

УДК 577.25, 577.218, 577.29

***АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ НЕЙРОНАЛЬНОГО АПОПТОЗА И  
ГЕНОВ БОЛЬШОГО ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА В ЕГО  
АССОЦИАТИВНОЙ ГЕННОЙ СЕТИ***

***Янкина М.А.***

*м.н.с.,*

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,  
Уфа, Россия*

***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*

***Хуснутдинова Э.К.***

*д.б.н., профессор, заведующая кафедрой,*

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,  
Башкирский государственный университет,  
Уфа, 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**

Большое депрессивное расстройство (БДР) является одной из основных причин временной нетрудоспособности людей в России и мире. В настоящее время особое внимание уделяется нейрональному апоптозу как одному из важных факторов в молекулярном механизме БДР. Перспективным подходом к изучению сложных молекулярно-генетических процессов в системной биологии является применение методов реконструкции и анализа генных сетей. Целью работы был анализ приоритезации генов нейронального апоптоза с учетом их роли в структуре генной сети БДР. Приоритезация генов нейронального апоптоза проводилась с использованием стандартных методов (Endeavor и TopGene), а также методов ANDSystem, ранее разработанной нами программы автоматического извлечения знаний из текстов научных публикаций и реконструкции на этой основе генных сетей. Анализ результатов приоритезации позволил выявить 6 генов-кандидатов (*BDNF*, *GRIN1*, *APP*, *F2R*, *FASLG* и *PPARGC1A*) для дальнейшего экспериментального изучения их роли в БДР.

**Ключевые слова:** нейрональный апоптоз, большое депрессивное расстройство, депрессия, генные сети, приоритезация, ANDSystem, специфичность вершин графа, центральность вершин графа, анализ графов.

***ANALYSIS OF INTERACTION OF NEURONAL APOPTOSIS GENES AND  
MAJOR DEPRESSIVE GENES IN ASSOCIATIVE GENE NETWORKS***

***Yankina M.A.***

*junior researcher,*

*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Centre, RAS,  
Ufa, Russia*

***Saik O.V.***

*junior researcher,*

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

***Demenkov P.S.***

*researcher, PhD of Technical Sciences,*

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

***Khusnutdinova E.K.***

*PhD of Biological Sciences, professor, head of department,*

*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Centre, RAS,  
Башкирский государственный университет,  
Ufa, 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**

Major depressive disorder (MDD) is one of the main causes of temporary disability of people in Russia and world. At present, special attention is paid to neuronal apoptosis as one of the important factors in molecular mechanisms of MDD. A promising approach to the study of complex molecular genetic processes in systems biology is the reconstruction and analysis of gene networks. The aim of this study was to analyze the prioritization of neuronal apoptosis genes taking into account their role in the structure of MDD gene network. Prioritization of neuronal apoptosis genes was performed using standard methods (Endeavor and ToppGene), as well as the ANDSystem methods. ANDSystem was previously developed by us for automatic extraction of knowledge from scientific publications and reconstruction of gene networks on this basis. Analysis of gene prioritization results revealed six candidate genes (BDNF, GRIN1, APP, F2R, FASLG and PPARGC1A) for further experimental study of their role in MDD.

**Key words:** neuronal apoptosis, major depressive disorder (MDD), depression, gene networks, prioritization, ANDSystem, specificity of graph vertices, centrality of graph vertices, graph analysis

## **Введение**

Большим депрессивным расстройством (БДР) является психическое расстройство, характеризующееся как минимум двумя неделями сниженного настроения, присутствующего в большинстве ситуаций. Большое депрессивное расстройство может отрицательно повлиять на личную и трудовую жизнь человека, а также на общее состояние здоровья. Большинство людей, умерших от самоубийства, имели БДР или подобное ему расстройство [13]. В литературе

обсуждается связь между депрессивными расстройствами и процессами нейронального апоптоза [3; 14].

Перспективным подходом к изучению молекулярных механизмов сложных патофизиологических состояний и процессов является реконструкция и анализ ассоциативных генных сетей, описывающих взаимосвязи между молекулярно-генетическими объектами, ассоциированными с патологией. Реконструкция генных сетей представляет большую сложность, поэтому для решения этой задачи широко используются методы автоматического извлечения знаний из текстов научных публикаций. Ранее нами была разработана компьютерная система ANDSystem, осуществляющая экстракцию информации из текстов научных публикаций в предметной области исследования, необходимой для реконструкции на этой основе генных сетей, описывающих механизмы заболеваний [6; 11].

Целью настоящей работы был анализ приоритезации генов нейронального апоптоза с учетом их роли в структуре генной сети БДР, реконструированной с помощью ANDSystem. Для приоритезации генов использовался комбинированный подход, включающий стандартные методы (Endeavor и TopGene) и методы ANDSystem для анализа генных сетей.

### **Материалы и методы**

В данной работе для приоритезации использовались четыре критерия:

- 1) программа TopGene (<https://toppgene.cchmc.org/prioritization.jsp>);
- 2) система Endeavour version: 3.71 (<https://endeavour.esat.kuleuven.be/Endeavour.aspx>);
- 3) показатель центральности CTC (cross-talk centrality), рассчитываемый с использованием функции “Intelligent Filtration” программы “ANDVisio”;
- 4) показатель специфичности CTS (cross-talk specificity) функции “Intelligent Filtration” программы “ANDVisio”.

Все настройки программ TopGene и Endeavour использовались по умолчанию. В качестве тестового набора подавался список генов нейронального апоптоза, в качестве обучающего – список генов БДР, не вовлеченных в нейрональный апоптоз, таким образом, чтобы списки не пересекались.

Показатель центральности CTC рассчитывался по формуле:

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

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

Показатель специфичности CTS рассчитывался 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.

Показатели центральности CTC и специфичности CTS позволяют оценить степень взаимодействия любых вершин из глобальной сети ANDSystem с некой подсетью, в том числе и тех вершин, которые не входят в анализируемую подсеть (в настоящей работе в генную сеть БДР).

Список генов, вовлеченных в нейрональный апоптоз (GO:0051402), был получен с помощью базы данных AmiGO 2 [2]. Данный список включал в себя 218 генов. Список генов, ассоциированных с БДР, был взят из базы данных MalaCards по идентификатору MJR011 [17], включал в себя 21 ген.

Для анализа обогащенности наборов генов участниками Gene Ontology биологических процессов и клеточных компонент использовалась система DAVID 6.8 [9].

Статистический анализ обогащенности списка генов, обладающих наилучшим приоритетом, генами контроля проводилась с использованием гипергеометрического распределения, реализованного в программе GeneProf (<http://www.geneprof.org>).

## Результаты и обсуждение

Результат приоритезации генов-кандидатов с использованием четырех описанных выше критериев представлен в таблице 1 и на рисунке 1. Данная таблица содержит 8 генов с наилучшим рангом. Два первых положения в этой таблице занимают гены *HTR2A* и *TPH2*, которые были рассмотрены в качестве контроля. Всего для контроля были взяты три гена из базы данных OMIM (<https://www.omim.org>), ассоциированных с БДР: *HTR2A*, *TPH2* и *FKBP5*. Эти гены не присутствовали в списке генов для обучения, поэтому их высокое положение двух из трех генов в итоговой таблице рангов может свидетельствовать о корректности применения данного подхода к приоритезации генов.

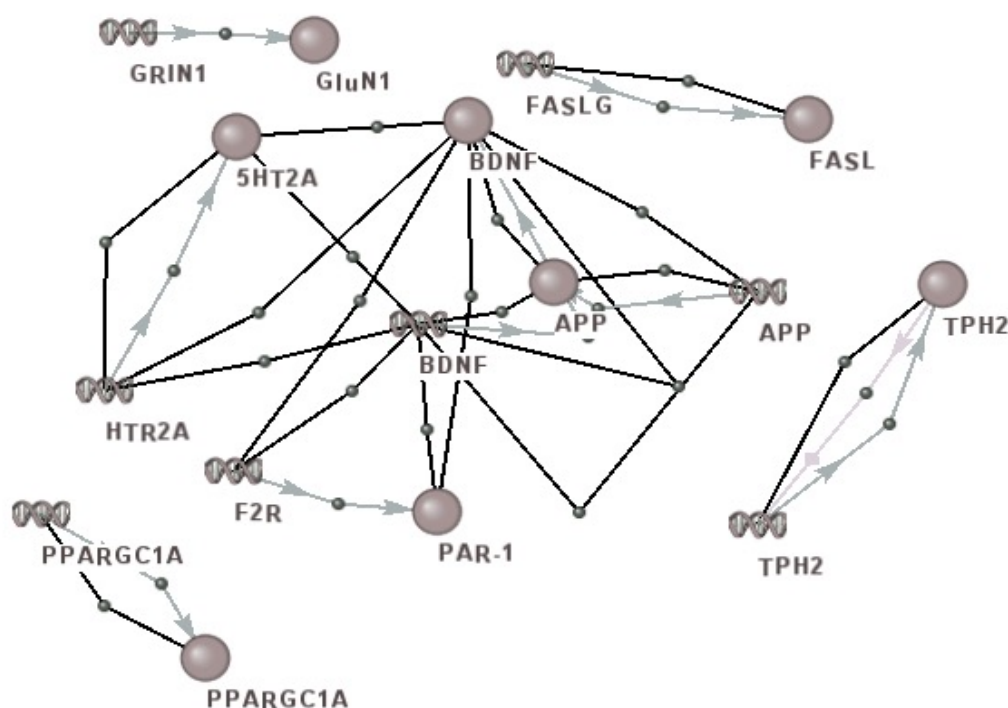


Рисунок 1. Ассоциативная генная сеть, содержащая гены, белки и их взаимодействия из списка генов топ 8, обладающих наилучшим рангом.

Статистический анализ показал, что обогащенность генами контроля списка генов топ 8 статистически значима ( $p\text{-value} < 0,01$ ).

Таблица 1. Приоритезация новых генов-кандидатов из числа генов, вовлеченных в нейрональный апоптоз, не ассоциированных с большим депрессивным расстройством

| Гены                    | GeneId | Ранг TopGen | Ранг Endeavor | Ранг центральность ген/генная сеть ANDSystem | Ранг специфичность ген/генная сеть ANDSystem | Средний ранг |
|-------------------------|--------|-------------|---------------|--|--|--------------|
| HTR2A <sup>#</sup>      | 3356   | 1           | 1             | 2  | 4  | 2            |
| TPH2 <sup>#</sup>       | 121278 | 5           | 19            | 3  | 2  | 7,25         |
| BDNF <sup>*</sup>       | 627    | 2           | 31            | 1  | 9  | 10,75        |
| GRIN1 <sup>*</sup>      | 2902   | 4           | 3             | 34   | 11   | 13           |
| APP <sup>*</sup>        | 351    | 8           | 8             | 19,5   | 34   | 17,375       |
| F2R <sup>*</sup>        | 2149   | 13          | 28            | 19,5   | 16   | 19,125       |
| FASLG <sup>*</sup>      | 356    | 40          | 16            | 5,5  | 19   | 20,125       |
| PPARGC1A <sup>*</sup>   | 10891  | 16          | 44            | 19,5   | 12   | 22,875       |
| TFAP2B <sup>&amp;</sup> | 7021   | 113         | 64            | 19,5   | 1  | 49,375       |

<sup>#</sup> гены, ассоциированные с БДР по данным ANDSystem;

<sup>\*</sup> гены-кандидаты;

<sup>&</sup> ген, не входящий в список из 8 наиболее приоритетных, но обладающий наилучшим рангом по одному из критериев.

Оказалось, что среди 8-ми наиболее приоритетных генов статистически значимо ( $p\text{-value} < 0,05$ ) представлены гены, участвующие в негативной регуляции нейронального апоптотического процесса, двигательное поведение взрослых и др. Интересно отметить тот факт, что статистически значимым ( $p\text{-value} < 0,05$ ) также была представлена клеточная компонента мембранного рафта (GO:0005901). Среди генов, участвующих в данной клеточной компоненте, в анализируемом списке оказались *HTR2A*, *FASLG* и *F2R*. Известно, что



клеточные мембранные рафты играют роль в передаче сигналов рецепторами G-белков (G-protein coupled receptors) при БДД и лечении антидепрессантами [5].

Среди генов-кандидатов наивысшим приоритетом обладал ген *BDNF* (brain derived neurotrophic factor), который активно обсуждается в литературе в связи с депрессивными расстройствами (см. таблицу). Известно, что ген *BDNF* функционирует как основной регулятор синаптической передачи и пластичности у взрослых синапсов во многих регионах центральной нервной системы [16]. Данный ген действует на определенные нейроны центральной и периферической нервных систем, важен для долговременной памяти [4]. Показано, что полиморфизм гена *BDNF* может влиять на генетическую восприимчивость к БДР [10].

Вторым по приоритету оказался ген *GRIN1* (glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 1), кодирующий белок, являющийся критической субъединицей рецепторов N-метил-D-аспартата (N-methyl-D-aspartate receptors), а также членов супер-семейства глутаматного рецепторного канала (glutamate receptor channel superfamily). Этот белок играет ключевую роль в синаптической пластичности, синаптогенезе, эксцитотоксичности, обучении и памяти; имеется связь мутаций в этом гене и задержки умственного развития [8].

Ген *APP* (amyloid beta precursor protein), занимающий третью позицию среди генов-кандидатов, кодирует мембранный рецептор и трансмембранный белок-предшественник, который расщепляется секретазами с образованием целого ряда пептидов. В литературе обсуждается роль данного гена в механизме депрессивных расстройств. Показано, что повышается уровень экспрессии гена при стрессе, роль которого общепринята в психических заболеваниях, таких, как депрессия [18]. Кроме того, в литературе описана связь мутаций в этом гене с болезнью Альцгеймера [15].

Ген *F2R* (coagulation factor II thrombin receptor) занимает четвертое положение в результирующей таблице. Этот ген является членом семейства

рецепторов, связанных с G-белками, может играть роль в активации тромбоцитов и в развитии сосудов [12].

Следующими в таблице оказались гены: *FASLG*, *PPARGC1A*.

Продукт гена *FASLG* (fas ligand) представляет собой трансмембранный белок типа II, который относится к семейству опухолевого некроза; данный ген играет роль в регуляции иммунной системы и прогрессировании рака [1]. Ген *PPARGC1A* (PPARG coactivator 1 alpha) представляет собой транскрипционный коактиватор для стероидных рецепторов и ядерных рецепторов. Данный ген связан с регуляцией ключевых митохондриальных генов, которые вносят вклад в программу адаптивного термогенеза. Известно, что он играет важную роль в перепрограммировании метаболизма, участвует в интеграции циркадных ритмов и энергетического обмена [7].

Особый интерес представляют гены *GRIN1*, *F2R*, *FASLG* и *PPARGC1A*, ассоциации которых с депрессивным расстройством в публикациях широко не описаны. Эти гены могут рассматриваться как перспективные новые кандидаты для планирования экспериментов по генотипированию. Исследование роли этих генов в патогенезе может позволить выявить новые механизмы БДР, на основе которых могут быть предложены новые подходы к лечению.

Следует отметить, что ген *TFAP2B* (transcription factor AP-2 beta) не вошел в топ 8, однако обладает наилучшим рангом согласно критерию специфичности взаимодействия этого гена с генами БДР в базе знаний ANDSystem. Оказалось, что большая доля всех связей этого гена в глобальной сети ANDSystem относится именно к связям с генами БДР. В связи с этим *TFAP2B* может оказывать комплексное влияние на функционирование генов БДР и быть важным участником механизма данного расстройства.

### **Заключение**

С использованием компьютерных методов анализа ассоциативных генных сетей проведена приоритезация генов нейронального апоптоза, характеризующая их потенциальную роль в механизме БДР. Предложены

новые гены-кандидаты для дальнейших экспериментальных исследований механизмов депрессивных расстройств. Наибольший интерес могут представлять гены-кандидаты *GRIN1*, *F2R*, *FASLG* и *PPARGCIA*, обладающие высоким приоритетом, при этом ранее широко не обсуждавшиеся в литературе в связи с депрессивными расстройствами.

### **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. Alderson M. R. Fas ligand mediates activation-induced cell death in human T lymphocytes / M. R. Alderson, T. W. Tough, T. Davis-Smith, S. Braddy, B. Falk, K. A. Schooley, R. G. Goodwin, C. A. Smith, F. Ramsdell, D. H. Lynch // *J Exp Med.* – 1995. – V. 181. - № 1. – P. 71-77.
2. Ashburner M. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium / M. Ashburner, C A. Ball, J. A. Blake, D. Botstein, H. Butler, J. M. Cherry, A. P. Davis, K. Dolinski, S. S. Dwight, J. T. Eppig, M. A. Harris, D. P. Hill, L. Issel-Tarver, A. Kasarskis, S. Lewis, J. C. Matese, J. E. Richardson, M. Ringwald, G. M. Rubin, G. Sherlock // *Nature Genetics* – 2000. – V. 25. - № 1. – P. 25-29.
3. Bachis A. Chronic unpredictable stress promotes neuronal apoptosis in the cerebral cortex / A. Bachis, M. I. Cruz, R. L. Nosheny, I. Mocchetti // *Neurosci Lett.* - 2008. - V. 442 - № 2. – P. 104-108.
4. Bekinschtein P. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage / P. Bekinschtein, M. Cammarota, C. Katche, L. Slipczuk, J. I. Rossato, A.

Goldin, I. Izquierdo, J. H. Medina // *Psychiatry Res.* - 2015. - V. 233 - № 2. – P. 120-124.

5. Czysz A. H. Lateral Diffusion of Gαs in the Plasma Membrane Is Decreased after Chronic but not Acute Antidepressant Treatment: Role of Lipid Raft and Non-Raft Membrane Microdomains / A. H. Czysz, J. M. Schappi, M. M. Rasenick // *Neuropsychopharmacology.* - 2015. - V. 40 - № 3. – P. 766–773.

6. Demenkov P. S. ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem / P. S. Demenkov, T. V. Ivanisenko, N. A. Kolchanov, V. A. Ivanisenko // *In Silico Biology.* - 2012. - V. 11 - № 3-4. – P. 149-161.

7. Dominy J. J. Nutrient-dependent regulation of PGC-1α's acetylation state and metabolic function through the enzymatic activities of Sirt1/GCN5 // J. J. Dominy , Y. Lee, Z. Gerhart-Hines, P. Puigserver // *Biochim Biophys Acta.* - 2010. - V. 1804 - № 8. – P. 1676-1683.

8. Hamdan FF. Excess of de novo deleterious mutations in genes associated with glutamatergic systems in nonsyndromic intellectual disability. / F. F. Hamdan, J. Gauthier, Y. Araki, D. T. Lin, Y. Yoshizawa, K. Higashi, A. R. Park, D. Spiegelman, S. Dobrzyniecka, A. Piton, H. Tomitori, H. Daoud, C. Massicotte, E. Henrion, O. Diallo // *Am J Hum Genet.* 2011. - V. 88 - № 3. – P. 306-316.

9. Huang W. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources / W. Huang, B. T. Sherman, R. A. Lempicki // *Nature Protocols.* - 2009. - V. 4 - № 1. – P. 44-57.

10. Ide S. Relationship between a BDNF gene polymorphism and the brain volume in treatment-naive patients with major depressive disorder: A VBM analysis of brain MRI / S. Ide, S. Kakeda, K. Watanabe, R. Yoshimura, O. Abe, K. Hayashi, I. Ueda, T. Kishi, A. Katsuki, W. Umene-Nakano, N. Iwata, J. Nakamura, Y. Korogi // *Psychiatry Res.* - 2015. - V. 233 - № 2. – P. 120-124.

11. Ivanisenko V. A. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology / V. A. Ivanisenko, O. V. Saik, N. V. Ivanisenko, E. S. Tiys, T. V. Ivanisenko, P. S. Demenkov, N. A. Kolchanov // *BMC Systems Biology*. - 2015 – V. 9 - Suppl 2. - P. S2.
12. Kahn M. L. Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin / M. L. Kahn, M. Nakanishi-Matsui, M. J. Shapiro, H. Ishihara, S. R. Coughlin // *J Clin Invest*. - 1999. - V. 103 - № 6. – P. 879-887.
13. Kiyohara C. Molecular epidemiology of major depressive disorder / C. Kiyohara, K. Yoshimasu // *Environ Health Prev Med*. - 2009. -V. 14 - № 2. – P. 71–87.
14. Leonard B. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression / B. Leonard, M. Maes // *Neurosci Biobehav Rev*. - 2012. - V. 36 - № 2. – P. 764-785.
15. Pera M. Distinct patterns of APP processing in the CNS in autosomal-dominant and sporadic Alzheimer disease / M. Pera, D. Alcolea, R. Sanchez-Valle, C. Guardia-Laguarta, M. Colom-Cadena, N. Badiola, M. Suarez-Calvet, A. Llado, A. A. Barrera-Ocampo, D. Sepulveda-Falla, R. Blesa, J. L. Molinuevo, J. Clarimon, I. Ferrer, E. Gelpi, A. Lleó // *Acta Neuropathol*. - 2013. – V. 125 - № 2. – P. 201-213.
16. Pruunsild P. Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters / P. Pruunsild, A. Kazantseva, T. Aid, K. Palm, T. Timmusk // *Genomics*. - 2007. — V. 90 - № 3. – P. 397-406.
17. Rappaport N. MalaCards: an amalgamated human disease compendium with diverse clinical and genetic annotation and structured search / N. Rappaport, M. Twik, I. Plaschkes, R. Nudel, T. Iny Stein, J. Levitt, M. Gershoni, C. P. Morrey, M. Safran, D. Lancet // *Nucleic Acids Res*. - 2017. - V. 45 - № D1. – P. D877-D887.
18. Tsolakidou A. Gene expression profiling in the stress control brain region hypothalamic paraventricular nucleus reveals a novel gene network including Amyloid beta Precursor Protein / A. Tsolakidou, L. Czibere, B. Putz, D. Trumbach,

M. Panhuysen, J. M. Deussing, W. Wurst, I. Sillaber, R. Landgraf, F. Holsboer, T. Rein // BMC Genomics. - 2010. - V. 11 - P. 546.