

# Анализ взаимодействия генов нейронального апоптоза в ассоциативной генной сети болезни Паркинсона

М.А. Янкина<sup>1</sup>, О.В. Сайк<sup>2</sup>✉, П.С. Деменков<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1, 3</sup>, Е.И. Рогаяев<sup>2, 4, 5, 6</sup>, И.Н. Лаврик<sup>2, 7</sup>, В.А. Иванисенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

<sup>4</sup> Медицинская школа Массачусетского университета в Вустере, Вустер, США

<sup>5</sup> Институт общей генетики Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>6</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

<sup>7</sup> Магдебургский университет им. Отто фон Герике, Магдебург, Германия

В мире болезнью Паркинсона (БП) страдают 7–10 млн человек, в России – около 210 тыс. человек. Эта болезнь сопровождается дегенерацией дофаминергических нейронов, в связи с чем нейрональный апоптоз рассматривается как важнейший фактор данного заболевания. Одним из ключевых подходов в системной биологии служит анализ генных сетей. Ранее нами была разработана система ANDSystem, предназначенная для автоматического извлечения знаний из научных публикаций и реконструкции на этой основе ассоциативных генных сетей, описывающих молекулярно-генетические механизмы биологических процессов в норме и при патологии. Целью работы было применение системы ANDSystem для приоритизации генов нейронального апоптоза, характеризующей их вовлеченность в патологические механизмы, с учетом структуры ассоциативной генной сети БП. Анализ центральности генов нейронального апоптоза, ассоциированных с БП, по данным ANDSystem, в ассоциативной генной сети БП показал, что среднее значение их центральностей по степени, близости и посредничеству статистически значительно превышает таковое, рассчитанное по всем вершинам сети БП. Среди генов, обладающих наибольшими показателями центральности, оказались *APOE*, *CASP3* и *GAPDH*, играющие важную роль в нейрональном апоптозе. Приоритизация генов нейронального апоптоза, для которых в системе ANDSystem не было данных об их ассоциации с БП, проводилась с использованием стандартных методов (Endeavor и ToppGene), а также критериев центральности и специфичности их взаимодействий с ассоциативной генной сетью БП. Показано, что среди генов, обладающих наивысшим приоритетом (рассматривались 50, 70, 100 наиболее приоритетных), преимущественно представлены гены, вовлеченные в положительную и отрицательную регуляцию нейронального апоптоза, сигнальные пути MAPK и Eph-рецепторов и др., в частности *TP53*, *JUN*, *BCL2*, *PIK3CA* и *APP*.

Ключевые слова: нейрональный апоптоз; болезнь Паркинсона; ANDSystem; ассоциативные генные сети.

## Analysis of the interactions of neuronal apoptosis genes in the associative gene network of Parkinson's disease

M.A. Yankina<sup>1</sup>, O.V. Saik<sup>2</sup>✉, P.S. Demenkov<sup>2</sup>, E.K. Khusnutdinova<sup>1, 3</sup>, E.I. Rogayev<sup>2, 4, 5, 6</sup>, I.N. Lavrik<sup>2, 7</sup>, V.A. Ivanisenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Centre RAS, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Bashkir State University, Ufa, Russia

<sup>4</sup> University of Massachusetts Medical School, Worcester, USA

<sup>5</sup> Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

<sup>6</sup> Lomonosov Moscow State University, Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow, Russia

<sup>7</sup> Otto von Guericke University, Magdeburg, Germany

Parkinson's disease (PD) affects an estimated 7–10 million people worldwide and 210000 people in Russia. PD is accompanied by degeneration of dopaminergic neurons and because of that neuronal apoptosis is an important factor in this disease. Analysis of gene networks is one of the key approaches in systems biology. We previously developed the ANDSystem tool, designed to automatically extract knowledge from scientific publications and reconstruct on this basis associative gene networks describing the molecular genetic mechanisms of biological processes. The aim of this work was prioritization of neuronal apoptosis genes by their involvement in PD pathogenesis, taking into account the structure of the PD associative gene network using ANDSystem. Analysis of the centrality of neuronal apoptosis genes, associated with PD, revealed that mean values of degree, closeness and betweenness centralities statistically significantly exceed such values of all nodes of the PD network. The *APOE*, *CASP3* and *GAPDH* genes involved in neuronal apoptosis were among the most central genes. Prioritization of neuronal apoptosis genes for which there was no data in ANDSystem on their associations with PD was performed using standard methods (Endeavor and ToppGene) and the criteria of centrality and specificity of genes interactions with the PD gene network. Analysis revealed that genes involved in such processes as positive and negative regulation of neu-

ronal apoptosis, MAPK and ephrin receptor signaling pathways, are mainly represented among candidate genes with the highest priority (top 50, 70, 100 genes were considered). In particular, *TP53*, *JUN*, *BCL2*, *PIK3CA* and *APP* were among candidate genes with the highest priority.

Key words: neuronal apoptosis; Parkinson's disease; ANDSystem; associative gene networks.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:**

Янкина М.А., Сайк О.В., Деменков П.С., Хуснутдинова Э.К., Робаев Е.И., Лаврик И.Н., Иванисенко В.А. Анализ взаимодействия генов нейронального апоптоза в ассоциативной генной сети болезни Паркинсона. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(1):153-160. DOI 10.18699/VJ18.343

**HOW TO CITE THIS ARTICLE:**

Yankina M.A., Saik O.V., Demenkov P.S., Khusnutdinova E.K., Rogaev E.I., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Analysis of the interactions of neuronal apoptosis genes in the associative gene network of Parkinson's disease. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(1):153-160. DOI 10.18699/VJ18.343 (in Russian)

Болезнь Паркинсона (БП) характеризуется медленной прогрессирующей дегенерацией дофаминергических нейронов в черной субстанции. Патология проявляется в виде нарушений двигательных функций, включая тремор, гипокинезию, мышечную ригидность и постуральную неустойчивость. Болезнь часто сопровождается вегетативными и психическими расстройствами и неуклонно прогрессирует с неблагоприятным прогнозом (Reichmann et al., 2016). Это одно из наиболее распространенных нейродегенеративных расстройств, от которого в мире страдает от 7 до 10 млн человек (Staudt et al., 2016), в России это число составляет порядка 210 тыс. человек (Раздорская и др., 2016). В настоящее время не существует эффективных лекарств против данного заболевания (Jha et al., 2015). Известно, что программируемая смерть нейронов – один из ключевых факторов патогенеза нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Паркинсона (Mochizuki et al., 1996; Anglade et al., 1997; Kountouras et al., 2012; Nixon, Yang, 2012; Pal et al., 2016). В норме нейрональный апоптоз выполняет важнейшую физиологическую роль в нервной системе при нейрогенезе. При этом происходит апоптотическая гибель большого количества избыточных нейронов, таким образом поддерживается баланс клеток в развивающейся нервной системе (Franklin, 2011; Kristiansen, Ham, 2014). Важными факторами, регулирующими апоптоз, являются гены семейства *Bcl-2*. В него входят антиапоптотические (*Bcl-2*, *Bcl-xL*, *Bcl-w*, *Bcl-1*) и проапоптотические (*Bax*, *Bak*, *Bad*, *Bid*) гены. Запуск апоптоза во многом зависит от соотношения про- и антиапоптотических белков семейства *Bcl-2* (Li et al., 2017b). Известно, что у пациентов, страдающих БП, наблюдается сниженный уровень экспрессии антиапоптотических *Bcl-2* генов (Yalçınkaya et al., 2016), повышенный уровень экспрессии гена *Bax*, а также увеличение активности каспаз-3, -8 и -9 в дофаминергических нейронах (Dauer, Przedborski, 2003). Обнаружено, что у пациентов с БП уровень ФНО- $\alpha$ , способный индуцировать апоптоз через рецептор p55, повышен в глиальных клетках черной субстанции, а экспрессия рецептора ФНО- $\alpha$  p55 активирована в дофаминергических нейронах (Voika et al., 1994). Установление дополнительных генов, которые могут отвечать за нарушения в нейрональном апоптозе при болезни Паркинсона, является актуальной задачей. Данные исследования могут помочь в предсказании новых

лекарственных мишеней, а также в поиске молекулярных маркеров заболевания.

Современные компьютерные подходы к анализу молекулярных механизмов сложных патофизиологических состояний и процессов основаны на реконструкции и анализе генных сетей, описывающих взаимосвязи между генами, белками, метаболитами и другими биологическими объектами, ассоциированными с патологией. Ранее нами была разработана система ANDSystem, предназначенная для автоматического извлечения знаний из научных публикаций и реконструкции на этой основе ассоциативных генных сетей, описывающих молекулярно-генетические механизмы биологических процессов и патологий (Demenev et al., 2012; Ivanisenko et al., 2015). В частности, с использованием ANDSystem проводился анализ протеомных данных по исследованию *Helicobacter pylori* (Momyaliev et al., 2010); протеомного профиля мочи в норме и при действии факторов космического полета (Larina et al., 2015; Pastushkova et al., 2015); тканеспецифического эффекта нокаута генов и поиск потенциальных мишеней для лекарственных препаратов (Petrovskiy et al., 2015); генных сетей жизненного цикла вируса гепатита С (Popik et al., 2016); коморбидных отношений бронхиальной астмы и туберкулеза (Bragina et al., 2014), гестоза, диабета и ожирения (Glotov et al., 2015), глаукомы (Saik et al., 2017); поиск новых генов-кандидатов восприимчивости к туберкулезу (Bragina et al., 2016).

В настоящей работе решалась задача характеристики важности генов нейронального апоптоза в БП на основе применения стандартных методов приоритизации, а также методов ANDSystem, учитывающих структуру генной сети, включающей 630 генов/белков, ассоциированных с БП (ассоциативная генная сеть БП). Анализ информации о молекулярно-генетических взаимодействиях генов нейронального апоптоза с генами, ассоциированными с БП, позволил предложить новые гены-кандидаты для планирования экспериментов по генотипированию.

## Материалы и методы

Список генов, вовлеченных в нейрональный апоптоз (GO:0051402), получен с помощью системы AmiGO 2 (Ashburner et al., 2000).

Реконструкция ассоциативных генных сетей, описывающих молекулярно-генетические взаимодействия между

генами и белками, осуществлялась с использованием системы ANDSystem (Demenev et al., 2012; Ivanisenko et al., 2015).

Центральности вершин по степени (degree centrality), по близости (closeness centrality) и по посредничеству (betweenness centrality) в генной сети оценивались с помощью пакета networkx, реализованного на языке программирования Python (Hagberg et al., 2008). Центральность по степени характеризует число связей вершины с другими вершинами в графе. Центральность по близости описывает, насколько близко вершина расположена к остальным вершинам сети. Показатель центральности по посредничеству определяется числом наикратчайших путей между всеми парами вершин анализируемого графа, проходящих через заданную вершину. Статистическая значимость отличий средних значений центральностей генов нейронального апоптоза от таковых всех генов ассоциативной генной сети БП оценивалась согласно непараметрическому критерию Манна–Уитни. Для расчетов использовалась функция wilcox.test пакета Mann-Whitney-Wilcoxon Test, реализованного на языке программирования R (<https://stat.ethz.ch/R-manual/R-devel/library/stats/html/wilcox.test.html>). Для учета поправки на непрерывность задавалось значение параметра correct = TRUE.

Первый критерий приоритизации рассчитывался с помощью программы ToppGene (<https://toppgene.cchmc.org/prioritization.jsp>). Все настройки использовались по умолчанию. В качестве тестового набора подавался список генов нейронального апоптоза, в качестве обучающего – список генов БП, не вовлеченных в нейрональный апоптоз таким образом, чтобы списки не пересекались.

Второй критерий рассчитывали с помощью системы для приоритизации генов Endeavour version: 3.71 (<https://endeavour.esat.kuleuven.be/Endeavour.aspx>). Были применены настройки, заданные по умолчанию. Тестовый и тренировочный наборы генов использовались такие же, как и для первого критерия приоритизации.

Третьим критерием приоритизации был показатель центральности CTC (cross-talk centrality), рассчитываемый с помощью функции Intelligent Filtration программы ANDVisio. Центральность CTC вычислялась по формуле:

$$CTC_i = N_i/M, \quad (1)$$

где  $N_i$  – число связей  $i$ -го гена с участниками ассоциативной генной сети БП в глобальной сети (базе знаний) ANDSystem;  $M$  – число участников (вершин) ассоциативной генной сети БП.

Для расчета четвертого критерия приоритизации использовался показатель специфичности CTS (cross-talk specificity) функции Intelligent Filtration программы ANDVisio. Расчет специфичности CTS осуществлялся по формуле:

$$CTS_i = N_i/K_i, \quad (2)$$

где  $K_i$  – общее число связей  $i$ -го гена в глобальной сети (базе знаний) ANDSystem.

Показателем приоритета гена для комбинированных критериев, основанных на усреднении рангов, являлось среднее значение рангов для этого гена, полученных по индивидуальным критериям, входящим в рассматриваемые комбинации: CTC/CTS, CTC/ToppGene, CTC/Endeavour,

CTC/CTS/ToppGene, CTC/CTS/Endeavour, CTC/Endeavour/ToppGene, CTC/CTS/Endeavour/ToppGene.

Показатель приоритета гена для комбинированных критериев, основанных на голосовании, рассчитывался как число индивидуальных критериев (CTS, CTS, ToppGene, Endeavour), согласно которым ген попадал в список 10, 20, 50 и 100 наиболее приоритетных генов.

Оценка качества критериев приоритизации проводилась с помощью анализа обогащенности отранжированных списков генов генами, ассоциированными с БП, по данным ANDSystem. Процедура включала в себя следующие шаги: на первом шаге для формирования обучающего набора генов из списка генов, ассоциированных с БП, были удалены гены нейронального апоптоза. Исключенные гены составили список контроля (Приложение 1<sup>1</sup>); на следующем шаге с использованием разработанных критериев проводилась приоритизация генов нейронального апоптоза, включая гены контроля. Анализ обогащенности проводился для 10, 20, 50 и 100 наиболее приоритетных генов, отранжированных на основе критериев приоритизации. Оценка статистической значимости обогащенности генами контроля списка топ-генов осуществлялась программой GeneProf (Halbritter et al., 2012) с использованием гипергеометрического распределения.

Перепредставленность GO биологических процессов в изучаемых наборах генов выявлялась с помощью системы DAVID 6.8 (Huang et al., 2009). Для корректировки на множественное сравнение использовалась поправка FDR.

## Результаты и обсуждение

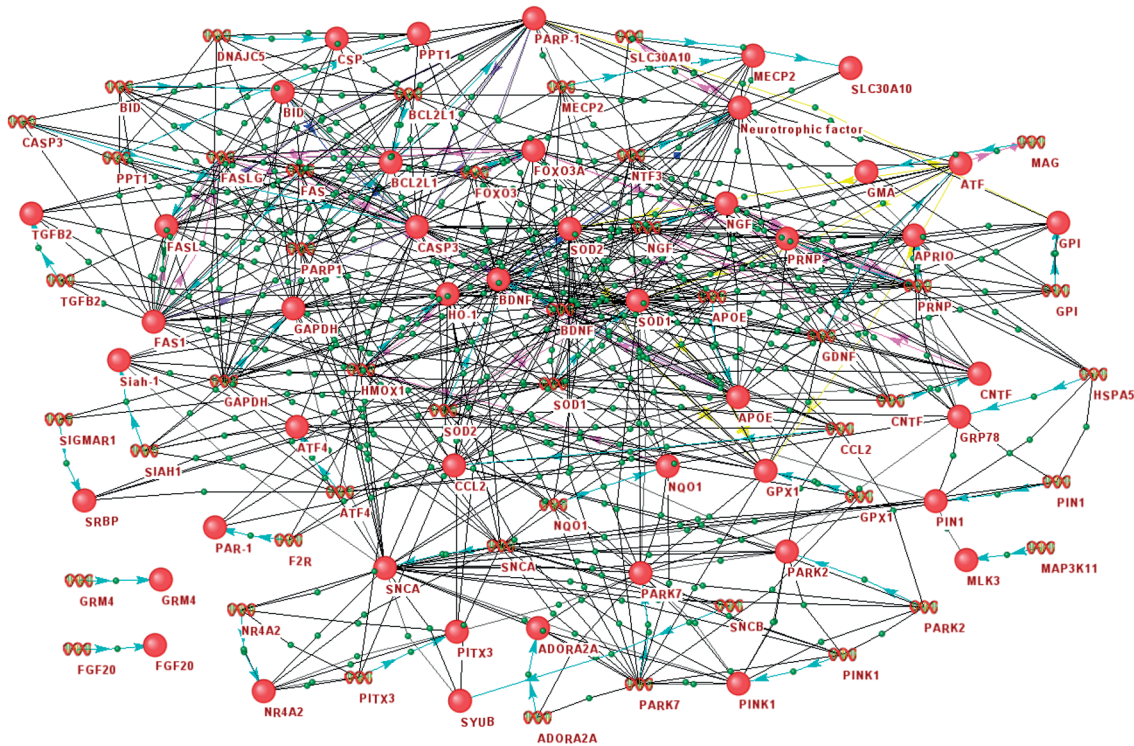
Ассоциативная генная сеть БП, реконструированная с помощью системы ANDSystem, включала 630 генов/белков, вовлеченных в болезнь Паркинсона, и 15924 связей. Основное количество связей было представлено связями типа «ассоциация» (12815), «белок-белок взаимодействия» (1761), «регуляция активности» (460), «регуляция экспрессии» (203), а остальные 685 связей относились к регуляции транспорта, регуляции деградации, каталитическим реакциям и т. д.

Для осуществления приоритизации генов по их потенциальной важности для патогенеза БП рассматривался список из 218 генов, экстрагированных из системы AmiGO 2, связанных с категорией «нейрональный апоптоз» (GO:0051402) Gene Ontology. Оказалось, что в списке генов, ассоциированных с БП, присутствует 45 генов из 218, вовлеченных в нейрональный апоптоз. Фрагмент ассоциативной генной сети БП, включающий гены нейронального апоптоза, показан на рисунке.

Среди генов, одновременно ассоциированных с БП и являющихся участниками нейронального апоптоза, преимущественно были представлены гены, вовлеченные в положительную и отрицательную регуляцию нейронального апоптоза (GO:0043525, p-value < 10<sup>-7</sup> и GO:0043524, p-value < 10<sup>-36</sup>), а также ответ клетки на оксидативный стресс (GO:0034599, p-value < 10<sup>-4</sup>) и др., согласно анализу перепредставленности DAVID.

Анализ центральности вершин в ассоциативной генной сети БП, соответствующих 45 генам нейронального

<sup>1</sup> Приложения 1 и 2 см. по адресу: <http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2018-22/appx3.pdf>



Ассоциативная генная сеть, включающая гены нейронального апоптоза, ассоциированные с болезнью Паркинсона.

**Таблица 1.** Средние значения показателей центральностей вершин в ассоциативной генной сети БП

Показатель центральности	Среднее значение центральности		p-value*
	по всем вершинам	вершин, соответствующих генам нейронального апоптоза	
По степени	0.0511	0.0668	0.0056
По близости	0.4407	0.4415	0.0216
По посредничеству	483.4648	664.9022	0.0052

\* Указано значение статистической значимости отличия средних значений центральностей, рассчитанных по всем вершинам ассоциативной генной сети БП, и вершинам, соответствующим генам нейронального апоптоза в данной сети, согласно критерию Манна–Уитни.

апоптоза, показал для них высокие значения индексов центральности по степени, близости и посредничеству. Значения индексов центральности вершин в ассоциативной генной сети БП, соответствующих генам, вовлеченным в некоторые другие биологические процессы, приведены в Приложении 2. Среднее значение центральности генов нейронального апоптоза, согласно критерию Манна–Уитни, значительно превышало среднее значение этого показателя, рассчитанное по всем генам ассоциативной генной сети БП (табл. 1), что указывает на ключевую роль данных генов в структуре генной сети.

Из табл. 1 видно, что среднее значение показателя центральности вершин по посредничеству, соответствующих генам нейронального апоптоза, наиболее значимо превышает средний показатель центральности, рассчитанный по всем вершинам сети. Этот показатель заслуживает отдельного внимания, поскольку характеризует связь вершин с наикратчайшими путями в сети, которые часто выступают в качестве путей передачи сигналов от одной вершины к другой (Gong, Zhang, 2007). Можно ожидать,

что нарушения функции генов (например, в результате мутаций), соответствующих вершинам с высоким значением данного показателя, могут существенно влиять на пути передачи сигналов, транспортные пути, метаболические и другие пути, представляющие собой цепочки взаимосвязанных генов. В частности, гены, обладающие высокой центральностью по посредничеству, участвуют в различных путях передачи сигнала. Например, ген *APOE* вовлечен в пути передачи сигнала G-белками (Cheng et al., 2015), *CASP3* – в сигнальный путь тирозинкиназного рецептора нейротропина (Steinkamp et al., 2012), *GAPDH* – в сигнальный путь HIF-1 (Nagai et al., 2014). Следует отметить, что при нейрональном апоптозе наблюдается значительное увеличение уровня экспрессии этих генов (Chen et al., 1999; Elliott et al., 2007; D’Amelio et al., 2012). Таким образом, результаты анализа центральностей генов, одновременно ассоциированных с БП и вовлеченных в нейрональный апоптоз, указывают на их потенциально важное значение для функционирования ассоциативной генной сети БП, что хорошо согласуется с данными лите-

**Таблица 2.** Обогащенность (p-value) списков генов, обладающих наивысшим приоритетом, согласно разным критериям, генами, ассоциированными с БП

Критерий <sup>#</sup>	Топ-10	Топ-20	Топ-50	Топ-100
ToppGene	0.3406	0.2082	<b>0.0086*</b>	<b>10<sup>-5*</sup></b>
Endeavour	1	0.3975	0.1047	<b>0.0001*</b>
CTC	0.0337*	<b>0.0088*</b>	<b>0.0001*</b>	<b>10<sup>-7*</sup></b>
CTS	0.1275	0.0311*	<b>0.0086*</b>	<b>0.0014*</b>
CTC/CTS	<b>0.0062*</b>	<b>0.002*</b>	<b>10<sup>-4*</sup></b>	<b>10<sup>-4*</sup></b>
CTC/ToppGene	0.1275	0.0891	<b>0.0029*</b>	<b>10<sup>-6*</sup></b>
CTC/Endeavour	0.1275	0.0891	<b>0.0086*</b>	<b>10<sup>-6*</sup></b>
CTC/CTS/ToppGene	0.1275	0.0311*	<b>0.0002*</b>	<b>10<sup>-9*</sup></b>
CTC/CTS/Endeavour	0.0337*	0.0311*	<b>0.0009*</b>	<b>10<sup>-5*</sup></b>
CTC/Endeavour/ToppGene	0.3406	0.0891	<b>0.0086*</b>	<b>10<sup>-5*</sup></b>
CTC/CTS/Endeavour/ToppGene	0.1275	0.2082	<b>0.0029*</b>	<b>10<sup>-6*</sup></b>

<sup>#</sup> В качестве комбинированных критериев использовались критерии усреднения рангов.

\* Уровень статистической значимости обогащенности ( $p < 0.05$ ), жирным шрифтом выделены значения  $p < 0.01$ .

ратуры о ключевой роли апоптоза в механизме БП (Scharira, Jenner, 2011).

Для приоритизации генов нейронального апоптоза, которые не входили в состав ассоциативной геномной сети БП, в настоящей работе использовано четыре критерия: ToppGene и Endeavour, предложенные в исследованиях (Chen et al., 2007; Tranchevent et al., 2008), а также критерии, рассчитываемые с помощью методов ANDSystem, включающие центральность CTC (cross-talk centrality) и специфичность CTS (cross-talk specificity). В качестве дополнительных критериев рассмотрено семь различных комбинаций описанных выше критериев (см. Приложение 1).

Для определения качества используемых критериев проводилась оценка обогащенности отранжированного списка генов, генами, ассоциированными с БП, которые были исключены из обучающего набора (табл. 2). Обогащенность оценивалась для 10, 20, 50 и 100 генов-кандидатов с наивысшим приоритетом согласно рассматриваемому критерию. Оказалось, что для всех 11 рассмотренных критериев списки топ-100 наиболее приоритетных генов были статистически значимо обогащены генами, ассоциированными с БП ( $p\text{-value} < 0.05$ ). При этом наилучшая статистическая значимость обогащения ( $p < 10^{-9}$ ) наблюдалась для комбинированного критерия CTC/CTS/ToppGene. Для списка топ-50 генов статистическая значимость обогащения наблюдалась для всех рассмотренных критериев, кроме Endeavour. Статистическая значимость обогащения для топ-20 была достигнута при применении двух индивидуальных критериев (CTC и CTS), а также трех комбинированных критериев (CTC/CTS, CTC/CTS/ToppGene и CTC/CTS/Endeavour). Список топ-10 был статистически значимо обогащен генами, вовлеченными в БП, в случаях использования индивидуального критерия CTC, а также двух комбинированных критериев (CTC/CTS и CTC/CTS/Endeavour). Следует отметить, что комбинированные критерии, основанные на усреднении и голосовании, показали сходные результаты.

Интересно, что наибольшая статистическая достоверность обогащения для списков топ-10, 20 и 50 наблюдалась при использовании комбинированного критерия CTC/CTS. Показатели центральности CTC и специфичности CTS отражают характер взаимодействия анализируемых вершин в глобальной ассоциативной геномной сети ANDSystem. Ассоциативная геномная сеть ANDSystem имеет сложную структуру, основанную на более 20 типах взаимодействий между объектами, включая физические, химические, регуляторные и ассоциативные связи (Ivanisenko et al., 2015). Таким образом, проведенный выше анализ показал, что учет структуры геномных сетей, описывающих взаимодействия генов из тестового набора с генами, ассоциированными с заболеванием, может существенно улучшить критерии приоритизации генов.

Для того чтобы выяснить, какие биологические процессы наиболее тесно связаны с набором 100 наиболее приоритетных генов, согласно критерию CTC, проведен анализ перепредставленности с использованием программы DAVID. Оказалось, что среди анализируемых наборов генов преимущественно представлены гены, вовлеченные в положительную и отрицательную регуляцию нейронального апоптоза (GO:0043525,  $p\text{-value} < 10^{-42}$  и GO:0043524,  $p\text{-value} < 10^{-97}$ ), так же как и в случае 45 генов нейронального апоптоза, ассоциированных с БП. Особого внимания среди выявленных значимых биологических процессов заслуживают процессы, которые не были в числе сверхпредставленных для набора генов, одновременно ассоциированных с БП и вовлеченных в нейрональный апоптоз, включая сигнальные пути MAPK (GO:0000165,  $p\text{-value} < 10^{-5}$ ) и каскад Eph-рецепторов (GO:0048013,  $p\text{-value} < 10^{-4}$ ). Известно, что сигнальные пути MAPK играют важную роль в поддержании баланса между проапоптотическим и антиапоптотическим процессами, и их нарушение может вносить вклад в БП посредством активации микроглии, нейровоспаления, окислительного стресса и апоптоза (Jha et al., 2015). Каскад Eph-рецепторов вовлечен в регуляцию роста аксонов (Sutherland et al., 2009).

**Таблица 3.** Топ-10 генов-кандидатов, обладающих наименьшим рангом при использовании критерия приоритизации CTC, и их ранги для четырех индивидуальных критериев

Ген	Genelid	Ранг	Критерии		
			Центральность CTC	Специфичность CTS	ToppGene
<i>TP53</i>	7157	1	166	7	16
<i>JUN</i>	3725	2	143	58	1
<i>BCL2</i>	596	3	114	34	36
<i>CASP3</i> <sup>#</sup>	836	4	119	52	14
<i>SOD1</i> <sup>#</sup>	6647	5	120	18	15
<i>PIK3CA</i>	5290	6	109	21	19
<i>APOE</i> <sup>#</sup>	348	7	39	11	27
<i>APP</i>	351	8	76	8	6
<i>CCL2</i> <sup>#</sup>	6347	9	108	23	51
<i>HMOX1</i> <sup>#</sup>	3162	10	38	84	96
<i>GSK3A</i> <sup>*</sup>	2931	126.5	1	97	85
<i>JAK2</i> <sup>*</sup>	3717	32	83	1	11

<sup>#</sup> Гены, ассоциированные с болезнью Паркинсона, по данным ANDSystem.

<sup>\*</sup> Гены, не входящие в список из 10 наиболее приоритетных по критерию CTC, но обладающие наилучшим рангом по критериям CTS и ToppGene.

Прямых данных об участии каскада Erb-рецепторов в патогенезе БП в литературе не приведено. Однако есть сведения о дифференциальной экспрессии участников данного процесса при БП (Sutherland et al., 2009).

Список топ-10 генов, отранжированных по критерию CTC с указанием рангов для этих генов, полученных также с использованием трех других индивидуальных критериев, показан в табл. 3 (результаты ранжирования генов по всем критериям, включая их комбинации, приведены в Приложении 2). При ранжировании согласно критерию CTC наибольшим приоритетом обладали гены *TP53*, *JUN*, *BCL2*, *CASP3*, *SOD1*, *PIK3CA*, *APOE*, *APP*, *CCL2* и *HMOX1* (см. табл. 3). Среди них пять генов (*APOE*, *CASP3*, *CCL2*, *SOD1* и *HMOX1*) были ассоциированы с БП, по данным ANDSystem. Например, известно, что продукт гена *APOE* в мозге регулирует транспорт липидов и участвует в обмене холестерина (Elliott et al., 2007). Мутации в этом гене связаны с развитием БП (Li et al., 2017a). Показано, что при апоптотической гибели нервных клеток линии SK-N-SH происходит увеличение уровня мРНК apoE, которое коррелировало с активацией каспазы-3 и с образованием апоптотических телец, а уровень белка ApoE увеличивался в восемь раз при апоптозе (Elliott et al., 2007).

Особого внимания заслуживает рассмотрение пяти генов (*TP53*, *JUN*, *BCL2*, *PIK3CA* и *APP*), попавших в табл. 3, для которых в ANDSystem не было информации об их ассоциациях с БП. Гены *TP53*, *JUN*, *BCL2* и *APP* достаточно активно обсуждаются в литературе в связи с БП (Rekha, Selvakumar, 2014; Li et al., 2016; Oh et al., 2016; Lu et al., 2017). Ген *TP53* кодирует белок-опухолевый супрессор, который регулирует многие процессы, в том числе клеточный цикл, апоптоз, старение клетки, репарацию ДНК и метаболизм. Мутации в этом гене ассоциированы с различными раковыми заболеваниями. Ген *JUN* кодирует белок c-Jun, который совместно с белком c-Fos образует транскрипционный фактор AP-1 и уча-

ствует в регуляции апоптоза, дифференцировки клеток, клеточного цикла, а также развитии опухолей. Ген *BCL2* кодирует митохондриальный интегральный мембранный белок, который блокирует апоптоз ряда клеток, в том числе нейрональных, за счет изменения проницаемости митохондриальной мембраны. Ген *APP* (amyloid beta precursor protein) кодирует рецептор клеточной поверхности и трансмембранный белок-предшественник, который расщепляется секретазой с образованием целого ряда пептидов. Мутации в этом гене имеют связь с аутосомно-доминантной формой болезни Альцгеймера и церебральным амилоидозом (Pera et al., 2013).

Особенный интерес представляет ген *PIK3CA*, ассоциации которого с БП в публикациях широко не описаны. Этот ген кодирует каталитическую субъединицу фосфатидилинозитол-3-киназы и участвует в регуляции АКТ и mTOR сигнальных путей. Мутации в этом гене ассоциированы с раком шейки матки, раком груди и другими опухолевыми заболеваниями. Ген *PIK3CA* может рассматриваться как перспективный новый кандидат для планирования экспериментов по генотипированию.

Среди генов, не входящих в список из 10 наиболее приоритетных, но обладающих наименьшим рангом при рассмотрении отдельно взятых критериев, оказались *GSK3A* (специфичность CTS) и *JAK2* (ToppGene). Для критерия Endeavour обнаружено, что ген *JUN*, обладающий наилучшим рангом, был вторым в списке 10 наиболее приоритетных по критерию CTC. Ни для одного из этих генов в ANDSystem не было информации об ассоциации с болезнью Паркинсона, что свидетельствует о важности рассмотрения комбинации критериев.

## Заключение

В настоящей работе с использованием стандартных методов приоритизации, а также критериев, основанных на анализе ассоциативных генных сетей, реконструкция

которых выполнялась с помощью ANDSystem, проведено изучение потенциальной важности генов нейронального апоптоза в ассоциативной геновой сети болезни Паркинсона. Показано, что учет в критериях приоритизации информации о структуре ассоциативных геновых сетей позволяет существенно улучшить обогащение ранжированного списка, генами, для которых известны данные об их ассоциации с БП. В частности, среди генов нейронального апоптоза, ассоциированных с БП, как наиболее значимые можно выделить *APOE*, *CASP3* и *GAPDH*. Известно, что уровень экспрессии этих генов значительно повышается при нейрональном апоптозе (Chen et al., 1999; Elliott et al., 2007; D'Amelio et al., 2012). Гены *PIK3CA*, *TP53*, *JUN*, *BCL2* и *APP* могут рассматриваться как потенциальные гены-кандидаты для дальнейшего экспериментального подтверждения их ассоциации с болезнью Паркинсона.

### Благодарности

Реконструкция и анализ ассоциативной геновой сети нейронального апоптоза выполнены при поддержке гранта РФФ «Программируемая клеточная гибель, индуцируемая через рецепторы смерти: идентификация молекулярных механизмов инициации апоптоза с помощью молекулярного моделирования» № 14-44-00011. Реконструкция ассоциативной геновой сети болезни Паркинсона проводилась при поддержке Проекта Правительства Российской Федерации № 14.B25.31.0033, постановление № 220 от 9 апреля 2010 г. Разработка программных скриптов и алгоритмов для расчета центральностей вершин графа проводилась при поддержке бюджетного проекта № 0324-2018-0017.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

Раздорская В.В., Воскресенская О.Н., Юдина Г.К. Болезнь Паркинсона в России: распространенность и заболеваемость. Саратов. науч.-мед. журн. 2016;12(3):379-384.

Anglade P., Vyas S., Javoy-Agid F., Herrero M.T., Michel P.P., Marquez J., Mouatt-Prigent A., Ruberg M., Hirsch E.C., Agid Y. Apoptosis and autophagy in nigral neurons of patients with Parkinson's disease. *Histol. Histopathol.* 1997;12(1):25-32.

Ashburner M., Ball C.A., Blake J.A., Botstein D., Butler H., Chery J.M., Davis A.P., Dolinski K., Dwight S.S., Eppig J.T., Harris M.A., Hill D.P., Issel-Tarver L., Kasarskis A., Lewis S., Matise J.C., Richardson J.E., Ringwald M., Rubin G.M., Sherlock G. Gene ontology: tool for the unification of biology. *The Gene Ontology Consortium.* *Nat. Genet.* 2000;25(1):25-29.

Boka G., Anglade P., Wallach D., Javoy-Agid F., Agid Y., Hirsch E.C. Immunocytochemical analysis of tumor necrosis factor and its receptors in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* 1994;172:151-154.

Bragina E.Y., Tiys E.S., Freidin M.B., Koneva L.A., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A., Kolchanov N.A., Puzyrev 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.Y., 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.

Chen J., Xu H., Aronow B.J., Jegga A.G. Improved human disease candidate gene prioritization using mouse phenotype. *BMC Bioinformatics.* 2007;8:392. DOI 10.1186/1471-2105-8-392.

Chen R.W., Saunders P.A., Wei H., Li Z., Seth P., Chuang D.M. Involvement of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and p53 in neuronal apoptosis: evidence that GAPDH is upregulated by p53. *J. Neurosci.* 1999;19(21):9654-9662.

Cheng W.L., Wang P.X., Wang T., Zhang Y., Du C., Li H., Ji Y. Regulator of G-protein signalling 5 protects against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Br. J. Pharmacol.* 2015;172(23):5676-5689. DOI 10.1111/bph.12991.

Dauer W., Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron.* 2003;39(6):889-909. DOI 10.1016/S0896-6273(03)00568-3.

D'Amelio M., Sheng M., Cecconi F. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis. *Trends Neurosci.* 2012;35(11):700-709. DOI 10.1016/j.tins.2012.06.004.

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.

Elliott D.A., Kim W.S., Jans D.A., Garner B. Apoptosis induces neuronal apolipoprotein-E synthesis and localization in apoptotic bodies. *Neurosci. Lett.* 2007;416(2):206-210. DOI 10.1016/j.neulet.2007.02.014.

Franklin J.L. Redox regulation of the intrinsic pathway in neuronal apoptosis. *Antioxid. Redox Signal.* 2011;14(8):1437-1448. DOI 10.1089/ars.2010.3596.

Glotov A.S., Tiys E.S., Vashukova E.S., Pakin V.S., Demenkov P.S., Saik O.V., Ivanisenko T.V., Arzhanova O.N., Mozgovaya E.V., Zainulina M.S., Kolchanov N.A., Baranov V.S., Ivanisenko V.A. Molecular association of pathogenetic contributors to pre-eclampsia (pre-eclampsia associome). *BMC Syst. Biol.* 2015;9(Suppl. 2):S4. DOI 10.1186/1752-0509-9-S2-S4.

Gong Y., Zhang Z. Alternative pathway approach for automating analysis and validation of cell perturbation networks and design of perturbation experiments. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007;1115(1):267-285.

Hagberg A., Swart P., Schult D. Exploring network structure, dynamics, and function using NetworkX. Los Alamos National Laboratory (LANL). 2008.

Halbritter F., Vaidya H.J., Tomlinson S.R. GeneProf: analysis of high-throughput sequencing experiments. *Nat. Methods.* 2012;9(1):7-8.

Huang da W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat. Protoc.* 2009;4(1):44-57. DOI 10.1038/nprot.2008.211.

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.

Jha S.K., Jha N.K., Kar R., Ambasta R.K., Kumar P. p38 MAPK and PI3K/AKT signalling cascades in Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Cell. Med.* 2015;4(2):67-86.

Kountouras J., Zavos C., Polyzos S.A., Deretzi G., Vardaka E., Giartzas-Taxidou E., Katsinelos P., Rapti E., Chatzopoulos D., Tzilves D., Stergiopoulos C., Christodoulou K. *Helicobacter pylori* infection and Parkinson's disease: apoptosis as an underlying common contributor. *Eur. J. Neurol.* 2012;19(6):e56. DOI 10.1111/j.1468-1331.2012.03695.x.

Kristiansen M., Ham J. Programmed cell death during neuronal development: the sympathetic neuron model. *Cell Death Differ.* 2014; 21(7):1025-1035. DOI 10.1038/cdd.2014.47.

Larina I.M., Pastushkova L.Kh., Tiys E.S., Kireev K.S., Kononikhina 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. Comp. Biol.* 2015;13(1):1540001. DOI 10.1142/S0219720015400016.

Li L., Liu M.S., Li G.Q., Tang J., Liao Y., Zheng Y., Guo T.-L., Kang X., Yuan M.T. Relationship between Apolipoprotein Superfamily and Parkinson's Disease. *Chin. Med. J.* 2017a;130(21):2616. DOI 10.4103/0366-6999.217092.

- Li K., Zhang J., Ji C., Wang L. MiR-144-3p and its target gene  $\beta$ -amyloid precursor protein regulate 1-methyl-4-phenyl-1,2-3,6-tetrahydropyridine-induced mitochondrial dysfunction. *Mol. Cells.* 2016; 39(7):543-549. DOI 10.14348/molcells.2016.0050.
- Li X., Zhang Y., Wang Y., Xu J., Xin P., Meng Y., Wang Q., Kuang H. The mechanisms of traditional Chinese medicine underlying the prevention and treatment of Parkinson's disease. *Front. Pharmacol.* 2017b;8:634. DOI 10.3389/fphar.2017.00634.
- Lu T., Kim P., Luo Y. Tp53 gene mediates distinct dopaminergic neuronal damage in different dopaminergic neurotoxicant models. *Neural. Regen. Res.* 2017;12(9):1413-1417. DOI 10.4103/1673-5374.215243.
- Mochizuki H., Goto K., Mori H., Mizuno Y. Histochemical detection of apoptosis in Parkinson's disease. *J. Neurol. Sci.* 1996;137(2): 120-123.
- Momynaliev K.T., Kashin S.V., Chelysheva V.V., Selezneva O.V., Demina I.A., Serebryakova M.V., Alexeev D., Ivanisenko V.A., Aman E., Govorun V.M. Functional divergence of *Helicobacter pylori* related to early gastric cancer. *J. Proteome Res.* 2010;9(1):254-267. DOI 10.1021/pr900586w.
- Nagai J., Yamamoto A., Katagiri Y., Yumoto R., Takano M. Fatty acid-bearing albumin but not fatty acid-depleted albumin induces HIF-1 activation in human renal proximal tubular epithelial cell line HK-2. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014;18;450(1):476-481. DOI 10.1016/j.bbrc.2014.05.146.
- Nixon R.A., Yang D.S. Autophagy and neuronal cell death in neurological disorders. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012;4(10). pii:a008839. DOI 10.1101/cshperspect.a008839.
- Oh Y., Jeong K., Kim K., Lee Y.S., Jeong S., Kim S.S., Yoon K.S., Ha J., Kang I., Choe W. Cyclophilin B protects SH-SY5Y human neuroblastoma cells against MPP(+)-induced neurotoxicity via JNK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016;478(3):1396-1402. DOI 10.1016/j.bbrc.2016.08.135.
- Pal R., Tiwari P.C., Nath R., Pant K.K. Role of neuroinflammation and latent transcription factors in pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurol. Res.* 2016;38(12):1111-1122.
- Pastushkova L.Kh., Kononikhin A.S., Tiys E.S., Nosovsky A.M., Dobrokhotov I.V., Ivanisenko V.A., Nikolaev E.N., Novoselova N.M., Custaud M.A., Larina I.M. Shifts in urine protein profile during dry immersion. *Aviakosm. Ekolog. Med.* 2015;49(4):15-19.
- Pera M., Alcolea D., Sánchez-Valle R., Guardia-Laguarta C., Colom-Cadena M., Badiola N., Suárez-Calvet M., Lladó A., Barrera-Ocampo A.A., Sepulveda-Falla D., Blesa R., Molinuevo J.L., Clarimón J., Ferrer I., Gelpi E., Lleó A. Distinct patterns of APP processing in the CNS in autosomal-dominant and sporadic Alzheimer disease. *Acta Neuropathol.* 2013;125(2):201-213. DOI 10.1007/s00401-012-1062-9.
- Petrovskiy E.D., Saik O.V., Tiys E.S., Lavrik I.N., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. Prediction of tissue-specific effects of gene knock-out on apoptosis in different anatomical structures of human brain. *BMC Genomics.* 2015;16(Suppl. 13):S3. DOI 10.1186/1471-2164-16-S13-S3.
- Popik O.V., Petrovskiy E.D., Mishchenko E.L., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Mosaic gene network modelling identified new regulatory mechanisms in HCV infection. *Virus Res.* 2016;218:71-78. DOI 10.1016/j.virusres.2015.10.004.
- Reichmann H., Brandt M.D., Klingelhoefer L. The nonmotor features of Parkinson's disease: pathophysiology and management advances. *Curr. Opin Neurol.* 2016;29(4):467-473. DOI 10.1097/WCO.0000000000000348.
- Rekha K.R., Selvakumar G.P. Gene expression regulation of Bcl2, Bax and cytochrome-C by geraniol on chronic MPTP/probenecid induced C57BL/6 mice model of Parkinson's disease. *Chem. Biol. Interact.* 2014;217:57-66. DOI 10.1016/j.cbi.2014.04.010.
- Saik O.V., Konovalova N.A., Demenkov P.S., Ivanisenko N.V., Ivanisenko T.V., Ivanoshchuk D.E., Konovalova O.S., Podkolodnaya O.A., Lavrik I.N., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. Molecular mechanisms of the interaction between the processes of the cell response to mechanical stress and neuronal apoptosis in primary open-angle glaucoma. *Russ. J. Genet.: Appl. Res.* 2017;7(5):558-564. DOI 10.1134/S2079059717050173.
- Schapiro A.H., Jenner P. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2011;26(6):1049-1055. DOI 10.1002/mds.23732.
- Staudt M.D., Di Sebastiano A.R., Xu H., Jog M., Schmid S., Foster P., Hebb M.O. Advances in neurotrophic factor and cell-based therapies for Parkinson's disease: A mini-review. *Gerontology.* 2016;62(3): 371-380. DOI 10.1159/000438701.
- Steinkamp M., Schulte N., Spaniol U., Pflüger C., Hartmann C., Kirsch J., von Boyen G.B. Brain derived neurotrophic factor inhibits apoptosis in enteric glia during gut inflammation. *Med. Sci. Monit.* 201;18(4):BR117-BR122.
- Sutherland G.T., Matigian N.A., Chalk A.M., Anderson M.J., Silburn P.A., Mackay-Sim A., Wells C.A., Mellick G.D. A cross-study transcriptional analysis of Parkinson's disease. *PLoS ONE.* 2009; 4(3):e4955. DOI 10.1371/journal.pone.0004955.
- Tranchevent L.C., Barriot R., Yu S., Van Vooren S., Van Loo P., Coesens B., De Moor B., Aerts S., Moreau Y. ENDEAVOUR update: a web resource for gene prioritization in multiple species. *Nucleic Acids Res.* 2008;36:W377-W384. DOI 10.1093/nar/gkn325.
- Yalçınkaya N., Haytural H., Bilgiç B., Özdemir Ö., Hanağası H., Küçükali C.İ., Özbek Z., Akcan U., İdrisoğlu H.A., Gürvit H., Tüzün E. Expression changes of genes associated with apoptosis and survival processes in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett.* 2016; 615:72-77. DOI 10.1016/j.neulet.2016.01.029.