

doi 10.18699/vjgb-24-100

Метод генных сетей и метаболомный анализ позволили выявить специфические пути изменения профиля аминокислот и ацилкарнитинов в плазме крови при болезни Паркинсона и сосудистом паркинсонизме

А.А. Макарова ^{1, 2}, П.М. Мельникова², А.Д. Рогачев ^{2, 3}, П.С. Деменков ^{1, 2, 4},
Т.В. Иванисенко ^{1, 2, 4}, Е.В. Предтеченская², С.Ю. Карманов^{1, 2}, В.В. Коваль ⁵,
А.Г. Покровский ², И.Н. Лаврик¹, Н.А. Колчанов ^{1, 2}, В.А. Иванисенко ^{1, 2, 4}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

⁴ Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

⁵ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 makarovaaa@bionet.nsc.ru

Аннотация. Болезнь Паркинсона (БП) и сосудистый паркинсонизм (СП) характеризуются схожими неврологическими синдромами, но различаются патогенезом, морфологией и терапевтическими подходами. Их молекулярно-генетические механизмы многофакторны и задействуют множество биологических процессов. Для комплексного анализа патофизиологии этих заболеваний необходимо применение методов системной биологии и реконструкции генных сетей. В данном исследовании проведен метаболомный скрининг аминокислот и ацилкарнитинов в плазме крови трех групп испытуемых: пациентов с БП, пациентов с СП и контрольной группы. Сравнительный статистический анализ метаболомных профилей групп пациентов по сравнению с контролем определил значимо измененные уровни метаболитов при болезни Паркинсона и при сосудистом паркинсонизме. Для выявления потенциальных механизмов нарушения метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов при БП и СП были реконструированы регуляторные генные сети с помощью когнитивной системы ANDSystem. Пути регуляции ферментов метаболизма значимых метаболитов были найдены для трех групп генетических маркеров: специфических для БП, специфических для СП, а также группы общих маркеров двух заболеваний. Сравнительный анализ молекулярно-генетических путей в генных сетях позволил выявить как специфические, так и общие для БП и СП молекулярные механизмы, ассоциированные с изменением метаболомного профиля. Обнаружены регуляторные пути, функция которых потенциально нарушена при этих патологиях. Специфическими для генетических маркеров БП оказались пути регуляции ферментов ALDH2, BCAT1, AL1B1 и UD11, а для генетических маркеров СП – пути регуляции ферментов OTC, FURIN и S22A6. Регуляторные пути к ферментам BCAT2, ODPB и P4HA1 были связаны с общими для обоих заболеваний генетическими маркерами. Полученные результаты углубляют понимание патологических процессов при БП и СП и могут быть использованы для применения диагностических систем на основе оценки метаболомного профиля аминокислот и ацилкарнитинов в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона и сосудистым паркинсонизмом.

Ключевые слова: метаболомика; аминокислоты; ацилкарнитины; генные сети; генетический маркер; болезнь Паркинсона; сосудистый паркинсонизм; нейродегенерация; сухие пятна плазмы крови; биомаркер.

Для цитирования: Макарова А.А., Мельникова П.М., Рогачев А.Д., Деменков П.С., Иванисенко Т.В., Предтеченская Е.В., Карманов С.Ю., Коваль В.В., Покровский А.Г., Лаврик И.Н., Колчанов Н.А., Иванисенко В.А. Метод генных сетей и метаболомный анализ позволили выявить специфические пути изменения профиля аминокислот и ацилкарнитинов в плазме крови при болезни Паркинсона и сосудистом паркинсонизме. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(8):927-939. doi 10.18699/vjgb-24-100

Финансирование. Авторы выражают благодарность компании «Новартис Фарма» за финансовую поддержку, благодаря которой были приобретены наборы реактивов для анализа аминокислот и ацилкарнитинов в рамках данной работы. Экспериментальные исследования выполнены при поддержке государственного задания ИХБФМ СО РАН № 121031300045-2. Биоинформатический анализ проведен при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0020.

Gene networks and metabolomic screening analysis revealed specific pathways of amino acid and acylcarnitine profile alterations in blood plasma of patients with Parkinson's disease and vascular parkinsonism

A.A. Makarova ^{1,2} , P.M. Melnikova², A.D. Rogachev ^{2,3}, P.S. Demenkov ^{1,2,4},
T.V. Ivanisenko ^{1,2,4}, E.V. Predtechenskaya², S.Y. Karmanov^{1,2}, V.V. Koval ⁵,
A.G. Pokrovsky ², I.N. Lavrik¹, N.A. Kolchanov ^{1,2}, V.A. Ivanisenko ^{1,2,4}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

⁴ Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁵ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 makarovaaa@bionet.nsc.ru

Abstract. Parkinson's disease (PD) and vascular parkinsonism (VP) are characterized by similar neurological syndromes but differ in pathogenesis, morphology, and therapeutic approaches. The molecular genetic mechanisms of these pathologies are multifactorial and involve multiple biological processes. To comprehensively analyze the pathophysiology of PD and VP, the methods of systems biology and gene network reconstruction are essential. In the current study, we performed metabolomic screening of amino acids and acylcarnitines in blood plasma of three groups of subjects: PD patients, VP patients and the control group. Comparative statistical analysis of the metabolic profiles identified significantly altered metabolites in the PD and the VP group. To identify potential mechanisms of amino acid and acylcarnitine metabolism disorders in PD and VP, regulatory gene networks were reconstructed using ANDSystem, a cognitive system. Regulatory pathways to the enzymes converting significant metabolites were found from PD-specific genetic markers, VP-specific genetic markers, and the group of genetic markers common to the two diseases. Comparative analysis of molecular genetic pathways in gene networks allowed us to identify both specific and non-specific molecular mechanisms associated with changes in the metabolomic profile in PD and VP. Regulatory pathways with potentially impaired function in these pathologies were discovered. The regulatory pathways to the enzymes ALDH2, BCAT1, AL1B1, and UD11 were found to be specific for PD, while the pathways regulating OCTC, FURIN, and S22A6 were specific for VP. The pathways regulating BCAT2, ODPB and P4HA1 were associated with genetic markers common to both diseases. The results obtained deepen the understanding of pathological processes in PD and VP and can be used for application of diagnostic systems based on the evaluation of the amino acids and acylcarnitines profile in blood plasma of patients with PD and VP.

Key words: metabolomics; amino acids; acylcarnitines; gene networks; genetic markers; Parkinson's disease; vascular parkinsonism; neurodegeneration; dry plasma stains; biomarker.

For citation: Makarova A.A., Melnikova P.M., Rogachev A.D., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Predtechenskaya E.V., Karmanov S.Y., Koval V.V., Pokrovsky A.G., Lavrik I.N., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. Gene networks and metabolomic screening analysis revealed specific pathways of amino acid and acylcarnitine profile alterations in blood plasma of patients with Parkinson's disease and vascular parkinsonism *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(8):927-939. doi 10.18699/vjgb-24-100

Введение

Болезнь Паркинсона (БП) и сосудистый паркинсонизм (СП) являются комплексными заболеваниями, при которых у пациентов наблюдаются брадикинезия, ригидность мышц, нарушения походки и равновесия. Болезнь Паркинсона относится к нейродегенеративным заболеваниям, а сосудистый паркинсонизм, также известный как «болезнь малых сосудов», возникает на фоне цереброваскулярных заболеваний.

В патогенезе болезни Паркинсона ключевую роль играют нарушения в nigrostriальном дофаминергическом пути с существенной потерей нейронов компактной части черной субстанции и истощением запасов дофамина (Alexander, 2004). Нейродегенеративные процессы характеризуются четкой морфологической ступенчатостью

развития: от поражения ядер блуждающего нерва и обонятельной луковицы до критической гибели нейронов компактной зоны черной субстанции (Braak et al., 2003). Эта ступенчатость согласуется с постепенным развитием клинических симптомов БП, начиная от вегетативных расстройств и заканчивая ядром моторных нарушений (брадикинезия, тремор, ригидность) и когнитивными нарушениями. Молекулярные механизмы развития БП активно изучаются в научном сообществе. Основное значение придается протеолитическому стрессу, нарушению энергетического метаболизма нейронов черной субстанции и митохондриальной дисфункции (Левин и др., 2022), а также накоплению альфа-синуклеина (Rocha et al., 2018).

В то же время механизмы, лежащие в основе сосудистого паркинсонизма, связанного с цереброваскулярными

заболеваниями (ЦВЗ), остаются недостаточно изученными. СП часто возникает на фоне ЦВЗ и хронического нарушения мозгового кровообращения, хронической ишемии мозга, вызванной болезнью малых сосудов, которая приводит к дисфункции нейроглиоваскулярной единицы (Che Mohd Nassir et al., 2021). При СП симптомы развиваются быстрее, чем при БП, и включают двусторонний паркинсонизм нижней части тела, отсутствие тремора, пирамидные знаки и когнитивные нарушения (Vale et al., 2012). В отличие от БП, где основное значение придается протеолитическому стрессу, нарушению энергетического метаболизма нейронов черной субстанции и митохондриальной дисфункции (Левин и др., 2022), механизмы патогенеза которой включают гибель дофаминергических нейронов и накопление α -синуклеина (Rocha et al., 2018), при СП на первый план выходят нарушения микроциркуляции и гемодинамики. Ключевым фактором развития СП является поражение малых сосудов головного мозга, часто ассоциированное с длительным анамнезом артериальной гипертензии (Che Mohd Nassir et al., 2021) и сахарного диабета (Thanvi et al., 2005). Хроническая ишемия, возникающая в результате цереброваскулярных нарушений, вызывает окислительный стресс, воспаление и митохондриальную дисфункцию. Эти патологические процессы приводят к существенным изменениям структуры и функции нейроглиоваскулярной единицы, включая эндотелиальную дисфункцию, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера, а также изменения в астроцитах и перицитах (Narasimhan et al., 2022). В итоге происходит повреждение белого вещества головного мозга (лейкоареоз) и формирование множественных лакунарных инфарктов в стратегически важных зонах базальных ганглиев (Zijlmans et al., 1995; Chen Y.-F. et al., 2014; Korczyn, 2015).

Среди общих характеристик перечисленных патологических процессов можно выделить нарушения метаболизма липидов, аминокислот и энергетических молекул, что подчеркивает их важность в молекулярных механизмах патологий. Аминокислоты и ацилкарнитины вовлечены во многие процессы, включая биосинтез нейромедиаторов и энергетический обмен (Jones et al., 2010; Dalangin et al., 2020). В литературе представлены исследования, посвященные анализу метаболомных профилей при БП (Wuolikainen et al., 2016; Zhao et al., 2018; Ostrakhovitch et al., 2022), однако роль аминокислот и ацилкарнитинов требует дальнейшего изучения. Также надо отметить, что к настоящему времени мы не нашли метаболомных исследований сосудистого паркинсонизма.

Для изучения таких комплексных заболеваний, как БП и СП, широкое применение получили генные сети, позволяющие интегрировать накопленные данные и идентифицировать регуляторные механизмы патологий на молекулярно-генетическом уровне (Mercatelli et al., 2020). Известны исследования генных сетей болезни Паркинсона, включая сети белок-белковых взаимодействий маркеров БП (George et al., 2019a; Tomkins, Manzoni, 2021), сети коэкспрессии генов (George et al., 2019b), регуляторные пути (<https://www.kegg.jp/entry/hsa05012>) и др. В отличие от БП, исследования молекулярно-генетических механиз-

мов СП на основе генных сетей слабо представлены в научной литературе (Chen Y. et al., 2022).

В Институте цитологии и генетики СО РАН была разработана когнитивная система ANDSystem для реконструкции и анализа генных сетей с использованием методов искусственного интеллекта (Demenev et al., 2012; Ivanisenko V.A. et al., 2015, 2019; Ivanisenko T.V. et al., 2020, 2022). Эта программа применялась для интерпретации метаболомных (Rogachev et al., 2021; Ivanisenko V.A. et al., 2022, 2023) и протеомных (Pastushkova et al., 2013, 2019; Binder et al., 2014; Larina et al., 2015) данных. С помощью ANDSystem были проведены биоинформатические исследования, позволившие расширить представление о молекулярно-генетических процессах, ассоциированных с развитием различных заболеваний и формированием коморбидных состояний (Bragina et al., 2014, 2016, 2023; Saik et al., 2016, 2018, 2019; Zolotareva et al., 2019).

Целью настоящей работы был сравнительный анализ молекулярно-генетических механизмов заболеваний БП и СП с применением методов реконструкции генных сетей на основе данных метаболомного скрининга аминокислот и ацилкарнитинов.

Материалы и методы

Характеристика групп пациентов. Для исследования были отобраны две группы пациентов с установленными диагнозами БП и СП, а также группа контроля. Дифференциальный диагноз проводился по клиническим и томографическим признакам. На момент взятия образцов крови прием препарата L-ДОФА (L-диоксифенилаланин) был прекращен.

Группа БП включала 9 пациентов (5 женщин, 4 мужчин) со средним возрастом 72.2 года (от 64 до 88 лет). Критерии включения в группу: клинически достоверная БП, стадия IV по Хен и Яру, длительность болезни >5 лет, возраст начала 55–75 лет; симптомы – брадикинезия, тремор покоя или мышечная ригидность, ответ на L-ДОФА терапию. Группа СП включала 9 пациентов (7 женщин, 2 мужчин), средний возраст которых составлял 74.6 года (от 60 до 89 лет). Критерии включения: длительность болезни >3 лет, мультилакунарный статус и лейкоареоз по МРТ; симптомы – паркинсонизм нижней половины тела, двусторонний дебют, постуральная неустойчивость. Контрольная группа состояла из 17 условно здоровых человек (11 женщин, 6 мужчин). Средний возраст испытуемых 68 лет (от 51 до 82). Фоновыми заболеваниями данной группы были: хроническая артериальная гипертензия без транзиторных ишемических атак, инсульта, отсутствие неврологической симптоматики.

Забор биологического материала и анализ методом ВЭЖХ-МС/МС. Забор крови осуществлялся из периферической вены в дневное время, через 3 ч после приема пищи, в пробирки для получения плазмы с гепарином лития 68 МЕ, объемом 6 мл (Vacutainer, BD). Пробоподготовку плазмы крови и анализ аминокислот и ацилкарнитинов (список анализируемых метаболитов приведен в Приложении 1)¹ методом ВЭЖХ-МС/МС выполняли

¹ Приложения 1–9 см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx33.xlsx>

Шаблоны молекулярно-генетических путей регуляции ферментов биосинтеза и деградации значимых метаболитов генетическими маркерами БП, СП или общими для обоих заболеваний

Название	Шаблон регуляторного пути
Белок-белковые взаимодействия	Генетические маркеры – белок-белковые взаимодействия → Ферменты
Регуляция функции белка	Генетические маркеры – регуляция активности/деградации/посттрансляционных модификаций/каталитических реакций/транспорта белка → Ферменты
Регуляция экспрессии	Генетические маркеры – регуляция экспрессии → Гены ферментов – экспрессия → Ферменты
Двойная регуляция экспрессии	Генетические маркеры – регуляция экспрессии → Гены человека – экспрессия → Белки человека – регуляция экспрессии → Гены ферментов – экспрессия → Ферменты

Примечание. Генетические маркеры – белки, кодируемые генетическими маркерами (БП, СП или общие маркеры заболеваний); Ферменты – ферменты превращения значимых метаболитов; Гены ферментов – гены, кодирующие ферменты превращения метаболитов.

по методике, описанной ранее (Kasakin et al., 2019), с использованием масс-спектрометра API 6500 QTRAP (AB SCIEX, США) в сочетании с хроматографом ВЭЖХ LC-20AD Prominence (Shimadzu, Япония), оснащенный автосамплером SIL-20AC (Shimadzu).

Статистический анализ экспериментальных данных. Для статистического анализа различий содержания метаболитов в метаболомных профилях исследуемых групп применяли критерии Манна–Уитни и Колмогорова–Смирнова с поправками на множественное сравнение FDR. Расчеты проведены на языке программирования Python 3.11 с помощью функций модуля *scipy.stats*.

Формирование списков ферментов и генетических маркеров БП и СП. Для каждого из метаболитов, концентрации которых были статистически значимо изменены в группах пациентов относительно контрольной группы, были сформированы списки ферментов биосинтеза и деградации. Ферменты, осуществляющие реакции превращения значимых метаболитов, извлечены из баз данных KEGG (Kanehisa, 2000) и HMDB (Wishart et al., 2022).

Списки генетических маркеров болезни Паркинсона и сосудистого паркинсонизма были взяты из базы данных MalaCards (<https://www.malacards.org/>, дата обращения 25.01.2024) (Rapraort et al., 2014). В качестве генетических маркеров СП рассматривались белок-кодирующие гены, ассоциированные с сосудистым паркинсонизмом, а также с васкулярной деменцией: “Vascular Parkinsonism”, “Vascular Dementia”. В качестве генетических маркеров БП рассматривались белок-кодирующие гены, ассоциированные с болезнью Паркинсона: “Parkinson’s Disease”.

Построение генных сетей. Реконструкция генных сетей осуществлялась с помощью программы ANDVisio – графического пользовательского интерфейса программно-информационной системы ANDSystem (Ivanisenko V.A. et al., 2015). Регуляторные пути четырех типов были построены в соответствии с шаблонами, описанными в таблице. Данные шаблоны позволяют найти такие молекулярно-генетические взаимодействия, как белок-белковые, регуляция активности, протеолиза, транспорта белков, а также регуляция экспрессии генов. Построение молекулярно-генетических путей регуляции ферментов превращения метаболитов проводилось по одинаковым шаблонам для трех множеств генетических маркеров: БП, СП и общих для обоих заболеваний маркеров.

Результаты

Статистический анализ метаболомных данных

Статистический анализ метаболомных данных (см. Приложение 1), направленный на выявление различий в уровнях метаболитов между группами БП и СП в сравнении с контрольной группой, показал, что из 44 метаболитов, у которых измерялись концентрации, статистически значимые различия ($FDR < 0.05$) в концентрациях наблюдались для 18 метаболитов при БП и для 21 метаболита при СП (Приложение 2).

Обе патологии отличались от группы контроля уровнем одних и тех же четырех из 14 анализируемых аминокислот (аланин, пролин, изолейцин и валин). Следует отметить, что уровень метионина оказался статистически значимо измененным в группе БП, хотя не отличал группу СП от контроля. Среди ацилкарнитинов выявлены значимые различия для концентраций одних и тех же 13 метаболитов для БП и СП (см. Приложение 2). Специфическими метаболитами ряда ацилкарнитинов, уровни которых значимо отличались от контроля только в группе СП, были ацилкарнитины C6, C10 и C10:1 и карнитин (Carnitine).

Реконструкция и анализ генных сетей

Для выявления молекулярно-генетических механизмов, которые могли способствовать изменению метаболомного профиля при БП и СП, мы использовали подход генных сетей. Генные сети позволили интегрировать знания о молекулярных взаимосвязях метаболитов и известных генетических маркеров БП и СП. В качестве генетических маркеров мы рассматривали гены, ассоциированные с БП и СП, согласно информации из базы данных MalaCards (Rapraort et al., 2014). Списки из 84 генетических маркеров болезни Паркинсона и 60 генетических маркеров сосудистого паркинсонизма приведены в Приложении 3. Пересечение списков генетических маркеров БП и СП показало, что 22 генетических маркера были общими для этих заболеваний.

Далее мы применили методы реконструкции генных сетей с помощью программы ANDVisio (Ivanisenko V.A. et al., 2019), чтобы исследовать роль генетических маркеров в регуляции ферментов превращения значимых метаболитов. Этот подход основан на автоматической реконструкции регуляторных молекулярно-генетических пу-

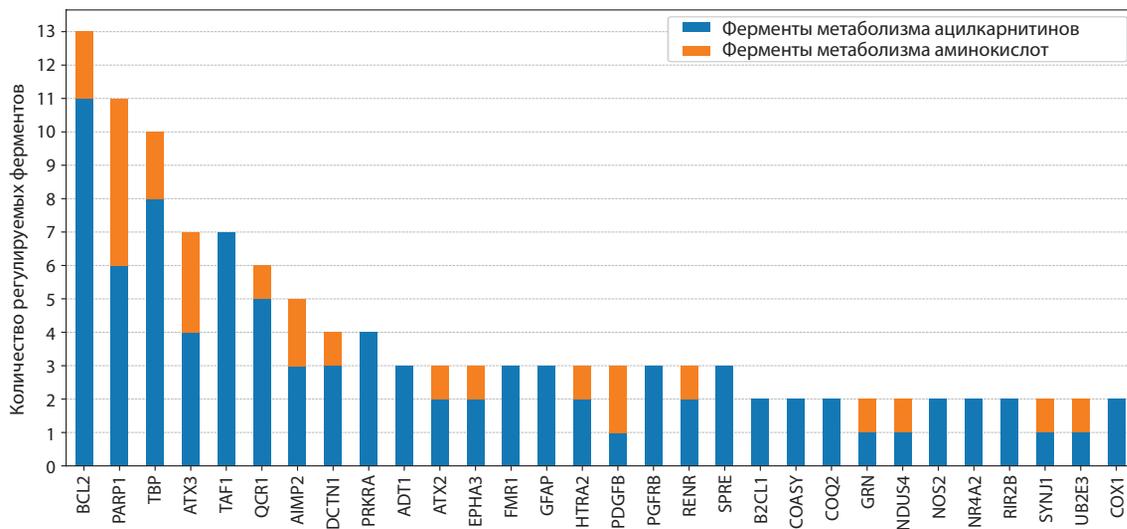


Рис. 1. Гистограмма распределения регуляторных связей от генетических маркеров БП к ферментам метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов в реконструированных генных сетях.

тей с использованием задаваемых программе ANDVisio шаблонов путей (см. таблицу).

Были рассмотрены шаблоны, в которых все реконструируемые регуляторные пути стартуют с белков, кодируемых генетическими маркерами БП или СП или общими маркерами для обоих заболеваний. Списки этих белков были заданы в качестве входных данных при запуске модуля Pathway Wizard программы ANDVisio. Регуляторные пути заканчиваются ферментами биосинтеза и деградации соответствующих метаболитов, идентифицированных как значимые при статистическом анализе. Списки использованных для анализа ферментов приведены в Приложении 4. Также пути включают промежуточных участников, связывающих генетические маркеры с ферментами, в роли которых выступают белки человека. Все промежуточные участники регуляторных путей в явном виде не задавались во входных данных, программа проводила поиск таких посредников автоматически. В регуляторных путях были рассмотрены основные типы молекулярно-генетических взаимодействий, включая регуляцию экспрессии генов, белок-белковые взаимодействия, регуляцию активности, деградации, транспорта белков и др. Иллюстрации генных сетей приведены в Приложениях 5 и 6. Количество регуляторных связей к каждому ферменту, направленных от генетических маркеров БП, СП и группы общих маркеров, приведено в Приложениях 7–9.

Распределение числа регуляторных связей между участниками реконструированных генных сетей представлено на рис. 1 и 2. По оси абсцисс указаны имена генетических маркеров заболеваний, по оси ординат отобрано количество регуляторных воздействий, реализуемых через молекулярно-генетические пути от генетических маркеров (БП, СП и общих маркеров обоих заболеваний) к ферментам превращения значимых метаболитов.

Генетические маркеры болезни Паркинсона BCL2, TBP, TAF1 оказывают большее регуляторное воздействие на ферменты метаболизма ацилкарнитинов, в то время как PARP1 в равной степени воздействует на ферменты

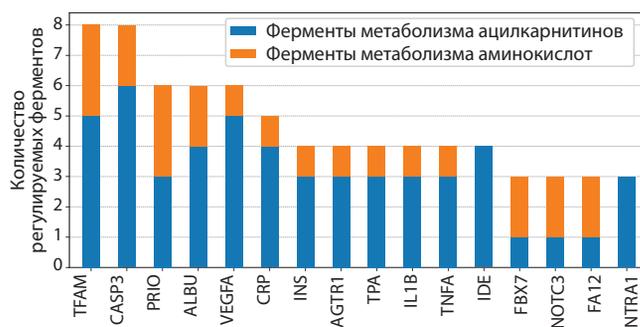


Рис. 2. Гистограмма распределения регуляторных связей от генетических маркеров СП к ферментам метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов в реконструированных генных сетях.

метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов (см. рис. 1). Такие генетические маркеры сосудистого паркинсонизма, как TFAM, CASP3, ALBU, VEGFA, имеют большее регуляторное воздействие на ферменты метаболизма ацилкарнитинов, тогда как FBX7, NOTC3 и FA12 – на ферменты метаболизма аминокислот (см. рис. 2).

Следует отметить, что общие для БП и СП генетические маркеры примерно равно участвуют в регуляции ферментов метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов (рис. 3). Генетический маркер LRRK2, согласно генным сетям, оказывает большее воздействие на регуляцию метаболизма аминокислот.

К некоторым ферментам превращения метаболитов, уровни которых значимо различались у пациентов с БП и СП относительно контроля, регуляторные пути от генетических маркеров БП, СП и общих маркеров реализовывались в разном количественном соотношении. Для генных сетей (см. Приложения 5 и 6) были построены гистограммы, отражающие количество регуляторных воздействий от групп генетических маркеров к ферментам метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов (рис. 4 и 5).

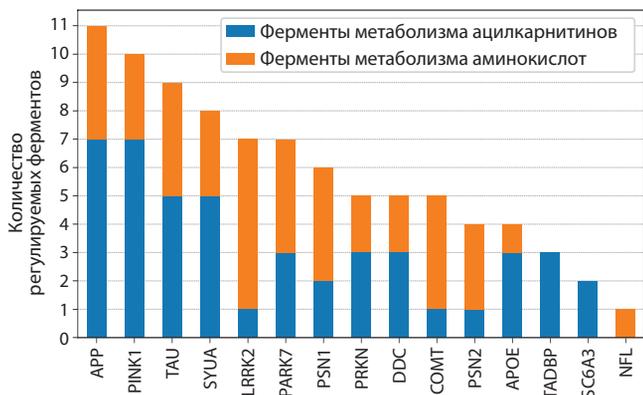


Рис. 3. Гистограмма распределения регуляторных связей от общих для БП и СП генетических маркеров к ферментам метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов в реконструированных генных сетях.

К ферментам ALDH2, BCAT1, AL1B1, P5CR1 в большей степени реализуются связи от генетических маркеров БП, а к ферментам BCAT2, P4HA1 направлено больше связей от общих для БП и СП генетических маркеров (см. рис. 4). Среди ферментов метаболизма ацилкарнитинов наибольшему регуляторному влиянию оказалась подвержена синтаза жирных кислот FAS (см. рис. 5). Для ферментов FAS, ODPB (PDHA1), ACACA (ACC1) пути регуляции реализуются со стороны генетических маркеров, специфичных как для БП, так и для СП, в то время как в механизме регуляции фермента ODPB больше участвуют общие для двух заболеваний генетические маркеры.

Таким образом, анализ метаболомных данных позволил выявить 5 аминокислот и 17 ацилкарнитинов, концентрации которых были значимо изменены в группах пациентов с БП, СП относительно контрольной группы (см. При-

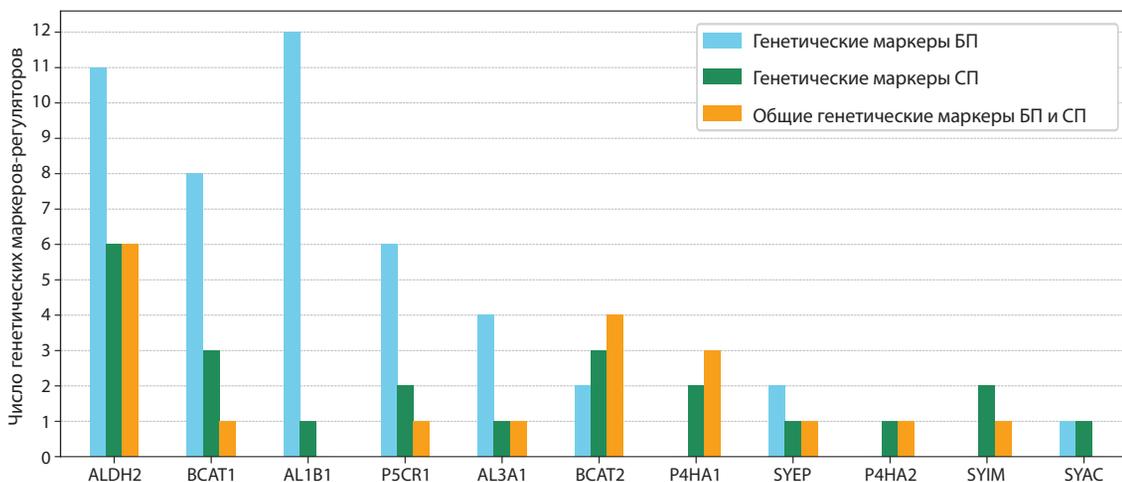


Рис. 4. Гистограмма распределения регуляторных связей от трех групп генетических маркеров (БП, СП и общих) к ферментам метаболизма аминокислот в реконструированных генных сетях.

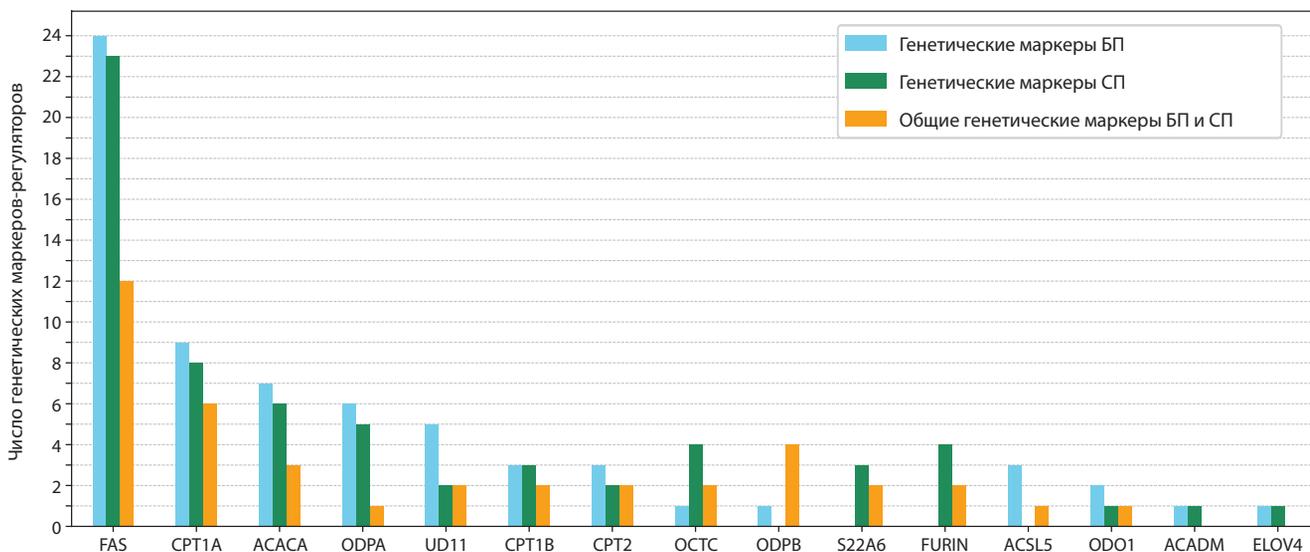


Рис. 5. Гистограмма распределения регуляторных связей от трех групп генетических маркеров (БП, СП и общих) к ферментам метаболизма ацилкарнитинов в реконструированных генных сетях.

ложение 2). Подход генных сетей позволил реконструировать и проанализировать регуляторные молекулярно-генетические пути от генетических маркеров БП и СП к ферментам, участвующим в метаболизме аминокислот и ацилкарнитинов.

Обсуждение

Специфические и неспецифические маркеры БП и СП

Согласно нашим результатам, списки из 18 и 21 маркеров БП и СП в пересечении имели 17 одинаковых метаболитов, которые можно назвать неспецифическими маркерами для дифференциальной диагностики БП и СП. В связи с этим анализ только метаболомных профилей был малоинформативным для дифференцирования особенностей болезни Паркинсона и сосудистого паркинсонизма. Мы предположили, что, хотя потенциальные метаболомные маркеры пересекаются для БП и СП, молекулярные механизмы нарушения их метаболизма могут иметь разную природу у двух заболеваний. Известно, что генетические маркеры заболеваний играют ключевую роль в патологических процессах. В связи с этим генетические маркеры также могут участвовать в нарушении метаболизма обнаруженных нами аминокислот и ацилкарнитинов.

Для проверки данной гипотезы мы реконструировали молекулярно-генетические пути, описывающие регуляторные связи к ферментам биосинтеза и деградации значимых метаболитов от генетических маркеров исследуемых заболеваний. Оказалось, что генетические маркеры заболеваний активно вовлечены в регуляцию функций ферментов и экспрессии кодирующих их генов (см. Приложения 5 и 6). Были составлены три группы генетических маркеров: специфические для БП, специфические для СП и общие для обоих заболеваний. Для выявления специфических молекулярных механизмов нарушенной регуляции метаболомных профилей при БП и СП мы рассмотрели регуляторные пути, в которых первым звеном выступают специфические генетические маркеры заболеваний. В свою очередь регуляторные пути, в которых принимают участие неспецифические генетические маркеры (общие для БП и СП), могут определять общие для БП и СП механизмы нарушения метаболомных профилей. В реконструированных генных сетях (см. Приложения 5 и 6) мы выделили сети регуляции конкретных ферментов метаболизма аминокислот и ацилкарнитинов, которые в научной литературе были исследованы в контексте болезни Паркинсона и сосудистого паркинсонизма.

Генные сети регуляции ферментов превращения аминокислот

Альдегиддегидрогеназа 2 (ALDH2) оказалась среди ферментов с наибольшим числом регуляторных связей от соответствующих генетических маркеров БП и СП (рис. 6, а). ALDH2 участвует в путях метаболизма пролина, аланина, жирных кислот. Это основной фермент, участвующий в метаболизме альдегидов и цитотоксических метаболитов. Роль ALDH2 в головном мозге заключается в предотвращении «альдегидной нагрузки» – накоплении альдегидов, которые при окислительном стрессе могут образовывать

связи с липидами, нуклеиновыми кислотами и белками, провоцируя нейротоксический эффект (Chen C.-H. et al., 2016). Из исследований связи альдегиддегидрогеназы с БП известно, что активность митохондриальной ALDH2 повышена в скорлупе головного мозга пациентов с БП (Michel et al., 2014). ALDH2 может защищать нейроны от токсического действия метаболитов дофамина (Chiu et al., 2015), а усиление активности ALDH2 способствует восстановлению функции нейронов, нарушенной под действием гипоксии (Lin et al., 2022).

К ферменту AL1B1 (митохондриальная альдегиддегидрогеназа X) было направлено наибольшее количество регуляторных связей от генетических маркеров БП (рис. 6, б). Этот фермент участвует в путях метаболизма пролина, аланина, жирных кислот, а также играет важную роль в детоксикации ацетальдегидов и метаболизме нейромедиаторов (Shortall et al., 2021). Согласно имеющимся данным, дефицит AL1B1 отмечен в черной субстанции пациентов с болезнью Паркинсона и ассоциирован с развитием патологии (Grünblatt, Riederer, 2016; Odongo et al., 2023). Это может привести к накоплению альдегидов, таких как 4-гидрокси-2-ноненаль (4-HNE), которые могут нарушить функцию митохондрий, индуцировать агрегацию альфа-синуклеина и вызывать нейровоспаление и апоптоз (Wey et al., 2012; Grünblatt, Riederer, 2016).

В генных сетях ферменты P4HA1 и P4HA2 оказались в большей степени под регуляторным воздействием общих для БП и СП генетических маркеров (см. рис. 6, в). Группа ферментов P4HA (пролил 4-гидроксилаза альфа) катализирует образование 4-гидроксипролина, который необходим для правильного трехмерного складывания вновь синтезированных цепей проколлагена (Song et al., 2023). Помимо этой функции, известно об участии P4HA1 в процессе постишемического ангиогенеза (Xu et al., 2024).

Ферменты BCAT1 и BCAT2 катализируют обратимое трансаминирование аминокислот с разветвленной боковой цепью (BCAA) и α -кетоглутарата с образованием соответствующих α -кетокислот с разветвленной цепью и глутамата. По результатам метаболомного анализа мы выявили у пациентов с БП и СП повышенное содержание таких BCAA, как валин и изолейцин. По данным реконструированных нами генных сетей, BCAT1 являлся одним из ферментов, к которым направлено наибольшее число регуляторных связей от генетических маркеров БП, а регуляторные связи к BCAT2 были направлены в большей степени от общих маркеров БП и СП (см. рис. 6, г). Дефектный метаболизм BCAA, который включает нарушения BCAT1, связан с несколькими основными особенностями БП, включая двигательную дисфункцию и нейродегенерацию (Yao et al., 2018; Sohrabi et al., 2021). На моделях болезни Паркинсона *C. elegans* нокдаун *bcat1* приводил к истощению метаболитов цикла трикарбоновых кислот и к «митохондриальной гиперактивности», что в результате приводит к окислительному повреждению в нейронах (Mor et al., 2020). Кроме того, метаанализ полногеномных ассоциаций выявил связи между болезнью Паркинсона и генами ферментов метаболизма BCAA (Nalls et al., 2014). Нарушения ферментов метаболизма аминокислот с разветвленной боковой цепью были най-

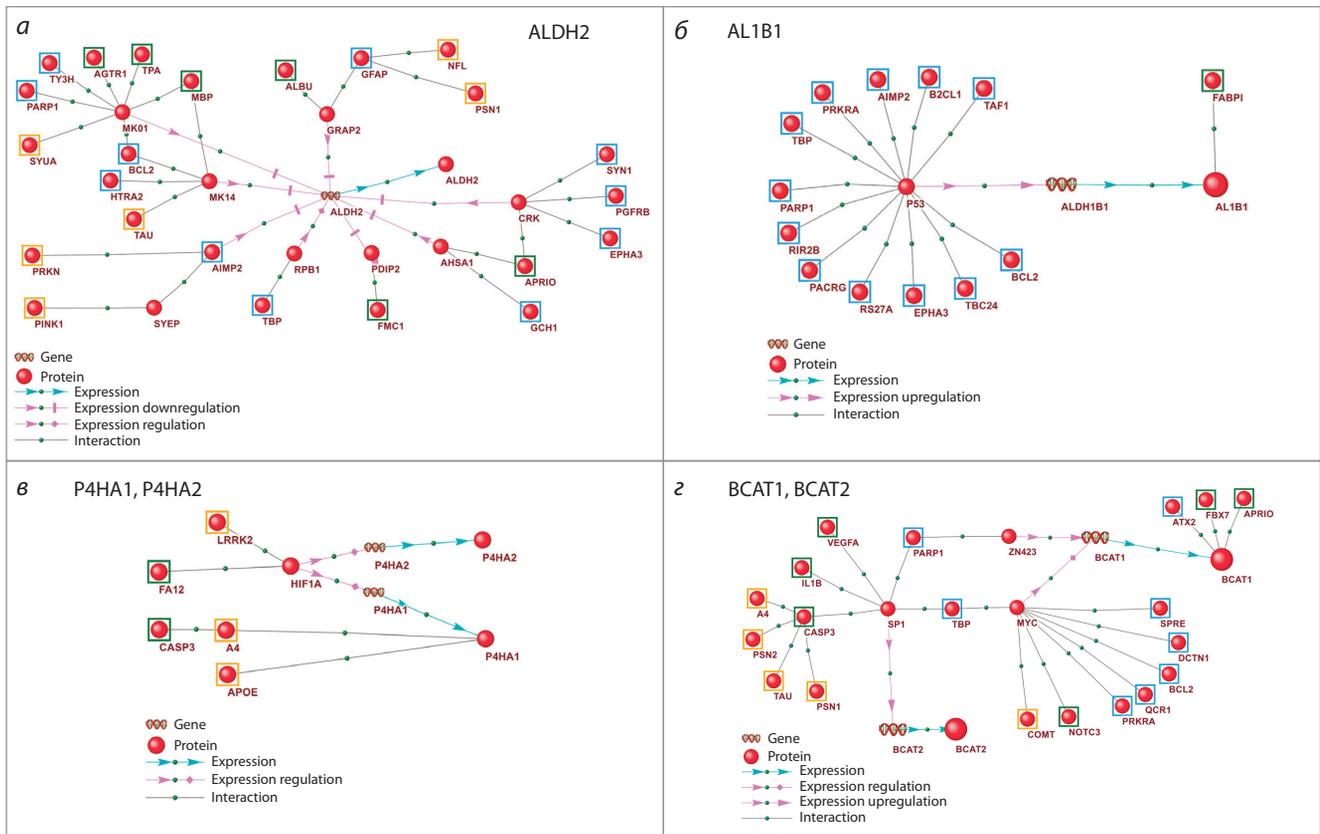


Рис. 6. Генные сети регуляции ферментов метаболизма аминокислот генетическими маркерами БП, СП и общими маркерами двух заболеваний.

Рамками показаны генетические маркеры: БП (голубые рамки), СП (зеленые), общие маркеры двух заболеваний (оранжевые).

дены и при сосудистой деменции. Так, повышенная экспрессия мРНК цитозольных и митохондриальных BCAT обнаружена в образцах коры мозга пациентов с сосудистой деменцией, что предположительно может защищать клетки от нейротоксического эффекта избытка глутамата (Ashby et al., 2017).

Генные сети регуляции ферментов превращения ацилкарнитин

В обеих группах пациентов с патологиями мы идентифицировали изменение профиля ацилкарнитин, являющихся важным звеном энергетических процессов в клетке. Поскольку ацилкарнитин – основные переносчики жирных кислот на внутреннюю мембрану митохондрий, метаболизм ацилкарнитин и жирных кислот тесно взаимосвязан. Синтаза жирных кислот FAS катализирует элонгацию жирных кислот начиная от ацетил-КоА и малонил-КоА. На генной сети регуляции ферментов метаболизма ацилкарнитин (см. Приложение 6) к гену, кодирующему фермент FAS, направлено наибольшее количество связей «регуляция экспрессии» от генетических маркеров БП, СП и общих для обоих заболеваний маркеров (рис. 7, а). Следует отметить генетический маркер PINK1, который ассоциирован с митохондриальной дисфункцией при БП (Narendra et al., 2010). Мутации в PINK1 приводят к дефициту этого белка при БП (Valente et al., 2004). Показано, что ингибирование FAS в PINK1-мутантных моделях вос-

становивает метаболические процессы в митохондриях и снижает уровень пальмитата (Vos et al., 2017). Кроме того, известно о роли FAS в процессах миелинизации и ремиелинизации центральной нервной системы (Dimas et al., 2019).

К ферменту CPT1 (карнитин-пальмитойлтрансфераза 1), согласно реконструкции генных сетей, было направлено множество регуляторных связей от генетических маркеров, специфических как для БП, так и для СП (см. рис. 7, б). CPT1 – белок-транспортёр, расположенный на внешней мембране митохондрий и в клетках млекопитающих, существующий в трех изоформах: CPT1A, CPT1B и CPT1C. При этом CPT1A в большей степени специфичен для липогенных тканей, например для печени, в то время как CPT1B преобладает в тканях с высокой окислительной способностью жирных кислот (сердце и скелетные мышцы), а CPT1C – в нейрональной ткани (Wang Muyun et al., 2021). Ферменты семейства CPT1 катализируют процесс переноса ацил-КоА групп с длиной цепи от C12 до C18 на L-карнитин с формированием ацилкарнитин (Schlaepfer, Joshi, 2020). Ингибирование липидного обмена, регулируемого CPT1A, на мышечных моделях болезни Паркинсона показало многообещающие результаты в виде улучшения двигательных и сенсорно-моторных функций (Trabjerg et al., 2023). Описана роль CPT1 в развитии инсулинорезистентности – состояния, ассоциированного с нарушением функции черной субстанции (Virmani et al.,

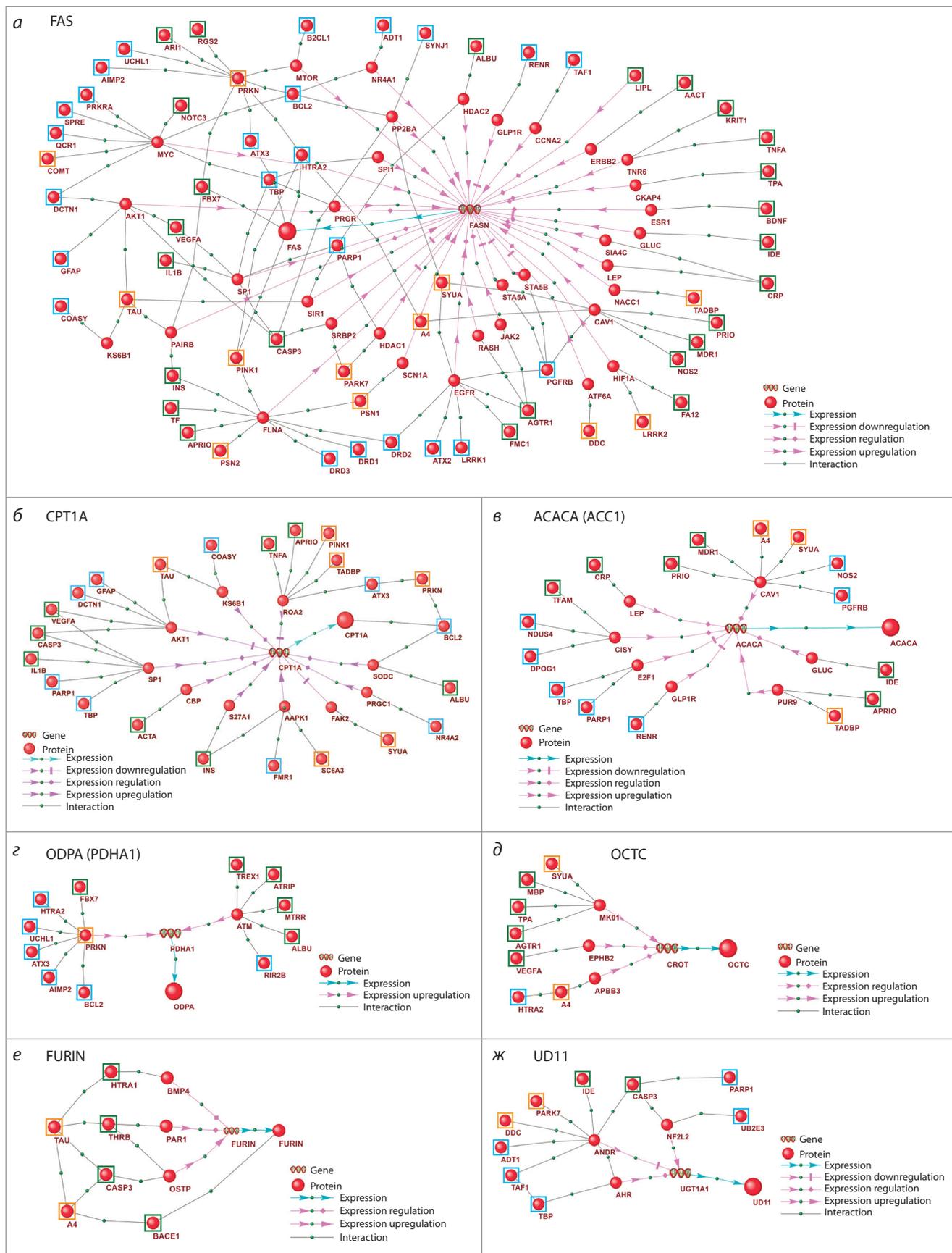


Рис. 7. Генные сети регуляции ферментов метаболизма ацилкарнитинов генетическими маркерами БП, СП и общими маркерами двух заболеваний.

Рамками показаны генетические маркеры: БП (голубые рамки), СП (зеленые), общие маркеры двух заболеваний (оранжевые).

2015). У пациентов с ранней стадией БП было идентифицировано снижение уровня длинноцепочечных ацилкарнитинов (C14–C18), предположительно связанное с дефицитом фермента CPT1 (Saiki et al., 2017).

По результатам, полученным в ходе реконструкции генных сетей, регуляторные связи к ферментам ACC1 и ODPА (PDHА1) были характерны как для БП, так и для СП (см. рис. 7, в, з). ACC1 (ацетил-коА карбоксилаза 1, АСАСА) является лимитирующим ферментом в *de novo* синтезе жирных кислот, который обеспечивает превращение ацетил-КоА в малонил-КоА (Wang Y. et al., 2022). На экспериментальной модели БП было показано, что взаимодействие фосфорилированного альфа-синуклеина с ACC1 связано с низким уровнем АТФ, окислительным стрессом и митохондриальной дисфункцией (Grassi et al., 2018). Фермент PDHА1 (пируват дегидрогеназа Е1 альфа, ODPА) – важный компонент комплекса, катализирующего декарбоксилирование пирувата до ацетил-КоА (Børglum et al., 1996). При стрессовых условиях ингибирование PDHА1 позволяет астроцитам использовать анаэробный гликолиз, вследствие чего увеличивается потребление нейронами лактата, осуществляется экономия глюкозы и защита от окислительного стресса (de Holanda Paranhos et al., 2024). Таким образом, PDHА1 выступает в роли посредника между цитозольным гликолизом и митохондриальным окислительным фосфорилированием (Pavlú-Pereira et al., 2024). В исследовании (Miki et al., 2017) продемонстрировано участие PDHА1 в качестве компонента телец Леви при идиопатической БП и PARK14-связанном паркинсонизме (семейная форма БП). Кроме того, показано снижение уровня белка PDHА1 в таких структурах головного мозга, как скорлупа и черная субстанция, у пациентов с идиопатической БП.

Согласно генным сетям, более специфичными для генетических маркеров СП оказались регуляторные связи к ферментам OСТС и FURIN (см. рис. 7, д, е). Кодированный геном *CROT* фермент OСТС (пероксисомальная карнитин О-октаноилтрансфераза) участвует в транспорте из пероксисом средне- и длинноцепочечных ацил-КоА, которые задействованы в бета-окислении жирных кислот. Показано, что OСТС ассоциирован с кальцификацией гладкомышечных клеток артерий – высокое содержание OСТС было обнаружено вблизи кальцифицированных участков бляшек (Okui et al., 2021).

Фурин (Furin, PACE) – сериновая конвертаза, принимающая участие в процессах атерогенеза. Повышение активности фурина ассоциировано с развитием сердечно-сосудистых заболеваний (Wichaiyo et al., 2024). Ингибирование фурина замедляет прогрессирование атеросклеротического поражения у мышей (Yakala et al., 2019). Кроме того, известны эффекты фурина на нейрональную ткань. В частности, фурин стимулирует превращение нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) из pro-BDNF в зрелую форму, что может играть роль в развитии нейродегенеративных заболеваний (Wang Mingyue et al., 2021). Ингибиторы фурина могут предотвращать повреждение нейронов, вызванное обработкой NMDA (Yamada et al., 2018). Было продемонстрировано, что фурин действует на фактор роста нейронов (NGF), способствуя переходу из

pro-NGF в β -NGF, который, в свою очередь, воздействует на гладкомышечные клетки сосудов (Urban et al., 2013). Описана также роль фурина при БП на моделях болезни Паркинсона. Так, у дрозофил нокдаун *Furin1* уменьшал потерю дофаминергических нейронов, вызванную мутациями LRRK2 (Maksoud et al., 2019). Также в экспериментах на дрозофилах идентифицировано, что фурин необходим при кэп-зависимой трансляции LRRK2, что влияет на постсинаптическую передачу (Penney et al., 2016).

Регуляторные связи к ферменту UD11 в большей степени реализовались от генетических маркеров БП (см. рис. 7, ж). UDP-глюкуронозилтрансферазы – ферменты, участвующие в детоксикации различных соединений путем глюкуронирования субстратов, что облегчает их выведение из организма (Tukey, Strassburg, 2000). В контексте исследований БП и СП UDP-глюкуронозилтрансферазы мало изучены. Отметим работу, в которой продемонстрирована ассоциация генотипа UDP-глюкуронозилтрансферазы 1A9 с побочными реакциями на ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы у пациентов с БП (Ferrari et al., 2012).

Таким образом, причиной изменения метаболомного профиля аминокислот и ацилкарнитинов для болезни Паркинсона и сосудистого паркинсонизма могут быть различные молекулярно-генетические механизмы. Специфическими для БП в нашей работе были отмечены пути регуляции ферментов ALDH2, BCAT1, AL1B1, UD11, а для СП – пути регуляции ферментов OСТС, FURIN, S22A6. Со стороны общих для БП и СП генетических маркеров, согласно генным сетям, наибольшее регуляторное воздействие было направлено к ферментам BCAT2, ODPB, P4HА1. При обоих заболеваниях нарушалась регуляция липидного обмена, метаболизма валина и изолейцина, а также обнаружено вовлечение множества механизмов, приводящих к процессам окислительного стресса и митохондриальной дисфункции.

Заключение

Для выявления специфических молекулярно-генетических механизмов при БП и СП мы реконструировали генные сети, описывающие регуляцию ферментов метаболизма потенциальных маркеров БП, СП, включающих ряд аминокислот (аланин, пролин, валин, изолейцин, метионин) и 17 ацилкарнитинов, идентифицированных методом ВЭЖХ-МС/МС. Сравнительный анализ регуляторных путей в генных сетях позволил выявить специфические и неспецифические для БП и СП молекулярные механизмы, ассоциированные с изменением метаболомного профиля при этих патологиях. Полученные результаты описывают особенности молекулярно-генетических механизмов БП и СП, а также могут быть использованы для разработки и применения диагностических систем на основе оценки метаболомного профиля аминокислот и ацилкарнитинов в плазме крови пациентов. Отметим, что в нашей работе впервые проанализирован с применением генных сетей метаболомный профиль аминокислот и ацилкарнитинов у пациентов с сосудистым паркинсонизмом и болезнью Паркинсона, что представляет важность в сравнительном изучении этих заболеваний.

Список литературы / References

- Левин О.С., Боголепова А.Н., Лобзин В.Ю. Общие механизмы патогенеза нейродегенеративных и цереброваскулярных заболеваний и возможности их коррекции. *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2022;122(5):11-16. doi 10.17116/jnevro202212205111
[Levin O.S., Bogolepova A.N., Lobzin V.Yu. General mechanisms of the pathogenesis of neurodegenerative and cerebrovascular diseases and the possibilities of their correction. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Imeni S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2022;122(5):11-16. doi 10.17116/jnevro202212205111 (in Russian)]
- Alexander G.E. Biology of Parkinson's disease: pathogenesis and pathophysiology of a multisystem neurodegenerative disorder. *Dialogues Clin. Neurosci.* 2004;6(3):259-280. doi 10.31887/DCNS.2004.6.3/galexander
- Ashby E.L., Kierzkowska M., Hull J., Kehoe P.G., Hutson S.M., Conway M.E. Altered expression of human mitochondrial branched chain aminotransferase in dementia with Lewy bodies and vascular dementia. *Neurochem. Res.* 2017;42(1):306-319. doi 10.1007/s11064-016-1855-7
- Binder H., Wirth H., Arakelyan A., Lembcke K., Tiys E.S., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A., Kononikhin A., Popov I., Nikolaev E.N., Pastushkova L.K., Larina I.M. Time-course human urine proteomics in space-flight simulation experiments. *BMC Genomics*. 2014;15(S12):S2. doi 10.1186/1471-2164-15-S12-S2
- Børglum A.D., Flint T., Hansen L.L., Kruse T.A. Refined localization of the pyruvate dehydrogenase E1 α gene (PDHA1) by linkage analysis. *Hum. Genet.* 1996;99(1):80-82. doi 10.1007/s004390050315
- Braak H., Tredici K.D., Rüb U., De Vos R.A.I., Jansen Steur E.N.H., Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging*. 2003;24(2):197-211. doi 10.1016/S0197-4580(02)00065-9
- Bragina E.Yu., Tiys E.S., Freidin M.B., Koneva L.A., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A., Puzryev V.P. Insights into pathophysiology of dystrophy through the analysis of gene networks: an example of bronchial asthma and tuberculosis. *Immunogenetics*. 2014;66(7-8):457-465. doi 10.1007/s00251-014-0786-1
- Bragina E.Yu., Tiys E.S., Rudko A.A., Ivanisenko V.A., Freidin M.B. Novel tuberculosis susceptibility candidate genes revealed by the reconstruction and analysis of associative networks. *Infect. Genet. Evol.* 2016;46:118-123. doi 10.1016/j.meegid.2016.10.030
- Bragina E.Yu., Gomboeva D.E., Saik O.V., Ivanisenko V.A., Freidin M.B., Nazarenko M.S., Puzryev V.P. Apoptosis genes as a key to identification of inverse comorbidity of Huntington's disease and cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(11):9385. doi 10.3390/ijms24119385
- Che Mohd Nassir C.M.N., Damodaran T., Yusof S.R., Norazit A., Chilla G., Huen I., Kn B.P., Mohamed Ibrahim N., Mustapha M. Aberrant neuroglivascular unit dynamics in cerebral small vessel disease: a rheological clue to vascular Parkinsonism. *Pharmaceutics*. 2021;13(8):1207. doi 10.3390/pharmaceutics13081207
- Chen C.-H., Joshi A.U., Mochly-Rosen D. The role of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) in neuropathology and neurodegeneration. *Acta Neurol. Taiwan*. 2016;25(4)(4):111-123
- Chen Y., Liu Q., Liu J., Wei P., Li B., Wang N., Liu Z., Wang Z. Revealing the modular similarities and differences among Alzheimer's disease, vascular dementia, and Parkinson's disease in genomic networks. *Neuromol. Med.* 2022;24(2):125-138. doi 10.1007/s12017-021-08670-2
- Chen Y.-F., Tseng Y.-L., Lan M.-Y., Lai S.-L., Su C.-S., Liu J.-S., Chang Y.-Y. The relationship of leukoaraiosis and the clinical severity of vascular Parkinsonism. *J. Neurol. Sci.* 2014;346(1-2):255-259. doi 10.1016/j.jns.2014.09.002
- Chiu C.-C., Yeh T.-H., Lai S.-C., Wu-Chou Y.-H., Chen C.-H., Mochly-Rosen D., Huang Y.-C., Chen Y.-J., Chen C.-L., Chang Y.-M., Wang H.-L., Lu C.-S. Neuroprotective effects of aldehyde dehydrogenase 2 activation in rotenone-induced cellular and animal models of parkinsonism. *Exp. Neurol.* 2015;263:244-253. doi 10.1016/j.expneurol.2014.09.016
- Dalangin R., Kim A., Campbell R.E. The role of amino acids in neurotransmission and fluorescent tools for their detection. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(17):6197. doi 10.3390/ijms21176197
- De Holanda Paranhos L., Magalhães R.S.S., De Araújo Brasil A., Neto J.R.M., Ribeiro G.D., Queiroz D.D., Dos Santos V.M., Eleutherio E.C.A. The familial amyotrophic lateral sclerosis-associated A4V SOD1 mutant is not able to regulate aerobic glycolysis. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subjt.* 2024;1868(8):130634. doi 10.1016/j.bbagen.2024.130634
- Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem. *In Silico Biol.* 2012;11(3-4):149-161. doi 10.3233/ISB-2012-0449
- Dimas P., Montani L., Pereira J.A., Moreno D., Trötz Müller M., Gerber J., Semenkovich C.F., Köfeler H.C., Suter U. CNS myelination and remyelination depend on fatty acid synthesis by oligodendrocytes. *eLife*. 2019;8:e44702. doi 10.7554/eLife.44702
- Ferrari M., Martignoni E., Blandini F., Riboldazzi G., Bono G., Marino F., Cosentino M. Association of UDP-glucuronosyltransferase 1A9 polymorphisms with adverse reactions to catechol-O-methyltransferase inhibitors in Parkinson's disease patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2012;68(11):1493-1499. doi 10.1007/s00228-012-1281-y
- George G., Singh S., Lokappa S.B., Varkey J. Gene co-expression network analysis for identifying genetic markers in Parkinson's disease – a three-way comparative approach. *Genomics*. 2019a;111(4):819-830. doi 10.1016/j.ygeno.2018.05.005
- George G., Valiya Parambath S., Lokappa S.B., Varkey J. Construction of Parkinson's disease marker-based weighted protein-protein interaction network for prioritization of co-expressed genes. *Gene*. 2019b;697:67-77. doi 10.1016/j.gene.2019.02.026
- Grassi D., Howard S., Zhou M., Diaz-Perez N., Urban N.T., Guerrero-Given D., Kamasawa N., Volpicelli-Daley L.A., LoGrasso P., Lasmézas C.I. Identification of a highly neurotoxic α -synuclein species inducing mitochondrial damage and mitophagy in Parkinson's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018;115(11):E2634-E2643. doi 10.1073/pnas.1713849115
- Grünblatt E., Riederer P. Aldehyde dehydrogenase (ALDH) in Alzheimer's and Parkinson's disease. *J. Neural. Transm.* 2016;123(2):83-90. doi 10.1007/s00702-014-1320-1
- Ivanisenko T.V., Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko N.V., Savostianov A.N., Ivanisenko V.A. ANDDigest: a new web-based module of ANDSystem for the search of knowledge in the scientific literature. *BMC Bioinformatics*. 2020;21(S11):228. doi 10.1186/s12859-020-03557-8
- Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. The new version of the ANDDigest tool with improved ai-based short names recognition. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(23):14934. doi 10.3390/ijms232314934
- Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V., Tiys E.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol.* 2015;9(Suppl.2):S2. doi 10.1186/1752-0509-9-S2-S2
- Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Mishchenko E.L., Saik O.V. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. *BMC Bioinformatics*. 2019;20(S1):34. doi 10.1186/s12859-018-2567-6
- Ivanisenko V.A., Gaisler E.V., Basov N.V., Rogachev A.D., Cherezis S.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Mishchenko E.L., Khripko O.P., Khripko Yu.I., Voevoda S.M., Karpenko T.N., Velichko A.J., Voevoda M.I., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Plasma metabolomics and gene regulatory networks analysis reveal the role of non-structural SARS-CoV-2 viral proteins in metabolic dysregulation

- in COVID-19 patients. *Sci. Rep.* 2022;12(1):19977. doi 10.1038/s41598-022-24170-0
- Ivanisenko V.A., Basov N.V., Makarova A.A., Venzel A.S., Rogachev A.D., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kleshchev M.A., Gaisler E.V., Moroz G.B., Plesko V.V., Sotnikova Y.S., Patrushev Y.V., Lomivorotov V.V., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Gene networks for use in metabolomic data analysis of blood plasma from patients with postoperative delirium. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2023;27(7):768-775. doi 10.18699/VJGB-23-89
- Jones L.L., McDonald D.A., Borum P.R. Acylcarnitines: role in brain. *Prog. Lipid Res.* 2010;49(1):61-75. doi 10.1016/j.plipres.2009.08.004
- Kanehisa M. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000;28(1):27-30. doi 10.1093/nar/28.1.27
- Kasakin M.F., Rogachev A.D., Predtechenskaya E.V., Zaigraev V.J., Koval V.V., Pokrovsky A.G. Targeted metabolomics approach for identification of relapsing-remitting multiple sclerosis markers and evaluation of diagnostic models. *Med. Chem. Commun.* 2019;10(10):1803-1809. doi 10.1039/c9md00253g
- Korczyn A.D. Vascular Parkinsonism – characteristics, pathogenesis and treatment. *Nat. Rev. Neurol.* 2015;11(6):319-326. doi 10.1038/nrneuro.2015.61
- Larina I.M., Pastushkova L.Kh., Tiys E.S., Kireev K.S., Kononikhin A.S., Starodubtseva N.L., Popov I.A., Custaud M.-A., Dobrokhotov I.V., Nikolaev E.N., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. Permanent proteins in the urine of healthy humans during the Mars-500 experiment. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 2015;13(01):1540001. doi 10.1142/S0219720015400016
- Lin L., Tao J.-P., Li M., Peng J., Zhou C., Ouyang J., Si Y.-Y. Mechanism of ALDH2 improves the neuronal damage caused by hypoxia/reoxygenation. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2022;26(8):2712-2720. doi 10.26355/eurrev_202204_28601
- Maksoud E., Liao E.H., Haghghi A.P. A neuron-glia trans-signaling cascade mediates LRRK2-induced neurodegeneration. *Cell Rep.* 2019;26(7):1774-1786.e4. doi 10.1016/j.celrep.2019.01.077
- Mercatelli D., Scalambra L., Triboli L., Ray F., Giorgi F.M. Gene regulatory network inference resources: a practical overview. *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 2020;1863(6):194430. doi 10.1016/j.bbagr.2019.194430
- Michel T.M., Käsbauer L., Gsell W., Jecel J., Sheldrick A.J., Cortese M., Nickl-Jockschat T., Grünblatt E., Riederer P. Aldehyde dehydrogenase 2 in sporadic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2014;20:S68-S72. doi 10.1016/S1353-8020(13)70018-X
- Miki Y., Tanji K., Mori F., Kakita A., Takahashi H., Wakabayashi K. Alteration of mitochondrial protein PDHA1 in Lewy body disease and PARK14. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017;489(4):439-444. doi 10.1016/j.bbrc.2017.05.162
- Mor D.E., Sohrabi S., Kaletsky R., Keyes W., Tartici A., Kalia V., Miller G.W., Murphy C.T. Metformin rescues Parkinson's disease phenotypes caused by hyperactive mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020;117(42):26438-26447. doi 10.1073/pnas.2009838117
- Nalls M.A., Pankratz N., Lill C.M., Do C.B., Hernandez D.G., Saad M., DeStefano A.L., Kara E., Bras J., Sharma M., ... Brice A., Scott W.K., Gasser T., Bertram L., Eriksson N., Foroud T., Singleton A.B. Large-scale meta-analysis of genome-wide association data identifies six new risk loci for Parkinson's disease. *Nat. Genet.* 2014;46(9):989-993. doi 10.1038/ng.3043
- Narasimhan M., Schwartz R., Halliday G. Parkinsonism and cerebrovascular disease. *J. Neurol. Sci.* 2022;433:120011. doi 10.1016/j.jns.2021.120011
- Narendra D.P., Jin S.M., Tanaka A., Suen D.-F., Gautier C.A., Shen J., Cookson M.R., Youle R.J. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol.* 2010;8(1):e1000298. doi 10.1371/journal.pbio.1000298
- Odongo R., Bellur O., Abdik E., Çakır T. Brain-wide transcriptome-based metabolic alterations in Parkinson's disease: human inter-region and human-experimental model correlations. *Mol. Omics.* 2023;19(7):522-537. doi 10.1039/D2MO00343K
- Okui T., Iwashita M., Rogers M.A., Halu A., Atkins S.K., Kuraoka S., Abdelhamid I., Higashi H., Ramsaroop A., Aikawa M., Singh S.A., Aikawa E. CROT (Carnitine O-Octanoyltransferase) is a novel contributing factor in vascular calcification via promoting fatty acid metabolism and mitochondrial dysfunction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021;41(2):755-768. doi 10.1161/ATVBAHA.120.315007
- Ostrakhovitch E.A., Song E.-S., Macedo J.K.A., Gentry M.S., Quintero J.E., Van Horne C., Yamasaki T.R. Analysis of circulating metabolites to differentiate Parkinson's disease and essential tremor. *Neurosci. Lett.* 2022;769:136428. doi 10.1016/j.neulet.2021.136428
- Pastushkova L.Kh., Kireev K.S., Kononikhin A.S., Tiys E.S., Popov I.A., Starodubtseva N.L., Dobrokhotov I.V., Ivanisenko V.A., Larina I.M., Kolchanov N.A., Nikolaev E.N. Detection of renal tissue and urinary tract proteins in the human urine after space flight. *PLoS One.* 2013;8(8):e71652. doi 10.1371/journal.pone.0071652
- Pastushkova L.Kh., Kashirina D.N., Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S., Tiys E.S., Ivanisenko V.A., Koloteva M.L., Nikolaev E.N., Larina I.M. Evaluation of cardiovascular system state by urine proteome after manned space flight. *Acta Astronaut.* 2019;160:594-600. doi 10.1016/j.actaastro.2019.02.015
- Pavlu-Pereira H., Florindo C., Carvalho F., Tavares De Almeida I., Vicente J., Morais V., Rivera I. Evaluation of mitochondrial function on pyruvate dehydrogenase complex deficient patient-derived cell lines. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 2024;24(16):20. doi 10.2174/0118715303280072231004082458
- Penney J., Tsurudome K., Liao E.H., Kauwe G., Gray L., Yanagiya A., Calderon M.R., Sonenberg N., Haghghi A.P. LRRK2 regulates retrograde synaptic compensation at the *Drosophila* neuromuscular junction. *Nat. Commun.* 2016;7(1):12188. doi 10.1038/ncomms12188
- Rappaport N., Twik M., Nativ N., Stelzer G., Bahir I., Stein T.I., Sifran M., Lancet D. MalaCards: a comprehensive automatically-mined database of human diseases. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2014;47(1):1.24.1-19. doi 10.1002/0471250953.bi0124s47
- Rocha E.M., De Miranda B., Sanders L.H. Alpha-synuclein: pathology, mitochondrial dysfunction and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 2018;109:249-257. doi 10.1016/j.nbd.2017.04.004
- Rogachev A.D., Alesanov N.A., Ivanisenko V.A., Ivanisenko N.V., Gaisler E.V., Oleshko O.S., Cheresiz S.V., Mishinov S.V., Stupak V.V., Pokrovsky A.G. Correlation of metabolic profiles of plasma and cerebrospinal fluid of high-grade glioma patients. *Metabolites.* 2021;11(3):133. doi 10.3390/metabo11030133
- Saik O.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. Interactome of the hepatitis C virus: literature mining with ANDSystem. *Virus Res.* 2016;218:40-48. doi 10.1016/j.virusres.2015.12.003
- Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Yu., Freidin M.B., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Choyzonov E.L., Hofstaedt R., Ivanisenko V.A. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis of scientific literature. *J. Integr. Bioinform.* 2018;15(4):20180054. doi 10.1515/jib-2018-0054
- Saik O.V., Nimaev V.V., Usmonov D.B., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of genes involved in endothelial cell apoptosis by their implication in lymphedema using an analysis of associative gene networks with ANDSystem. *BMC Med. Genomics.* 2019;12(S2):47. doi 10.1186/s12920-019-0492-9
- Saiki S., Hatano T., Fujimaki M., Ishikawa K.-I., Mori A., Oji Y., Okuzumi A., Fukuhara T., Koinuma T., Imamichi Y., Nagumo M., Furuya N., Nojiri S., Amo T., Yamashiro K., Hattori N. Decreased long-chain acylcarnitines from insufficient β -oxidation as potential early diagnostic markers for Parkinson's disease. *Sci. Rep.* 2017;7(1):7328. doi 10.1038/s41598-017-06767-y
- Schlaepfer I.R., Joshi M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential. *Endocrinology.* 2020;161(2):bqz046. doi 10.1210/endo/bqz046

- Shortall K., Djeghader A., Magner E., Soulimane T. Insights into aldehyde dehydrogenase enzymes: a structural perspective. *Front. Mol. Biosci.* 2021;8:659550. doi 10.3389/fmolb.2021.659550
- Sohrabi S., Mor D.E., Kaletsky R., Keyes W., Murphy C.T. High-throughput behavioral screen in *C. elegans* reveals Parkinson's disease drug candidates. *Commun. Biol.* 2021;4(1):203. doi 10.1038/s42003-021-01731-z
- Song M., Schnettler E., Venkatachalam A., Wang Y., Feldman L., Argenta P., Rodriguez-Rodriguez L., Ramakrishnan S. Increased expression of collagen prolyl hydroxylases in ovarian cancer is associated with cancer growth and metastasis. *Am. J. Cancer Res.* 2023;13(12):6051-6062
- Thanvi B., Lo N., Robinson T. Vascular parkinsonism – an important cause of parkinsonism in older people. *Age Ageing.* 2005;34(2): 114-119. doi 10.1093/ageing/afi025
- Tomkins J.E., Manzoni C. Advances in protein-protein interaction network analysis for Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 2021;155: 105395. doi 10.1016/j.nbd.2021.105395
- Trabjerg M.S., Andersen D.C., Huntjens P., Mørk K., Warming N., Kullab U.B., Skjonnemand M.-L.N., Oklinski M.K., Oklinski K.E., Bolther L., Kroese L.J., Pritchard C.E.J., Huijbers I.J., Corthals A., Søndergaard M.T., Kjeldal H.B., Pedersen C.F.M., Nieland J.D.V. Inhibition of carnitine palmitoyl-transferase 1 is a potential target in a mouse model of Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* 2023; 9(1):6. doi 10.1038/s41531-023-00450-y
- Tukey R.H., Strassburg C.P. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2000;40(1):581-616. doi 10.1146/annurev.pharmtox.40.1.581
- Urban D., Lorenz J., Meyborg H., Ghosh S., Kintscher U., Kaufmann J., Fleck E., Kappert K., Stawowy P. Proprotein convertase furin enhances survival and migration of vascular smooth muscle cells via processing of pro-nerve growth factor. *J. Biochem.* 2013;153(2): 197-207. doi 10.1093/jb/mvs137
- Vale T.C., Barbosa M.T., Caramelli P., Cardoso F. Vascular Parkinsonism and cognitive impairment: literature review, Brazilian studies and case vignettes. *Dement. Neuropsychol.* 2012;6(3):137-144. doi 10.1590/S1980-57642012DN06030005
- Valente E.M., Abou-Sleiman P.M., Caputo V., Muqit M.M.K., Harvey K., Gispert S., Ali Z., Del Turco D., Bentivoglio A.R., Healy D.G., Albanese A., Nussbaum R., González-Maldonado R., Deller T., Salvi S., Cortelli P., Gilks W.P., Latchman D.S., Harvey R.J., Dallapiccola B., Auburger G., Wood N.W. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in *PINK1*. *Science.* 2004;304(5674):1158-1160. doi 10.1126/science.1096284
- Virmani A., Pinto L., Bauermann O., Zerelli S., Diedenhofen A., Binienda Z.K., Ali S.F., Van Der Leij F.R. The carnitine palmitoyl transferase (CPT) system and possible relevance for neuropsychiatric and neurological conditions. *Mol. Neurobiol.* 2015;52(2): 826-836. doi 10.1007/s12035-015-9238-7
- Vos M., Geens A., Böhm C., Deaulmerie L., Swerts J., Rossi M., Craessaerts K., Leites E.P., Seibler P., Rakovic A., Lohnau T., De Strooper B., Fendt S.-M., Morais V.A., Klein C., Verstreken P. Cardiolipin promotes electron transport between ubiquinone and complex I to rescue *PINK1* deficiency. *J. Cell Biol.* 2017;216(3):695-708. doi 10.1083/jcb.201511044
- Wang Mingyue, Xie Y., Qin D. Proteolytic cleavage of proBDNF to mBDNF in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Brain Res. Bull.* 2021;166:172-184. doi 10.1016/j.brainresbull. 2020.11.005
- Wang Muyun, Wang K., Liao X., Hu H., Chen L., Meng L., Gao W., Li Q. Carnitine palmitoyltransferase system: a new target for anti-inflammatory and anticancer therapy? *Front. Pharmacol.* 2021;12: 760581. doi 10.3389/fphar.2021.760581
- Wang Yu, Yu W., Li S., Guo D., He J., Wang Yugang. Acetyl-CoA carboxylases and diseases. *Front. Oncol.* 2022;12:836058. doi 10.3389/fonc.2022.836058
- Wey M.C.-Y., Fernandez E., Martinez P.A., Sullivan P., Goldstein D.S., Strong R. Neurodegeneration and motor dysfunction in mice lacking cytosolic and mitochondrial aldehyde dehydrogenases: implications for Parkinson's disease. *PLoS One.* 2012;7(2):e31522. doi 10.1371/journal.pone.0031522
- Wichaiyo S., Koonyosying P., Morales N.P. Functional roles of furin in cardio-cerebrovascular diseases. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* 2024; 7(3):570-585. doi 10.1021/acspstsci.3c00325
- Wishart D.S., Guo A., Oler E., Wang F., Anjum A., Peters H., Dizon R., Sayeeda Z., Tian S., Lee B.L., Berjanskii M., Mah R., Yamamoto M., Jovel J., Torres-Calzada C., Hiebert-Giesbrecht M., Lui V.W., Varshavi Dorna, Varshavi Dorsa, Allen D., Arndt D., Khetarpal N., Sivakumaran A., Harford K., Sanford S., Yee K., Cao X., Budinski Z., Liigand J., Zhang L., Zheng J., Mandal R., Karu N., Dambrova M., Schiöth H.B., Greiner R., Gautam V. HMDB 5.0: the human metabolome database for 2022. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(D1): D622-D631. doi 10.1093/nar/gkab1062
- Wuolikainen A., Jonsson P., Ahnlund M., Antti H., Marklund S.L., Moritz T., Forsgren L., Andersen P.M., Trupp M. Multi-platform mass spectrometry analysis of the CSF and plasma metabolomes of rigorously matched amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and control subjects. *Mol. Biosyst.* 2016;12(4):1287-1298. doi 10.1039/C5MB00711A
- Xu Y., Xia D., Huang K., Liang M. Hypoxia-induced P4HA1 overexpression promotes post-ischemic angiogenesis by enhancing endothelial glycolysis through downregulating FBP1. *J. Transl. Med.* 2024;22(1):74. doi 10.1186/s12967-024-04872-x
- Yakala G.K., Cabrera-Fuentes H.A., Crespo-Avilan G.E., Rattanasopa C., Burlacu A., George B.L., Anand K., Mayan D.C., Corliano M., Hernández-Reséndiz S., Wu Z., Schwerk A.M.K., Tan A.L.J., Trigueros-Motos L., Chèvre R., Chua T., Kleemann R., Liehn E.A., Hausenloy D.J., Ghosh S., Singaraja R.R. FURIN inhibition reduces vascular remodeling and atherosclerotic lesion progression in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2019;39(3):387-401. doi 10.1161/ATVBAHA.118.311903
- Yamada M., Hayashi H., Yuuki M., Matsushima N., Yuan B., Takagi N. Furin inhibitor protects against neuronal cell death induced by activated NMDA receptors. *Sci. Rep.* 2018;8(1):5212. doi 10.1038/s41598-018-23567-0
- Yao V., Kaletsky R., Keyes W., Mor D.E., Wong A.K., Sohrabi S., Murphy C.T., Troyanskaya O.G. An integrative tissue-network approach to identify and test human disease genes. *Nat. Biotechnol.* 2018;36(11):1091-1099. doi 10.1038/nbt.4246
- Zhao H., Wang C., Zhao N., Li W., Yang Z., Liu X., Le W., Zhang X. Potential biomarkers of Parkinson's disease revealed by plasma metabolic profiling. *J. Chromatogr. B.* 2018;1081-1082:101-108. doi 10.1016/j.jchromb.2018.01.025
- Zijlmans J.C.M., Thijssen H.O.M., Vogels O.J.M., Kremer H.P.H.M.P., Poels P.J.E., Schoonderwaldt H.C., Merx J.L., van't Hof M.A., Thien Th., Horstink M.W.I.M. MRI in patients with suspected vascular parkinsonism. *Neurology.* 1995;45(12):2183-2188. doi 10.1212/WNL.45.12.2183
- Zolotareva O., Saik O.V., Königs C., Bragina E.Yu., Goncharova I.A., Freidin M.B., Dosenko V.E., Ivanisenko V.A., Hofestädt R. Comorbidity of asthma and hypertension may be mediated by shared genetic dysregulation and drug side effects. *Sci. Rep.* 2019;9(1): 16302. doi 10.1038/s41598-019-52762-w

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.09.2024. После доработки 07.11.2024. Принята к публикации 08.11.2024.