

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Приоритизация потенциальных фармакологических мишеней для создания лекарств против гепатокарциномы, модулирующих внешний путь апоптоза, на основе реконструкции и анализа ассоциативных генных сетей

П.С. Деменков^{1, 2, 3}, Е.А. Антропова¹✉, А.В. Адамовская^{1, 3}, Е.Л. Мищенко^{1, 2}, Т.М. Хлебодарова^{1, 2}, Т.В. Иванисенко^{1, 2, 3}, Н.В. Иванисенко¹, А.С. Вензель^{1, 2, 3}, И.Н. Лаврик⁴, В.А. Иванисенко^{1, 2, 3}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Курчатовский геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ Медицинский факультет Магдебургского университета им. Отто фон Герике, Магдебург, Германия

✉ nzhenia@bionet.nsc.ru

Аннотация. Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) – распространенный тяжелый тип рака печени, характеризующийся крайне агрессивным течением и низкой выживаемостью. Известно, что нарушения регуляции активации апоптоза являются одной из ключевых особенностей, свойственной большинству раковых клеток, что определяет фармакологическую индукцию апоптоза как важную стратегию терапии рака. Компьютерный дизайн химических соединений, способных целевым образом регулировать внешний сигнальный путь индукции апоптоза, представляет перспективный подход для создания новых эффективных средств терапии рака печени и других онкологических заболеваний. Однако в настоящее время большинство исследований посвящено фармакологическим воздействиям на внутренний (митохондриальный) путь апоптоза, тогда как внешний путь, индуцируемый посредством клеточных рецепторов смерти, остается вне поля зрения. Аберрантное метилирование генов наряду с инфекцией вирусом гепатита С считаются важными факторами риска развития ГЦК. Реконструкция генных сетей, описывающих молекулярные механизмы взаимодействия аберрантно метилированных генов с ключевыми участниками внешнего пути апоптоза, а также пути их регуляции белками вируса гепатита С, может дать важную информацию при поиске фармакологических мишеней. В настоящей работе были предложены 13 критериев приоритизации потенциальных фармакологических мишеней для создания лекарств против гепатокарциномы, модулирующих внешний путь апоптоза. В основу критериев легли показатели структурно-функциональной организации реконструированных с использованием ANDSystem генных сетей ГЦК, внешнего пути апоптоза и регуляторных путей взаимодействия «вирус – внешний путь апоптоза» и «аберрантное метилирование генов – внешний путь апоптоза». Список наиболее приоритетных 100 генов-мишеней, ранжированных согласно рейтингу приоритизации, оказался статистически значимо (p -value = 0.0002) обогащен известными фармакологическими мишенями, одобренными FDA, что указывает на корректность примененного метода приоритизации. Среди перспективных потенциальных фармакологических мишеней могут быть представлены шесть генов-кандидатов (*JUN*, *IL10*, *STAT3*, *MYC*, *TLR4* и *KHDRBS1*), занимающих высокое положение в ранжированном списке согласно результатам приоритизации.

Ключевые слова: генные сети; гепатокарцинома; программируемая клеточная гибель; апоптоз; метилирование.

Для цитирования: Деменков П.С., Антропова Е.А., Адамовская А.В., Мищенко Е.Л., Хлебодарова Т.М., Иванисенко Т.В., Иванисенко Н.В., Вензель А.С., Лаврик И.Н., Иванисенко В.А. Приоритизация потенциальных фармакологических мишеней для создания лекарств против гепатокарциномы, модулирующих внешний путь апоптоза, на основе реконструкции и анализа ассоциативных генных сетей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(7):784-793. DOI 10.18699/VJGB-23-91

Prioritization of potential pharmacological targets for the development of anti-hepatocarcinoma drugs modulating the extrinsic apoptosis pathway: the reconstruction and analysis of associative gene networks help

P.S. Demenkov^{1, 2, 3}, E.A. Antropova¹✉, A.V. Adamovskaya^{1, 3}, E.L. Mishchenko^{1, 2}, T.M. Khlebodarova^{1, 2}, T.V. Ivanisenko^{1, 2, 3}, N.V. Ivanisenko¹, A.S. Venzel^{1, 2, 3}, I.N. Lavrik⁴, V.A. Ivanisenko^{1, 2, 3}

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Kurchatov Genomic Center of ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ Medical Faculty, Otto von Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany

✉ nzhenia@bionet.nsc.ru

© Деменков П.С., Антропова Е.А., Адамовская А.В., Мищенко Е.Л., Хлебодарова Т.М., Иванисенко Т.В., Иванисенко Н.В., Вензель А.С., Лаврик И.Н., Иванисенко В.А., 2023

Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

Abstract. Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common severe type of liver cancer characterized by an extremely aggressive course and low survival rates. It is known that disruptions in the regulation of apoptosis activation are some of the key features inherent in most cancer cells, which determines the pharmacological induction of apoptosis as an important strategy for cancer therapy. The computer design of chemical compounds capable of specifically regulating the external signaling pathway of apoptosis induction represents a promising approach for creating new effective ways of therapy for liver cancer and other oncological diseases. However, at present, most of the studies are devoted to pharmacological effects on the internal (mitochondrial) apoptosis pathway. In contrast, the external pathway induced via cell death receptors remains out of focus. Aberrant gene methylation, along with hepatitis C virus (HCV) infection, are important risk factors for the development of hepatocellular carcinoma. The reconstruction of gene networks describing the molecular mechanisms of interaction of aberrantly methylated genes with key participants of the extrinsic apoptosis pathway and their regulation by HCV proteins can provide important information when searching for pharmacological targets. In the present study, 13 criteria were proposed for prioritizing potential pharmacological targets for developing anti-hepatocarcinoma drugs modulating the extrinsic apoptosis pathway. The criteria are based on indicators of the structural and functional organization of reconstructed gene networks of hepatocarcinoma, the extrinsic apoptosis pathway, and regulatory pathways of virus-extrinsic apoptosis pathway interaction and aberrant gene methylation-extrinsic apoptosis pathway interaction using ANDSystem. The list of the top 100 gene targets ranked according to the prioritization rating was statistically significantly (p -value = 0.0002) enriched for known pharmacological targets approved by the FDA, indicating the correctness of the prioritization method. Among the promising potential pharmacological targets, six highly ranked genes (*JUN*, *IL10*, *STAT3*, *MYC*, *TLR4*, and *KHDRBS1*) are likely to deserve close attention. Key words: gene networks; hepatocarcinoma; programmed cell death; apoptosis; methylation.

For citation: Demenkov P.S., Antropova E.A., Adamovskaya A.V., Mishchenko E.L., Khlebodarova T.M., Ivanisenko T.V., Ivanisenko N.V., Venzel A.S., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of potential pharmacological targets for the development of anti-hepatocarcinoma drugs modulating the extrinsic apoptosis pathway: the reconstruction and analysis of associative gene networks help. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(7):784-793. DOI 10.18699/VJGB-23-91

Введение

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) является наиболее распространенной опухолевой патологией печени, охватывающей более 90 % случаев среди всех злокачественных новообразований печени и внутрипеченочных желчных протоков (Llovet et al., 2018). Она характеризуется крайне агрессивным течением и низкой выживаемостью. В отличие от большинства других видов рака, существуют некоторые зарегистрированные факторы риска возникновения ГЦК, такие как инфекции, вызванные вирусами гепатита С и В, алкоголь, жировая инфильтрация печени, гепатит, аутоиммунные или хронические холестатические заболевания (Forner et al., 2012). Исследования в области гепатоканцерогенеза показали важную роль генетических и эпигенетических механизмов, приводящих к образованию моноклональных популяций aberrантных и диспластических гепатоцитов, у которых наблюдаются эрозия теломер и повторная экспрессия теломераз, микросателлитная нестабильность, а также необратимые структурные изменения в генах и хромосомах (Balogh et al., 2016). Фенотип злокачественных гепатоцитов может быть вызван нарушением ряда генов, которые функционируют в различных регуляторных путях, что вызывает различающиеся молекулярные варианты ГЦК (Thorgerirsson, Grisham, 2002). Данная особенность патологии делает актуальными реконструкцию и анализ генных сетей, описывающих молекулярные механизмы заболевания.

В исследованиях, посвященных поиску терапевтических средств для лечения рака, центральное место занимает проблема подавления клеточной пролиферации и индукции программируемой клеточной гибели. Апоптоз, один из известных механизмов программируемой клеточной гибели, подразделяют на внутренний и внешний, в

зависимости от пути индукции сигнала. Сигнал апоптоза, индуцированный клеточными рецепторами смерти, называется внешним путем, а митохондриями – внутренним (Krammer et al., 2007). В обоих случаях сигнал апоптоза инициирует активацию каспаз, ключевых ферментов апоптоза, что приводит к разрушению клетки, однако молекулярные механизмы пути передачи сигнала являются совершенно разными. Представленные в литературе исследования сфокусированы на регуляции внутреннего пути апоптоза, в области которого наметился определенный прогресс по поиску соединений, обладающих фармакологическим потенциалом для терапии ГЦК. Следует отметить, что фармакологическое воздействие на внешний путь апоптоза при ГЦК остается плохо изученным. Однако фармакологическая индукция этого пути может принести существенный, принципиально значимый прогресс для терапии рака.

Индукция апоптоза контролируется рядом белков-ингибиторов, включая c-FLIP, который блокирует активацию каспазы-8, членов антиапоптотического семейства BCL-2, ингибирующих высвобождение цитохрома С из митохондрий, а также белков XIAP, которые блокируют активацию каспазы-3, -7 и -9. Во внешнем пути апоптоза DISC, состоящий из белков PC, FADD, прокаспазы-8, -10 и c-FLIP, служит центральной платформой для активации прокаспазы-8 (Lavrik, Krammer, 2012). c-FLIP может функционировать в составе комплекса DISC как про-, так и антиапоптотически. Предполагается, что проапоптотическая функция c-FLIP опосредуется образованием гетеродимеров прокаспазы-8/c-FLIP. Ранее в совместных исследованиях, проводимых ИЦиГ СО РАН и Университетом Магдебурга, нами впервые в мире был разработан первый в своем классе химический зонд (малое химиче-

ское соединение), способный специфически связываться с c-FLIP в гетеродимерном комплексе каспазы-8/c-FLIP (Hillert et al., 2020). Данная малая молекула была получена путем компьютерного дизайна и обладала биологической активностью – способностью увеличивать активность каспазы-8 (Hillert et al., 2020).

Вирус гепатита С (ВГС) активно изучается в научной литературе как значимый фактор риска ГЦК (Axley et al., 2018). Роль ВГС показана в регуляции апоптоза, а также в aberrантном метилировании генов, которое тесно связано с ГЦК (Zheng et al., 2019; Lee, Ou, 2022).

Генные сети широко применяются для описания молекулярно-генетических механизмов различных процессов. Ранее нами была разработана программно-информационная система ANDSystem (Ivanisenko V.A. et al., 2015, 2019; Ivanisenko T.V. et al., 2020, 2022), предназначенная для реконструкции и анализа ассоциативных генных сетей, на основе автоматической экстракции знаний из научных публикаций и фактографических баз данных. С помощью реконструкции генных сетей, выполненных с использованием ANDSystem, были проведены такие исследования, как анализ взаимодействий белков вируса гепатита С с протеомом человека (Saik et al., 2016), связь ВГС с aberrантным метилированием при ГЦК (Antropova et al., 2022), интерпретация результатов метаболомного анализа пациентов SARS-Cov-2 (Ivanisenko V.A. et al., 2022), задачи приоритизации генов-кандидатов, ассоциированных с лимфедемой, большим депрессивным расстройством (Yankina et al., 2018; Saik et al., 2019), поиск новых потенциальных мишеней для действия лекарств (Saik et al., 2018a, b) и др.

На основе реконструкции и анализа генных сетей ГЦК и внешнего пути апоптоза, а также регуляторных путей, связывающих белки ВГС с aberrантно метилированными генами при ГЦК и ключевыми участниками внешнего пути апоптоза, были предложены критерии приоритизации потенциальных фармакологических мишеней против ГЦК. Анализ обогащенности 100 первых генов-мишеней, упорядоченных по результатам приоритизации, показал значимое содержание (p -value = 0.0002) в списке генов фармакологических мишеней, одобренных FDA, что свидетельствует об эффективности предложенных критериев приоритизации. Мы предполагаем, что механизмом действия лекарств, нацеленных на данные мишени, является модуляция внешнего пути апоптоза с учетом aberrантного метилирования генов, что может быть использовано при создании лекарств нового класса для терапии ГЦК. В качестве перспективных потенциальных фармакологических мишеней, входящих в первые тридцать по рейтингу, можно выделить следующие гены-кандидаты: *JUN*, *IL10*, *STAT3*, *MYC*, *TLR4* и *KHDRBS1*.

Материалы и методы

Программно-информационная система ANDSystem. Реконструкция генных сетей проводилась с использованием программно-информационной системы ANDSystem, которая осуществляет автоматическое извлечение знаний из текстов научных публикаций и фактографических баз данных с помощью методов искусственного интеллекта (Ivanisenko V.A. et al., 2019). Система ANDSystem включа-

ет в себя базу знаний, содержащую более 40 млн фактов о молекулярно-генетических взаимодействиях, в том числе физические межмолекулярные взаимодействия, регуляцию экспрессии генов, регуляцию активности, стабильности и транспорта белков. Работа над реконструкцией и анализом генных сетей в ANDSystem выполняется с помощью программы ANDVisio. Для реконструкции регуляторных путей использовалась функция Pathway Wizard, реализованная в ANDVisio, которая по заданному шаблону осуществляет поисковые обращения к базе знаний. Схематическое описание шаблонов, использованных для реконструкции регуляторных путей, приведено в Приложениях 1–4¹.

Данные, специфические для пациентов и тканей, по экспрессии генов и метилированию ДНК. При реконструкции генных сетей применялись пациент-специфические и тканеспецифические данные по экспрессии генов и метилированию ДНК. С использованием данных по тканеспецифической экспрессии генов осуществлялась фильтрация генных сетей встроенными методами ANDSystem. Информация по тканеспецифической экспрессии генов была представлена в системе ANDSystem. Сведения о дифференциальной экспрессии генов взяты из базы GEO (Barrett et al., 2013; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Были выбраны эксперименты, для которых имелись результаты исследования проб ткани гепатокарциномы, полученных от пациентов с этим заболеванием. Значения статистической значимости дифференциальной экспрессии генов и дифференциального метилирования в образцах опухолевых тканей гепатокарциномы по сравнению с контрольными образцами были рассчитаны в пакете программ GEO2R (Barrett et al., 2013; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r/>). Параметры расчетов были выбраны по умолчанию.

FDA одобренные фармакологические мишени. Данные по фармакологическим мишеням, одобренным FDA, извлекались из ресурса Human protein atlas (Uhlén et al., 2015; <https://www.proteinatlas.org/>).

Метод приоритизации потенциальных фармакологических мишеней. Для приоритизации генов-кандидатов фармакологических мишеней применяли критерии, представленные в табл. 1. Результирующий вес гена оценивался как сумма весов всех критериев.

Результаты и обсуждение

Для приоритизации потенциальных фармакологических мишеней применяли 13 критериев, учитывающих различные характеристики структурно-функциональной организации генных сетей рака печени и программируемой клеточной гибели, в том числе данные, специфические для пациентов и тканей, по метилированию ДНК. В каждом критерии был введен количественный показатель веса. В качестве результирующей характеристики рассчитывали суммарный показатель по всем 13 критериям. Чтобы ранжировать гены по степени приоритетности, их упорядочивали в списке от больших значений суммарного показателя к меньшим. Таким образом, гены, обладающие более высоким приоритетом в качестве кандидатов фар-

¹ Приложения 1–7 см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2023-27/appx25.pdf>

Таблица 1. Критерии, разработанные для приоритизации генов-кандидатов фармакологических мишеней

№ п/п	Название критерия	Значение	Характеристика
1	Представленность гена в генной сети ГЦК	score1 = 2	Ген или кодируемый им белок представлен в генной сети
		score1 = 0	Ген или кодируемый им белок не представлен в генной сети
2	Представленность гена в генной сети внешнего апоптоза	score2 = 2	Ген или кодируемый им белок представлен в генной сети
		score2 = 0	Ген или кодируемый им белок не представлен в генной сети
3	Показатель aberrантного метилирования	score3 = 3	Ген гипометилирован при ГЦК (есть данные по повышенной экспрессии)
		score3 = -5	Ген гиперметилирован (есть данные по сниженной экспрессии)
4	Показатель центральности гена в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) генами из генной сети ГЦК (см. Приложение 1)	score4 = $1 + \ln(Q1)$	Ген представлен в регуляторной генной сети. Q1 – количество связей гена с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score4 = 0	Ген не представлен в регуляторной генной сети
5	Показатель центральности белка в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) генами из генной сети ГЦК (см. Приложение 1)	score5 = $1 + \ln(Q2)$	Белок представлен в регуляторной генной сети. Q2 – количество связей белка с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score5 = 0	Белок не представлен в регуляторной генной сети
6	Показатель центральности гена в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) белками ВГС (см. Приложение 2)	score6 = $2 + \ln(Q3)$	Ген представлен в регуляторной генной сети. Q3 – количество связей гена с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score6 = 0	Ген не представлен в регуляторной генной сети
7	Показатель центральности белка в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) белками ВГС (см. Приложение 2)	score7 = $2 + \ln(Q4)$	Белок представлен в регуляторной генной сети. Q4 – количество связей белка с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score7 = 0	Белок не представлен в регуляторной генной сети
8	Показатель центральности гена в регуляторных путях (см. Приложение 3), описывающих регуляцию гиперметилированных генов белками ВГС	score8 = $\ln(Q5)$	Ген представлен в регуляторной генной сети. Q5 – количество связей гена с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score8 = 0	Ген не представлен в регуляторной генной сети
9	Показатель центральности белка в регуляторных путях (см. Приложение 3), описывающих регуляцию гиперметилированных генов белками ВГС	score9 = $\ln(Q6)$	Белок представлен в регуляторной генной сети. Q6 – количество связей белка с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score9 = 0	Белок не представлен в регуляторной генной сети
10	Показатель центральности гена в регуляторных путях (см. Приложение 3), описывающих регуляцию гипометилированных генов белками ВГС	score10 = $1 + \ln(Q7)$	Ген представлен в регуляторной генной сети. Q7 – количество связей гена с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score10 = 0	Ген не представлен в регуляторной генной сети
11	Показатель центральности белка в регуляторных путях (см. Приложение 3), описывающих регуляцию гипометилированных генов белками ВГС	score11 = $1 + \ln(Q8)$	Белок представлен в генной сети. Q8 – количество связей белка с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score11 = 0	Белок не представлен в генной сети
12	Показатель центральности гена в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) aberrантно метилированными генами (см. Приложение 4)	score12 = $2 + \ln(Q9)$	Ген представлен в регуляторной генной сети. Q9 – количество связей гена с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score12 = 0	Ген не представлен в регуляторной генной сети
13	Показатель центральности белка в регуляторных путях, описывающих регуляцию ключевых генов внешнего пути апоптоза (<i>CFLAR</i> , <i>CASP8</i> и <i>FADD</i>) aberrантно метилированными генами (см. Приложение 4)	score13 = $2 + \ln(Q10)$	Белок представлен в регуляторной генной сети. Q10 – количество связей белка с другими объектами сети (показатель центральности по степени)
		score13 = 0	Белок не представлен в регуляторной генной сети

макологических мишеней, находились в верхней части списка (имели меньший ранг).

При расчете показателей веса генов по критериям приоритизации осуществляли реконструкцию генных сетей ГЦК и внешнего пути апоптоза, как описано ниже.

Реконструкция генной сети гепатокарциномы человека

В результате автоматизированного поиска генов, связанных с ГЦК по типу связи association, проводимого с помощью новой версии ANDSystem (Ivanisenko V.A. et al., 2019), найдено более 5100 генов. Далее встроенными методами ANDSystem была выполнена фильтрация генов по тканеспецифичности: оставлены только те гены, которые экспрессируются в печени, – 4905 генов. Затем использовался список из 1211 дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ), взятых на основе анализа RNA-seq в работе (Huang et al., 2011). Данные были получены из тканей десяти пациентов с HBV-ассоциированной ГЦК. В качестве контроля использовали здоровые ткани этих же пациентов.

После этого шага с помощью встроенных функций ANDVisio было проведено пересечение генной сети, реконструированной с помощью ANDSystem, и списка дифференциально экспрессирующихся генов. В результате пересечения в генной сети осталось 584 гена, которые были найдены методами ANDSystem по материалам опубликованных работ и баз данных как связанные с гепатокарциномой и одновременно присутствуют в списке дифференциально экспрессирующихся генов гепатокарциномы человека, полученных из данных RNA в (Huang et al., 2011). Далее был осуществлен поиск белков, которые экспрессируются с этих генов, а также метаболитов, связанных с этими белками прямыми взаимодействиями (связь по типу «катализ»), и реконструирована сеть взаимодействий между всеми объектами генной сети (генами, белками и метаболитами). В генной сети на этом этапе содержалось 584 гена, 580 белков, 1061 метаболит и более 16000 взаимодействий между ними.

На втором этапе генная сеть была расширена данными по пациент- и тканеспецифическому метилированию ДНК (Приложение 5). Они включали 67 генов, метилирование которых было дифференциально изменено (гипер- или гипометилированные гены) в опухолях пациентов по сравнению с контрольными пробами. После добавления в генную сеть aberrантно метилированных генов и их белковых продуктов, а также расширения генной сети метаболитами, взаимодействующими с ними, в итоговой генной сети содержалось 627 генов, 624 белка, 1105 метаболитов, 17387 взаимодействий.

Реконструкция генной сети внешнего пути апоптоза

Проведена реконструкция генной сети внешнего пути апоптоза с учетом данных GeneOntology и ANDSystem (Приложение 6). На первом шаге был сформирован список генов, участников внешнего сигнального пути апоптоза, с помощью запроса к базе данных GeneOntology. Для выполнения запроса использовались следующие ключевые слова: GO термин “extrinsic apoptotic signaling pathway” (внешний сигнальный путь апоптоза), организм “human” (человек). На основе этого запроса получен

список из 259 генов. Далее список был загружен в программу ANDVisio для построения генной сети с помощью ANDSystem. С использованием ANDSystem генная сеть была расширена белками, экспрессируемыми с введенных генов, а также метаболитами, связанными с этими генами. В итоге генная сеть внешнего пути апоптоза содержала 259 генов, 260 белков и 513 метаболитов.

Результаты приоритизации генов

Всего проанализировано 1345 генов, включая участников генных сетей ГЦК и внешнего пути апоптоза, а также регуляторных путей. Результаты применения критериев приоритизации для первых 30 наиболее приоритетных генов представлены в табл. 2. Из 1345 генов 137 оказались мишенями FDA подтвержденных лекарств. В список 100 наиболее приоритетных попали 19 генов, являющихся мишенями FDA подтвержденных лекарств. Подробная информация по результатам приоритизации, содержащая количественные значения каждого из критериев, для 100 наиболее приоритетных генов приведена в Приложении 7. Из этих 19 генов-мишеней 17 характеризуются как связанные с раком (cancer-related genes). Согласно гипергеометрическому распределению, при случайном выборе 19 генов из 137 вероятность события, при котором 17 генов и более среди 19 выбранных окажутся ассоциированными с раком, равна $p = 0.0002$. Данный анализ характеризует тот факт, что 100 наиболее приоритетных генов в таблице потенциальных мишеней статистически значимо связаны с раком (уровень значимости $p = 0.0002$).

Расчет показателей критериев приоритизации, основанных на реконструкции регуляторных путей (критерии 4–13), проводился автоматическими средствами ANDSystem с помощью шаблонов, приведенных в Приложениях 1–4. Реконструкция и анализ регуляторных путей гиперметилированных генов вирусными белками гепатита С, результаты которых использовались в критериях приоритизации 8–11, были описаны нами ранее (Antropova et al., 2022).

Первое место в таблице рангов занимает ген *JUN* (см. табл. 2). Он относится к группе генов-лекарственных мишеней, одобренных FDA, а также связанных с раком (cancer-related genes). В литературе приведены многочисленные данные по его роли в различных видах рака. Так, было показано, что *JUN* влияет на развитие рака кишечника (Nateri et al., 2005), активированный *JUN* преимущественно экспрессируется на инвазивном фронте рака молочной железы и связан с пролиферацией и ангиогенезом (Vleugel et al., 2006).

Согласно нашим результатам, этот ген может быть задействован в регуляции внешнего пути апоптоза. Реконструированная нами регуляторная сеть, описывающая молекулярные пути, посредством которых *JUN* может осуществлять регуляцию маркеров внешнего пути апоптоза *CFLAR*, *CASP8* и *FADD*, представлена на рис. 1. Регуляторная сеть основана на различных выводах экспериментальных работ. Так, например, было показано, что экспрессия *FASLG* зависит от *JUN* – облучение повышало экспрессию *FASLG* в клетках ГЦК посредством активации сигнального пути JNK/c-Jun (Dong et al., 2016). Ген *FASLG* кодирует белок TNFL6 – цитокин, который связывается

Таблица 2. Наиболее значимые 30 генов по уровню приоритета

Ранг	Ген	Полное название гена	Наличие одобренных FDA* средств	Суммарный вес
1	<i>JUN</i>	Proto-oncogene c-Jun	CR**	37.4
2	<i>IL10</i>	Interleukin-10	–	30.9
3	<i>STAT3</i>	Signal transducer and activator of transcription 3	–	30.1
4	<i>CASP8</i>	Caspase-8	–	29.4
5	<i>TP53</i>	Cellular tumor antigen p53	–	28.7
6	<i>CFLAR</i>	CASP8 and FADD-like apoptosis regulator	–	28.3
7	<i>MYC</i>	Myc proto-oncogene protein	–	23.7
8	<i>NFKB1</i>	Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit	CR	23.2
9	<i>FADD</i>	FAS-associated death domain protein	–	23.0
10	<i>IL33</i>	Interleukin-33	–	23.0
11	<i>ELAVL1</i>	ELAV-like protein 1	–	22.9
12	<i>FASLG</i>	Tumor necrosis factor ligand superfamily member 6	–	22.8
13	<i>TERT</i>	Telomerase reverse transcriptase	–	22.5
14	<i>TLR4</i>	Toll-like receptor 4	AR***	22.4
15	<i>BECN1</i>	Beclin-1	–	22.3
16	<i>CLDN1</i>	Claudin-1	–	22.3
17	<i>PARP1</i>	Poly [ADP-ribose] polymerase 1	CR	22.3
18	<i>TNFRSF1A</i>	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1A	CR	21.8
19	<i>CDKN1A</i>	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1	–	21.6
20	<i>SP1</i>	Transcription factor Sp1	–	21.1
21	<i>KHDRBS1</i>	KH domain-containing, RNA-binding, signal transduction-associated protein 1	–	20.6
22	<i>MCL1</i>	Induced myeloid leukemia cell differentiation protein	–	20.6
23	<i>CLDN7</i>	Claudin-7	–	20.3
24	<i>CTSD</i>	Cathepsin D	–	20.0
25	<i>FASN</i>	Fatty acid synthase	CR	19.1
26	<i>MYCN</i>	N-myc proto-oncogene protein	–	18.7
27	<i>DDIT3</i>	DNA damage-inducible transcript 3 protein	–	18.4
28	<i>TNFAIP3</i>	Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3	–	18.1
29	<i>STAT1</i>	Signal transducer and activator of transcription 1	–	17.6
30	<i>NLRP3</i>	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3	–	17.6

* FDA – Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США; ** CR – гены, связанные с раком (cancer-related genes); *** AR – гены, связанные с заболеванием «возрастная дегенерация желтого пятна» (age-related macular degeneration).

с рецептором TNFRSF6/FAS, передающим сигнал апоптоза в клетки. В другом исследовании (Liu Z. et al., 2019) делеция *FASLG* ингибировала экспрессию *CASP8*, что демонстрирует еще один возможный путь влияния JUN на апоптоз (посредством *CASP8*).

Особый интерес представляют также одобренные организацией FDA фармакологические мишени, которые не связаны с раком, но могут быть связаны с апоптозом. В частности, в нашей таблице среди таких генов оказался *TLR4*, занимающий 14-ю позицию по рангу. По данным FDA, ген *TLR4* ассоциирован с заболеванием «возрастная дегенерация желтого пятна». Нарушение апоптоза

является важным патологическим фактором при этом заболевании (Yi et al., 2012).

Регуляторная сеть, описывающая молекулярные пути, посредством которых TLR4 может осуществлять регуляцию CFLAR, CASP8 и FADD, приведена на рис. 2. Можно, например, увидеть регуляторное воздействие от TLR4 к *TNFAIP3*. Она реконструирована на основе опубликованного исследования, где показано, что TLR4 активирует сигнальный путь, приводящий к активации транскрипционного фактора NF-κB. NF-κB, в свою очередь, индуцирует экспрессию *TNFAIP3*, что продемонстрировано на эндотелиальных клетках (Soni et al., 2018). TNFAIP3

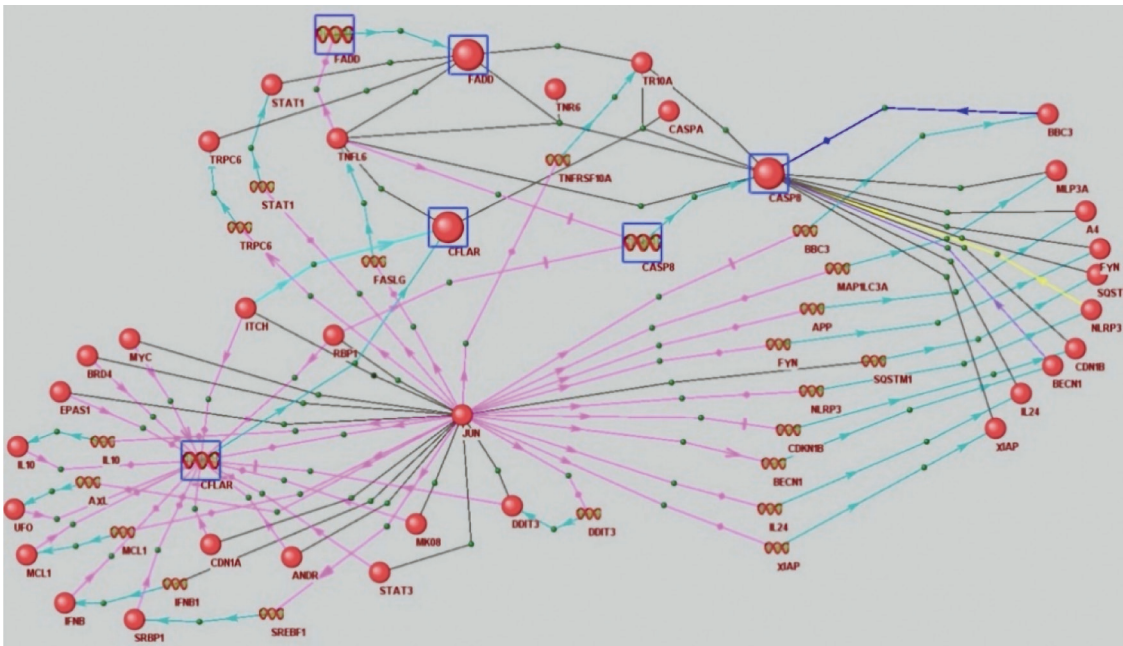


Рис. 1. Реконструированная с помощью ANDSystem сеть взаимодействий, посредством которых JUN может осуществлять регуляцию ключевых белков апоптоза – CFLAR, CASP8 и FADD.

Шарики обозначают белки, спирали обозначают гены. Черные линии – физическое взаимодействие, бирюзовые стрелки – экспрессия, розовые – регуляция экспрессии, синие – регуляция транспорта, желтые стрелки – регуляция активности.

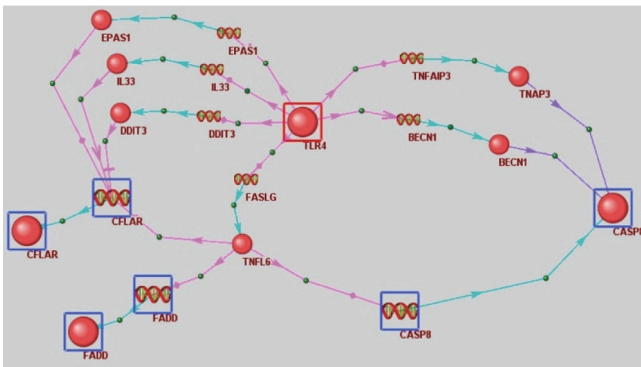


Рис. 2. Реконструированная с помощью ANDSystem сеть взаимодействий, посредством которых TLR4 может осуществлять регуляцию ключевых белков апоптоза – CFLAR, CASP8 и FADD.

Шарики обозначают белки, спирали обозначают гены. Бирюзовые стрелки – экспрессия, фиолетовые – регуляция, розовые стрелки – регуляция экспрессии.

повышает уровень расщепленной каспазы-8, что доказано с помощью нокдауна, в то время как сверхэкспрессия *TNFAIP3* влияла противоположным образом (Liu K. et al., 2018). Аналогично TLR4 через NF-κB может усиливать экспрессию *Beclin-1* (Coppetti et al., 2009), который вызывает расщепление каспазы-8, что приводит к аутофагии и апоптозу (Song et al., 2014).

Вторую строчку в таблице рангов занимает ген *IL10*. Его можно отнести к группе генов, которые не входят в список одобренных FDA фармакологических мишеней, но механизмы их влияния на развитие ГЦК широко обсуждаются в литературе. В 2020 г. в работе (Qian et al., 2020) сделано предположение, что комбинация ингибиторов

IL10 и PD-L1 может стать основой эффективного лечения. Регуляторная сеть, описывающая молекулярные пути, посредством которых IL10 может осуществлять регуляцию CFLAR, CASP8 и FADD, представлена на рис. 3.

Еще одна группа – гены, для которых в FDA нет указания на одобренные средства, однако механизм действия ряда широко используемых лекарственных препаратов затрагивает эти гены или кодируемые ими белки. К этой группе можно отнести гены *STAT3* и *MYC*, занимающие 3-е и 7-е положение в таблице рангов. Достаточно большое количество публикаций демонстрирует, что *STAT3* играет ключевую роль в инициации, прогрессировании, иммуносупрессии и метастазировании ГЦК. Отдельные лекарственные препараты влияют на функционирование *STAT3*. Например, F.M. Gu с коллегами показали, что ингибирование роста и метастазирования ГЦК противоопухолевым средством направленного действия «сорафениб» опосредовано блокированием *STAT3* (Gu et al., 2011). Также известно, что сорафениб индуцирует апоптоз (Xie et al., 2012). L. Wu с соавторами, изучив механизм действия кверцетина (природный флавоноид, входит в состав некоторых биологически активных добавок и препаратов), показали, что он ингибирует прогрессирование ГЦК, влияя на апоптоз, миграцию, инвазию, аутофагию, через сигнальный путь JAK2/STAT3 (по крайней мере частично) (Wu et al., 2019). Механизм действия другого противоопухолечевого лекарства – траметиниба (trametinib), применяемого для лечения меланомы, основан на ингибировании белка MEK, входящего в сигнальный каскад. Ингибирование MEK приводит к снижению уровня белка *MYC*, способствующего выживанию клеток, а также к повышению уровня проапоптозного белка BIM, что, в свою очередь, подавляет рост ГЦК (Zhou et al., 2019).

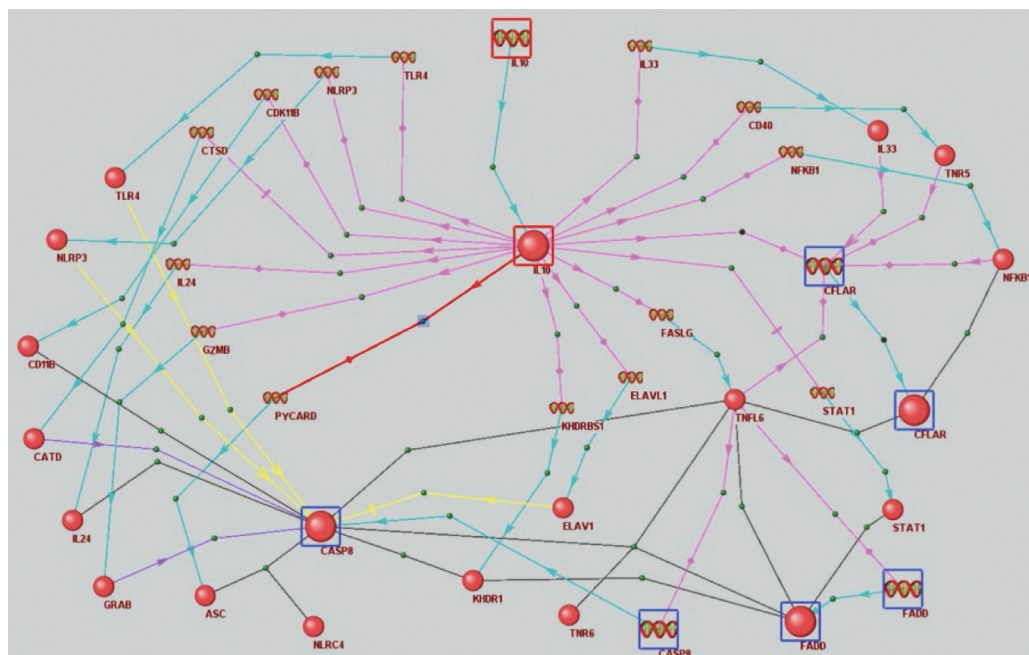


Рис. 3. Реконструированная с помощью ANDSystem сеть взаимодействий, посредством которой IL10 может влиять на CFLAR, CASP8 и FADD. Шарики обозначают белки, спирали обозначают гены. Черные линии – физическое взаимодействие, бирюзовые стрелки – экспрессия, фиолетовые – регуляция, розовые – регуляция экспрессии, желтые стрелки – регуляция активности.

На 4-й и 6-й позициях в таблице рангов находятся непосредственно маркеры внешнего пути апоптоза *CASP8* и *CFLAR*. Между ними на 5-й позиции расположился ген *TP53*, важность которого для апоптоза хорошо известна. Таким образом, можно сделать вывод, что среди найденных нами потенциальных фармакологических мишеней на верхних строках результатов приоритизации (см. табл. 2) находятся гены, которые действительно являются мишенями лекарств – либо одобренных FDA, либо препаратов, нацеленных на другие мишени, но затрагивающих в механизмах своего действия эти гены и кодируемые ими белки, а также гены, которые еще только обсуждаются как перспективные мишени.

Особый интерес в качестве фармакологических мишеней могут представлять гены, которые к настоящему времени мало изучены по отношению к механизмам развития ГЦК. Такие гены могут быть принципиально новыми фармакологическими мишенями. В частности, в числе таких генов, попавших в список 100 наиболее приоритетных, может быть рассмотрен *KHDRBS1*, занимающий 21-ю позицию в таблице рангов (см. табл. 2). Регуляторная сеть, описывающая молекулярные пути, посредством которых *KHDRBS1* может осуществлять регуляцию *CFLAR*, *CASP8* и *FADD*, представлена на рис. 4.

Заключение

Проведена компьютерная реконструкция генных сетей гепатокарциномы и программируемой клеточной гибели (внешнего пути апоптоза), учитывающих данные, специфические для пациентов и тканей, по метилированию ДНК, выполненная с применением программно-информационной системы ANDSystem. На основе разработанных

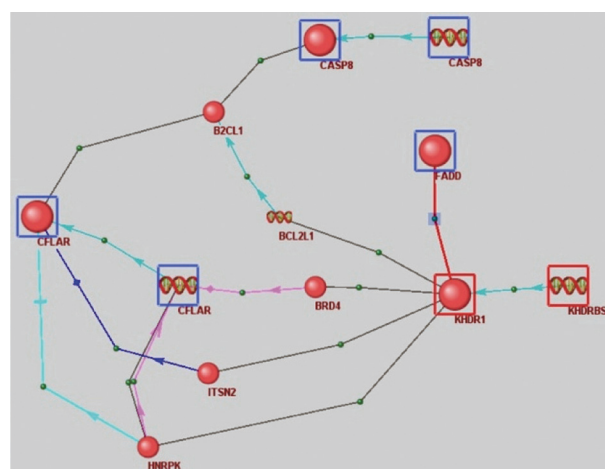


Рис. 4. Реконструированная с помощью ANDSystem сеть взаимодействий, посредством которой *KHDRBS1* может осуществлять регуляцию ключевых белков апоптоза – *CFLAR*, *CASP8* и *FADD*.

Шарики обозначают белки, спирали обозначают гены. Черные линии – физическое взаимодействие, бирюзовые стрелки – экспрессия, розовые стрелки – регуляция экспрессии.

13 критериев, учитывающих особенности структурно-функциональной организации реконструированных генных сетей, осуществлена приоритизация потенциальных фармакологических мишеней. Наибольший интерес в качестве потенциальных фармакологических мишеней могут представлять шесть генов-кандидатов (*JUN*, *IL10*, *STAT3*, *MYC*, *TLR4* и *KHDRBS1*), занимающих высокое положение в ранжированном списке согласно результатам приоритизации.

Список литературы / References

- Antropova E.A., Khlebodarova T.M., Demenkov P.S., Venzel A.S., Ivanisenko N.V., Gavrilenko A.D., Ivanisenko T.V., Adamovskaya A.V., Revva P.M., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Computer analysis of regulation of hepatocarcinoma marker genes hypermethylated by HCV proteins. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(8):733-742. DOI 10.18699/VJGB-22-89
- Axley P., Ahmed Z., Ravi S., Singal A.K. Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma: a narrative review. *J. Clin. Transl. Hepatol*. 2018;6(1):79-84. DOI 10.14218/JCTH.2017.00067
- Balogh J., Victor D., Asham E.H., Burroughs S.G., Boktour M., Saharia A., Li X., Ghobrial R.M., Monsour H.P., Jr. Hepatocellular carcinoma: a review. *J. Hepatocell. Carcinoma*. 2016;3:41-53. DOI 10.2147/JHC.S61146
- Barrett T., Wilhite S.E., Ledoux P., Evangelista C., Kim I.F., Tomashevsky M., Marshall K.A., Phillippy K.H., Sherman P.M., Holtko M., Yefanov A., Lee H., Zhang N., Robertson C.L., Serova N., Davis S., Soboleva A. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets – update. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(D1):D991-D995. DOI 10.1093/nar/gks1193
- Copetti T., Bertoli C., Dalla E., Demarchi F., Schneider C. p65/RelA modulates BECN1 transcription and autophagy. *Mol. Cell. Biol*. 2009;29(10):2594-2608. DOI 10.1128/MCB.01396-08
- Dong Y., Shen X., He M., Wu Z., Zheng Q., Wang Y., Chen Y., Wu S., Cui J., Zeng Z. Activation of the JNK-c-Jun pathway in response to irradiation facilitates Fas ligand secretion in hepatoma cells and increases hepatocyte injury. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2016;35(1):114. DOI 10.1186/s13046-016-0394-z
- Forner A., Llovet J.M., Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2012;379(9822):1245-1255. DOI 10.1016/S0140-6736(11)61347-0
- Gu F.M., Li Q.L., Gao Q., Jiang J.H., Huang X.Y., Pan J.F., Fan J., Zhou J. Sorafenib inhibits growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by blocking STAT3. *World J. Gastroenterol*. 2011;17(34):3922-3932. DOI 10.3748/wjg.v17.i34.3922
- Hillert L.K., Ivanisenko N.V., Busse D., Espe J., König C., Peltek S.E., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A., Lavrik I.N. Dissecting DISC regulation via pharmacological targeting of caspase-8/c-FLIP_L heterodimer. *Cell Death Differ*. 2020;27(7):2117-2130. DOI 10.1038/s41418-020-0489-0
- Huang Q., Lin B., Liu H., Ma X., Mo F., Yu W., Li L., Li H., Tian T., Wu D., Shen F., Xing J., Chen Z.N. RNA-seq analyses generate comprehensive transcriptomic landscape and reveal complex transcript patterns in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2011;6(10):e26168. DOI 10.1371/journal.pone.0026168
- Ivanisenko T.V., Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko N.V., Savostianov A.N., Ivanisenko V.A. ANDDigest: a new web-based module of ANDSystem for the search of knowledge in the scientific literature. *BMC Bioinformatics*. 2020;21(Suppl.11):228. DOI 10.1186/s12859-020-03557-8
- Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A., Ivanisenko V.A. The new version of the ANDDigest tool with improved AI-based short names recognition. *Int. J. Mol. Sci*. 2022;23(23):14934. DOI 10.3390/ijms232314934
- 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
- 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
- Ivanisenko V.A., Gaisler E.V., Basov N.V., Rogachev A.D., Cherezis S.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Mishchenko E.L., Khripko O.P., Khripko Y.I., Voevoda S.M. Plasma metabolomics and gene regulatory networks analysis reveal the role of nonstructural SARS-CoV-2 viral proteins in metabolic dysregulation in COVID-19 patients. *Sci. Rep*. 2022;12(1):19977. DOI 10.1038/s41598-022-24170-0
- Krammer P.H., Kamiński M., Kiessling M., Gülow K. No life without death. *Adv. Cancer Res*. 2007;97:111-138. DOI 10.1016/S0065-230X(06)97005-5
- Lavrik I.N., Krammer P.H. Regulation of CD95/Fas signaling at the DISC. *Cell Death Differ*. 2012;19(1):36-41. DOI 10.1038/cdd.2011.155
- Lee J., Ou J.J. Hepatitis C virus and intracellular antiviral response. *Curr. Opin. Virol*. 2022;52:244-249. DOI 10.1016/j.coviro.2021.12.010
- Liu K., Yao H., Wen Y., Zhao H., Zhou N., Lei S., Xiong L. Functional role of a long non-coding RNA LIFR-AS1/miR-29a/TNFAIP3 axis in colorectal cancer resistance to photodynamic therapy. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis*. 2018;1864(9B):2871-2880. DOI 10.1016/j.bbadis.2018.05.020
- Liu Z., Fitzgerald M., Meisinger T., Batra R., Suh M., Greene H., Penrice A.J., Sun L., Baxter B.T., Xiong W. CD95-ligand contributes to abdominal aortic aneurysm progression by modulating inflammation. *Cardiovasc. Res*. 2019;115(4):807-818. DOI 10.1093/cvr/cvy264
- Llovet J.M., Montal R., Sia D., Finn R.S. Molecular therapies and precision medicine for hepatocellular carcinoma. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2018;15(10):599-616. DOI 10.1038/s41571-018-0073-4
- Nateri A.S., Spencer-Dene B., Behrens A. Interaction of phosphorylated c-Jun with TCF4 regulates intestinal cancer development. *Nature*. 2005;437(7056):281-285. DOI 10.1038/nature03914
- Qian Q., Wu C., Chen J., Wang W. Relationship between IL10 and PD-L1 in liver hepatocellular carcinoma tissue and cell lines. *Biomed. Res. Int*. 2020;2020:8910183. DOI 10.1155/2020/8910183
- Saik O.V., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Ivanisenko V.A. Interactome of the hepatitis C virus: literature mining with ANDSystem. *Virus Res*. 2016;218:40-48. DOI 10.1016/j.virusres.2015.12.003
- Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Choynzonov E.L., Hofstaedt R., Ivanisenko V.A. Search for new candidate genes involved in the comorbidity of asthma and hypertension based on automatic analysis of scientific literature. *J. Integr. Bioinform*. 2018a;15(4):20180054. DOI 10.1515/jib-2018-0054
- Saik O.V., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Bragina E.Y., Freidin M.B., Goncharova I.A., Dosenko V.E., Zolotareva O.I., Hofstaedt R., Lavrik I.N., Rogaev E.I. Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene networks. *BMC Med. Genomics*. 2018b;11(1):61-76. DOI 10.1186/s12920-018-0331-4
- Saik O.V., Nimaev V.V., Usmonov D.B., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Lavrik I.N., Ivanisenko V.A. Prioritization of genes involved in endothelial cell apoptosis by their implication in lymphedema using an analysis of associative gene networks with ANDSystem. *BMC Med. Genomics*. 2019;12(Suppl.2):117-131. DOI 10.1186/s12920-019-0492-9
- Song X., Kim S.Y., Zhang L., Tang D., Bartlett D.L., Kwon Y.T., Lee Y.J. Role of AMP-activated protein kinase in cross-talk between apoptosis and autophagy in human colon cancer. *Cell Death Dis*. 2014;5(10):e1504. DOI 10.1038/cddis.2014.463
- Soni D., Wang D.M., Regmi S.C., Mittal M., Vogel S.M., Schlüter D., Tirupathi C. Deubiquitinase function of A20 maintains and repairs endothelial barrier after lung vascular injury. *Cell Death Discov*. 2018;4:60. DOI 10.1038/s41420-018-0056-3
- Thorgeirsson S.S., Grisham J.W. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat. Genet*. 2002;31(4):339-346. DOI 10.1038/ng0802-339
- Uhlén M., Fagerberg L., Hallström B.M., Lindskog C., Oksvold P., Mardinoglu A., Sivertsson Å., Kampf C., Sjöstedt E., Asplund A.,

- Olsson I., Edlund K., Lundberg E., Navani S., Szgyarto C.A., Odeberg J., Djureinovic D., Takanen J.O., Hober S., Alm T., Edqvist P.H., Berling H., Tegel H., Mulder J., Rockberg J., Nilsson P., Schwenk J.M., Hamsten M., von Feilitzen K., Forsberg M., Persson L., Johansson F., Zwahlen M., von Heijne G., Nielsen J., Pontén F. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347(6220):1260419. DOI 10.1126/science.1260419
- Vleugel M.M., Greijer A.E., Bos R., van der Wall E., van Diest P.J. c-Jun activation is associated with proliferation and angiogenesis in invasive breast cancer. *Hum. Pathol.* 2006;37(6):668-674. DOI 10.1016/j.humpath.2006.01.022
- Wu L., Li J., Liu T., Li S., Feng J., Yu Q., Zhang J., Chen J., Zhou Y., Ji J., Chen K., Mao Y., Wang F., Dai W., Fan X., Wu J., Guo C. Quercetin shows anti-tumor effect in hepatocellular carcinoma LM3 cells by abrogating JAK2/STAT3 signaling pathway. *Cancer Med.* 2019;8(10):4806-4820. DOI 10.1002/cam4.2388
- Xie B., Wang D.H., Spechler S.J. Sorafenib for treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Dig. Dis. Sci.* 2012;57(5):1122-1129. DOI 10.1007/s10620-012-2136-1
- Yankina M.A., Saik O.V., Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Khusnutdinova E.K. Evaluation of prioritization methods of extrinsic apoptotic signaling pathway genes for retrieval of the new candidates associated with major depressive disorder. *Russ. J. Genet.* 2018; 54(11):1366-1374. DOI 10.1134/S1022795418110170
- Yi H., Patel A.K., Sodhi C.P., Hackam D.J., Hackam A.S. Novel role for the innate immune receptor Toll-like receptor 4 (TLR4) in the regulation of the Wnt signaling pathway and photoreceptor apoptosis. *PLoS One.* 2012;7(5):e36560. DOI 10.1371/journal.pone.0036560
- Zheng Y., Hlady R.A., Joyce B.T., Robertson K.D., He C., Nannini D.R., Kibbe W.A., Achenbach C.J., Murphy R.L., Roberts L.R., Hou L. DNA methylation of individual repetitive elements in hepatitis C virus infection-induced hepatocellular carcinoma. *Clin. Epigenetics.* 2019;11(1):145. DOI 10.1186/s13148-019-0733-y
- Zhou X., Zhu A., Gu X., Xie G. Inhibition of MEK suppresses hepatocellular carcinoma growth through independent MYC and BIM regulation. *Cell. Oncol. (Dordr.).* 2019;42(3):369-380. DOI 10.1007/s13402-019-00432-4

ORCID ID

P.S. Demenkov orcid.org/0000-0001-9433-8341
E.A. Antropova orcid.org/0000-0003-2158-3252
T.V. Ivanisenko orcid.org/0000-0002-0005-9155
A.S. Venzel orcid.org/0000-0002-7419-5168
V.A. Ivanisenko orcid.org/0000-0002-1859-4631

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта № 075-15-2021-944 Министерства науки и высшего образования РФ в рамках ERA-NET «Идентификация мишеней и разработка лекарственных средств при раке печени (TAIGA)».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 26.07.2023. После доработки 25.08.2023. Принята к публикации 28.08.2023.