A., Stafa K., Adame A., Lashuel H., Frydman J., Shen K., Masliah E., Gitler A. D. Parkinson's disease genes VPS35 and EIF4G1 interact genetically and converge on alpha-synuclein // *Neuron*. – 2015. – T. 85, № 1. – C. 76-87.
193. Vilarino-Guell C., Wider C., Ross O. A., Dachsel J. C., Kachergus J. M., Lincoln S. J., Soto-Ortolaza A. I., Cobb S. A., Wilhoite G. J., Bacon J. A., Behrouz B., Melrose H. L., Hentati E., Puschmann A., Evans D. M., Conibear E., Wasserman W. W., Aasly J. O., Burkhard P. R., Djaldetti R., Ghika J., Hentati F., Krygowska-Wajs A., Lynch T., Melamed E., Rajput A., Rajput A. H., Solida A.,

- Wu R. M., Uitti R. J., Wszolek Z. K., Vingerhoets F., Farrer M. J. VPS35 mutations in Parkinson disease // *Am J Hum Genet.* – 2011. – T. 89, № 1. – C. 162-7.
194. Zimprich A., Benet-Pages A., Struhal W., Graf E., Eck S. H., Offman M. N., Haubenberger D., Spielberger S., Schulte E. C., Lichtner P., Rossle S. C., Klopp N., Wolf E., Seppi K., Pirker W., Presslauer S., Mollenhauer B., Katzenschlager R., Foki T., Hotzy C., Reinthaler E., Harutyunyan A., Kralovics R., Peters A., Zimprich F., Brucke T., Poewe W., Auff E., Trenkwalder C., Rost B., Ransmayr G., Winkelmann J., Meitinger T., Strom T. M. A mutation in VPS35, encoding a subunit of the retromer complex, causes late-onset Parkinson disease // *Am J Hum Genet.* – 2011. – T. 89, № 1. – C. 168-75.
195. Schneider S. A., Paisan-Ruiz C., Quinn N. P., Lees A. J., Houlden H., Hardy J., Bhatia K. P. ATP13A2 mutations (PARK9) cause neurodegeneration with brain iron accumulation // *Mov Disord.* – 2010. – T. 25, № 8. – C. 979-84.
196. Ramirez A., Heimbach A., Grundemann J., Stiller B., Hampshire D., Cid L. P., Goebel I., Mubaidin A. F., Wriekat A. L., Roeper J., Al-Din A., Hillmer A. M., Karsak M., Liss B., Woods C. G., Behrens M. I., Kubisch C. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase // *Nat Genet.* – 2006. – T. 38, № 10. – C. 1184-91.
197. Dehay B., Martinez-Vicente M., Ramirez A., Perier C., Klein C., Vila M., Bezdard E. Lysosomal dysfunction in Parkinson disease: ATP13A2 gets into the groove // *Autophagy.* – 2012. – T. 8, № 9. – C. 1389-91.
198. Malpartida A. B., Williamson M., Narendra D. P., Wade-Martins R., Ryan B. J. Mitochondrial Dysfunction and Mitophagy in Parkinson's Disease: From Mechanism to Therapy // *Trends Biochem Sci.* – 2021. – T. 46, № 4. – C. 329-343.
199. Uttara B., Singh A. V., Zamboni P., Mahajan R. T. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options // *Curr Neuropharmacol.* – 2009. – T. 7, № 1. – C. 65-74.
200. Borsche M., Pereira S. L., Klein C., Grunewald A. Mitochondria and Parkinson's Disease: Clinical, Molecular, and Translational Aspects // *J Parkinsons Dis.* – 2021. – T. 11, № 1. – C. 45-60.
201. Park J. S., Davis R. L., Sue C. M. Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease: New Mechanistic Insights and Therapeutic Perspectives // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2018. – T. 18, № 5. – C. 21.
202. Chinta S. J., Mallajosyula J. K., Rane A., Andersen J. K. Mitochondrial alpha-synuclein accumulation impairs complex I function in dopaminergic neurons and results in increased mitophagy in vivo // *Neurosci Lett.* – 2010. – T. 486, № 3. – C. 235-9.
203. Ryan B. J., Hoek S., Fon E. A., Wade-Martins R. Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's: from familial to sporadic disease // *Trends Biochem Sci.* – 2015. – T. 40, № 4. – C. 200-10.

204. Guardia-Laguarta C., Area-Gomez E., Rub C., Liu Y., Magrane J., Becker D., Voos W., Schon E. A., Przedborski S. alpha-Synuclein is localized to mitochondria-associated ER membranes // *J Neurosci.* – 2014. – T. 34, № 1. – C. 249-59.
205. Grunewald A., Kumar K. R., Sue C. M. New insights into the complex role of mitochondria in Parkinson's disease // *Prog Neurobiol.* – 2019. – T. 177. – C. 73-93.
206. Ouzren N., Delcambre S., Ghelfi J., Seibler P., Farrer M. J., Konig I. R., Aasly J. O., Trinh J., Klein C., Grunewald A. Mitochondrial DNA Deletions Discriminate Affected from Unaffected LRRK2 Mutation Carriers // *Ann Neurol.* – 2019. – T. 86, № 2. – C. 324-326.
207. Santos D., Esteves A. R., Silva D. F., Januario C., Cardoso S. M. The Impact of Mitochondrial Fusion and Fission Modulation in Sporadic Parkinson's Disease // *Mol Neurobiol.* – 2015. – T. 52, № 1. – C. 573-86.
208. Bi F., Li F., Huang C., Zhou H. Pathogenic mutation in VPS35 impairs its protection against MPP(+) cytotoxicity // *Int J Biol Sci.* – 2013. – T. 9, № 2. – C. 149-55.
209. Zhou L., Wang W., Hoppel C., Liu J., Zhu X. Parkinson's disease-associated pathogenic VPS35 mutation causes complex I deficits // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2017. – T. 1863, № 11. – C. 2791-2795.
210. Aras S., Bai M., Lee I., Springett R., Huttemann M., Grossman L. I. MNRR1 (formerly CHCHD2) is a bi-organellar regulator of mitochondrial metabolism // *Mitochondrion.* – 2015. – T. 20. – C. 43-51.
211. Meng H., Yamashita C., Shiba-Fukushima K., Inoshita T., Funayama M., Sato S., Hatta T., Natsume T., Umitsu M., Takagi J., Imai Y., Hattori N. Loss of Parkinson's disease-associated protein CHCHD2 affects mitochondrial crista structure and destabilizes cytochrome c // *Nat Commun.* – 2017. – T. 8. – C. 15500.
212. Scarffe L. A., Stevens D. A., Dawson V. L., Dawson T. M. Parkin and PINK1: much more than mitophagy // *Trends Neurosci.* – 2014. – T. 37, № 6. – C. 315-24.
213. Mortiboys H., Thomas K. J., Koopman W. J., Klaffke S., Abou-Sleiman P., Olpin S., Wood N. W., Willems P. H., Smeitink J. A., Cookson M. R., Bandmann O. Mitochondrial function and morphology are impaired in parkin-mutant fibroblasts // *Ann Neurol.* – 2008. – T. 64, № 5. – C. 555-65.
214. Sarraf S. A., Raman M., Guarani-Pereira V., Sowa M. E., Huttlin E. L., Gygi S. P., Harper J. W. Landscape of the PARKIN-dependent ubiquitylome in response to mitochondrial depolarization // *Nature.* – 2013. – T. 496, № 7445. – C. 372-6.
215. Ashrafi G., Schlehe J. S., LaVoie M. J., Schwarz T. L. Mitophagy of damaged mitochondria occurs locally in distal neuronal axons and requires PINK1 and Parkin // *J Cell Biol.* – 2014. – T. 206, № 5. – C. 655-70.

216. Shin J. H., Ko H. S., Kang H., Lee Y., Lee Y. I., Pletinkova O., Troconso J. C., Dawson V. L., Dawson T. M. PARIS (ZNF746) repression of PGC-1alpha contributes to neurodegeneration in Parkinson's disease // *Cell*. – 2011. – T. 144, № 5. – C. 689-702.
217. Stevens D. A., Lee Y., Kang H. C., Lee B. D., Lee Y. I., Bower A., Jiang H., Kang S. U., Andrabi S. A., Dawson V. L., Shin J. H., Dawson T. M. Parkin loss leads to PARIS-dependent declines in mitochondrial mass and respiration // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2015. – T. 112, № 37. – C. 11696-701.
218. Pickrell A. M., Youle R. J. The roles of PINK1, parkin, and mitochondrial fidelity in Parkinson's disease // *Neuron*. – 2015. – T. 85, № 2. – C. 257-73.
219. Kostic M., Ludtmann M. H., Bading H., Hershinkel M., Steer E., Chu C. T., Abramov A. Y., Sekler I. PKA Phosphorylation of NCLX Reverses Mitochondrial Calcium Overload and Depolarization, Promoting Survival of PINK1-Deficient Dopaminergic Neurons // *Cell Rep*. – 2015. – T. 13, № 2. – C. 376-86.
220. Amo T., Saiki S., Sawayama T., Sato S., Hattori N. Detailed analysis of mitochondrial respiratory chain defects caused by loss of PINK1 // *Neurosci Lett*. – 2014. – T. 580. – C. 37-40.
221. Pryde K. R., Smith H. L., Chau K. Y., Schapira A. H. PINK1 disables the anti-fission machinery to segregate damaged mitochondria for mitophagy // *J Cell Biol*. – 2016. – T. 213, № 2. – C. 163-71.
222. Lee Y., Stevens D. A., Kang S. U., Jiang H., Lee Y. I., Ko H. S., Scarffe L. A., Umanah G. E., Kang H., Ham S., Kam T. I., Allen K., Brahmachari S., Kim J. W., Neifert S., Yun S. P., Fiesel F. C., Springer W., Dawson V. L., Shin J. H., Dawson T. M. PINK1 Primes Parkin-Mediated Ubiquitination of PARIS in Dopaminergic Neuronal Survival // *Cell Rep*. – 2017. – T. 18, № 4. – C. 918-932.
223. Beilina A., Van Der Brug M., Ahmad R., Kesavapany S., Miller D. W., Petsko G. A., Cookson M. R. Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with recessive parkinsonism have differential effects on protein stability // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2005. – T. 102, № 16. – C. 5703-8.
224. Ramonet D., Podhajski A., Stafa K., Sonnay S., Trancikova A., Tsika E., Pletnikova O., Troncoso J. C., Glauser L., Moore D. J. PARK9-associated ATP13A2 localizes to intracellular acidic vesicles and regulates cation homeostasis and neuronal integrity // *Hum Mol Genet*. – 2012. – T. 21, № 8. – C. 1725-43.
225. Park J. S., Koentjoro B., Veivers D., Mackay-Sim A., Sue C. M. Parkinson's disease-associated human ATP13A2 (PARK9) deficiency causes zinc dyshomeostasis and mitochondrial dysfunction // *Hum Mol Genet*. – 2014. – T. 23, № 11. – C. 2802-15.

226. Park J. S., Koentjoro B., Davis R. L., Sue C. M. Loss of ATP13A2 impairs glycolytic function in Kufor-Rakeb syndrome patient-derived cell models // *Parkinsonism Relat Disord.* – 2016. – T. 27. – C. 67-73.
227. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease // *Ann Neurol.* – 2003. – T. 53 Suppl 3. – C. S26-36; discussion S36-8.
228. Chang K. H., Chen C. M. The Role of Oxidative Stress in Parkinson's Disease // *Antioxidants (Basel).* – 2020. – T. 9, № 7.
229. Scudamore O., Ciossek T. Increased Oxidative Stress Exacerbates alpha-Synuclein Aggregation In Vivo // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2018. – T. 77, № 6. – C. 443-453.
230. Ko L., Mehta N. D., Farrer M., Easson C., Hussey J., Yen S., Hardy J., Yen S. H. Sensitization of neuronal cells to oxidative stress with mutated human alpha-synuclein // *J Neurochem.* – 2000. – T. 75, № 6. – C. 2546-54.
231. Hyun D. H., Lee M., Hattori N., Kubo S., Mizuno Y., Halliwell B., Jenner P. Effect of wild-type or mutant Parkin on oxidative damage, nitric oxide, antioxidant defenses, and the proteasome // *J Biol Chem.* – 2002. – T. 277, № 32. – C. 28572-7.
232. Pridgeon J. W., Olzmann J. A., Chin L. S., Li L. PINK1 protects against oxidative stress by phosphorylating mitochondrial chaperone TRAP1 // *PLoS Biol.* – 2007. – T. 5, № 7. – C. e172.
233. Narendra D., Tanaka A., Suen D. F., Youle R. J. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy // *J Cell Biol.* – 2008. – T. 183, № 5. – C. 795-803.
234. Waragai M., Wei J., Fujita M., Nakai M., Ho G. J., Masliah E., Akatsu H., Yamada T., Hashimoto M. Increased level of DJ-1 in the cerebrospinal fluids of sporadic Parkinson's disease // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2006. – T. 345, № 3. – C. 967-72.
235. Angeles D. C., Ho P., Dymock B. W., Lim K. L., Zhou Z. D., Tan E. K. Antioxidants inhibit neuronal toxicity in Parkinson's disease-linked LRRK2 // *Ann Clin Transl Neurol.* – 2016. – T. 3, № 4. – C. 288-94.
236. McGeer P. L., Itagaki S., Boyes B. E., McGeer E. G. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains // *Neurology.* – 1988. – T. 38, № 8. – C. 1285-91.
237. Hirsch E. C., Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? // *Lancet Neurol.* – 2009. – T. 8, № 4. – C. 382-97.
238. Nagatsu T., Mogi M., Ichinose H., Togari A. Changes in cytokines and neurotrophins in Parkinson's disease // *J Neural Transm Suppl.* – 2000.10.1007/978-3-7091-6301-6\_19 № 60. – C. 277-90.
239. Schapira A. H., Jenner P. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2011. – T. 26, № 6. – C. 1049-55.

240. Lindestam Arlehamn C. S., Dhanwani R., Pham J., Kuan R., Frazier A., Rezende Dutra J., Phillips E., Mallal S., Roederer M., Marder K. S., Amara A. W., Standaert D. G., Goldman J. G., Litvan I., Peters B., Sulzer D., Sette A. alpha-Synuclein-specific T cell reactivity is associated with preclinical and early Parkinson's disease // *Nat Commun.* – 2020. – T. 11, № 1. – C. 1875.
241. Krashia P., Cordella A., Nobili A., La Barbera L., Federici M., Leuti A., Campanelli F., Natale G., Marino G., Calabrese V., Vedele F., Ghiglieri V., Picconi B., Di Lazzaro G., Schirinzi T., Sancesario G., Casadei N., Riess O., Bernardini S., Pisani A., Calabresi P., Viscomi M. T., Serhan C. N., Chiurchiu V., D'Amelio M., Mercuri N. B. Blunting neuroinflammation with resolvin D1 prevents early pathology in a rat model of Parkinson's disease // *Nat Commun.* – 2019. – T. 10, № 1. – C. 3945.
242. La Vitola P., Balducci C., Baroni M., Artioli L., Santamaria G., Castiglioni M., Cerovic M., Colombo L., Cadinelli L., Pollegioni L., Forloni G. Peripheral inflammation exacerbates alpha-synuclein toxicity and neuropathology in Parkinson's models // *Neuropathol Appl Neurobiol.* – 2021. – T. 47, № 1. – C. 43-60.
243. Yin J., Valin K. L., Dixon M. L., Leavenworth J. W. The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity, and Cancer // *J Immunol Res.* – 2017. – T. 2017. – C. 5150678.
244. Grazioli S., Pugin J. Mitochondrial Damage-Associated Molecular Patterns: From Inflammatory Signaling to Human Diseases // *Front Immunol.* – 2018. – T. 9. – C. 832.
245. Picca A., Lezza A. M. S., Leeuwenburgh C., Pesce V., Calvani R., Landi F., Bernabei R., Marzetti E. Fueling Inflamm-Aging through Mitochondrial Dysfunction: Mechanisms and Molecular Targets // *Int J Mol Sci.* – 2017. – T. 18, № 5.
246. Riley J. S., Tait S. W. Mitochondrial DNA in inflammation and immunity // *EMBO Rep.* – 2020. – T. 21, № 4. – C. e49799.
247. Garaschuk O. The role of NLRP3 inflammasome for microglial response to peripheral inflammation // *Neural Regen Res.* – 2021. – T. 16, № 2. – C. 294-295.
248. Hasegawa T., Sugeno N., Kikuchi A., Baba T., Aoki M. Membrane Trafficking Illuminates a Path to Parkinson's Disease // *Tohoku J Exp Med.* – 2017. – T. 242, № 1. – C. 63-76.
249. Sheehan P., Yue Z. Deregulation of autophagy and vesicle trafficking in Parkinson's disease // *Neurosci Lett.* – 2019. – T. 697. – C. 59-65.
250. Lin M. K., Farrer M. J. Genetics and genomics of Parkinson's disease // *Genome Med.* – 2014. – T. 6, № 6. – C. 48.
251. Brunger A. T. Structural insights into the molecular mechanism of Ca(2+)-dependent exocytosis // *Curr Opin Neurobiol.* – 2000. – T. 10, № 3. – C. 293-302.
252. Cooper A. A., Gitler A. D., Cashikar A., Haynes C. M., Hill K. J., Bhullar B., Liu K., Xu K., Strathearn K. E., Liu F., Cao S., Caldwell K. A., Caldwell G. A., Marsischky G., Kolodner R. D., Labaer

- J., Rochet J. C., Bonini N. M., Lindquist S. Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models // *Science*. – 2006. – T. 313, № 5785. – C. 324-8.
253. Chung C. Y., Khurana V., Auluck P. K., Tardiff D. F., Mazzulli J. R., Soldner F., Baru V., Lou Y., Freyzon Y., Cho S., Mungenast A. E., Muffat J., Mitalipova M., Pluth M. D., Jui N. T., Schule B., Lippard S. J., Tsai L. H., Krainc D., Buchwald S. L., Jaenisch R., Lindquist S. Identification and rescue of alpha-synuclein toxicity in Parkinson patient-derived neurons // *Science*. – 2013. – T. 342, № 6161. – C. 983-7.
254. Williams E. T., Chen X., Moore D. J. VPS35, the Retromer Complex and Parkinson's Disease // *J Parkinsons Dis*. – 2017. – T. 7, № 2. – C. 219-233.
255. Steger M., Tonelli F., Ito G., Davies P., Trost M., Vetter M., Wachter S., Lorentzen E., Duddy G., Wilson S., Baptista M. A., Fiske B. K., Fell M. J., Morrow J. A., Reith A. D., Alessi D. R., Mann M. Phosphoproteomics reveals that Parkinson's disease kinase LRRK2 regulates a subset of Rab GTPases // *Elife*. – 2016. – T. 5.
256. Inoshita T., Arano T., Hosaka Y., Meng H., Umezaki Y., Kosugi S., Morimoto T., Koike M., Chang H. Y., Imai Y., Hattori N. Vps35 in cooperation with LRRK2 regulates synaptic vesicle endocytosis through the endosomal pathway in *Drosophila* // *Hum Mol Genet*. – 2017. – T. 26, № 15. – C. 2933-2948.
257. Eguchi T., Kuwahara T., Sakurai M., Komori T., Fujimoto T., Ito G., Yoshimura S. I., Harada A., Fukuda M., Koike M., Iwatsubo T. LRRK2 and its substrate Rab GTPases are sequentially targeted onto stressed lysosomes and maintain their homeostasis // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2018. – T. 115, № 39. – C. E9115-E9124.
258. Kuwahara T., Iwatsubo T. The Emerging Functions of LRRK2 and Rab GTPases in the Endolysosomal System // *Front Neurosci*. – 2020. – T. 14. – C. 227.
259. Cookson M. R. Cellular functions of LRRK2 implicate vesicular trafficking pathways in Parkinson's disease // *Biochem Soc Trans*. – 2016. – T. 44, № 6. – C. 1603-1610.
260. Esteves A. R., Swerdlow R. H., Cardoso S. M. LRRK2, a puzzling protein: insights into Parkinson's disease pathogenesis // *Exp Neurol*. – 2014. – T. 261. – C. 206-16.
261. Demirsoy S., Martin S., Motamedi S., van Veen S., Holemans T., Van den Haute C., Jordanova A., Baekelandt V., Vangheluwe P., Agostinis P. ATP13A2/PARK9 regulates endo-/lysosomal cargo sorting and proteostasis through a novel PI(3, 5)P2-mediated scaffolding function // *Hum Mol Genet*. – 2017. – T. 26, № 9. – C. 1656-1669.
262. Park J. S., Blair N. F., Sue C. M. The role of ATP13A2 in Parkinson's disease: Clinical phenotypes and molecular mechanisms // *Mov Disord*. – 2015. – T. 30, № 6. – C. 770-9.
263. Bass J. Circadian topology of metabolism // *Nature*. – 2012. – T. 491, № 7424. – C. 348-56.

264. Leng Y., Musiek E. S., Hu K., Cappuccio F. P., Yaffe K. Association between circadian rhythms and neurodegenerative diseases // *Lancet Neurol.* – 2019. – T. 18, № 3. – C. 307-318.
265. Cox K. H., Takahashi J. S. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism // *J Mol Endocrinol.* – 2019. – T. 63, № 4. – C. R93-R102.
266. Fu L., Lee C. C. The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor // *Nat Rev Cancer.* – 2003. – T. 3, № 5. – C. 350-61.
267. De Cock V. C., Vidailhet M., Arnulf I. Sleep disturbances in patients with parkinsonism // *Nat Clin Pract Neurol.* – 2008. – T. 4, № 5. – C. 254-66.
268. Schrempf W., Brandt M. D., Storch A., Reichmann H. Sleep disorders in Parkinson's disease // *J Parkinsons Dis.* – 2014. – T. 4, № 2. – C. 211-21.
269. Fulceri F., Biagioni F., Ferrucci M., Lazzeri G., Bartalucci A., Galli V., Ruggieri S., Paparelli A., Fornai F. Abnormal involuntary movements (AIMs) following pulsatile dopaminergic stimulation: severe deterioration and morphological correlates following the loss of locus coeruleus neurons // *Brain Res.* – 2007. – T. 1135, № 1. – C. 219-29.
270. Hirsch E. C., Graybiel A. M., Duyckaerts C., Javoy-Agid F. Neuronal loss in the pedunculopontine tegmental nucleus in Parkinson disease and in progressive supranuclear palsy // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1987. – T. 84, № 16. – C. 5976-80.
271. Jellinger K. A. Pathology of Parkinson's disease. Changes other than the nigrostriatal pathway // *Mol Chem Neuropathol.* – 1991. – T. 14, № 3. – C. 153-97.
272. Carlsson A. Biochemical and pharmacological aspects of Parkinsonism // *Acta Neurol Scand Suppl.* – 1972. – T. 51. – C. 11-42.
273. Thannickal T. C., Lai Y. Y., Siegel J. M. Hypocretin (orexin) cell loss in Parkinson's disease // *Brain.* – 2007. – T. 130, № Pt 6. – C. 1586-95.
274. Fabbrini G., Barbanti P., Aurilia C., Vanacore N., Pauletti C., Meco G. Excessive daytime sleepiness in de novo and treated Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 2002. – T. 17, № 5. – C. 1026-30.
275. Frucht S., Rogers J. D., Greene P. E., Gordon M. F., Fahn S. Falling asleep at the wheel: motor vehicle mishaps in persons taking pramipexole and ropinirole // *Neurology.* – 1999. – T. 52, № 9. – C. 1908-10.
276. Videnovic A., Golombek D. Circadian Dysregulation in Parkinson's Disease // *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms.* – 2017. – T. 2. – C. 53-58.
277. Ejaz A. A., Sekhon I. S., Munjal S. Characteristic findings on 24-h ambulatory blood pressure monitoring in a series of patients with Parkinson's disease // *Eur J Intern Med.* – 2006. – T. 17, № 6. – C. 417-20.



278. Brevetti G., Bonaduce D., Breglio R., Perna S., Simonelli P., Marconi R., Campanella G. Parkinson's disease and hypotension: 24-hour blood pressure recording in ambulant patients // *Clin Cardiol.* – 1990. – T. 13, № 7. – C. 474-8.
279. Hunt J., Coulson E. J., Rajnarayanan R., Oster H., Videnovic A., Rawashdeh O. Sleep and circadian rhythms in Parkinson's disease and preclinical models // *Mol Neurodegener.* – 2022. – T. 17, № 1. – C. 2.
280. Schmidt C., Berg D., Herting, Prieur S., Junghanns S., Schweitzer K., Globas C., Schols L., Reichmann H., Ziemssen T. Loss of nocturnal blood pressure fall in various extrapyramidal syndromes // *Mov Disord.* – 2009. – T. 24, № 14. – C. 2136-42.
281. Hineno T., Mizobuchi M., Nishimatsu O., Horiguchi J., Kakimoto Y. Day-night variation of urine volume in Parkinson's disease // *Jpn J Psychiatry Neurol.* – 1994. – T. 48, № 3. – C. 583-7.
282. Breen D. P., Vuono R., Nawarathna U., Fisher K., Shneerson J. M., Reddy A. B., Barker R. A. Sleep and circadian rhythm regulation in early Parkinson disease // *JAMA Neurol.* – 2014. – T. 71, № 5. – C. 589-595.
283. Bordet R., Devos D., Brique S., Touitou Y., Guieu J. D., Libersa C., Destee A. Study of circadian melatonin secretion pattern at different stages of Parkinson's disease // *Clin Neuropharmacol.* – 2003. – T. 26, № 2. – C. 65-72.
284. Cai Y., Liu S., Sothorn R. B., Xu S., Chan P. Expression of clock genes *Per1* and *Bmal1* in total leukocytes in health and Parkinson's disease // *Eur J Neurol.* – 2010. – T. 17, № 4. – C. 550-4.
285. Ding H., Liu S., Yuan Y., Lin Q., Chan P., Cai Y. Decreased expression of *Bmal2* in patients with Parkinson's disease // *Neurosci Lett.* – 2011. – T. 499, № 3. – C. 186-8.
286. Griffin P., Sheehan P. W., Dimitry J. M., Guo C., Kanan M. F., Lee J., Zhang J., Musiek E. S. REV-ERB $\alpha$  mediates complement expression and diurnal regulation of microglial synaptic phagocytosis // *Elife.* – 2020. – T. 9.
287. Li S., Wang Y., Wang F., Hu L. F., Liu C. F. A New Perspective for Parkinson's Disease: Circadian Rhythm // *Neurosci Bull.* – 2017. – T. 33, № 1. – C. 62-72.
288. Caronti B., Antonini G., Calderaro C., Ruggieri S., Palladini G., Pontieri F. E., Colosimo C. Dopamine transporter immunoreactivity in peripheral blood lymphocytes in Parkinson's disease // *J Neural Transm (Vienna).* – 2001. – T. 108, № 7. – C. 803-7.
289. Buttarelli F. R., Capriotti G., Pellicano C., Prosperi D., Circella A., Festa A., Giovannelli M., Tofani A., Pontieri F. E., Scopinaro F. Central and peripheral dopamine transporter reduction in Parkinson's disease // *Neurol Res.* – 2009. – T. 31, № 7. – C. 687-91.

290. Barbanti P., Fabbrini G., Ricci A., Cerbo R., Bronzetti E., Caronti B., Calderaro C., Felici L., Stocchi F., Meco G., Amenta F., Lenzi G. L. Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease // *Mov Disord.* – 1999. – Т. 14, № 5. – С. 764-71.
291. Courtney E., Kornfeld S., Janitz K., Janitz M. Transcriptome profiling in neurodegenerative disease // *J Neurosci Methods.* – 2010. – Т. 193, № 2. – С. 189-202.
292. Руденок, М.М. Экспрессионное профилирование в тканях мозга мышей с МФТП-индуцированными моделями ранних стадий болезни Паркинсона. [Текст]: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.03 / Руденок Маргарита Максимовна. – М., 2021. – 137 с.
293. Borrageiro G., Haylett W., Seedat S., Kuivaniemi H., Bardien S. A review of genome-wide transcriptomics studies in Parkinson's disease // *Eur J Neurosci.* – 2018. – Т. 47, № 1. – С. 1-16.
294. Soreq L., Israel Z., Bergman H., Soreq H. Advanced microarray analysis highlights modified neuro-immune signaling in nucleated blood cells from Parkinson's disease patients // *J Neuroimmunol.* – 2008. – Т. 201-202. – С. 227-36.
295. Shehadeh L. A., Yu K., Wang L., Guevara A., Singer C., Vance J., Papapetropoulos S. SRRM2, a potential blood biomarker revealing high alternative splicing in Parkinson's disease // *PLoS One.* – 2010. – Т. 5, № 2. – С. e9104.
296. Kedmi M., Bar-Shira A., Gurevich T., Giladi N., Orr-Urtreger A. Decreased expression of B cell related genes in leukocytes of women with Parkinson's disease // *Molecular Neurodegeneration.* – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 66.
297. Mutez E., Larvor L., Lepretre F., Mouroux V., Hamalek D., Kerckaert J. P., Perez-Tur J., Waucquier N., Vanbesien-Mailliot C., Dufлот A., Devos D., Defebvre L., Kreisler A., Frigard B., Destee A., Chartier-Harlin M. C. Transcriptional profile of Parkinson blood mononuclear cells with LRRK2 mutation // *Neurobiol Aging.* – 2011. – Т. 32, № 10. – С. 1839-48.
298. Soreq L., Bergman H., Goll Y., Greenberg D. S., Israel Z., Soreq H. Deep brain stimulation induces rapidly reversible transcript changes in Parkinson's leukocytes // *J Cell Mol Med.* – 2012. – Т. 16, № 7. – С. 1496-507.
299. Soreq L., Bergman H., Israel Z., Soreq H. Deep brain stimulation modulates nonsense-mediated RNA decay in Parkinson's patients leukocytes // *BMC Genomics.* – 2013. – Т. 14. – С. 478.
300. Alieva A., Shadrina M. I., Filatova E. V., Karabanov A. V., Illarioshkin S. N., Limborska S. A., Slominsky P. A. Involvement of endocytosis and alternative splicing in the formation of the pathological process in the early stages of Parkinson's disease // *Biomed Res Int.* – 2014. – Т. 2014. – С. 718732.
301. Mutez E., Nkiliza A., Belarbi K., de Broucker A., Vanbesien-Mailliot C., Bleuse S., Dufлот A., Comptdaer T., Semaille P., Blervaque R., Hot D., Lepretre F., Figeac M., Destee A., Chartier-Harlin M.

- C. Involvement of the immune system, endocytosis and EIF2 signaling in both genetically determined and sporadic forms of Parkinson's disease // *Neurobiol Dis.* – 2014. – T. 63. – C. 165-70.
302. Sun A. G., Wang J., Shan Y. Z., Yu W. J., Li X., Cong C. H., Wang X. Identifying distinct candidate genes for early Parkinson's disease by analysis of gene expression in whole blood // *Neuro Endocrinol Lett.* – 2014. – T. 35, № 5. – C. 398-404.
303. Zhang Y., Yao L., Liu W., Li W., Tian C., Wang Z. Y., Liu D. Bioinformatics analysis raises candidate genes in blood for early screening of Parkinson's disease // *Biomed Environ Sci.* – 2014. – T. 27, № 6. – C. 462-5.
304. Infante J., Prieto C., Sierra M., Sanchez-Juan P., Gonzalez-Aramburu I., Sanchez-Quintana C., Berciano J., Combarros O., Sainz J. Comparative blood transcriptome analysis in idiopathic and LRRK2 G2019S-associated Parkinson's disease // *Neurobiol Aging.* – 2016. – T. 38. – C. 214.e1-5.
305. Liu S., Zhang Y., Bian H., Li X. Gene expression profiling predicts pathways and genes associated with Parkinson's disease // *Neurol Sci.* – 2016. – T. 37, № 1. – C. 73-79.
306. Santiago J. A., Potashkin J. A. Network-based metaanalysis identifies HNF4A and PTBP1 as longitudinally dynamic biomarkers for Parkinson's disease // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2015. – T. 112, № 7. – C. 2257-62.
307. Kobo H., Bar-Shira A., Dahary D., Gan-Or Z., Mirelman A., Goldstein O., Giladi N., Orr-Urtreger A. Down-regulation of B cell-related genes in peripheral blood leukocytes of Parkinson's disease patients with and without GBA mutations // *Mol Genet Metab.* – 2016. – T. 117, № 2. – C. 179-85.
308. Li T., Tang W., Zhang L. Monte Carlo cross-validation analysis screens pathway cross-talk associated with Parkinson's disease // *Neurol Sci.* – 2016. – T. 37, № 8. – C. 1327-33.
309. Nkiliza A., Mutez E., Simonin C., Leprêtre F., Dufлот A., Figeac M., Villenet C., Semaille P., Comptdaer T., Genet A., Sablonnière B., Devos D., Defebvre L., Destée A., Chartier-Harlin M. C. RNA-binding disturbances as a continuum from spinocerebellar ataxia type 2 to Parkinson disease // *Neurobiol Dis.* – 2016. – T. 96. – C. 312-322.
310. Pinho R., Guedes L. C., Soreq L., Lobo P. P., Mestre T., Coelho M., Rosa M. M., Gonçalves N., Wales P., Mendes T., Gerhardt E., Fahlbusch C., Bonifati V., Bonin M., Miltenberger-Miltényi G., Borovecki F., Soreq H., Ferreira J. J., T F. O. Gene Expression Differences in Peripheral Blood of Parkinson's Disease Patients with Distinct Progression Profiles // *PLoS One.* – 2016. – T. 11, № 6. – C. e0157852.
311. Dong N., Zhang X., Liu Q. Identification of therapeutic targets for Parkinson's disease via bioinformatics analysis // *Mol Med Rep.* – 2017. – T. 15, № 2. – C. 731-735.

312. Schlachetzki J. C. M., Prots I., Tao J., Chun H. B., Saijo K., Gosselin D., Winner B., Glass C. K., Winkler J. A monocyte gene expression signature in the early clinical course of Parkinson's disease // *Sci Rep.* – 2018. – T. 8, № 1. – C. 10757.
313. Jiang F., Wu Q., Sun S., Bi G., Guo L. Identification of potential diagnostic biomarkers for Parkinson's disease // *FEBS Open Bio.* – 2019. – T. 9, № 8. – C. 1460-1468.
314. Wang C., Chen L., Yang Y., Zhang M., Wong G. Identification of potential blood biomarkers for Parkinson's disease by gene expression and DNA methylation data integration analysis // *Clin Epigenetics.* – 2019. – T. 11, № 1. – C. 24.
315. Kelly J., Moyeed R., Carroll C., Luo S., Li X. Genetic networks in Parkinson's and Alzheimer's disease // *Aging (Albany NY).* – 2020. – T. 12, № 6. – C. 5221-5243.
316. Hu Y., Zhang K., Zhang T., Wang J., Chen F., Qin W., Tong W., Guan Q., He Y., Gu C., Chen X., Kang U. J., Sun Y. E., Li S., Jin L. Exercise Reverses Dysregulation of T-Cell-Related Function in Blood Leukocytes of Patients With Parkinson's Disease // *Front Neurol.* – 2019. – T. 10. – C. 1389.
317. Riboldi G. M., Vialle R. A., Navarro E., Udine E., de Paiva Lopes K., Humphrey J., Allan A., Parks M., Henderson B., Astudillo K., Argyrou C., Zhuang M., Sikder T., Oriol Narcis J., Kumar S. D., Janssen W., Sowa A., Comi G. P., Di Fonzo A., Crary J. F., Frucht S. J., Raj T. Transcriptome deregulation of peripheral monocytes and whole blood in GBA-related Parkinson's disease // *Mol Neurodegener.* – 2022. – T. 17, № 1. – C. 52.
318. Wang Y., Wang Z. An Integrated Network Analysis of mRNA and Gene Expression Profiles in Parkinson's Disease // *Med Sci Monit.* – 2020. – T. 26. – C. e920846.
319. Kurvits L., Lattekivi F., Reimann E., Kadastik-Eerme L., Kasterpalu K. M., Koks S., Taba P., Planken A. Transcriptomic profiles in Parkinson's disease // *Exp Biol Med (Maywood).* – 2021. – T. 246, № 5. – C. 584-595.
320. Henderson A. R., Wang Q., Meechoovet B., Siniard A. L., Naymik M., De Both M., Huentelman M. J., Caselli R. J., Driver-Dunckley E., Dunckley T. DNA Methylation and Expression Profiles of Whole Blood in Parkinson's Disease // *Front Genet.* – 2021. – T. 12. – C. 640266.
321. Craig D. W., Hutchins E., Violich I., Alsop E., Gibbs J. R., Levy S., Robison M., Prasad N., Foroud T., Crawford K. L., Toga A. W., Whitsett T. G., Kim S., Casey B., Reimer A., Hutten S. J., Frasier M., Kern F., Fehlman T., Keller A., Cookson M. R., Van Keuren-Jensen K., Parkinson Progression Marker I. RNA sequencing of whole blood reveals early alterations in immune cells and gene expression in Parkinson's disease // *Nat Aging.* – 2021. – T. 1, № 8. – C. 734-747.
322. Augustine J., Jereesh A. S. Blood-based gene-expression biomarkers identification for the non-invasive diagnosis of Parkinson's disease using two-layer hybrid feature selection // *Gene.* – 2022. – T. 823. – C. 146366.

323. Semenova E. I., Vlasov I. N., Partevian S. A., Rosinskaya A. V., Rybolovlev I. N., Slominsky P. A., Shadrina M. I., Alieva A. K. Transcriptome Profiling Reveals Differential Expression of Circadian Behavior Genes in Peripheral Blood of Monozygotic Twins Discordant for Parkinson's Disease // *Cells*. – 2022. – T. 11, № 16.
324. Guo X., Hu W., Gao Z., Fan Y., Wu Q., Li W. Identification of PLOD3 and LRRN3 as potential biomarkers for Parkinson's disease based on integrative analysis // *NPJ Parkinsons Dis*. – 2023. – T. 9, № 1. – C. 82.
325. Irmady K., Hale C. R., Qadri R., Fak J., Simelane S., Carroll T., Przedborski S., Darnell R. B. Blood transcriptomic signatures associated with molecular changes in the brain and clinical outcomes in Parkinson's disease // *Nat Commun*. – 2023. – T. 14, № 1. – C. 3956.
326. Elango R., Banaganapalli B., Mujalli A., AlRayes N., Almaghrabi S., Almansouri M., Sahly A., Jadkarim G. A., Malik M. Z., Kutbi H. I., Shaik N. A., Alefishat E. Potential Biomarkers for Parkinson Disease from Functional Enrichment and Bioinformatic Analysis of Global Gene Expression Patterns of Blood and Substantia Nigra Tissues // *Bioinform Biol Insights*. – 2023. – T. 17. – C. 11779322231166214.
327. Li W., Shen J., Wu H., Lin L., Liu Y., Pei Z., Liu G. Transcriptome Analysis Reveals a Two-Gene Signature Links to Motor Progression and Alterations of Immune Cells in Parkinson's Disease // *J Parkinsons Dis*. – 2023. – T. 13, № 1. – C. 25-38.
328. Castillo-Fernandez J. E., Spector T. D., Bell J. T. Epigenetics of discordant monozygotic twins: implications for disease // *Genome Med*. – 2014. – T. 6, № 7. – C. 60.
329. Goldman S. M., Marek K., Ottman R., Meng C., Comyns K., Chan P., Ma J., Marras C., Langston J. W., Ross G. W., Tanner C. M. Concordance for Parkinson's disease in twins: A 20-year update // *Ann Neurol*. – 2019. – T. 85, № 4. – C. 600-605.
330. Woodard C. M., Campos B. A., Kuo S. H., Nirenberg M. J., Nestor M. W., Zimmer M., Mosharov E. V., Sulzer D., Zhou H., Paull D., Clark L., Schadt E. E., Sardi S. P., Rubin L., Eggan K., Brock M., Lipnick S., Rao M., Chang S., Li A., Noggle S. A. iPSC-derived dopamine neurons reveal differences between monozygotic twins discordant for Parkinson's disease // *Cell Rep*. – 2014. – T. 9, № 4. – C. 1173-82.
331. Kaut O., Schmitt I., Tost J., Busato F., Liu Y., Hofmann P., Witt S. H., Rietschel M., Frohlich H., Wullner U. Epigenome-wide DNA methylation analysis in siblings and monozygotic twins discordant for sporadic Parkinson's disease revealed different epigenetic patterns in peripheral blood mononuclear cells // *Neurogenetics*. – 2017. – T. 18, № 1. – C. 7-22.
332. Mazzetti S., Basellini M. J., Ferri V., Cassani E., Cereda E., Paolini M., Calogero A. M., Bolliri C., De Leonardis M., Sacilotto G., Cilia R., Cappelletti G., Pezzoli G. alpha-Synuclein oligomers in skin

- biopsy of idiopathic and monozygotic twin patients with Parkinson's disease // *Brain*. – 2020. – T. 143, № 3. – C. 920-931.
333. Dulovic-Mahlow M., Konig I. R., Trinh J., Diaw S. H., Urban P. P., Knappe E., Kuhnke N., Ingwersen L. C., Hinrichs F., Weber J., Kupnicka P., Balck A., Delcambre S., Vollbrandt T., Grunewald A., Klein C., Seibler P., Lohmann K. Discordant Monozygotic Parkinson Disease Twins: Role of Mitochondrial Integrity // *Ann Neurol*. – 2021. – T. 89, № 1. – C. 158-164.
334. Alieva A. K., Rudenok M. M., Novosadova E. V., Vlasov I. N., Arsenyeva E. L., Rosinskaya A. V., Grivennikov I. A., Slominsky P. A., Shadrina M. I. Whole-Transcriptome Analysis of Dermal Fibroblasts, Derived from Three Pairs of Monozygotic Twins, Discordant for Parkinson's Disease // *J Mol Neurosci*. – 2020. – T. 70, № 2. – C. 284-293.
335. Vlasov I. N., Alieva A. K., Novosadova E. V., Arsenyeva E. L., Rosinskaya A. V., Partevian S. A., Grivennikov I. A., Shadrina M. I. Transcriptome Analysis of Induced Pluripotent Stem Cells and Neuronal Progenitor Cells, Derived from Discordant Monozygotic Twins with Parkinson's Disease // *Cells*. – 2021. – T. 10, № 12.
336. Schubert M., Lindgreen S., Orlando L. AdapterRemoval v2: rapid adapter trimming, identification, and read merging // *BMC Res Notes*. – 2016. – T. 9. – C. 88.
337. Li B., Dewey C. N. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome // *BMC Bioinformatics*. – 2011. – T. 12. – C. 323.
338. Dobin A., Davis C. A., Schlesinger F., Drenkow J., Zaleski C., Jha S., Batut P., Chaisson M., Gingeras T. R. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner // *Bioinformatics*. – 2013. – T. 29, № 1. – C. 15-21.
339. Robinson M. D., McCarthy D. J., Smyth G. K. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data // *Bioinformatics*. – 2010. – T. 26, № 1. – C. 139-40.
340. Ritchie M. E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C. W., Shi W., Smyth G. K. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies // *Nucleic Acids Res*. – 2015. – T. 43, № 7. – C. e47.
341. Suslov O., Steindler D. A. PCR inhibition by reverse transcriptase leads to an overestimation of amplification efficiency // *Nucleic Acids Res*. – 2005. – T. 33, № 20. – C. e181.
342. Alieva A. K., Filatova E. V., Rudenok M. M., Slominsky P. A., Shadrina M. I. Housekeeping Genes for Parkinson's Disease in Humans and Mice // *Cells*. – 2021. – T. 10, № 9.
343. The Gene Ontology C. The Gene Ontology Resource: 20 years and still GOing strong // *Nucleic Acids Res*. – 2019. – T. 47, № D1. – C. D330-D338.

344. Bindea G., Mlecnik B., Hackl H., Charoentong P., Tosolini M., Kirilovsky A., Fridman W. H., Pages F., Trajanoski Z., Galon J. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks // *Bioinformatics*. – 2009. – T. 25, № 8. – C. 1091-3.
345. Bindea G., Galon J., Mlecnik B. CluePedia Cytoscape plugin: pathway insights using integrated experimental and in silico data // *Bioinformatics*. – 2013. – T. 29, № 5. – C. 661-3.
346. Wheeler D. L., Church D. M., Federhen S., Lash A. E., Madden T. L., Pontius J. U., Schuler G. D., Schriml L. M., Sequeira E., Tatusova T. A., Wagner L. Database resources of the National Center for Biotechnology // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – T. 31, № 1. – C. 28-33.
347. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2(-\Delta\Delta C(T))$  Method // *Methods*. – 2001. – T. 25, № 4. – C. 402-8.
348. Nassan M., Videnovic A. Circadian rhythms in neurodegenerative disorders // *Nat Rev Neurol*. – 2022. – T. 18, № 1. – C. 7-24.
349. Fifel K., Videnovic A. Circadian and Sleep Dysfunctions in Neurodegenerative Disorders-An Update // *Front Neurosci*. – 2020. – T. 14. – C. 627330.
350. Li T., Cheng C., Jia C., Leng Y., Qian J., Yu H., Liu Y., Wang N., Yang Y., Al-Nusaif M., Le W. Peripheral Clock System Abnormalities in Patients With Parkinson's Disease // *Front Aging Neurosci*. – 2021. – T. 13. – C. 736026.
351. Urade Y., Eguchi N. Lipocalin-type and hematopoietic prostaglandin D synthases as a novel example of functional convergence // *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. – 2002. – T. 68-69. – C. 375-82.
352. Ahmad A. S., Ottallah H., Maciel C. B., Strickland M., Dore S. Role of the L-PGDS-PGD2-DP1 receptor axis in sleep regulation and neurologic outcomes // *Sleep*. – 2019. – T. 42, № 6.
353. Pinzar E., Kanaoka Y., Inui T., Eguchi N., Urade Y., Hayaishi O. Prostaglandin D synthase gene is involved in the regulation of non-rapid eye movement sleep // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2000. – T. 97, № 9. – C. 4903-7.
354. Onoe H., Ueno R., Fujita I., Nishino H., Oomura Y., Hayaishi O. Prostaglandin D2, a cerebral sleep-inducing substance in monkeys // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1988. – T. 85, № 11. – C. 4082-6.
355. Mizoguchi A., Eguchi N., Kimura K., Kiyohara Y., Qu W. M., Huang Z. L., Mochizuki T., Lazarus M., Kobayashi T., Kaneko T., Narumiya S., Urade Y., Hayaishi O. Dominant localization of prostaglandin D receptors on arachnoid trabecular cells in mouse basal forebrain and their involvement in the regulation of non-rapid eye movement sleep // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2001. – T. 98, № 20. – C. 11674-9.

356. Wang P., Li Q., Dong X., An H., Li J., Zhao L., Yan H., Aritake K., Huang Z., Strohl K. P., Urade Y., Zhang J., Han F. Lipocalin-type prostaglandin D synthase levels increase in patients with narcolepsy and idiopathic hypersomnia // *Sleep*. – 2021. – T. 44, № 4.
357. Fujimori K., Fukuhara A., Inui T., Allhorn M. Prevention of paraquat-induced apoptosis in human neuronal SH-SY5Y cells by lipocalin-type prostaglandin D synthase // *J Neurochem*. – 2012. – T. 120, № 2. – C. 279-91.
358. Fukuhara A., Yamada M., Fujimori K., Miyamoto Y., Kusumoto T., Nakajima H., Inui T. Lipocalin-type prostaglandin D synthase protects against oxidative stress-induced neuronal cell death // *Biochem J*. – 2012. – T. 443, № 1. – C. 75-84.
359. Choi D. J., An J., Jou I., Park S. M., Joe E. H. A Parkinson's disease gene, DJ-1, regulates anti-inflammatory roles of astrocytes through prostaglandin D2 synthase expression // *Neurobiol Dis*. – 2019. – T. 127. – C. 482-491.
360. Poewe W., Seppi K., Tanner C. M., Halliday G. M., Brundin P., Volkman J., Schrag A. E., Lang A. E. Parkinson disease // *Nat Rev Dis Primers*. – 2017. – T. 3. – C. 17013.
361. Satoh S., Matsumura H., Suzuki F., Hayaishi O. Promotion of sleep mediated by the A2a-adenosine receptor and possible involvement of this receptor in the sleep induced by prostaglandin D2 in rats // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 1996. – T. 93, № 12. – C. 5980-4.
362. Zhang B. J., Huang Z. L., Chen J. F., Urade Y., Qu W. M. Adenosine A2A receptor deficiency attenuates the somnogenic effect of prostaglandin D2 in mice // *Acta Pharmacol Sin*. – 2017. – T. 38, № 4. – C. 469-476.
363. Lazarus M., Chen J. F., Huang Z. L., Urade Y., Fredholm B. B. Adenosine and Sleep // *Handb Exp Pharmacol*. – 2019. – T. 253. – C. 359-381.
364. Negida A., Elfil M., Attia, Farahat E., Gabr M., Essam A., Attia D., Ahmed H. Caffeine; the Forgotten Potential for Parkinson's Disease // *CNS Neurol Disord Drug Targets*. – 2017. – T. 16, № 6. – C. 652-657.
365. Ren X., Chen J. F. Caffeine and Parkinson's Disease: Multiple Benefits and Emerging Mechanisms // *Front Neurosci*. – 2020. – T. 14. – C. 602697.
366. Borroto-Escuela D. O., Hinz S., Navarro G., Franco R., Muller C. E., Fuxe K. Understanding the Role of Adenosine A2AR Heteroreceptor Complexes in Neurodegeneration and Neuroinflammation // *Front Neurosci*. – 2018. – T. 12. – C. 43.
367. Hu Q., Ren X., Liu Y., Li Z., Zhang L., Chen X., He C., Chen J. F. Aberrant adenosine A2A receptor signaling contributes to neurodegeneration and cognitive impairments in a mouse model of synucleinopathy // *Exp Neurol*. – 2016. – T. 283, № Pt A. – C. 213-23.



368. Ferreira D. G., Batalha V. L., Vicente Miranda H., Coelho J. E., Gomes R., Goncalves F. Q., Real J. I., Rino J., Albino-Teixeira A., Cunha R. A., Outeiro T. F., Lopes L. V. Adenosine A2A Receptors Modulate alpha-Synuclein Aggregation and Toxicity // *Cereb Cortex*. – 2017. – T. 27, № 1. – C. 718-730.
369. Pinna A., Serra M., Morelli M., Simola N. Role of adenosine A2A receptors in motor control: relevance to Parkinson's disease and dyskinesia // *J Neural Transm (Vienna)*. – 2018. – T. 125, № 8. – C. 1273-1286.
370. Fuxe K., Marcellino D., Borroto-Escuela D. O., Guescini M., Fernandez-Duenas V., Tanganelli S., Rivera A., Ciruela F., Agnati L. F. Adenosine-dopamine interactions in the pathophysiology and treatment of CNS disorders // *CNS Neurosci Ther*. – 2010. – T. 16, № 3. – C. e18-42.
371. Varani K., Vincenzi F., Tosi A., Gessi S., Casetta I., Granieri G., Fazio P., Leung E., MacLennan S., Granieri E., Borea P. A. A2A adenosine receptor overexpression and functionality, as well as TNF-alpha levels, correlate with motor symptoms in Parkinson's disease // *FASEB J*. – 2010. – T. 24, № 2. – C. 587-98.
372. Calon F., Dridi M., Hornykiewicz O., Bedard P. J., Rajput A. H., Di Paolo T. Increased adenosine A2A receptors in the brain of Parkinson's disease patients with dyskinesias // *Brain*. – 2004. – T. 127, № Pt 5. – C. 1075-84.
373. Casetta I., Vincenzi F., Bencivelli D., Corciulo C., Gentile M., Granieri E., Borea P. A., Varani K. A(2A) adenosine receptors and Parkinson's disease severity // *Acta Neurol Scand*. – 2014. – T. 129, № 4. – C. 276-81.
374. Sen N., Gui B., Kumar R. Physiological functions of MTA family of proteins // *Cancer Metastasis Rev*. – 2014. – T. 33, № 4. – C. 869-77.
375. Li D. Q., Pakala S. B., Reddy S. D., Peng S., Balasenthil S., Deng C. X., Lee C. C., Rea M. A., Kumar R. Metastasis-associated protein 1 is an integral component of the circadian molecular machinery // *Nat Commun*. – 2013. – T. 4. – C. 2545.
376. Reddy S. D., Rayala S. K., Ohshiro K., Pakala S. B., Kobori N., Dash P., Yun S., Qin J., O'Malley B. W., Kumar R. Multiple coregulatory control of tyrosine hydroxylase gene transcription // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2011. – T. 108, № 10. – C. 4200-5.
377. Kumar A. S., Jagadeeshan S., Subramanian A., Chidambaram S. B., Surabhi R. P., Singhal M., Bhoopalan H., Sekar S., Pitani R. S., Duvuru P., Venkatraman G., Rayala S. K. Molecular Mechanism of Regulation of MTA1 Expression by Granulocyte Colony-stimulating Factor // *J Biol Chem*. – 2016. – T. 291, № 23. – C. 12310-21.

378. Grassart A., Cheng A. T., Hong S. H., Zhang F., Zenzer N., Feng Y., Briner D. M., Davis G. D., Malkov D., Drubin D. G. Actin and dynamin2 dynamics and interplay during clathrin-mediated endocytosis // *J Cell Biol.* – 2014. – T. 205, № 5. – C. 721-35.
379. Koutsopoulos O. S., Koch C., Tosch V., Böhm J., North K. N., Laporte J. Mild functional differences of dynamin 2 mutations associated to centronuclear myopathy and Charcot-Marie Tooth peripheral neuropathy // *PLoS One.* – 2011. – T. 6, № 11. – C. e27498.
380. Stafa K., Tsika E., Moser R., Musso A., Glauser L., Jones A., Biskup S., Xiong Y., Bandopadhyay R., Dawson V. L., Dawson T. M., Moore D. J. Functional interaction of Parkinson's disease-associated LRRK2 with members of the dynamin GTPase superfamily // *Hum Mol Genet.* – 2014. – T. 23, № 8. – C. 2055-77.
381. Ferguson S. S., Zhang J., Barak L. S., Caron M. G. Molecular mechanisms of G protein-coupled receptor desensitization and resensitization // *Life Sci.* – 1998. – T. 62, № 17-18. – C. 1561-5.
382. Iwata K., Ito K., Fukuzaki A., Inaki K., Haga T. Dynamin and rab5 regulate GRK2-dependent internalization of dopamine D2 receptors // *Eur J Biochem.* – 1999. – T. 263, № 2. – C. 596-602.
383. Sander C. Y., Hooker J. M., Catana C., Rosen B. R., Mandeville J. B. Imaging Agonist-Induced D2/D3 Receptor Desensitization and Internalization In Vivo with PET/fMRI // *Neuropsychopharmacology.* – 2016. – T. 41, № 5. – C. 1427-36.
384. Kabbani N., Jeromin A., Levenson R. Dynamin-2 associates with the dopamine receptor signalplex and regulates internalization of activated D2 receptors // *Cell Signal.* – 2004. – T. 16, № 4. – C. 497-503.
385. Horton J. R., Sawada K., Nishibori M., Cheng X. Structural basis for inhibition of histamine N-methyltransferase by diverse drugs // *J Mol Biol.* – 2005. – T. 353, № 2. – C. 334-344.
386. Coelho M. H., Silva I. J., Azevedo M. S., Manso C. F. Decrease in blood histamine in drug-treated parkinsonian patients // *Mol Chem Neuropathol.* – 1991. – T. 14, № 2. – C. 77-85.
387. Liu C. Q., Chen Z., Liu F. X., Hu D. N., Luo J. H. Involvement of brain endogenous histamine in the degeneration of dopaminergic neurons in 6-hydroxydopamine-lesioned rats // *Neuropharmacology.* – 2007. – T. 53, № 7. – C. 832-41.
388. Rocha S. M., Saraiva T., Cristovao A. C., Ferreira R., Santos T., Esteves M., Saraiva C., Je G., Cortes L., Valero J., Alves G., Klibanov A., Kim Y. S., Bernardino L. Histamine induces microglia activation and dopaminergic neuronal toxicity via H1 receptor activation // *J Neuroinflammation.* – 2016. – T. 13, № 1. – C. 137.
389. Shan L., Bossers K., Luchetti S., Balesar R., Lethbridge N., Chazot P. L., Bao A. M., Swaab D. F. Alterations in the histaminergic system in the substantia nigra and striatum of Parkinson's patients: a postmortem study // *Neurobiol Aging.* – 2012. – T. 33, № 7. – C. 1488 e1-13.

390. Zhao C., Slevin J. T., Whiteheart S. W. Cellular functions of NSF: not just SNAPs and SNAREs // *FEBS Lett.* – 2007. – T. 581, № 11. – C. 2140-9.
391. Pishedda F., Cirnaru M. D., Ponzoni L., Sandre M., Biossa A., Carrion M. P., Marin O., Morari M., Pan L., Greggio E., Bandopadhyay R., Sala M., Piccoli G. LRRK2 G2019S kinase activity triggers neurotoxic NSF aggregation // *Brain.* – 2021. – T. 144, № 5. – C. 1509-1525.
392. Belluzzi E., Gonnelli A., Cirnaru M. D., Marte A., Plotegher N., Russo I., Civiero L., Cogo S., Carrion M. P., Franchin C., Arrigoni G., Beltramini M., Bubacco L., Onofri F., Piccoli G., Greggio E. LRRK2 phosphorylates pre-synaptic N-ethylmaleimide sensitive fusion (NSF) protein enhancing its ATPase activity and SNARE complex disassembling rate // *Mol Neurodegener.* – 2016. – T. 11. – C. 1.
393. Babcock D. T., Shen W., Ganetzky B. A neuroprotective function of NSF1 sustains autophagy and lysosomal trafficking in *Drosophila* // *Genetics.* – 2015. – T. 199, № 2. – C. 511-22.
394. Teismann P. COX-2 in the neurodegenerative process of Parkinson's disease // *Biofactors.* – 2012. – T. 38, № 6. – C. 395-7.
395. Minghetti L. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in inflammatory and degenerative brain diseases // *J Neuropathol Exp Neurol.* – 2004. – T. 63, № 9. – C. 901-10.
396. Feng Z. H., Wang T. G., Li D. D., Fung P., Wilson B. C., Liu B., Ali S. F., Langenbach R., Hong J. S. Cyclooxygenase-2-deficient mice are resistant to 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced damage of dopaminergic neurons in the substantia nigra // *Neurosci Lett.* – 2002. – T. 329, № 3. – C. 354-8.
397. Teismann P., Tieu K., Choi D. K., Wu D. C., Naini A., Hunot S., Vila M., Jackson-Lewis V., Przedborski S. Cyclooxygenase-2 is instrumental in Parkinson's disease neurodegeneration // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2003. – T. 100, № 9. – C. 5473-8.
398. Teismann P., Ferger B. Inhibition of the cyclooxygenase isoenzymes COX-1 and COX-2 provide neuroprotection in the MPTP-mouse model of Parkinson's disease // *Synapse.* – 2001. – T. 39, № 2. – C. 167-74.
399. Aubin N., Curet O., Deffois A., Carter C. Aspirin and salicylate protect against MPTP-induced dopamine depletion in mice // *J Neurochem.* – 1998. – T. 71, № 4. – C. 1635-42.