

УДК 577.25, 577.218, 577.29

***АССОЦИАТИВНАЯ ГЕННАЯ СЕТЬ АПОПТОЗА И ЕЕ РОЛЬ В
МЕХАНИЗМАХ КОМОРБИДНОСТИ АСТМЫ И ГИПЕРТОНИИ***

Сайк О.В.

м.н.с.,

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,

Новосибирск, Россия

Деменков П.С.

к.т.н., н.с.,

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,

Новосибирск, Россия

Лаврик И.Н.

д.б.н., заведующая лабораторией,

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,

Новосибирск, Россия,

Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова,

Москва, Россия

Иванисенко В.А.

к.б.н., заведующий лабораторией,

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН,

Новосибирск, Россия

Аннотация

Коморбидные состояния заболеваний существенно утяжеляют процессы диагностики и лечения. Молекулярные механизмы коморбидных состояний астмы и гипертонии до сих пор являются плохо изученными. В настоящей работе была проведена приоритизация набора генов, с фокусом на гены апоптоза, для поиска кандидатов, ассоциированных одновременно с астмой и гипертонией. Приоритизация проводилась с использованием существующих методов (TopGene and Endeavour), а также критерия (cross-talk centrality), рассчитываемого на основе анализа ассоциативных генных сетей ANDSystem. Выявленные гены, включая IL1A, CD40LG, STAT3, IL15, FAS, APP, TLR2, C3, IL13 and CXCL10, могут являться участниками молекулярных механизмов коморбидного состояния астма/гипертония. Анализ топ 100 наиболее приоритетных кандидатов показал, что из них 46 присутствуют в генной сети апоптоза и в среднем обладают статистически значимо более высоким показателем центральности по посредничеству по сравнению со всеми вершинами в генной сети.

Ключевые слова: апоптоз, астма, гипертония, коморбидность, ANDSystem, ассоциативные генные сети, приоритизация генов

ASSOCIATIVE GENE NETWORK OF APOPTOSIS AND ITS ROLE IN THE MECHANISMS OF COMORBIDITY OF ASTHMA AND HYPERTENSION

Saik O.V.

junior researcher,

*Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the RAS,
Novosibirsk, Russia*

Demenev P.S.

researcher, PhD of Technical Sciences,

*Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the RAS,
Novosibirsk, Russia*

Lavrik I.N.

PhD of Biological Sciences, head of laboratory,

*Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the RAS,
Novosibirsk, Russia*

Lomonosov Moscow State University,

Moscow, Russia

Ivanisenko V.A.

PhD of Biological Sciences, head of laboratory,

*Institute of Cytology and Genetics, the Siberian Branch of the RAS,
Novosibirsk, Russia*

Abstract

The comorbid states of diseases significantly complicate the process of diagnosis and treatment. Molecular mechanisms of comorbid states of asthma and hypertension are

still poorly understood. In the present work, a set of genes, with a focus on the apoptosis genes, was prioritized to search for candidates associated with asthma and hypertension simultaneously. Prioritization was carried out using existing methods (ToppGene and Endeavor), as well as a criterion (cross-talk centrality), calculated on the basis of analysis of ANDSystem associative gene networks. Identified genes, including IL1A, CD40LG, STAT3, IL15, FAS, APP, TLR2, C3, IL13 and CXCL10, may be involved in the molecular mechanisms asthma/hypertension comorbidity. Analysis of the top 100 priority candidates showed that 46 of them are present in the gene network of apoptosis and, on average, have a statistically significantly higher betweenness centrality index than all vertices in the gene network.

Key words: apoptosis, asthma, hypertension, comorbidity, ANDSystem, associative gene networks, gene prioritization

Введение

Астма - хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, главными характеристиками которого являются гиперчувствительность дыхательных путей к различным стимулам и обратимая обструкция воздушного потока [10]. От астмы страдают более 300 миллионов пациентов во всем мире [9]. Гипертония характеризуется стойким повышением артериального давления от 140/90 мм рт. ст. и выше [1]. Ежегодно порядка девяти миллионов человек умирают вследствие осложнений, связанных с гипертонией [12]. В ряде работ было показано, что астма связана с увеличением заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также гипертонией [11; 15; 17]. Известно также, что процесс апоптоза играет важную роль как для астмы, так и для гипертонии [5; 7; 13; 16]. Следует отметить, что механизмы взаимодействия астмы и гипертонии и формирование их коморбидного состояния, а также роль апоптоза

в этом процессе до сих пор остаются плохо изученными. В настоящей работе была проведена приоритизация набора генов, которые ассоциированы отдельно либо с астмой, либо с гипертонией, для выявления генов-кандидатов, потенциально вовлеченных в коморбидность этих заболеваний. Также была исследована роль этих генов-кандидатов в структуре ассоциативной генной сети апоптоза, реконструированной с помощью ANDSystem.

Материалы и методы

В работе были использованы наборы генов, ассоциированных с астмой и гипертонией из базы знаний ANDSystem [4; 8]. Набор генов, ассоциированных с астмой, включал 749 генов. Набор генов, ассоциированных с гипертонией, включал 706 генов. Число генов, одновременно присутствующих в первом и во втором наборе, оказалось равным 202. Тестовый набор генов, который использовался для приоритизации, был получен путем объединения набора генов астмы и гипертонии за вычетом 202 генов пересечения этих наборов. Число генов, вошедших в тестовый набор, было равно 1051. Сверхпредставленные биологические процессы Gene Ontology были выявлены с помощью сервиса DAVID 6.8 [6] с параметрами: организм – «Homo sapiens», Gene_Ontology – «GOTERM_BP_DIRECT». Список генов, вовлечённых в апоптоз был взят из ресурса AmiGO 2 (<http://amigo.geneontology.org/amigo>). Реконструкция ассоциативных генных сетей проводилась с помощью системы ANDSystem [4; 8].

Для приоритизации генов были использованы четыре критерия, которые ранее нами обсуждались при анализе астмы, гипертонии и болезни Паркинсона [13; 19]. В качестве критериев 1 и 2 использовались известные методы приоритизации ToppGene [3] и Endeavour [18], соответственно. В качестве обучающего набора для каждого из этих методов подавался список генов, ассоциированных одновременно с астмой и гипертонией, описанный выше. В

качестве тестового набора использовался список 1051 генов, также описанный выше. При использовании TopGene в разделе «Training parameters» были выбраны все «Feature». Для ранжирования генов использовался показатель «Rank» выдачи программы TopGene. При использовании системы Endeavour все настройки задавались по умолчанию. Ранжирование генов проводилось по показателю "P-value" выдачи программы Endeavour. Наименьший ранг получал ген с наименьшим значением "P-value", а наибольший ранг – ген с наибольшим значением "P-value". Критерий 3 рассчитывался как доля биологических процессов Gene Ontology, сверхпредставленных для набора генов, ассоциированных одновременно с астмой и гипертонией, среди всех биологических процессов Gene Ontology, в которые анализируемый ген был вовлечен. Информация о том, что ген вовлечен в биологический процесс Gene Ontology бралась из системы AmiGO [2]. Ранги для генов определялись путем сортировки списка генов по убыванию доли сверхпредставленных биологических процессов Gene Ontology. Таким образом, наименьший ранг приписывался гену, для которого доля сверхпредставленных биологических процессов Gene Ontology была наибольшей. Критерий 4 был основан на использовании показателя центральности CTC (cross-talk centrality), рассчитываемого с использованием функции “Intelligent Filtration” программы “ANDVisio” [19]. В рамках этого критерия рассчитывался показатель центральности CTC отдельно для вершин в генной сети, соответствующих гену и его продукту (белку). Таким образом, для гена определялось два показателя CTC_{gene} and $CTC_{protein}$. Ранги CTC_{gene} and $CTC_{protein}$ определялись при сортировке значений по убыванию также, как и в случае критерия 3. В случае, если несколько генов имели одинаковое значение показателя критерия, по которому проводилось ранжирование, то ранг этих генов рассчитывался аналогично как при расчете коэффициента ранговой корреляции Спирмена [14]. Т.е. таким генам приписывался одинаковый ранг, равный среднему арифметическому рангов этих генов, согласно их положению, в отсортированном списке генов. В качестве 5 критерия бралось среднее значение рангов, построенных по критериям 1-4.

Результаты и обсуждение

Для приоритизации генов по их потенциальной вовлеченности одновременно в астму и гипертонию рассматривались 749 генов астмы и 706 генов гипертонии. В обучающий набор генов вошли 202 гена, представленные в обоих списках астмы и гипертонии. Приоритизация осуществлялась с использованием 4 критериев, описанных выше. Ранжирование генов проводилось по величине, рассчитываемой как среднее для рангов гена, полученных с применением каждого из 4 критериев. В числе десяти наиболее приоритетных генов оказались интерлейкины (IL1A, IL13 и IL15), рецепторы (TLR2 и FAS), лиганды (CXCL10 и CD40LG), транскрипционный фактор STAT3, фактор комплимента C3 и белок-предшественник амилоида бета (APP). Интересно отметить, что все эти гены являются генами из группы астмы. При этом, соотношение генов астмы к генам гипертонии в топ 100 наиболее приоритетных генов составило 2:1.

Для того, чтобы лучше понять, какие биологические процессы могут лежать в основе молекулярных механизмов взаимодействия между астмой и гипертонией, был проведен анализ перепредставленности Gene Ontology биологических процессов на двух наборах данных: анализировался обучающий набор генов и топ 100 наиболее приоритетных генов. Для набора генов, ассоциированных одновременно с астмой и гипертонией, оказалось 69 значимо сверхпредставленных биологических процесса ($p\text{-value} < 0.05$ с FDR коррекцией). Для топ 100 наиболее приоритетных генов число таких процессов составило 42. 22 биологических процесса были перепредставлены одновременно для этих двух наборов генов. Например, ответ на гипоксию (response to hypoxia) обладает наилучшей значимостью для обучающего набора генов ($p\text{-value} < 10^{-12}$). Во втором наборе генов значимость этого процесса составила $p\text{-value} < 10^{-8}$, а наиболее значимым был процесс ответ на воспаление «inflammatory response» ($p\text{-value} < 10^{-19}$). Например, биологический процесс отрицательная регуляция

апоптоза «negative regulation of apoptotic process» оказался сверхпредставленным одновременно для обоих наборов генов. Пересечение перепредставленных процессов составляет более 50% от числа всех перепредставленных процессов для набора топ 100 приоритетных генов. Такое большое пересечение отчасти связано с тем, что критерий приоритизации 3 был основан на учете сверхпредставленных биологических процессов. Но поскольку, при ранжировании использовался усредненный ранг по всем 4 критериям, то такое пересечение косвенно подтверждает корректность приоритизации.

Для автоматической реконструкции ассоциативной геновой сети апоптоза с помощью ANDSystem использовался набор из 1918 генов человека, экстрагированный из системы AmiGO 2 по запросу «apoptotic process» (GO:0006915). Ассоциативная геновая сеть содержала 1918 вершин, соответствующих генам, 1903 вершины, соответствующие белкам, и 71594 связи между ними. Оказалось, что среди топ 100 наиболее приоритетных генов 46 были представлены в ассоциативной геновой сети апоптоза.

На рисунке 1 приведен фрагмент ассоциативной геновой сети апоптоза, построенной с помощью ANDSystem, включающий 46 генов-кандидатов из числа топ 100 наиболее приоритетных, а также продукты этих генов. Как можно видеть из рисунка 1, эти наиболее приоритетные гены являются хорошо связанными друг с другом в ассоциативной геновой сети апоптоза.

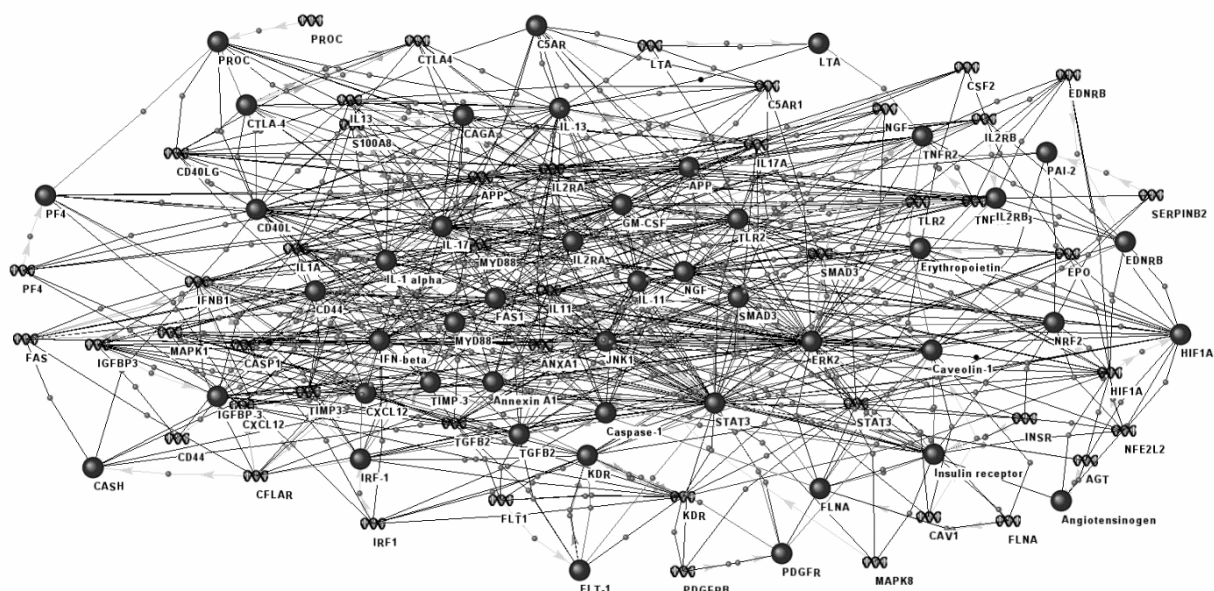


Рис.1 – Фрагмент ассоциативной генной сети апоптоза, описывающий взаимосвязи 46 генов-кандидатов, из числа топ 100 наиболее приоритетных, построенная с помощью ANDSystem.

Для выявления роли генов-кандидатов в структуре ассоциативной генной сети апоптоза нами был проведен анализ центральностей вершин генной сети по посредничеству (Betweenness centrality). Оказалось, что в среднем вершины, соответствующие генам кандидатам, имеют значительно большие показатели центральности по посредничеству (10026), чем в среднем все вершины генной сети (3106). Такое превышение является статистически значимым согласно U-критерию Манна-Уитни ($p\text{-value} < 10^{-16}$). Таким образом, было показано, что среди предложенных генов-кандидатов присутствует большое число ключевых участников ассоциативной генной сети процесса апоптоза. Можно предположить, что выявленные гены-кандидаты образуют функциональный модуль, включающий вершины, играющие ключевую роль в ассоциативной генной сети апоптоза.

Заключение

Известно, что многие заболевания являются коморбидными, что значительно осложняет их лечение, а также мешает правильной диагностике. Изучение молекулярных механизмов коморбидных состояний является актуальной задачей современной биомедицины. Астма и гипертония являются одним из примеров, распространённых коморбидных заболеваний. В данной работе для поиска генов, которые потенциально могут быть вовлечены одновременно в астму и гипертонию, использовали методы приоритизации, включающие существующие методы (TopGene and Endeavour), а также метод (cross-talk centrality), основанный на анализе ассоциативных генных сетей ANDSystem. Наиболее приоритетными оказались гены интерлейкины (IL1A, IL13 и IL15), рецепторы (TLR2 и FAS), лиганды (CXCL10 и CD40LG), транскрипционный фактор STAT3, фактор комплемента C3 и белок-предшественник амилоида бета (APP). Был проведен анализ показателей центральности по посредничеству вершин в ассоциативной генной сети апоптоза. Оказалось, что среди топ 100 наиболее приоритетных кандидатов 46 присутствуют в генной сети апоптоза и обладают статистически значимо более высоким показателем центральности по посредничеству по сравнению со всеми вершинами в генной сети. Это может свидетельствовать о перспективности дальнейшего исследования выявленных генов-кандидатов, а также о ключевой роли процесса апоптоза для формирования коморбидного состояния астмы и гипертонии. Дальнейшее изучение предсказанных генов, одновременно вовлеченных в астму и гипертонию, может помочь осветить механизмы коморбидности этих двух заболеваний.

Благодарности

Работа была выполнена при поддержке гранта РНФ «Программируемая клеточная гибель, индуцируемая через рецепторы смерти: идентификация молекулярных механизмов инициации апоптоза с помощью молекулярного моделирования» № 14-44-00011.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Библиографический список:

1. Camm A. J. The ESC textbook of cardiovascular medicine / Camm AJ, Lüscher TF, Serruys PW, editors – OXFORD university press, 2009: 1136.
2. Carbon S. AmiGO: online access to ontology and annotation data / Carbon S, Ireland A, Mungall CJ, Shu S, Marshall B, Lewis S, AmiGO Hub, Web Presence Working Group //Bioinformatics. – 2008. – Т. 25. – №. 2. – С. 288-289.
3. Chen J. Improved human disease candidate gene prioritization using mouse phenotype / Chen J, Xu H, Aronow BJ, Jegga AG //BMC bioinformatics. – 2007. – Т. 8. – №. 1. – С. 392.
4. Demenkov P. S. et al. ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem / Demenkov PS, Ivanisenko TV, Kolchanov NA, Ivanisenko VA //In silico biology. – 2012. – Т. 11. – №. 3, 4. – С. 149-161.
5. Hoppenot D. et al. Peripheral blood Th9 cells and eosinophil apoptosis in asthma patients / Hoppenot D., Malakauskas K., Lavinskienė S., Bajoriūnienė I., Kalinauskaitė V., Sakalauskas R. //Medicina. – 2015. – Т. 51. – №. 1. – С. 10-17.
6. Huang D. W. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources / Huang D. W., Sherman B. T., Lempicki R. A. //Nature protocols. – 2008. – Т. 4. – №. 1. – С. 44.
7. Ilmarinen P. Eosinophil apoptosis as a therapeutic target in allergic asthma / Ilmarinen P., Kankaanranta H. //Basic & clinical pharmacology & toxicology. – 2014. – Т. 114. – №. 1. – С. 109-117.
8. Ivanisenko V. A. et al. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology / Ivanisenko VA, Saik OV,

Ivanisenko NV, Tiys ES, Ivanisenko TV, Demenkov PS, Kolchanov NA //BMC systems biology. – 2015. – T. 9. – №. 2. – C. S2.

9. Katwa U. Asthma Management in the Era of Smart-Medicine: Devices, Gadgets, Apps and Telemedicine / Katwa U, Rivera E // The Indian Journal of Pediatrics. – 2018. – C. 1-6.

10. Lim T. K. et al. Year in review 2016: chronic obstructive pulmonary disease and asthma / Lim TK, Ko FW, Benton MJ, Berge MV, Mak J // Respirology. – 2017. – T. 22. – №. 4. – C. 820-828.

11. Prosser R. The comorbidity burden of the treated asthma patient population in British Columbia / Prosser R, Carleton B, Smith A. //Chronic Diseases and Injuries in Canada. – 2010. – T. 30. – №. 2.

12. Russo A. Advances in the Genetics of Hypertension: The Effect of Rare Variants / Russo A, Di Gaetano C, Cugliari G, Matullo G. //International journal of molecular sciences. – 2018. – T. 19. – №. 3. – C. 688.

13. Saik O. V. et al. Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene networks / Saik OV, Demenkov PS, Ivanisenko TV, Bragina EY, Freidin MB, Goncharova IA, Dosenko VE, Zolotareva OI, Hofstaedt R, Lavrik IN, Rogaev EI //BMC medical genomics. – 2018. – T. 11. – №. 1. – C. 15.

14. Spearman C. 'Footrule' for measuring correlation / Spearman C. //British Journal of Psychology, 1904-1920. – 1906. – T. 2. – №. 1. – C. 89-108.

15. Su X. et al. Prevalence of comorbidities in asthma and nonasthma patients: a meta-analysis / Su X, Ren Y, Li M, Zhao X, Kong L, Kang J //Medicine. – 2016. – T. 95. – №. 22.

16. Sun Y. Induction of apoptosis by hypertension via endoplasmic reticulum stress/ Sun Y., Zhang T., Li L., Wang J. // Kidney and Blood Pressure Research. – 2015. – T. 40. – №. 1. – C. 41-51.

17. Tattersall M. C. et al. Asthma predicts cardiovascular disease events: the multi-ethnic study of atherosclerosis / Tattersall MC, Guo M, Korcarz CE, Gepner AD, Kaufman JD, Liu KJ, Barr RG, Donohue KM, McClelland RL, Delaney JA, Stein JH. // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2015. – Т. 35. – №. 6. – С. 1520-1525.
18. Tranchevent L. C. Candidate gene prioritization with Endeavour / Tranchevent LC, Ardeshirdavani A, ElShal S, Alcaide D, Aerts J, Auboeuf D, Moreau Y // *Nucleic acids research*. – 2016. – Т. 44. – №. W1. – С. W117-W121.
19. Янкина М. А. Анализ взаимодействия генов нейронального апоптоза в ассоциативной геномной сети болезни Паркинсона / Янкина М. А., Сайк О. В., Деменков П. С., Хуснутдинова Э. К., Рогаев Е. И., Лаврик И. Н., Иванисенко В. А. // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2018. – Т. 22. – №. 1. – С. 153-160.