

doi 10.18699/vjgb-25-104

## Выявление белков, регулирующих фенотип-ассоциированные гены макрофагов группы M2: биоинформатический анализ

Е.А. Антропова , И.В. Яцык , П.С. Деменков , Т.В. Иванисенко , В.А. Иванисенко Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия  
 nzhzenia@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Макрофаги – клетки иммунной системы, выполняющие в организме различные, часто противоположные функции в зависимости от поступающих сигналов микроокружения. Это возможно благодаря пластичности макрофагов, позволяющей кардинально менять фенотипические признаки и профили экспрессии генов, а также возвращаться в исходное, неактивированное состояние. В зависимости от действующих на клетку индукторов макрофаги поляризуются в различные функциональные состояния. Принято выделять пять основных фенотипов активированных макрофагов: M1, M2a, M2b, M2c и M2d. Хотя количество полногеномных транскриптомных и протеомных данных, показывающих различия между основными фенотипами макрофагов и неактивированными макрофагами (M0), растет стремительно, все еще остаются вопросы, касающиеся механизмов регуляции профилей экспрессии генов и белков у макрофагов разных фенотипов. Нами были составлены списки белков, ассоциированных с фенотипами макрофагов M1, M2a, M2b, M2c, M2d (фенотип-ассоциированные белки), проанализированы данные о возможных посредниках поляризации макрофагов. Далее с использованием компьютерной системы ANDSystem проведен поиск и анализ связей между потенциальными регуляторными белками и генами, кодирующими белки, ассоциированные с фенотипами группы M2, получены оценки статистической значимости этих связей. Результаты указывают на то, что различия в фенотипах макрофагов M2a, M2b, M2c, M2d могут быть обусловлены регуляторными действиями белков JUN, IL8, NFAC2, CCND1 и YAP1. Уровень их экспрессии варьируется в зависимости от фенотипов группы M2, что в свою очередь приводит к различным уровням экспрессии генов, связанных с конкретными фенотипами.

**Ключевые слова:** фенотипы макрофагов; регуляция экспрессии; протеомы; система ANDSystem; автоматический анализ текстов

**Для цитирования:** Антропова Е.А., Яцык И.В., Деменков П.С., Иванисенко Т.В., Иванисенко В.А. Выявление белков, регулирующих фенотип-ассоциированные гены макрофагов группы M2: биоинформатический анализ. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(7):990-999. doi 10.18699/vjgb-25-104

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках бюджетного проекта FWNR-2022-0020.

## Identification of proteins regulating phenotype-associated genes of M2 macrophages: a bioinformatic analysis

Е.А. Antropova , I.V. Yatsyk , P.S. Demenkov , T.V. Ivanisenko , V.A. Ivanisenko 

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

 nzhzenia@bionet.nsc.ru

**Abstract.** Macrophages are immune system cells that perform various, often opposing, functions in the organism depending on the incoming microenvironment signals. This is possible due to the plasticity of macrophages, which allows them to radically alter their phenotypic characteristics and gene expression profiles, as well as return to their original, non-activated state. Depending on the inducers acting on the cell, macrophages are activated into various functional states. There are five main phenotypes of activated macrophages: M1, M2a, M2b, M2c, and M2d. Although the amount of genome-wide transcriptomic and proteomic data showing differences between major macrophage phenotypes and non-activated macrophages (M0) is rapidly growing, questions regarding the mechanisms regulating gene and protein expression profiles in macrophages of different phenotypes still remain. We compiled lists of proteins associated with the macrophage phenotypes M1, M2a, M2b, M2c, and M2d (phenotype-associated proteins) and analyzed the data on potential mediators of macrophage polarization. Furthermore, using the computational system ANDSystem, we conducted a search and analysis of the relationships between potential regulatory proteins and the genes encoding the proteins associated with the M2 group phenotypes, obtaining estimates of the statistical significance of these relationships. The results indicate that the differences in the M2a, M2b, M2c, and M2d macro-

phage phenotypes may be attributed to the regulatory effects of the proteins JUN, IL8, NFAC2, CCND1, and YAP1. The expression levels of these proteins vary among the M2 group phenotypes, which in turn leads to different levels of gene expression associated with specific phenotypes.

**Key words:** macrophage phenotypes; expression regulation; proteomes; ANDSsystem; automated text analysis

**For citation:** Antropova E.A., Yatsyk I.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Ivanisenko V.A. Identification of proteins regulating phenotype-associated genes of M2 macrophages: a bioinformatic analysis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(7):990-999. doi 10.18699/vjgb-25-104

## Введение

Макрофаги – клетки иммунной системы, играющие ключевую роль в таких процессах, как: поддержание гомеостаза организма (Mosser et al., 2021), защита от инфекций (Zhang M., Wang, 2014), провоспалительный и противовоспалительный ответы (Xu et al., 2013), регенерация тканей с сопутствующей стимуляцией пролиферации (Wynn, Vannella, 2016) и многих других. Способность макрофагов проявлять разные функции благодаря поляризации – изменению функционального состояния в зависимости от сигналов из микроокружения – связана с их уникальной пластичностью (Mills, 2012; Gurvich et al., 2020). Поляризация приводит к тому, что макрофаги приобретают различные фенотипы – функциональные состояния, характеризующиеся уникальными морфологическими, молекулярными и функциональными особенностями, в зависимости от действовавших индукторов поляризации: белков, пептидов, полисахаридов и других.

Для каждого фенотипа макрофагов известна группа характерных для него белков (Martinez et al., 2008). Эти группы пересекаются между собой, но разные фенотипы макрофагов могут обладать кардинально отличающимися функциями. Так, фенотип M1 соответствует провоспалительным макрофагам, необходимым для ответа организма на инфекции. Макрофаги M2a способствуют заживлению ран и очищают организм от апоптотических клеток (Muntau et al., 2014). Макрофаги M2b называют регуляторными за их способность регулировать T-хелперы, что приводит к переключению иммунного ответа из провоспалительного в противовоспалительный. Макрофаги M2c необходимы для ремоделирования тканей, а также фагоцитоза апоптотических клеток. Макрофаги M2d считают опухоль-ассоциированными, так как они сопутствуют опухолевым тканям (Zhang Q., Sioud, 2023).

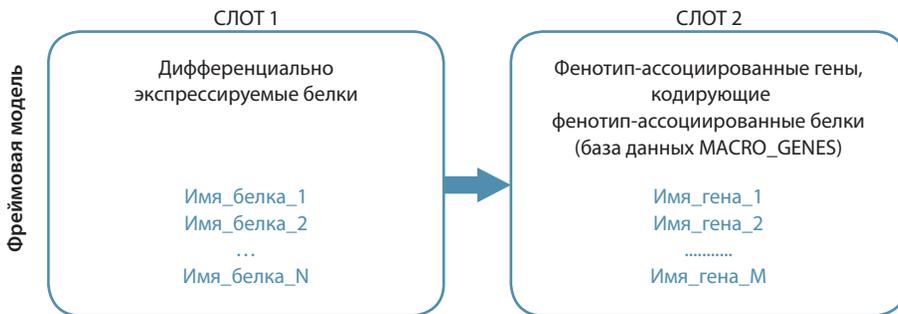
В ряде работ продемонстрированы связь отдельных фенотипов макрофагов с некоторыми патологиями либо ассоциация исхода заболеваний с определенными фенотипами макрофагов. Например, у пациентов с раком яичников выявлено выраженное преобладание макрофагов фенотипа M1 над M2, что было ассоциировано с улучшением выживаемости (Zhang M. et al., 2014), а изменение фенотипа макрофагов с M2 на M1 подавляло метастазирование опухоли (Yuan et al., 2017). Изучение ювенильного идиопатического артрита в стадии ремиссии показало, что в группе M2-макрофагов преобладали M2b и M2c, а количество макрофагов M2a было существенно снижено (Feng et al., 2021). При этом у детей со стадией активного ювенильного идиопатического артрита преобладали макрофаги фенотипов M2a и M2b, а представленность M2c была снижена. Исследование различий между фенотипами макрофагов имеет не только фундаментальное

значение, но представляет также большой практический интерес для ранней диагностики заболеваний, прогноза и корректировки их развития (Zhang M. et al., 2014; Lampiasi, 2023).

Следует отметить, что в публикациях о белках и генах, характеризующих разные фенотипы макрофагов, встречается противоречивая информация. Например, fractalkine receptor (CX3CR1) в публикации (Joerink et al., 2011) указан как маркер фенотипа M2a, а в работе (Chhor et al., 2013) этот белок отмечен как маркер фенотипа M1. Металлопротеиназу MMP12 выделяют как маркер фенотипа M1 (Hirani et al., 2021), но также показано, что этот белок характерен для протеомов фенотипа M2 и дендритных клеток (Lee et al., 2014). Хемокин CXCL13 описан и как маркер M1 (Martinez et al., 2006), и как маркер M2 (van der Lans et al., 2015).

Каким образом при пересечении протеомов в макрофагах различных фенотипов возникают существенные функциональные различия? Какие молекулярно-генетические регуляторные механизмы лежат в основе поляризации макрофагов? Несмотря на стремительное накопление полногеномных транскриптомных и протеомных данных, характеризующих различия между основными фенотипами макрофагов и их различия с неактивированными макрофагами (M0) (Gurvich et al., 2020; Oates et al., 2023), все еще остаются открытыми вопросы о том, каким образом регулируются профили экспрессии генов и белков в макрофагах различных фенотипов.

Цель настоящей работы заключалась в поиске белков-посредников, контролирующих активность фенотип-ассоциированных генов в разных фенотипах макрофагов группы M2. Для этого использовалась программно-информационная система ANDSsystem, основанная на применении методов машинного чтения и искусственного интеллекта, включая графовые нейронные сети (Ivanisenko V.A. et al., 2015; Ivanisenko T.V. et al., 2024). ANDSsystem обеспечивает автоматический анализ текстов научных публикаций и фактографических баз данных медико-биологической направленности. В настоящее время база знаний системы ANDSsystem содержит знания и факты, экстрагированные из более чем 40 млн научных публикаций и патентов, а также фактографических баз данных, включая информацию о молекулярно-генетических объектах и процессах, значимых для функционирования генных сетей и их базовых компонентов – метаболических сетей, путей передачи сигналов, сетей ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий. Эффективность ANDSsystem показана в широком круге исследований: реконструкции молекулярно-генетических механизмов коморбидности астмы и гипертензии (Zolotareva et al., 2019), анализе метаболизма плазмы крови пациентов с послеоперацион-



**Рис. 1.** Схема фреймовой модели для поиска регуляторных связей между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотип-ассоциированными генами.

ным делирием (Иванисенко и др., 2023), реконструкции регуляторной сети гиперметилирования, влияющей на развитие гепатоцеллюлярной карциномы при заболевании гепатитом вируса С (Антропова et al., 2023).

В данной работе решали следующие задачи: 1) формирование списков фенотип-ассоциированных белков в макрофагах основных фенотипов: M1, M2a, M2b, M2c, M2d; 2) анализ данных по дифференциальной экспрессии белков в фенотипах группы M2 как потенциальных посредников поляризации макрофагов; 3) анализ регуляторных связей от белков-посредников к генам, кодирующим фенотип-ассоциированные белки с использованием ANDSystem.

## Материалы и методы

**Протеомные данные по макрофагам различных фенотипов.** В работе использовано два типа информации о белках в разных фенотипах макрофагов:

- 1) Созданная нами курируемая база данных MACRO\_GENES, содержащая списки генов и белков, ассоциированных с фенотипами макрофагов (табл. S1)<sup>1</sup>. Она сформирована на основе «ручного» анализа научных публикаций, в которых были описаны характерные белки, позволяющие различать фенотипы макрофагов M1, M2a, M2b, M2c, M2d. В базу данных MACRO\_GENES были включены только те белки, присутствие которых в макрофагах определенных фенотипов подтверждено экспериментальными данными.
- 2) Протеомные данные о дифференциально экспрессируемых белках в макрофагах фенотипов M2a, M2b, M2c и M2d получены из работы (Li et al., 2022): примерно по 200 белков для каждого рассматриваемого фенотипа. Далее такие белки будем называть белками-регуляторами или дифференциально экспрессируемыми белками.

**Поиск потенциальных регуляторов, влияющих на активность фенотип-ассоциированных генов.** Поиск потенциальных белков-регуляторов, влияющих на активность фенотип-ассоциированных генов, осуществляли с использованием базы знаний программно-информационной системы ANDSystem и программного модуля ANDVisio, входящего в эту систему (Demеников et al., 2012; Иванисенко V.A. et al., 2015; Иванисенко T.V. et al., 2024). База знаний ANDSystem включает информацию о взаимодей-

ствиях между молекулярно-биологическими объектами (генами, белками, метаболитами, биологическими процессами и др.), полученную на основе автоматического анализа более чем 40 млн научных публикаций и патентов, а также большого количества фактографических медико-биологических баз данных. В текущей версии эта база знаний содержит информацию о более чем 36 млн белков из разных организмов и примерно столько же генов, 76 тысяч метаболитов, 100 млн взаимодействий, 21 тысячу заболеваний и так далее.

Для поиска регуляторных связей между белками-регуляторами и фенотип-ассоциированными генами использовался программный аппарат фреймовых моделей системы ANDSystem (рис. 1). Шаг 1: первый слот фрейма наполнялся на основе данных протеомного анализа (Li et al., 2022) перечнем дифференциально экспрессируемых белков для каждого из фенотипов – M2a, M2b, M2c и M2d. Шаг 2: второй слот фрейма наполнялся перечнем фенотип-ассоциированных генов для того же фенотипа из сформированной нами курируемой базы данных MACRO\_GENES (см. табл. S1). Шаг 3: с помощью программного модуля ANDVisio, использующего наполненный фрейм, в базе знаний системы ANDSystem проводился поиск описанных в ней регуляторных связей в изучаемом фенотипе макрофагов.

Результатами анализа были графы регуляторных процессов, в которых вершины соответствовали дифференциально экспрессируемым белкам из статьи (Li et al., 2022) и фенотип-ассоциированным генам макрофагов из базы данных MACRO\_GENES. Ребра, соединяющие вершины графов, соответствовали регуляторным связям между ними.

**Поиск функционально значимых белков-регуляторов фенотип-ассоциированных генов макрофагов в графах регуляторных процессов.** Ключевой этап анализа регуляторных процессов, связанных с фенотип-ассоциированными генами макрофагов и выявленных с помощью фреймовых моделей, – поиск функционально значимых белков-регуляторов, называемых также центральными вершинами. Центральные вершины играют ключевую роль в передаче сигналов и координации регуляторных процессов. Для оценки центральности разработан широкий спектр методов (Ghasemi et al., 2014; Jalili et al., 2016; Иванисенко V.A. et al., 2019). В нашей работе центральность вершин оценивали по количеству взаимодействий

<sup>1</sup> Табл. S1–S3 и рис. S1–S6 см. в Приложении по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx34.pdf>

рассматриваемого белка с фенотип-ассоциированными генами соответствующего фенотипа.

Высокая степень центральности может наблюдаться как вследствие реальной функциональной значимости между генами и белками, так и по случайным причинам. Чтобы различить эти ситуации, была проведена оценка статистической значимости наблюдаемой степени центральности на основе гипергеометрического теста. В этом контексте гипергеометрический тест оценивает вероятность  $p$  того, что наблюдаемое количество связей конкретного рассматриваемого белка с фенотип-ассоциированными генами имеет случайный характер.

Здесь:  $M$  – общее число генов, представленных в базе знаний системы ANDSystem;  $N$  – общее число генов, с которыми взаимодействует конкретный белок в базе знаний системы ANDSystem;  $n$  – число фенотип-ассоциированных генов для конкретного фенотипа в базе данных MACRO\_GENES;  $x$  – наблюдаемое число взаимодействий рассматриваемого белка с фенотип-ассоциированными генами конкретного фенотипа. Тогда при нулевой гипотезе случайного распределения взаимодействий величина  $X$  подчиняется гипергеометрическому закону распределения:

$$X \sim \text{Hypergeom}(M, N, n),$$

а величина  $p$  для правостороннего теста (обогащения) вычислялась по формуле:

$$p = P(X \geq x) = \sum_{k=x}^{\min(N,n)} \frac{\binom{N}{k} \binom{M-N}{n-k}}{\binom{M}{n}}.$$

Значения  $p$  рассчитывали с использованием библиотеки Python SciPy (scipy.stats.hypergeom). Для коррекции на множественные проверки применяли поправку Бонферрони. При  $p < 0.05$  наблюдаемая степень центральности считалась статистически значимой и соответствующий

белок рассматривался как функционально значимый белок-регулятор, контролирующий экспрессию фенотип-ассоциированных генов.

## Результаты и обсуждение

Наша работа была ориентирована на идентификацию регуляторных белков, оказывающих влияние на гены, чья экспрессия различается между фенотипами макрофагов M2a, M2b, M2c и M2d. Понимание регуляторных механизмов, обуславливающих различия между фенотипами макрофагов, имеет не только фундаментальную значимость, но также перспективно для применения в медицине и фармакологии, так как для ряда патологий показано, что преобладание определенного фенотипа макрофагов связано с развитием и исходом этих заболеваний (Zhang M. et al., 2014; Yuan et al., 2017; Feng et al., 2021).

### Общая характеристика фенотип-ассоциированных генов и белков макрофагов M1, M2a, M2b, M2c, M2d

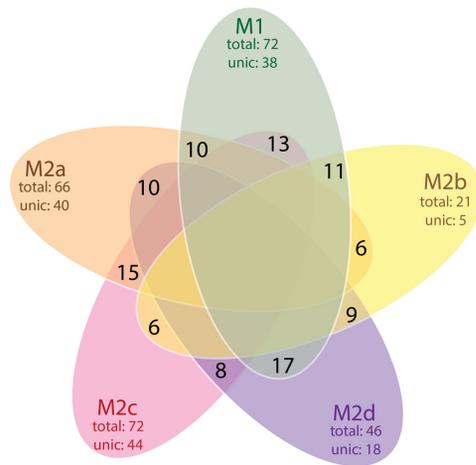
Краткая информация по сформированной нами курируемой базе данных MACRO\_GENES фенотип-ассоциированных генов, кодирующих фенотип-ассоциированные белки, т.е. белки, специфичные для макрофагов каждого из рассматриваемых фенотипов: M1, M2a, M2b, M2c, M2d, – представлена в табл. 1. Присутствие белков в определенных фенотипах подтверждено экспериментальными данными, приведенными в соответствующих публикациях. Детальное описание информации о генах в MACRO\_GENES дано в табл. S1.

Некоторые из фенотип-ассоциированных белков используются в экспериментальных работах как специфические маркеры для разделения фенотипов макрофагов. Гены, кодирующие такие белки, отмечены зеленым цветом

**Таблица 1.** Списки генов, кодирующих фенотип-ассоциированные белки макрофагов M1, M2a, M2b, M2c и M2d, представленные в базе данных MACRO\_GENES

Фенотип макрофагов	Гены, кодирующие фенотип-ассоциированные белки*
M1	ARG12, CAHM6, <b>CCL2, CCL3, CCL4, CCL5</b> , CCL7, CCL8, CCL15, CCL19, CCL20, <b>CCR2</b> , CCR7, CD38, <b>CD80, CD86</b> , CSF2, <b>CXCL2, CXCL5, CXCL9, CXCL10</b> , CXL11, <b>FCG2B, FCG3A, FCGR1</b> , GBP2, <b>GBP5, GROA, HLA-DRA</b> , HMG1, <b>IDO1</b> , IFNA1, IFNB, IFNG, IL1A, <b>IL1B, IL1R1, IL2RA, IL3, IL6, IL7RA, IL8, IL12B, IL15, IL15RA, IL17, IL18, IL23A, IRF1, IRF4, IRF7, ISG20, ITGAX, KCNN2, LAG3, MARCO, MET, MIF, MMP13, NAMPT, NFKB1, NOS2, PGH2, SOCS3, STAT1, TIMP1, TLR2, TLR4, TNFA, TNFR5, TSP1, UBD, VEGFA</b>
M2a	ALOX15, ARG1, <b>CCL1, CCL2</b> , CCL7, CCL8, <b>CCL13, CCL14, CCL15, CCL17, CCL18, CCL22, CCL23, CCL24, CCL26, CCR2, CD200R1, CD209, CD274, CDH1, CDK11B, CLEC4A, CLEC7A, CLEC10A, CSF1R, CXCR1, CXCR2, EDN1, EGR2, FCER2, FGF2, FLT1, FN1, HAVCR2, HLA-DPA1, HLA-DPB1, HLA-DRA, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HRH1, IGF1, IL1R1, IL1R2, IL4, IL10, IL27, IRF4, ITGAX, KLF2, LGALS3, MMP9, MMP14, MRC1, MRC2, MYC, PDCD1LG2, PGF, <b>PPARG, PTGS1, RAMP1, SCN3A, SOCS1, TGFB1, TGM2, TREM2, VEGFA</b></b>
M2b	<b>CCL1, CCL4, CCL20, CD86, CD163, COX2, CXCL3, HLA-DRA, IFNA1, IL1B, IL1R1, IL6, IL10, MRC1, NOS2, PTPRC, SIGLEC10, SPHK1, TNFA, TNFSF14, VEGFA</b>
M2c	ARG1, <b>BCL3</b> , C1QA, CCL8, <b>CCL16, CCL18, CCL23, CCR2</b> , CCR3, CCR10, CD14, <b>CD163, CD300E</b> , CDK11A, CDK11B, CSF1R, CX3CR1, CXCL12, <b>CXCL13</b> , CXCR4, EPAS1, F5, FCRLA, FPR1, GAS6, GXYLT2, HIF1A, <b>IL1B, IL1R1</b> , IL4R, <b>IL10, IL21R, IRF3, IRF5, IRF8, ITGAX, JAK3, LIN7A, MAF, MARCO, MCTP2, MERTK, MMP2, MMP8, MMP14, MRC1, MRC2, MSR1, NOS2, PCOLCE2, PGF, PLOD2, SELENOP, SERPINA1, SH3PX2, SLAMF1, SOCS3, SPP1, SRPX2, STAT1, STAT3, STAT6, TGFB1, THBS1, TIMP1, TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR8, VCAN, VTCN1</b>
M2d	ADORA2A, AIF1, C1QA, C1QC, <b>CCL2, CCL3, CCL4, CCL5</b> , CCL7, CD81, CD274, COX2, CSF3R, IL8, <b>CXCL9, CXCL10, CXCL16, EGF, FCRL2, FGF2, FGFR1, GDF15, HLA-DMA, ID3, IDO1, IDO2, IL1A, IL1B, IL6, IL10, IRF7, LILRB4, MIF, MMP2, MMP9, MRC1, MSR1, NCAM1, NOS2, PDCD1LG2, PDGFB, TBX6, TGFB1, TNFA, VEGFA</b>

\* Зеленым цветом отмечены гены, кодирующие белки – маркеры макрофагов различных фенотипов. Оранжевым обозначены гены, которые, по одним источникам, экспрессируются в макрофагах какого-либо фенотипа, но при этом, по другим данным, являются маркерами макрофагов другого фенотипа.



**Рис. 2.** Диаграмма Венна для сравнения фенотипов макрофагов M1, M2a, M2b, M2c, M2d по спискам генов, представленным в базе MACRO\_GENES. Цифрами обозначено количество совпадающих белков.

(см. табл. 1). Если белок характерен для конкретного фенотипа, но при этом считается также специфическим маркером другого фенотипа, то кодирующий его ген обозначен оранжевым цветом (см. табл. 1). Например, белок CCL2 считается маркером фенотипа M1, но в некоторых публикациях указано, что он характерен и для фенотипов M2a и M2d. Можно видеть сложную картину пересечений маркеров между разными фенотипами макрофагов (см. табл. 1).

Диаграмма Венна, построенная на основе информации, приведенной в табл. 1, демонстрирует картину распределения генов, кодирующих фенотип-ассоциированные белки по пяти типам макрофагов: M1, M2a, M2b, M2c, M2d (рис. 2). Отметим, что больше всего совпадающих белков (17) имеют фенотипы M1 и M2d. Пары фенотипов M2a/M2c и M1/M2c имеют 15 и 13 общих белков соответственно. Фенотипы M2b и M1 имеют 11 совпадающих белков. Относительно малое число совпадающих белков (8) можно отметить для пары фенотипов M2c и M2d. Меньше всего пересечений (по 6 белкам) у M2b с M2a.

### Общая характеристика дифференциально экспрессируемых белков группы макрофагов M2

Для поиска белков-посредников, передающих сигналы от индукторов поляризации макрофагов M2a, M2b, M2c и M2d к фенотип-ассоциированным генам, мы использовали списки дифференциально экспрессируемых, по сравнению с неактивированными макрофагами, белков из работы (Li et al., 2022). Из опубликованных данных, суммированных нами в табл. S2 и S3, следует, что распределение дифференциально экспрессируемых белков по четырем указанным фенотипам макрофагов характеризуется существенным пересечением, т.е. однозначное соответствие между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотипами макрофагов отсутствует. Поэтому для поиска регуляторных связей, обеспечивающих поляризацию макрофагов в разные фенотипы, потребовался биоинформатический анализ больших объемов молекулярно-генетических данных, проведенный с использованием компьютерной системы ANDSystem.

### Поиск регуляторных связей от дифференциально экспрессируемых белков к фенотип-ассоциированным генам макрофагов на основе фреймовых моделей

Для анализа больших объемов опубликованных данных о разных фенотипах макрофагов применяли методы и информационные ресурсы компьютерной инженерии знаний, реализованные в системе ANDSystem. С использованием фреймового подхода, реализованного в этой системе, был проведен поиск регуляторных связей между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотип-ассоциированными генами макрофагов.

Были реконструированы графы регуляторных процессов, в которых вершины соответствовали дифференциально экспрессируемым белкам из статьи (Li et al., 2022) и фенотип-ассоциированным генам макрофагов из базы данных MACRO\_GENES. Ребра, соединяющие вершины графа, соответствовали регуляторным связям между ними. В качестве примера показан граф потенциальных регуляторных связей между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотип-ассоциированными генами макрофагов в фенотипе M2b (рис. 3).

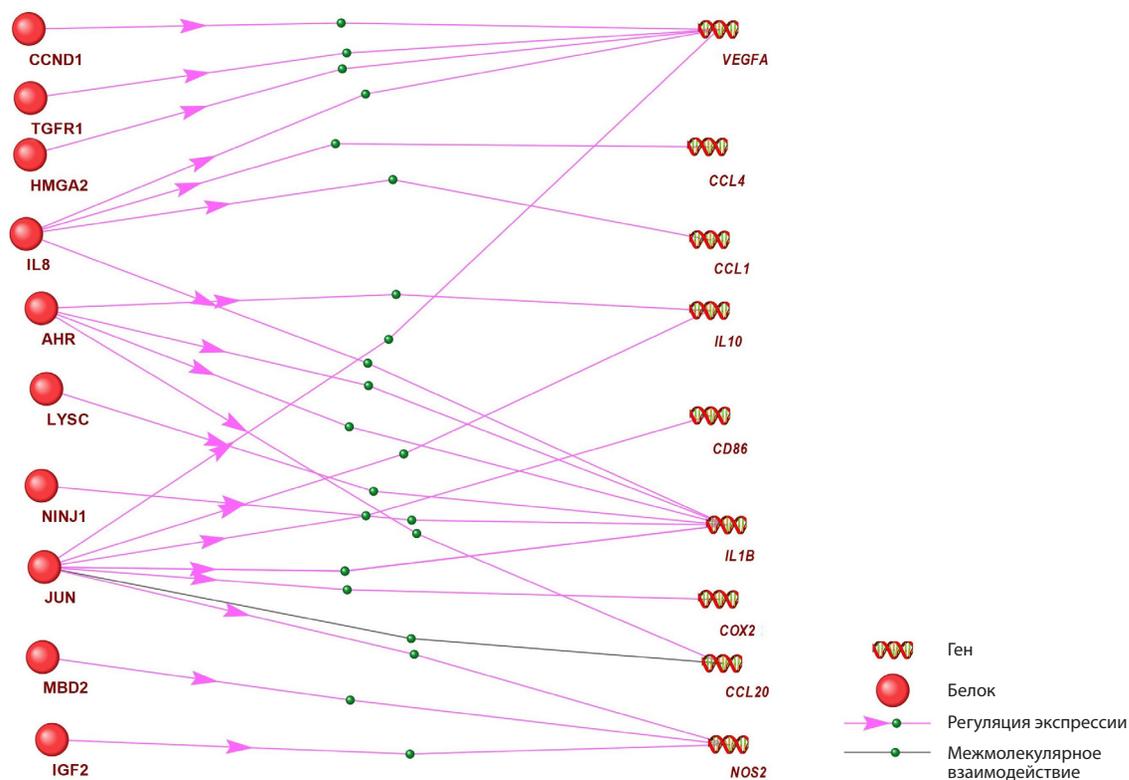
Большинство фенотип-ассоциированных генов регулируются не одним, а несколькими белками (рис. 3). Вместе с тем большинство белков, представленных на рисунке, участвует в регуляции нескольких генов. Аналогичные схемы регуляторных связей для макрофагов M2a, M2c и M2d представлены на рис. S1–S3.

### Выявление статистически значимых регуляторов фенотип-ассоциированных генов

Количественные характеристики регуляторных связей между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотип-ассоциированными генами, выявленных с использованием фреймовых моделей, показаны в табл. 2, А.

На втором этапе анализа оценивали показатели центральности, характеризующие функциональную значимость дифференциально экспрессируемых белков для регуляции фенотип-ассоциированных генов. Оценки центральности позволили выявить белки-регуляторы фенотип-ассоциированных генов с порогом статистической значимости с поправкой Бонферрони  $p < 0.05$  (см. табл. 2, Б). Учет статистической значимости дифференциально экспрессируемых белков на основе показателей центральности привел к существенному уменьшению количества вершин, соответствующих фенотип-ассоциированным генам, и количества ребер, соответствующих регуляторным событиям. Например, для фенотипа M2a из 40 дифференциально экспрессируемых белков, которые связаны с фенотип-ассоциированными генами, 16 оказались статистически значимо связаны с этими генами (см. табл. 2, Б). Для фенотипа M2b – 6 из 12 белков. Соответственно уменьшилось количество регуляторных событий и фенотип-ассоциированных генов в реконструированных графах.

На рисунке 4 представлены перечни дифференциально экспрессируемых белков, статистически значимо связанных с фенотип-ассоциированными генами макрофагов M2a, M2b, M2c и M2d. Красным цветом отмечены белки, уровень которых, по данным (Li et al., 2022), повышен в конкретных фенотипах макрофагов. Синим цветом обозначены те белки, уровень которых снижен по сравнению с



**Рис. 3.** Граф потенциальных регуляторных связей между дифференциально экспрессируемыми белками (слева) и фенотип-ассоциированными генами (справа) макрофагов фенотипа M2b, представленный в интерфейсе системы ANDSystem. Зеленые шарики на стрелках в интерактивном варианте работы с ANDSystem позволяют пользователям получать дополнительную информацию о конкретных регуляторных связях.

**Таблица 2.** Количественные характеристики потенциальных регуляторных связей, выявленных на основе коротких фреймовых моделей

Компоненты фреймовых моделей	M2a	M2b	M2c	M2d
А. Результаты первого этапа анализа реконструированного графа регуляторных взаимодействий				
Дифференциально экспрессируемые белки	40	12	41	43
Регуляторные события	127	51	216	252
Фенотип-ассоциированные гены	26	12	41	31
Б. Результаты второго этапа анализа (с учетом статистических оценок центральности регуляторных белков ( $p < 0.05$ ))				
Дифференциально экспрессируемые белки	16	6	10	15
Регуляторные события	85	19	89	133
Фенотип-ассоциированные гены	23	8	28	29

неактивированными макрофагами. Зеленые линии соединяют белки с разнонаправленными изменениями уровней экспрессии в макрофагах разных фенотипов.

На рисунке 5 показаны примеры схем статистически значимых регуляторных взаимодействий между дифференциально экспрессируемыми белками макрофагов фенотипа M2a и фенотип-ассоциированными генами, реконструированные с использованием ANDSystem. Соответствующие схемы для макрофагов фенотипов M2b, M2c и M2d представлены на рис. S4–S6. Рисунок 5 де-

монстрирует регуляторные связи, использующие два альтернативных варианта контроля молекулярно-генетических процессов в одном и том же фенотипе M2a макрофагов: через повышение (см. рис. 5, А) и понижение (см. рис. 5, Б) уровня регуляторных белков. Описание реконструированных связей, полученных с помощью фреймовых моделей, приведено в табл. 3.

Для примера рассмотрим связи регуляторного белка TGM2 (нижний белок на рис. 5, А, отмеченный синей звездочкой). Протеомные данные (Li et al., 2022) показывают,

M2a	M2b	M2c	M2d
ITAM	IL8	JUN	IL1B
AHR	JUN	IL8	CXL10
TGM2	AHR	AHR	NAMPT
CCL5	TGFR1	MBD2	IL8
HMGA2	COX8A	PLMN	AHR
TGFR1	NINJ1	IGF2	MBD2
CCND1	LYSC	TGFR1	GDF15
CXL10	YLAT1	ZEB2	IL1A
NFAC2	IGF2	TRFL	SRC
CCL3		CCND1	HMGA2
CDK4		COX8A	CCL20
FOSL2			YAP1
FLT3			TIGAR
CD38			TGFR1
PLMN			ITB3
CBP			
COX8A			

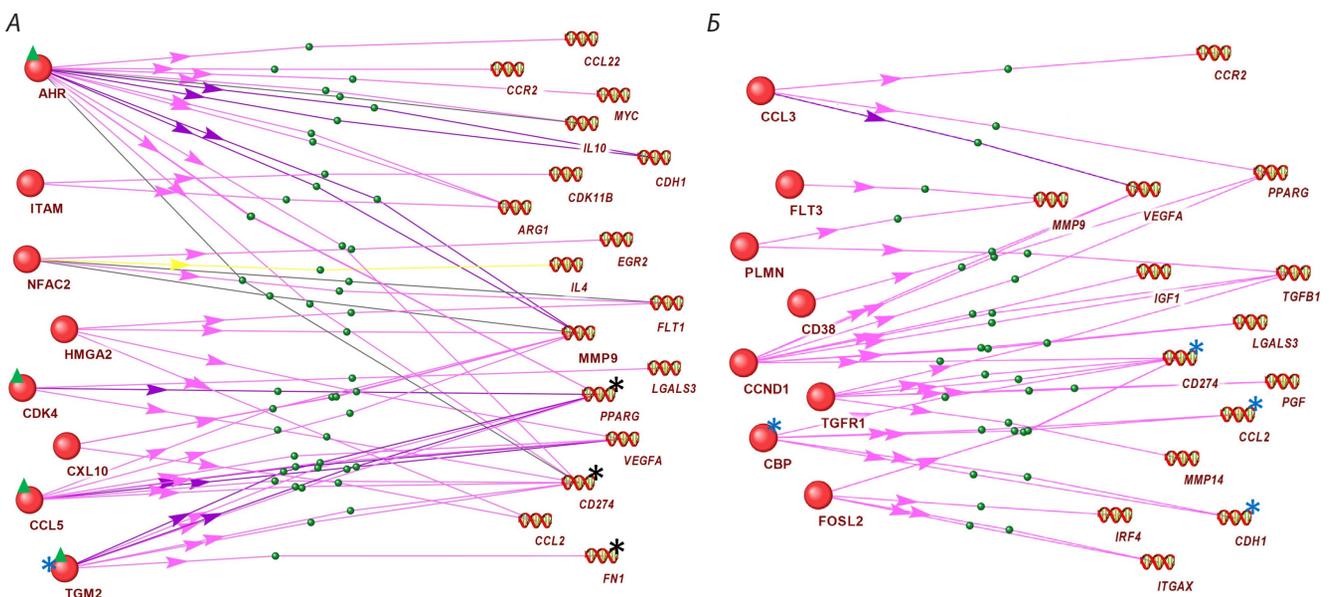
**Рис. 4.** Дифференциально экспрессируемые белки, статистически значимо ( $p < 0.05$ ) связанные с фенотип-ассоциированными генами макрофагов M2a, M2b, M2c и M2d. Красным цветом отмечены белки, уровень которых согласно (Li et al., 2022) повышен в конкретном фенотипе, синим – белки, уровень которых снижен по сравнению с неактивированными макрофагами. Зеленые линии соединяют белки с разнонаправленными изменениями уровней экспрессии в макрофагах разных фенотипов.

что уровень этого белка в фенотипе M2a повышен по сравнению с неактивированными макрофагами. Согласно информации из базы знаний ANDSystem, полученной через интерфейс этой системы, в макрофагах фенотипа M2a белок TGM2 оказывает активирующее влияние на экс-

прессию фенотип-ассоциированных с M2a генов: *CD274* и *FN1* (Liu et al., 2021; Sun et al., 2021), что согласуется с данными, представленными в табл. 1 (эти гены отмечены на рис. 5, А черными звездочками). TGM2 оказывает также подавляющее влияние на ген *PPARG* (Maiuri et al., 2008), что не согласуется с данными табл. 1 и указывает на то, что экспрессия этого гена активируется также другими факторами, например AHR, CDK4, CCL5, чей уровень в этом фенотипе повышен (см. рис. 5, А).

Из группы белков с пониженным уровнем, по сравнению с неактивированными макрофагами, в макрофагах фенотипа M2a в качестве примера рассмотрим белок CBP, регулирующий фенотип-ассоциированные гены *CCL2*, *CD274*, *CDH1* (на рис. 5, Б отмечены звездочками). Согласно информации из базы знаний ANDSystem, когда CBP в фенотипе M2a подавлен, экспрессия *CCL2* повышается (Huang et al., 2021), что согласуется с данными, приведенными в табл. 1 (база данных MACRO\_GENES). Вместе с тем тот же белок CBP положительно влияет на экспрессию фенотип-ассоциированных генов *CD274* и *CDH1* (Liu et al., 2020; Heng et al., 2021). Можно предположить, что на активность этих генов большее влияние оказывают другие регуляторы. Такими регуляторами для гена *CD274* могут быть белки AHR, CCL5, TGM2, CDK4, чей уровень в фенотипе M2a повышен (см. рис. 5, А, двойные зеленые звездочки).

Все выявленные статистически значимые регуляторные взаимодействия в макрофагах группы M2 между дифференциально экспрессируемыми белками и фенотип-ассоциированными генами представлены в табл. 3. Для макрофагов группы M2a – это взаимодействия девяти регуляторных белков с повышенным уровнем (по сравнению с неактивированными макрофагами), отмеченные стрелками (↑), и четырех белков с пониженным уровнем (↓),



**Рис. 5.** Граф регуляции экспрессии фенотип-ассоциированных генов (из базы данных MACRO\_GENES) в макрофагах фенотипа M2a дифференциально экспрессируемыми белками-регуляторами из статьи (Li et al., 2022), статистически значимо связанными с этими генами: через повышение (А) и понижение (Б) уровня представленности регуляторных белков в этом фенотипе. Синей звездочкой на А отмечен обсуждаемый в тексте белок TGM2, черными звездочками – его гены-мишени; зелеными треугольниками отмечены обсуждаемые белки AHR, CDK4, CCL2, TGM2. Синими звездочками на Б обозначены обсуждаемый в тексте белок CBP и его гены-мишени.

**Таблица 3.** Взаимосвязи между функционально значимыми дифференциально экспрессируемыми регуляторными белками\* и регулируемыми ими фенотип-ассоциированные гены в макрофагах фенотипов группы M2, выявленные на основе фреймовых моделей

M2a		M2b		M2c		M2d	
Белок	Гены-мишени	Белок	Гены-мишени	Белок	Гены-мишени	Белок	Гены-мишени
AHR (↑)**	ARG1, MMP9, MYC, PPARG, CCL22, CCR2, CDH1, CD274, IL10	AHR (↑)	IL1B, CCL20, IL10	AHR (↑)	ARG1, CXCL12, STAT3, SOCS3, CCR2, HIF1A, TLR2, IL1B, IL10	AHR (↑)	IDO1, IDO2, IL1B, IL8, MMP9, NCAM1, CD274, IL1A, IL10
TGM2 (↑)	PPARG, CD274, FN1, MMP14	IGF2 (↑)	NOS2	MBD2 (↑)	CXCL12, NOS2, SOCS3	IL1B (↑)	FGF2, FGFR1, CXCL10, IL8, MMP9, VEGFA, TGFB1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, NOS2, COX2, IL10, IL1A, TNF, PDCD1LG2, MIF
CCL5 (↑)	VEGFA, CD274, MMP9	NINJ1 (↑)	IL1B				
NFAC2 (↑)	EGR2, IL4, FLT1, MMP9	IL8 (↑)	CCL1, VEGFA	TGFR1 (↓)	MMP14, TGFB1, HIF1A, PGF	MBD2 (↑)	CXCL9, CXCL10, CD274, CCL5, MMP2, NOS2
HMGA2 (↑)	FLT1, MMP9, VEGFA, CCL2	TGFR1 (↓)	VEGFA	ZEB2 (↓)	MAF, MMP14, TGFB1,	IL8 (↑)	IL1B, FGF2, CXCL10, MMP9, CCL2, CD274, MMP2, VEGFA
ITAM (↑)	ARG1, CDK11B	JUN (↓)	CD86, COX2, NOS2, IL1B, IL10, CCL20, VEGFA	CCND1 (↓)	TGFB1, STAT3, HIF1A	YAP1 (↑)	IRF7, FGFR1, PDGFB, CD274
CDK4 (↑)	PPARG, LGALS3, CD274			IL8 (↓)	MMP14, MMP2, MMP8, TLR5, CXCL12, ARG1, CCR2, HIF1A, IL1B, CDK11B	NAMPT (↑)	IL1B, FGF2, IL8, MMP9, CCL2, CD274, MMP2
CXCL10 (↑)	MMP9, CCL2			IGF2 (↓)	CDK11B, MMP2, HIF1A, NOS2	IL1A (↑)	IL6, IL1B, VEGFA, CD274
CCND1 (↓)	VEGFA, TGFB1, CD274					CCL20 (↑)	MMP9, CD274
FLT3 (↓) ***	MMP9			PLMN (↓)	TGFB1, CXCL12, CXCR4	CXCL10 (↑)	IL1B, MMP9, CCL2, MMP2
CCL3 (↓)	CCR2, VEGFA, PPARG			TRFL (↓)	HIF1A, TLR4	TIGAR (↑)	MMP9, MMP2
PLMN (↓)	MMP9, TGFB1			JUN (↓)	TGFB1, CXCL12, MMP14, MMP2, ARG1, IL1B, NOS2, HIF1A, TLR2, TLR4, IL10, CX3CR1, THBS1, SERPINA1, BCL3, CCL18, ITGAX	HMGA2 (↑)	MMP9, CCL2, MMP2, VEGFA
CD38 (↓)	VEGFA					SRC (↑)	CXCL10, MMP2, VEGFA, NOS2
TGFR1 (↓)	TGFB1, CD274, MMP14, PGF					ITB3 (↑)	MMP2
CBP (↓)	CD274, CCL2, CDH1					TGFR1 (↓)	VEGFA, TGFB1, CD274
FOSL2 (↓)	CD274, IRF4, ITGAX					GDF15 (↓)	MMP9, CCL2, GDF15, CD274, MMP2

\* Белки, отобранные по критерию центральности с  $p < 0.05$ ; \*\* ↑ – белки с повышенным уровнем экспрессии; \*\*\* ↓ – белки с пониженным уровнем экспрессии.

регулирующие 23 фенотип-ассоциированных гена. Для M2b это 4 белка с повышенным и 2 белка с пониженным уровнем, регулирующие 8 фенотип-ассоциированных генов (см. также рис. S4). Для M2c выявлено 2 белка с повышенным и 8 с пониженным уровнем, регулирующие 28 генов (см. также рис. S5). Для M2d найдено 13 белков с повышенным и 2 белка с пониженным уровнем, регулирующих 29 генов (см. также рис. S6).

Таким образом, на основе компьютерного анализа различий в протеомах разных фенотипов макрофагов, а также использования больших объемов информации, накопленной в базе знаний системы ANDSsystem, выявлены

некоторые регуляторные белки, опосредующие действие индукторов поляризации макрофагов к фенотип-ассоциированным генам макрофагов. В дальнейшем планируется продолжение исследования с помощью фреймовых моделей, содержащих больше слотов, отражающих промежуточные этапы действия индукторов поляризации макрофагов на фенотип-ассоциированные гены макрофагов. Это даст возможность идентификации более тонких особенностей организации регуляторных связей, идущих от индукторов поляризации макрофагов к фенотип-ассоциированным генам через последовательность действий белков-посредников.

## Заклучение

Изучение опубликованных данных о фенотип-ассоциированных генах и протеомах макрофагов группы M2 и последующий поиск регуляторных связей между ними с использованием фреймового подхода, реализованного в компьютерной системе ANDSystem, дали возможность выявить потенциальные регуляторные белки, которые обеспечивают различия в экспрессии генов в M2 фенотипах макрофагов. Полученные результаты предполагают, что отличия между фенотипами M2a, M2b, M2c и M2d могут быть связаны, в частности, с регуляторными функциями белков JUN, IL8, NFAC2, CCND1 и YAP1, уровень которых варьирует между фенотипами, что приводит к различиям в экспрессии фенотип-ассоциированных генов.

## Список литературы / References

- Ivanisenko V.A., Basov N.V., Makarova A.A., Venzel A.S., Rogachev A.D., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kleshchev M.A., Gaisler E.V., Moroz G.B., Plesko V.V., Sotnikova Y.S., Patrusev Y.V., Lomivorotov V.V., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Применение геновых сетей к анализу результатов метаболомного скрининга плазмы крови пациентов с послеоперационным делирием. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023; 27(7):768-775. doi 10.18699/VJGB-23-89
- [Ivanisenko V.A., Basov N.V., Makarova A.A., Venzel A.S., Rogachev A.D., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Kleshchev M.A., Gaisler E.V., Moroz G.B., Plesko V.V., Sotnikova Y.S., Patrusev Y.V., Lomivorotov V.V., Kolchanov N.A., Pokrovsky A.G. Gene networks for use in metabolomic data analysis of blood plasma from patients with postoperative delirium. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(7):768-775. doi 10.18699/VJGB-23-89]
- Antropova E.A., Khlebodarova T.M., Demenkov P.S., Volianskaia A.R., Venzel A.S., Ivanisenko N.V., Gavrilenko A.D., Ivanisenko T.V., Adamovskaya A.V., Revva P.M., Kolchanov N.A., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Reconstruction of the regulatory hypermethylation network controlling hepatocellular carcinoma development during hepatitis C viral infection. *J Integr Bioinform*. 2023;20(3): 20230013. doi 10.1515/jib-2023-0013
- Chhor V., Le Charpentier T., Lebon S., Oré M.V., Celador I.L., Jossierand J., Degos V., Jacotot E., Hagberg H., Sävman K., Mallard C., Gressens P., Fleiss B. Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia *in vitro*. *Brain Behav Immun*. 2013;32:70-85. doi 10.1016/j.bbi.2013.02.005
- 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
- Feng D., Huang W.Y., Niu X.L., Hao S., Zhang L.N., Hu Y.J. Significance of macrophage subtypes in the peripheral blood of children with systemic juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Ther*. 2021; 8(4):1859-1870. doi 10.1007/s40744-021-00385-x
- Ghasemi M., Seidkhani H., Tamimi F., Rahgozar M., Masoudi-Nejad A. Centrality Measures in Biological Networks. *Curr Bioinform*. 2014;9:426-441. doi 10.2174/15748936113086660013
- Gurvich O.L., Puttonen K.A., Bailey A., Kailaanmäki A., Skirdenko V., Sivonen M., Pietikäinen S., Parker N.R., Ylä-Herttua S., Kekkarainen T. Transcriptomics uncovers substantial variability associated with alterations in manufacturing processes of macrophage cell therapy products. *Sci Rep*. 2020;10(1):14049. doi 10.1038/s41598-020-70967-2
- Heng W.S., Kruyt F.A.E., Cheah S.C. Understanding lung carcinogenesis from a morphostatic perspective: prevention and therapeutic potential of phytochemicals for targeting cancer stem cells. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):5697. doi 10.3390/ijms22115697
- Hirani D., Alvira C.M., Danopoulos S., Milla C., Donato M., Tian L., Mohr J., ... Seeger W., Khatri P., Al Alam D., Dötsch J., Alejandro Alcazar M.A. Macrophage-derived IL-6 trans-signaling as a novel target in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Eur Respir J*. 2021;59(2):2002248. doi 10.1183/13993003.02248-2020
- Huang Y.H., Cai K., Xu P.P., Wang L., Huang C.X., Fang Y., Cheng S., Sun X.J., Liu F., Huang J.Y., Ji M.M., Zhao W.L. CREBBP/EP300 mutations promoted tumor progression in diffuse large B-cell lymphoma through altering tumor-associated macrophage polarization via FBXW7-NOTCH-CCL2/CSF1 axis. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):10. doi 10.1038/s41392-020-00437-8
- Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. An accurate and efficient approach to knowledge extraction from scientific publications using structured ontology models, graph neural networks, and large language models. *Int J Mol Sci*. 2024;25(21):11811. doi 10.3390/ijms252111811
- 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 10.1186/1572-0509-9-S2-S2
- Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Mishchenko E.L., Saik O.V. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. *BMC Bioinformatics*. 2019; 20(Suppl. 1):34. doi 10.1186/s12859-018-2567-6
- Jalili M., Salehzadeh-Yazdi A., Gupta S., Wolkenhauer O., Yaghmaie M., Resendis-Antonio O., Alimoghaddam K. Evolution of centrality measurements for the detection of essential proteins in biological networks. *Front Physiol*. 2016;7:375. doi 10.3389/fphys.2016.00375
- Joerink M., Rindsjö E., van Riel B., Alm J., Papadogiannakis N. Placental macrophage (Hofbauer cell) polarization is independent of maternal allergen-sensitization and presence of chorioamnionitis. *Placenta*. 2011;32(5):380-385. doi 10.1016/j.placenta.2011.02.003
- Lampiasi N. Macrophage polarization: learning to manage it 2.0. *Int J Mol Sci*. 2023;24(24):17409. doi 10.3390/ijms242417409
- Lee J.T., Pampir N., Liu N.C., Kirk E.A., Averill M.M., Becker L., Larson I., Hagman D.K., Foster-Schubert K.E., van Yserloo B., Bornfeldt K.E., LeBoeuf R.C., Kratz M., Heinecke J.W. Macrophage metalloelastase (MMP12) regulates adipose tissue expansion, insulin sensitivity, and expression of inducible nitric oxide synthase. *Endocrinology*. 2014;155(9):3409-3420. doi 10.1210/en.2014-1037
- Li P., Ma C., Li J., You S., Dang L., Wu J., Hao Z., Li J., Zhi Y., Chen L., Sun S. Proteomic characterization of four subtypes of M2 macrophages derived from human THP-1 cells. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2022;23(5):407-422. doi 10.1631/jzus.B2100930
- Liu J., He D., Cheng L., Huang C., Zhang Y., Rao X., Kong Y., ... Jones K., Napier D., Lee E.Y., Wang C., Liu X. p300/CBP inhibition enhances the efficacy of programmed death-ligand 1 blockade treatment in prostate cancer. *Oncogene*. 2020;39(19):3939-3951. doi 10.1038/s41388-020-1270-z
- Liu J., Liu Q., Zhang X., Cui M., Li T., Zhang Y., Liao Q. Immune subtyping for pancreatic cancer with implication in clinical outcomes and improving immunotherapy. *Cancer Cell Int*. 2021;21(1):137. doi 10.1186/s12935-021-01824-z
- Maiuri L., Luciani A., Giardino I., Raia V., Vilella V.R., D'Apolito M., Pettoello-Mantovani M., Guido S., Ciacci C., Cimmino M., Cexus O.N., Londei M., Quarantino S. Tissue transglutaminase activation modulates inflammation in cystic fibrosis via PPARgamma down-regulation. *J Immunol*. 2008;180(11):7697-7705. doi 10.4049/jimmunol.180.11.7697
- Martinez F.O., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression.

- J Immunol.* 2006;177(10):7303-7311. doi 10.4049/jimmunol.177.10.7303
- Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci.* 2008;13:453-461. doi 10.2741/2692
- Mills C.D. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease. *Crit Rev Immunol.* 2012;32(6):463-488. doi 10.1615/critrevimmunol.v32.i6.10
- Mosser D.M., Hamidzadeh K., Goncalves R. Macrophages and the maintenance of homeostasis. *Cell Mol Immunol.* 2021;18(3):579-587. doi 10.1038/s41423-020-00541-3
- Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K., Fisher E.A., Gilroy D.W., Goerdt S., Gordon S., ... Suttles J., Udalova I., van Ginderachter J.A., Vogel S.N., Wynn T.A. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity.* 2014;41(1):14-20. doi 10.1016/j.immuni.2014.06.008
- Oates T.C., Moura P.L., Cross S., Roberts K., Baum H.E., Haydn-Smith K.L., Wilson M.C., Heesom K.J., Severn C.E., Toye A.M. Defining the proteomic landscape of cultured macrophages and their polarization continuum. *Immunol Cell Biol.* 2023;101(10):947-963. doi 10.1111/imcb.12687
- Sun W., Qin Y., Wang Z., Dong W., He L., Zhang T., Zhang H. The *NEAT1\_2*/miR-491 axis modulates papillary thyroid cancer invasion and metastasis through TGM2/NFκB/FN1 signaling. *Front Oncol.* 2021;11:610547. doi 10.3389/fonc.2021.610547
- van der Lans A.A., Boon M.R., Haks M.C., Quinten E., Schaart G., Ottenhoff T.H., van Marken Lichtenbelt W.D. Cold acclimation affects immune composition in skeletal muscle of healthy lean subjects. *Physiol Rep.* 2015;3(7):e12394. doi 10.14814/phy2.12394
- Wynn T.A., Vannella K.M. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity.* 2016;44(3):450-462. doi 10.1016/j.immuni.2016.02.015
- Xu W., Zhao X., Daha M.R., van Kooten C. Reversible differentiation of pro- and anti-inflammatory macrophages. *Mol Immunol.* 2013;53(3):179-86. doi 10.1016/j.molimm.2012.07.005
- Yuan R., Li S., Geng H., Wang X., Guan Q., Li X., Ren C., Yuan X. Reversing the polarization of tumor-associated macrophages inhibits tumor metastasis. *Int Immunopharmacol.* 2017;49:30-37. doi 10.1016/j.intimp.2017.05.014
- Zhang M., Wang C.C. Inflammatory response of macrophages in infection. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2014;13(2):138-152. doi 10.1016/s1499-3872(14)60024-2
- Zhang M., He Y., Sun X., Li Q., Wang W., Zhao A., Di W. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients. *J Ovarian Res.* 2014;7:19. doi 10.1186/1757-2215-7-19
- Zhang Q., Sioud M. Tumor-associated macrophage subsets: shaping polarization and targeting. *Int J Mol Sci.* 2023;24:7493. doi 10.3390/ijms24087493
- Zolotareva O., Saik O.V., Königs C., Bragina E.Y., Goncharova I.A., Freidin M.B., Dosenko V.E., Ivanisenko V.A., Hofestädt R. Comorbidity of asthma and hypertension may be mediated by shared genetic dysregulation and drug side effects. *Sci Rep.* 2019;9(1):16302. doi 10.1038/s41598-019-52762-w

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 09.08.2025. После доработки 16.10.2025. Принята к публикации 17.10.2025.