

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NGFRAP1* И *NRF1* В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА НА РАННИХ КЛИНИЧЕСКИХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2024 М.В. Лукашевич^{1*}, М.М. Руденок¹, Е.И. Семенова¹, С.А. Партевян¹,
А.В. Карабанов², Е.Ю. Федотова², С.Н. Иллариошкин², П.А. Сломинский¹,
М.И. Шадрина¹, А.Х. Алиева¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»,
123182 Москва, Россия; электронная почта: farouki@mail.ru

² ФГБНУ «Научный центр неврологии», 125367 Москва, Россия

Поступила в редакцию 14.05.2024

После доработки 19.09.2024

Принята к публикации 23.09.2024

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространённых прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний. Важной особенностью данного заболевания является длительный скрытый период развития, в связи с чем необходим поиск прогностических биомаркеров ранних клинических стадий данного заболевания. Одним из методов выявления биомаркеров БП является изучение изменения экспрессии генов в периферической крови пациентов, находящихся на ранней стадии заболевания и не подвергавшихся лечению. В настоящей работе был проведён анализ относительных уровней мРНК генов *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NGFRAP1* и *NRF1*, которые связаны с транспортом нейромедиаторов, апоптозом и митохондриальной дисфункцией, в периферической крови пациентов с БП с применением методов обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan-зондов. Результаты представленной работы позволяют предположить, что гены *GRIPAP1* и *DLG4* можно рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров ранних клинических стадий БП. Полученные данные могут указывать на то, что *NGFRAP1* вовлечён в патогенез как БП, так и других нейродегенеративных заболеваний. Кроме того, в настоящей работе показано, что на исследуемых нами ранних клинических стадиях гены *KIF1B* и *NRF1* не вовлечены в патогенез БП на уровне экспрессии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Паркинсона, экспрессия генов, периферическая кровь, ранняя диагностика.

DOI: 10.31857/S0320972524100067 EDN: IPNVMC

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространённых прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний [1, 2]. По глобальным оценкам, в 2016 году количество пациентов с диагнозом БП составляло 6 млн, по данным 2020 года – уже 9,4 млн [3, 4]. Характерной особенностью БП является длительный скрытый период развития, в течение которого происходит гибель примерно половины дофаминергических нейронов (ДА-нейронов) в компактной части чёрной

субстанции (ЧС) и 80%-ное снижение уровня дофамина (ДА) в стриатуме. От инициации нейродегенерации до постановки диагноза по характерным двигательным симптомам (тремор, брадикинезия, ригидность и постуральная неустойчивость) [5] может пройти около 20 лет [6, 7].

Одним из перспективных направлений исследования нейродегенерации при БП является изучение экспрессии генов, которые могут быть связаны с патогенезом БП. Ранее на уровне транскриптома было показано изменение экспрессии большого количества генов, вовлечённых в метаболизм ДА [8–10], функционирование митохондрий, окислительный стресс [10–14], деградацию белка [10–13, 15], везикулярный транспорт, синаптическую передачу [10–12]. При этом наиболь-

Принятые сокращения: БП – болезнь Паркинсона; ДА – дофамин.

* Адресат для корреспонденции.

шую сложность представляет исследование ранних стадий заболевания, поскольку для изучения недоступны эндогенные процессы, происходящие на ранних этапах развития патологии в головном мозге пациентов.

В связи с этим для исследования экспрессионного профиля генов широко используется периферическая кровь больных БП. В клетках крови экспрессируются тирозингидроксилаза [16] и рецепторы (D1- и D2-подобные) ДА [17]. Повышенная плотность D1-подобных и D2-подобных рецепторов на лейкоцитах периферической крови у пациентов с БП *de novo* может представлять собой механизм активации, возникающий в результате диффузного нарушения дофаминергической системы при БП [18]. Наличие данных белков характерно, в первую очередь, для ДА-нейронов. Кроме того, экспериментально было показано, что в периферической крови могут отражаться изменения, происходящие в головном мозге [19].

На данный момент существует большое количество работ, посвящённых изменению транскриптома, а также проведены метаанализы полученных данных. Исследования проводились в основном в постмортальных тканях мозга, а также в периферической крови, спинномозговой жидкости и фибробластах кожи пациентов с БП. По итогам этих исследований выделяются процессы, связанные с развитием иммунного ответа, воспаления, процессингом РНК, функционированием митохондрий и программируемой клеточной гибелью, ремоделированием и метилированием хроматина [20]. Однако необходимо отметить, что выявленные дифференциально экспрессирующиеся гены частично или полностью отличаются в каждой работе. Данное явление может быть обусловлено различиями в формировании выборки, проводимой терапией и/или наличием сопутствующих заболеваний у пациентов с БП [21–27]. Стоит также отметить, что в этих исследованиях участвовали пациенты преимущественно на продвинутых стадиях заболевания. В то же время большое значение имеет поиск дифференциально экспрессирующихся генов у пациентов, находящихся на максимально ранних клинических стадиях заболевания. Эти данные позволят в дальнейшем сформировать экспрессионную панель для диагностики ранних стадий БП.

В связи с этим нами был проведён анализ экспрессии генов *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NGFRAP1* и *NRF1* у пациентов, находящихся на ранних клинических стадиях заболевания. Гены были отобраны в результате проведённого ранее полнотранскриптомного анализа периферической крови пациентов с БП [28] и анализа литературы [29, 30]. Белки, кодируемые генами *DLG4* и *GRIPAP1*, участвуют в кластеризации рецепторов

глутамата и калиевых каналов [31, 32]. Белок, кодируемый геном *KIF1B*, вовлечён в транспорт митохондрий [33]. Белок, кодируемый геном *NGFRAP1*, участвует в апоптозе [34, 35]. Белок, кодируемый *NRF1*, активирует митохондриальный биогенез [36].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты. В данной работе были изучены 2 группы пациентов с недавно поставленным диагнозом «болезнь Паркинсона» (1–2 стадия БП по шкале Хён и Яра) (табл. 1):

- 35 пациентов с БП, не получавших медикаментозную терапию. Средний возраст и стандартное отклонение составили $57,76 \pm 8,11$ лет;
- 12 пациентов с БП, получавших медикаментозную терапию. Средний возраст и стандартное отклонение составили $57,86 \pm 9,09$ лет.

Для постановки диагноза пациенты были обследованы по Международной унифицированной оценочной шкале БП (Unified Parkinson's Disease Rating Scale, UPDRS) и шкале Хён и Яра [37]. Пациенты и неврологически здоровые добровольцы (русские, проживающие в европейской части России) были отобраны в Научном центре неврологии (Москва, Россия). Все участники были обследованы на наличие частых мутаций во всех генах, ответственных за моногенные формы БП, и не имели семейного анамнеза БП. Форма БП была спорадической. У всех участников не было серьёзных сопутствующих заболеваний, таких как тяжёлые сердечно-сосудистые заболевания, рак или сахарный диабет. Форма БП была преимущественно смешанной.

Пациенты с БП, получавшие терапию, принимали различные лекарства с агонистами рецепторов ДА (прамипексол в дозе 1,5 мг/день или пирибедил в дозе 150 мг/день, L-допа в дозе 150–200 мг/день или амантадин в дозе 300 мг/день) либо в качестве монотерапии, либо в различных комбинациях.

В качестве групп сравнения в настоящей работе исследовались следующие выборки (табл. 1):

- 23 пациента с различными неврологическими заболеваниями (боковой амиотрофический склероз, болезнь Шарко–Мари–Тута, болезнь Вильсона и мозжечковая атаксия из одной и той же популяции). Средний возраст и стандартное отклонение составили $46,11 \pm 14,47$ лет;
- 44 неврологически здоровых добровольца. Средний возраст и стандартное отклонение составили $50,45 \pm 11,92$ лет.

В группу с различными неврологическими патологиями и в группу здорового контроля отбирались лица славянского происхождения

Таблица 1. Демографическая характеристика выборок

Выборки	Возраст (лет), среднее $\pm$ ст. откл.	Соотношение полов
Здоровый контроль*	50,45 $\pm$ 11,92	43,48% мужчин, 56,52% женщин
Пациенты с БП, не получавшие терапию*	57,76 $\pm$ 8,11	45,83% мужчин, 54,17% женщин
Пациенты с БП, получавшие терапию*	57,86 $\pm$ 9,09	50,00% мужчин, 50,00% женщин
Неврологический контроль*	46,11 $\pm$ 14,47	38,64% мужчин, 61,36% женщин

* $p > 0,05$, выборки пациентов с БП и неврологический контроль сравнивались с группой здорового контроля. Достоверных различий по возрасту между выборками не было обнаружено.

обоих полов в возрасте от 30 до 70 лет. Подбор группы неврологического контроля осуществлялся так, чтобы патогенез заболеваний у пациентов из этой группы, с одной стороны, сильно отличался от такового при БП, а с другой – был напрямую связан с центральной нервной системой и процессами нейродегенерации. Согласно Международному классификатору болезней последней редакции (МКБ-10), БП входит в группу «Экстрапирамидные и другие двигательные нарушения» (G20–G26), а заболевания пациентов, входящих в группу неврологического контроля, относятся к иным классификациям (G10–G14, G60, E83 и G11).

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассамблеи – этическими принципами медицинских исследований с участием людей. Все образцы крови были собраны с информированного согласия обследуемых лиц. Исследование одобрено этическим комитетом Научного центра неврологии (Москва, Россия), протокол 18/4 [19].

Выделение РНК из крови. Для выделения тотальной РНК взятие образцов периферической крови осуществляли в 8 часов утра натощак, затем хранили образцы при температуре 4 °C не более 2 часов до выделения. Выделение тотальной РНК проводили из 200 мкл цельной крови с использованием набора ZR Whole-Blood Total RNA Kit™ («Zymo Research Corp.», Ирвайн, Калифорния, США), согласно рекомендациям производителя. Концентрацию выделенной тотальной РНК измеряли с помощью набора Quant-iT RNA BR Assay Kit и флуориметра Qubit 3.0 («Invitrogen», Карлсбад, Калифорния, США). Качество полученной РНК оценивали при помощи набора Experion™ RNA HighSens Analysis Kit и системы The Experion system («Bio-Rad», Геркулес, Калифорния, США). После выделения тотальную РНК разводили с тРНК дрожжей (100 нг/мкл) в пропорции 10 : 1 [38], что способствует наибольшему выходу целевой РНК при амплификации [39].

Анализ изменения относительных уровней мРНК генов-кандидатов. Анализ изменения относительных уровней мРНК генов-кандидатов проводили с помощью реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan-зондов [40].

Реакция обратной транскрипции. Реакция обратной транскрипции была проведена с использованием набора RevertAid™ H Minus Reverse Transcriptase kit («Thermo Fisher Scientific», Уолтем, Массачусетс, США), в соответствии с рекомендациями производителя. Для последующей амплификации использовали прибор T3 Thermocycler (T3 Thermoblock, «Biometra», Нижняя Саксония, Гёттинген, Германия).

ПЦР в реальном времени с использованием зондов TaqMan. При проведении ПЦР в реальном времени в качестве матрицы использовались кДНК, полученные в ходе реакции обратной транскрипции и разведённые в растворе тРНК (100 нг/мкл). ПЦР в реальном времени проводилась на приборах StepOnePlus™ System («Applied Biosystems», США) с использованием реагентов для ПЦР («Синтол», Россия). В состав 30 мкл реакционной смеси входило: 5 мкл кДНК (0,02 нг/мкл), 3 мкл ПЦР-буфера ($\times 10$, «Синтол»), 3 мкл 25 мМ $MgCl_2$, 10 пМ праймеров («Евроген», Москва, Россия), 2,5 пМ зонда («ДНК-синтез», Москва, Россия), 200 мкМ каждого dNTP, 1 ед. акт. Hot-Rescue Taq-ДНК-полимеразы («Синтол»). Для повышения эффективности ПЦР в образцы кДНК также добавляли по 1 мкл тРНК дрожжей [38, 39]. При проведении амплификации использовали следующий температурный режим: 50 °C, 60 с; 95 °C, 600 с; далее 40 циклов: 95 °C, 20 с и 61 °C, 50 с. Каждый образец анализировали трижды для коррекции различий в качестве образцов и эффективности реакции обратной транскрипции.

Подбор праймеров и зондов TaqMan для ПЦР в реальном времени. При подборе праймеров использовали последовательности мРНК исследуемых генов из базы данных Gene NCBI [41]. Для определения длины интронов в геноме

Таблица 2. Последовательности ген-специфичных праймеров и зондов

Ген	Нуклеотидная последовательность		Размер ампликона, п.н.
<i>AARS</i> NM_001605.2*	зонд	5'-FAM-TATGTTCACTCGTCTGCCACCATCCCAT-BHQ1-3'	154
	прямой праймер	5'-CGGCAGCGATTATAGATTTCTTCAAG-3'	
	обратный праймер	5'-GGTGAGATGGGTCAATTGTGTTC-3'	
<i>PSMD7</i> NM_002811.4	зонд	5'-FAM-GCTTCTGTAGGCAGCCCTAGGTCCTTCGG-BHQ1-3'	127
	прямой праймер	5'-TGTCCTAATTCGATTTGGTCATCATTTG-3'	
	обратный праймер	5'-CGTGTTCAAATGTTTTCGAGGTTGG-3'	
<i>NRF1</i> NM_001293163.1	зонд	5'-VIC-CACGTTTGCTTCGGAACTTCGAGCCACG-BHQ2-3'	123
	прямой праймер	5'-AGAAACGGAAACGGCCTCAT-3'	
	обратный праймер	5'-CTTGCTGTCCCACACGAGTA-3'	
<i>KIF1B</i> NM_183416.3	зонд	5'-VIC-AATGAGACCAACCTTTCCACTGAGA-BHQ2-3'	87
	прямой праймер	5'-CTGTGTTTACGATTGTTTTC-3'	
	обратный праймер	5'-CCACCAAGCTGATTTTAC-3'	
<i>DLG4</i> NM_001128827.1	зонд	5'-VIC-AGCAATGCCTACCTGAGTGACA-BHQ2-3'	123
	прямой праймер	5'-CACGTATGATGTTGTCTAC-3'	
	обратный праймер	5'-CTGTGACTGATCTCATTG-3'	
<i>GRIPAP1</i> NM_020137.4	зонд	5'-VIC-TGAAAATGAGATGCTGCAGG-BHQ2-3'	109
	прямой праймер	5'-TCAGAAGGCACTGAGCAAGA-3'	
	обратный праймер	5'-AACTCGGCCATTAGTGTGCT-3'	
<i>NGFRAP1</i> NM_001282674.1	зонд	5'-VIC-GCGTCTGGCTACCAGCTC-BHQ2-3'	99
	прямой праймер	5'-CTTCGGTGCAGTCGTCACT-3'	
	обратный праймер	5'-TTGTTTTTCTGCTCCGCTTT-3'	

* Номера в базе данных GenBank (Accession numbers).

FAM и VIC – флуоресцентные красители; BHQ1 и BHQ2 – тушители флуоресценции.

использовался ресурс Ensembl genome browser. Праймеры и зонды для проведения реакции ПЦР в реальном времени были подобраны с помощью программы Beacon Designer 7.0 («Premier Biosoft International», Пало-Алто, США) и нуклеотидных последовательностей генов *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NRF1* и *NGFRAP1*, а также генов «домашнего хозяйства» *AARS* и *PSMD7*. Подобранные праймеры синтезировались в компании «Евроген», зонды – в «ДНК-синтез» (последовательности ген-специфичных праймеров и зондов представлены в табл. 2).

Статистическая обработка результатов. Расчёт относительных уровней экспрессии проводился с использованием метода сравнения пороговых

уровней амплификации $\Delta\Delta C_t$ [40]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ «Statistica for Windows 8.0» («StatSoft, Inc.» (2007)) и программного обеспечения MS Excel 2013 («Microsoft»). Для оценки относительных уровней экспрессии генов применяли непараметрический U-тест Манна-Уитни [42, 43]. Проверка специфичности праймеров и зонда осуществлялась с помощью ресурса Primer3 и BLAST (Primer designing tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)), используя базу RefSeq Release (RefSeq: NCBI Reference Sequence Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе был проведён анализ изменения относительных уровней мРНК генов *DLG4*, *GRIPAP1*, *KIF1B*, *NGFRAP1* и *NRF1* в периферической крови пациентов с БП, находящихся на ранних стадиях заболевания (1–2 по шкале Хён–

Яра), получавших и не получавших терапию. Для оценки специфичности наблюдаемых изменений при патогенезе БП был проведён анализ исследуемых генов в группе неврологического контроля, куда вошли пациенты с различными нейродегенеративными заболеваниями. Результаты экспрессионного анализа представлены в табл. 3.

Таблица 3. Изменение относительных уровней мРНК в периферической крови пациентов с БП и в группах сравнения относительно группы здорового контроля

Ген	Пациенты с БП, не получавшие терапию, $n = 35$	Пациенты с БП, получавшие терапию, $n = 12$	Неврологический контроль, $n = 44$
<i>DLG4</i>	0,55¹ (0,26; 0,79)²	1,21 (0,76; 1,91)	1,17 (0,75; 2,09)
<i>GRIPAP1</i>	0,42 (0,24–1,36)	1,38 (0,33–3,23)	2,84 (1,16–5,62)
<i>KIF1B</i>	0,91 (0,69–1,38)	1,01 (0,75–1,52)	1,69 (1,13–2,89)
<i>NGFRAP1</i>	0,46 (0,22–0,70)	0,52 (0,44–0,78)	0,47 (0,23–1,01)
<i>NRF1</i>	0,89 (0,64–1,31)	0,81 (0,51–0,99)	1,14 (0,65–1,34)

Примечание. Результаты с FDR представлены в Приложении.

¹ Медиана; ² 25–75-процентили; уровень экспрессии в здоровом контроле принят за единицу. Значения с $p < 0,05$ выделены цветом и жирным шрифтом.

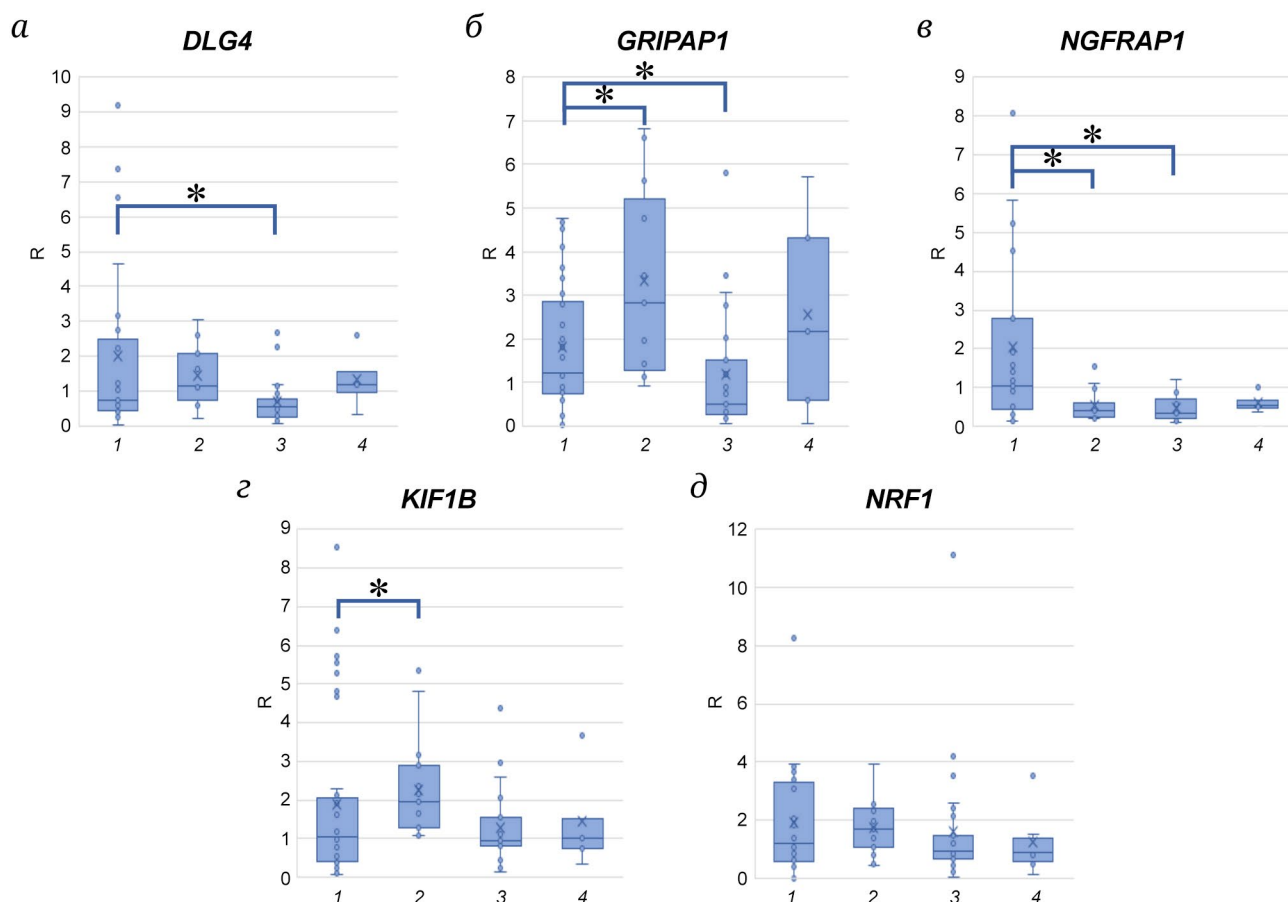


Рис. 1. Изменение относительных уровней мРНК генов *DLG4* (а), *GRIPAP1* (б), *NGFRAP1* (в), *KIF1B* (г), *NRF1* (д) в периферической крови пациентов с БП и в группах сравнения относительно группы здорового контроля (1). Значения с $p < 0,05$ выделены символом «*». 2 – Группа неврологического контроля; 3 – пациенты с БП, не получавшие медикаментозную терапию; 4 – пациенты с БП, получавшие медикаментозную терапию

Как видно из табл. 3 и рис. 1, среди всех исследуемых генов только для гена *NRF1* (рис. 1, д) не было показано статистически значимых изменений относительной экспрессии по сравнению с контрольной группой.

Для генов *DLG4* и *GRIPAP1* выявлено падение экспрессии более чем в 1,5 раза у пациентов с БП, не получавших антипаркинсоническую терапию, относительно группы здорового контроля (рис. 1, а и б соответственно). При этом такое изменение является специфичным для БП, так как в группе неврологического контроля аналогичного падения экспрессии не наблюдается. Для гена *GRIPAP1* в группе неврологического контроля, наоборот, выявлено статистически значимое повышение экспрессии почти в 3 раза.

Для гена *NGFRAP1* выявлено падение относительной экспрессии в 2 раза в группе пациентов с БП, не получавших терапию (рис. 1, в). Однако эти данные не являются специфичными для БП, так как в группе неврологического контроля также выявлено аналогичное статистически значимое снижение относительной экспрессии этого гена.

Как можно видеть в таблице, для гена *KIF1B* выявлено статистически значимое увеличение относительной представленности его транскрипта более чем в 1,5 раза в группе неврологического контроля (рис. 1, г). Однако статистически значимых изменений на уровне мРНК в образцах периферической крови пациентов с БП обнаружено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Патогенез БП характеризуется длительным бессимптомным периодом развития и медленным неуклонно прогрессирующим течением заболевания. Вследствие этого изменения, возникающие на ранних этапах, до сих пор мало изучены.

В связи с особенностями локализации ДА-нейронов практически невозможно корректное исследование молекулярных процессов, происходящих в головном мозге и лежащих в основе патогенеза БП при жизни пациентов. Исходя из этого, одним из самых доступных материалов для изучения изменения экспрессии генов у человека является периферическая кровь.

В настоящей работе был проведён экспрессионный анализ относительных уровней мРНК генов *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B* и *NGFRAP1*, отобранных по результатам полнотранскриптомного анализа [28], и *NRF1*, отобранного на основе анализа литературы [29, 30].

В результате нами выявлено достоверное снижение экспрессии для 3 генов (*DLG4*, *GRIPAP1*, *NGFRAP1*) в группе пациентов с БП, не получав-

ших лечение и находящихся на ранних клинических стадиях заболевания. При этом выявленное нами впервые падение экспрессии генов *DLG4* и *GRIPAP1* является специфичным для БП (табл. 3 и рис. 1, а и б).

Ген *DLG4* кодирует белок PSD-95. Установлено, что PSD-95 инициирует кластеризацию рецепторов глутамата и калиевых каналов (AMPA-рецепторов, NMDA-рецепторов), отвечает за взаимодействие глутаматных рецепторов с D1-рецепторами ДА [31]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что данный белок обеспечивает закрепление глутаматных и калиевых рецепторов на синаптической мембране [44].

Ранее в исследовании на грызунах было установлено, что снижение относительных уровней мРНК *DLG4* и последующее снижение экспрессии на уровне белка PSD-95 приводят к уменьшению количества этой киназы на поверхности синаптической мембраны [45]. Это, в свою очередь, может приводить к дисбалансу нейромедиаторов, что является характерной особенностью БП. Таким образом, выявленные нами изменения в периферической крови пациентов с БП, не получавших лечения и находящихся на ранних клинических стадиях заболевания, совпадают с результатами исследований, проведённых ранее на грызунах.

Полученные нами данные могут указывать на вовлечённость глутаматергической системы в патогенез ранних клинических стадий БП, а *DLG4* можно рассматривать в качестве диагностического биомаркера ранних клинических стадий данного заболевания.

Вторым геном, изменившим свою экспрессию, является *GRIPAP1*. Как можно видеть в табл. 3 и на рис. 1, б, выявлено достоверное снижение относительного уровня экспрессии данного гена в два раза для пациентов с БП, не получавших терапию. Этот ген кодирует фактор обмена гуаниновых нуклеотидов семейства малых G-белков Ras (RasGEF) [32]. Данный белок в комплексе с GRIP1 участвует в регуляции активности AMPA-рецепторов, взаимодействуя с белками Rab4 и Rab11, и, таким образом, контролирует рециркуляцию эндосом [46].

В ряде исследований было установлено, что снижение экспрессии этого гена ингибирует слияние Rab4- и Rab11-эндосом, что приводит к последующему уменьшению кластеризации AMPA-рецепторов на плазматической мембране [32, 47].

Полученные нами данные могут указывать на участие *GRIPAP1* в компенсаторных механизмах при БП путём изменения уровня синаптической передачи сигналов через глутаматные рецепторы.

С другой стороны, нами выявлено усиление относительной экспрессии *GRIPAP1* в группе неврологического контроля (табл. 3, рис. 1, б).

В работе Hoogenraad et al. было показано, что сверхэкспрессия гена *GRIPAP1* приводит к усилению созревания рециркулирующих эндосом и увеличению количества AMPA-рецепторов на мембране [46, 47]. Полученные нами данные могут свидетельствовать об изменении функционирования глутаматергической системы при различных нейродегенеративных патологиях.

Таким образом, характер участия *GRIPAP1* в процессах, происходящих при патогенезе нейродегенеративных заболеваний, в том числе при развитии БП, требует дальнейшего изучения. Однако полученные данные позволяют рассматривать снижение экспрессии данного гена в качестве потенциального биомаркера БП ранних клинических стадий БП.

Для гена *NGFRAP1* выявлено достоверное падение экспрессии как у больных с БП, не получавших лечение, так и в группе неврологического контроля (табл. 3, рис. 1, в). *NGFRAP1*, кодирующий белок VEX3, принадлежит к семейству генов VEX, которые экспрессируются преимущественно в мозге [34, 35]. На сегодняшний день роль *NGFRAP1* не только в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, но и в клеточных процессах в целом остаётся не до конца ясной.

Тем не менее Mukai et al. в своих работах на клеточных культурах показали, что Vex3 взаимодействует с рецептором нейротрофина p75 (p75NTR), что может приводить к NGF-индуцированному апоптозу [48, 49]. В 2015 году при исследовании различных культур клеток была описана критическая роль Vex3 в экспрессии трансмембранного рецептора TrkA [50]. Снижение уровня экспрессии *NGFRAP1* приводило к снижению выживаемости нейронов в связи с уменьшением количества белка TrkA и представленности транскриптов гена *trkA* [51].

Полученные нами результаты могут указывать на то, что *NGFRAP1* вовлечён в патогенез как БП, так и других нейродегенеративных заболеваний. Однако в настоящий момент о функционировании этого гена ещё недостаточно данных, которые могут указывать на его более точную роль в нейродегенеративных процессах.

Для гена *KIF1B* показано статистически значимое увеличение относительной представленности его транскрипта в 1,69 раз в группе неврологического контроля (табл. 3, рис. 1, г). Ген *KIF1B* кодирует моторный белок, участвующий в антероградном транспорте митохондрий в гладкий эндоплазматический ретикулум, где происходит митоптоз [33, 52, 53]. Антероградный транспорт митохондрий необходим для роста и регенерации аксонов, а также для доставки здоровых митохондрий из тела клетки к окончаниям аксонов [54].

Таким образом, увеличение экспрессии данного гена в группе неврологического контроля может указывать на его вовлечение в компенсаторные механизмы при развитии общих нейродегенеративных процессов. При этом может происходить усиление транспорта митохондрий для удовлетворения потребности в энергии в дистальных участках нервных клеток. Однако нами не было обнаружено подобных изменений в исследуемых группах пациентов с БП, что может указывать на отсутствие включения аналогичных компенсаторных механизмов при БП на исследуемых стадиях.

Кроме того, нами был проведён анализ изменения относительной экспрессии гена *NRF1*. В настоящее время известно, что *NRF1* активирует митохондриальный биогенез [36]. Белок, кодируемый данным геном, является транскрипционным фактором, который действует на ядерные гены, кодирующие дыхательные субъединицы и компоненты механизма транскрипции и репликации митохондрий [55, 56]. Имеющиеся данные позволяют предположить, что этот ген может быть вовлечён в патогенез БП.

Тем не менее в нашей работе для гена *NRF1* не показано статистически значимых изменений относительной экспрессии в периферической крови как пациентов с БП, получавших и не получавших терапию, так и в группе неврологического контроля.

Полученные данные позволяют предположить, что на исследуемых нами ранних клинических стадиях ген *NRF1* не вовлечён в патогенез БП на уровне экспрессии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ изменений экспрессии генов на уровне их РНК в периферической крови пациентов с БП на ранних клинических стадиях показал достоверное и специфичное для БП изменение экспрессии двух генов: *DLG4* и *GRIPAP1*. Эти гены могут быть связаны с патогенезом БП на ранних клинических стадиях заболевания. Кроме того, эти гены можно рассматривать как потенциальные биомаркеры ранних стадий БП. По полученным данным ген *NGFRAP1* может участвовать в патогенезе как БП, так и других нейродегенеративных заболеваний. Однако его роль в нейродегенеративных процессах требует дальнейшего изучения. Гены *KIF1B* и *NRF1*, вероятно, не участвуют в патогенезе БП на ранних клинических стадиях.

Вклад авторов. Проведение экспериментальных работ и статистическая обработка результатов: Лукашевич М.В., Руденок М.М., Семенова Е.И.,

Партевян С.А. Сбор и формирование выборок: Карабанов А.В., Федотова Е.Ю. Написание статьи: Лукашевич М.В., Алиева А.Х. Формирование концепции статьи: Шадрина М.И., Сломинский П.А., Иллариошкин С.Н., Алиева А.Х. Обсуждение результатов: Руденок М.М., Сломинский П.А., Шадрина М.И., Алиева А.Х.

Финансирование. Работа сотрудников Шадриной М.И., Руденок М.М., Алиевой А.Х. проводилась при поддержке Российского научного фонда (грант № 20-15-00262, <https://rscf.ru/project/20-15-00262>). Работа Семеновской Е.И., Партевян С.А., Сломинского П.А. проводилась в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» (тема 5.Ф.5.9).

Благодарности. Работа выполнена на базе «Центр коллективного пользования» КК НБИКС-ПТ НИЦ «Курчатовский институт».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и её последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включённых в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Balestrino, R., and Schapira, A. H. V. (2020) Parkinson disease, *Eur. J. Neurol.*, **27**, 27-42, <https://doi.org/10.1111/ene.14108>.
2. Lee, A., and Gilbert, R. M. (2016) Epidemiology of Parkinson disease, *Neurol. Clinics*, **34**, 955-965, <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2016.06.012>.
3. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016, *Lancet. Neurol.*, **17**, 939-953, [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(18\)30295-3](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(18)30295-3).
4. Maserejian, N., Vinikoor-Imler, L., and Dilley, A. (2020) Estimation of the 2020 Global population of Parkinson's disease (PD), *Mov. Disord.*, **35**, 79-80, <https://doi.org/10.1002/mds.28268>.
5. Dorsey, E. R., Constantinescu, R., Thompson, J. P., Biglan, K. M., Holloway, R. G., Kieburtz, K., Marshall, F. J., Ravina, B. M., Schifitto, G., Siderowf, A., and Tanner, C. M. (2007) Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030, *Neurology*, **68**, 384-386, <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000247740.47667.03>.
6. Maiti, P., Manna, J., and Dunbar, G. L. (2017) Current understanding of the molecular mechanisms in Parkinson's disease: targets for potential treatments, *Translat. Neurodegener.*, **6**, 28, <https://doi.org/10.1186/s40035-017-0099-z>.
7. Cheng, F., Vivacqua, G., and Yu, S. (2011) The role of α -synuclein in neurotransmission and synaptic plasticity, *J. Chem. Neuroanat.*, **42**, 242-248, <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2010.12.001>.
8. Grunblatt, E., Mandel, S., Jacob-Hirsch, J., Zeligson, S., Amariglio, N., Rechavi, G., Li, J., Ravid, R., Roggendorf, W., Riederer, P., and Youdim, M. B. (2004) 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 Transmiss.*, **111**, 1543-1573, <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0212-1>.
9. Cruz-Monteagudo, M., Borges, F., Paz, Y. M. C., Cordeiro, M. N., Rebelo, I., Perez-Castillo, Y., Helguera, A. M., Sanchez-Rodriguez, A., and Tejera, E. (2016) Efficient and biologically relevant consensus strategy for Parkinson's disease gene prioritization, *BMC Med. Genomics*, **9**, 12, <https://doi.org/10.1186/s12920-016-0173-x>.
10. Miller, R. M., Kiser, G. L., Kaysser-Kranich, T. M., Lockner, R. J., Palaniappan, C., and Federoff, H. J. (2006) Robust dysregulation of gene expression in substantia nigra and striatum in Parkinson's disease, *Neurobiol. Disease*, **21**, 305-313, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.07.010>.
11. Bossers, K., Meerhoff, G., Balesar, R., van Dongen, J. W., Kruse, C. G., Swaab, D. F., and Verhaagen, J. (2009) Analysis of gene expression in Parkinson's disease: possible involvement of neurotrophic support and axon guidance in dopaminergic cell death, *Brain Pathol.*, **19**, 91-107, <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00171.x>.
12. Hauser, M. A., Li, Y. J., Xu, H., Nouredine, M. A., Shao, Y. S., Gullans, S. R., Scherzer, C. R., Jensen, R. V., McLaurin, A. C., Gibson, J. R., Scott, B. L., Jewett, R. M., Stenger, J. E., Schmechel, D. E., Hulette, C. M., and Vance, J. M. (2005) Expression profiling of substantia nigra in Parkinson disease, progressive supranuclear palsy, and frontotemporal dementia with parkinsonism, *Arch. Neurol.*, **62**, 917-921, <https://doi.org/10.1001/archneur.62.6.917>.
13. Simunovic, F., Yi, M., Wang, Y., Macey, L., Brown, L. T., Krichevsky, A. M., Andersen, S. L., Stephens, R. M., Benes, F. M., and Sonntag, K. C. (2009) Gene expression profiling of substantia nigra dopamine neurons: further insights into Parkinson's disease pathology, *Brain*, **132**, 1795-1809, <https://doi.org/10.1093/brain/awn323>.

14. Glaab, E., and Schneider, R. (2015) Comparative pathway and network analysis of brain transcriptome changes during adult aging and in Parkinson's disease, *Neurobiol. Disease*, **74**, 1-13, <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.11.002>.
15. Kin, K., Yasuhara, T., Kameda, M., and Date, I. (2019) Animal models for Parkinson's disease research: trends in the 2000s, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, <https://doi.org/10.3390/ijms20215402>.
16. Caronti, B., Tanda, G., Colosimo, C., Ruggieri, S., Calderaro, C., Palladini, G., Pontieri, F. E., and Di Chiara, G. (1999) Reduced dopamine in peripheral blood lymphocytes in Parkinson's disease, *Neuroreport*, **10**, 2907-2910, <https://doi.org/10.1097/00001756-199909290-00006>.
17. Barbanti, P., Fabbrini, G., Ricci, A., Cerbo, R., Bronzetti, E., Caronti, B., Calderaro, C., Felici, L., Stocchi, F., Meco, G., Amenta, F., and Lenzi, G. L. (1999) Increased expression of dopamine receptors on lymphocytes in Parkinson's disease, *Mov. Disord.*, **14**, 764-771, [https://doi.org/10.1002/1531-8257\(199909\)14:5<764::aid-mds1008>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/1531-8257(199909)14:5<764::aid-mds1008>3.0.co;2-w).
18. Buttarelli, F. R., Fanciulli, A., Pellicano, C., and Pontieri, F. E. (2011) The dopaminergic system in peripheral blood lymphocytes: from physiology to pharmacology and potential applications to neuropsychiatric disorders, *Curr. Neuropharmacol.*, **9**, 278-288, <https://doi.org/10.2174/157015911795596612>.
19. Alieva, A., Rudenok, M., Filatova, E., Karabanov, A., Doronina, O., Doronina, K., Kolacheva, A., Ugrumov, M., Illarioshkin, S., Slominsky, P., and Shadrina, M. (2020) VCP expression decrease as a biomarker of preclinical and early clinical stages of Parkinson's disease, *Sci. Rep.*, **10**, 827, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57938-3>.
20. Borrageiro, G., Haylett, W., Seedat, S., Kuivaniemi, H., and Bardien, S. (2018) A review of genome-wide transcriptomics studies in Parkinson's disease, *Eur. J. Neurosci.*, **47**, 1-16, <https://doi.org/10.1111/ejn.13760>.
21. The Parkinson Progression Marker Initiative (PPMI), *Progr. Neurobiol.*, **95**, 629-635, <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.09.005>.
22. 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., et al. (2021) RNA sequencing of whole blood reveals early alterations in immune cells and gene expression in Parkinson's disease, *Nat. Aging*, **1**, 734-747, <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00088-6>.
23. Miki, Y., Shimoyama, S., Kon, T., Ueno, T., Hayakari, R., Tanji, K., Matsumiya, T., Tsushima, E., Mori, F., Wakabayashi, K., and Tomiyama, M. (2018) Alteration of autophagy-related proteins in peripheral blood mononuclear cells of patients with Parkinson's disease, *Neurobiol. Aging*, **63**, 33-43, <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.11.006>.
24. Mutez, E., Larvor, L., Leprêtre, F., Mouroux, V., Hamalek, D., Kerckaert, J. P., Pérez-Tur, J., Waucquier, N., Vanbesien-Mailliot, C., Duflo, A., Devos, D., Defebvre, L., Kreisler, A., Frigard, B., Destée, A., and Chartier-Harlin, M. C. (2011) Transcriptional profile of Parkinson blood mononuclear cells with LRRK2 mutation, *Neurobiol. Aging*, **32**, 1839-1848, <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.10.016>.
25. 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., and Gullans, S. R. (2007) Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 955-960, <https://doi.org/10.1073/pnas.0610204104>.
26. 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., Kühlenbaumer, G., Pawlack, H., Ulitsky, I., Kasten, M., Riess, O., Brice, A., et al. (2017) Analysis of blood-based gene expression in idiopathic Parkinson disease, *Neurology*, **89**, 1676-1683, <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000004516>.
27. Soreq, L., Israel, Z., Bergman, H., and Soreq, H. (2008) Advanced microarray analysis highlights modified neuro-immune signaling in nucleated blood cells from Parkinson's disease patients, *J. Neuroimmunol.*, **201-202**, 227-236, <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2008.06.019>.
28. Alieva, A., Shadrina, M. I., Filatova, E. V., Karabanov, A. V., Illarioshkin, S. N., Limborska, S. A., and Slominsky, P. A. (2014) 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**, 718732, <https://doi.org/10.1155/2014/718732>.
29. Kiyama, T., Chen, C. K., Wang, S. W., Pan, P., Ju, Z., Wang, J., Takada, S., Klein, W. H., and Mao, C. A. (2018) Essential roles of mitochondrial biogenesis regulator Nrf1 in retinal development and homeostasis, *Mol. Neurodegener.*, **13**, 56, <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0287-z>.
30. Gong, X., Huang, M., and Chen, L. (2024) NRF1 mitigates motor dysfunction and dopamine neuron degeneration in mice with Parkinson's disease by promoting GLRX m⁶ A methylation through upregulation of METTL3 transcription, *CNS Neurosci. Ther.*, **30**, e14441, <https://doi.org/10.1111/cns.14441>.
31. Porras, G., Berthet, A., Dehay, B., Li, Q., Ladepeche, L., Normand, E., Dovero, S., Martinez, A., Doudnikoff, E., Martin-Négrier, M. L., Chuan, Q., Bloch, B., Choquet, D., Boué-Grabot, E., Groc, L., and Bezard, E. (2012) PSD-95 expression controls L-DOPA dyskinesia through dopamine D1 receptor trafficking, *J. Clin. Invest.*, **122**, 3977-3989, <https://doi.org/10.1172/jci59426>.

32. Ye, B., Liao, D., Zhang, X., Zhang, P., Dong, H., and Huganir, R. L. (2000) GRASP-1: a neuronal RasGEF associated with the AMPA receptor/GRIP complex, *Neuron*, **26**, 603-617, [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81198-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81198-8).
33. Nangaku, M., Sato-Yoshitake, R., Okada, Y., Noda, Y., Takemura, R., Yamazaki, H., and Hirokawa, N. (1994) KIF1B, a novel microtubule plus end-directed monomeric motor protein for transport of mitochondria, *Cell*, **79**, 1209-1220, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90012-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90012-4).
34. Faria, T. N., LaRosa, G. J., Wilen, E., Liao, J., and Gudas, L. J. (1998) Characterization of genes which exhibit reduced expression during the retinoic acid-induced differentiation of F9 teratocarcinoma cells: involvement of cyclin D3 in RA-mediated growth arrest, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **143**, 155-166, [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(98\)00127-0](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(98)00127-0).
35. Alvarez, E., Zhou, W., Witta, S. E., and Freed, C. R. (2005) Characterization of the Bex gene family in humans, mice, and rats, *Gene*, **357**, 18-28, <https://doi.org/10.1016/j.gene.2005.05.012>.
36. Biswas, M., and Chan, J. Y. (2010) Role of Nrf1 in antioxidant response element-mediated gene expression and beyond, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **244**, 16-20, <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.07.034>.
37. 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., and Seidl, L. (2004) Movement disorder society task force report on the hoehn and yahr staging scale: status and recommendations, *Mov. Disord.*, **19**, 1020-1028, <https://doi.org/10.1002/mds.20213>.
38. Suslov, O., and Steindler, D. A. (2005) PCR inhibition by reverse transcriptase leads to an overestimation of amplification efficiency, *Nucleic Acids Res.*, **33**, e181, <https://doi.org/10.1093/nar/gni176>.
39. Wang, Q. T., Xiao, W., Mindrinos, M., and Davis, R. W. (2002) Yeast tRNA as carrier in the isolation of microscale RNA for global amplification and expression profiling, *BioTechniques*, **33**, 788-796, <https://doi.org/10.2144/02334st02>.
40. Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method, *Methods*, **24**, 402-408, <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
41. Mizrachi, I., McEntyre, J., and Ostell, J. (2007) *GenBank: The Nucleotide Sequence Database*, in The NCBI Handbook.
42. Mann, H. B., Whitney, D. R. (1947) On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other, *Ann. Math. Statistics*, **18**, 50-60.
43. Гланц С. (1998) *Медико-биологическая статистика*, Практика, Москва, с. 459.
44. Chen, X., Levy, J. M., Hou, A., Winters, C., Azzam, R., Sousa, A. A., Leapman, R. D., Nicoll, R. A., and Reese, T. S. (2015) PSD-95 family MAGUKs are essential for anchoring AMPA and NMDA receptor complexes at the postsynaptic density, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E6983-6992, <https://doi.org/10.1073/pnas.1517045112>.
45. Sen, A., Hongpaisan, J., Wang, D., Nelson, T. J., and Alkon, D. L. (2016) Protein Kinase Ce (PKCe) promotes synaptogenesis through membrane accumulation of the postsynaptic density protein PSD-95, *J. Biol. Chem.*, **291**, 16462-16476, <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.730440>.
46. Hoogenraad, C. C., Popa, I., Futai, K., Martinez-Sanchez, E., Wulf, P. S., van Vlijmen, T., Dortland, B. R., Oorschot, V., Govers, R., Monti, M., Heck, A. J., Sheng, M., Klumperman, J., Rehmann, H., Jaarsma, D., Kapitein, L. C., and van der Sluijs, P. (2010) Neuron specific Rab4 effector GRASP-1 coordinates membrane specialization and maturation of recycling endosomes, *PLoS Biol.*, **8**, e1000283, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000283>.
47. Hoogenraad, C. C., and van der Sluijs, P. (2010) GRASP-1 regulates endocytic receptor recycling and synaptic plasticity, *Commun. Integr. Biol.*, **3**, 433-435, <https://doi.org/10.4161/cib.3.5.12209>.
48. Mukai, J., Hachiya, T., Shoji-Hoshino, S., Kimura, M. T., Nadano, D., Suvanto, P., Hanaoka, T., Li, Y., Irie, S., Greene, L. A., and Sato, T. A. (2000) NADE, a p75NTR-associated cell death executor, is involved in signal transduction mediated by the common neurotrophin receptor p75NTR, *J. Biol. Chem.*, **275**, 17566-17570, <https://doi.org/10.1074/jbc.C000140200>.
49. Mukai, J., Shoji, S., Kimura, M. T., Okubo, S., Sano, H., Suvanto, P., Li, Y., Irie, S., and Sato, T. A. (2002) Structure-function analysis of NADE: identification of regions that mediate nerve growth factor-induced apoptosis, *J. Biol. Chem.*, **277**, 13973-13982, <https://doi.org/10.1074/jbc.M106342200>.
50. Chiu, S. L., Diering, G. H., Ye, B., Takamiya, K., Chen, C. M., Jiang, Y., Niranjana, T., Schwartz, C. E., Wang, T., and Huganir, R. L. (2017) GRASP1 regulates synaptic plasticity and learning through endosomal recycling of AMPA receptors, *Neuron*, **93**, 1405-1419.e1408, <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.031>.
51. Calvo, L., Anta, B., López-Benito, S., Martín-Rodríguez, C., Lee, F. S., Pérez, P., Martín-Zanca, D., and Arévalo, J. C. (2015) Bex3 dimerization regulates NGF-dependent neuronal survival and differentiation by enhancing *trkA* gene transcription, *J. Neurosci.*, **35**, 7190-7202, <https://doi.org/10.1523/jneurosci.4646-14.2015>.
52. Ando, K., Yokochi, T., Mukai, A., Wei, G., Li, Y., Kramer, S., Ozaki, T., Maehara, Y., and Nakagawara, A. (2019) Tumor suppressor KIF1B β regulates mitochondrial apoptosis in collaboration with YME1L1, *Mol. Carcinogen.*, **58**, 1134-1144, <https://doi.org/10.1002/mc.22997>.

53. Mitsugi, H., Niki, T., Takahashi-Niki, K., Tanimura, K., Yoshizawa-Kumagaye, K., Tsunemi, M., Iguchi-Ariga, S. M., and Ariga, H. (2013) Identification of the recognition sequence and target proteins for DJ-1 protease, *FEBS Lett.*, **587**, 2493-2499, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2013.06.032>.
54. Morris, R. L., and Hollenbeck, P. J. (1993) The regulation of bidirectional mitochondrial transport is coordinated with axonal outgrowth, *J. Cell Sci.*, **104** (Pt 3), 917-927, <https://doi.org/10.1242/jcs.104.3.917>.
55. Gopalakrishnan, L., and Scarpulla, R. C. (1995) Structure, expression, and chromosomal assignment of the human gene encoding nuclear respiratory factor 1, *Biol. Chem.*, **270**, 18019-18025.
56. Wang, C., Li, Z., Lu, Y., Du, R., Katiyar, S., Yang, J., Fu, M., Leader, J. E., Quong, A., Novikoff, P. M., and Pestell, R. G. (2006) Cyclin D1 repression of nuclear respiratory factor 1 integrates nuclear DNA synthesis and mitochondrial function, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **103**, 11567-11572.

ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF THE *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NGFRAP1*, AND *NRF1* GENES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE IN THE EARLY CLINICAL STAGES

M. V. Lukashevich^{1*}, M. M. Rudenok¹, E. I. Semenova¹, S. A. Partevyan¹,
A. V. Karabanov², E. Yu. Fedotova², S. N. Illarioshkin², P. A. Slominsky¹,
M. I. Shadrina¹, and A. Kh. Alieva¹

¹ National Research Centre "Kurchatov Institute", 123182 Moscow, Russia; e-mail: farouki@mail.ru

² Research Center of Neurology, 125367 Moscow, Russia

Parkinson's disease (PD) is one of the most common progressive neurodegenerative diseases. An important feature of the disease is its long latent period, which necessitates the search for prognostic biomarkers. One method of identifying biomarkers of PD is to study changes in gene expression in the peripheral blood of patients who are at an early stage of the disease and have not been treated. In this study, we analyzed the relative levels of mRNA for the genes *GRIPAP1*, *DLG4*, *KIF1B*, *NGFRAP1*, and *NRF1*, which are associated with neurotransmitter transport, apoptosis and mitochondrial dysfunction, in the peripheral blood of PD patients using reverse transcription and real-time PCR with TaqMan probes. The results of this study suggest that the *GRIPAP1* and *DLG4* genes can be considered as potential biomarkers for the early clinical stages of Parkinson's disease. The data obtained may indicate that *NGFRAP1* is involved in the pathogenesis of both PD and other neurodegenerative diseases. Furthermore, at the early clinical stages we studied, the *KIF1B* and *NRF1* genes were not found to be involved in the pathogenesis of PD at the expression level.

Keywords: Parkinson's disease, gene expression, peripheral blood, early diagnosis