

doi 10.18699/vjgb-25-105

## Компьютерная реконструкция генной сети цитокиновой регуляции генов и белков, ассоциированных с РАС

Н.М. Леванова<sup>1</sup> , Е.Г. Вергунов <sup>1, 2, 3</sup>, А.Н. Савостьянов <sup>1, 2, 3</sup>, И.В. Яцык <sup>1</sup>, В.А. Иванисенко <sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт нейронаук и медицины, Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 levanova@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Многочисленные исследования подтверждают связь нарушений цитокиновой регуляции с развитием расстройств аутистического спектра (РАС) на уровне генов, белков и их межмолекулярных взаимодействий. В работе эти данные были систематизированы с применением биоинформатического анализа и методов машинного обучения. Главным инструментом в исследовании являлась когнитивная система ANDSystem, разработанная в Институте цитологии и генетики СО РАН и задействующая методы искусственного интеллекта для автоматического извлечения информации из биомедицинских баз данных и текстов научных публикаций. С использованием ANDSystem была реконструирована ассоциативная генная сеть цитокиновой регуляции генов и белков, ассоциированных с РАС. В результате анализа удалось идентифицировать 110 цитокинов, которые, согласно воссозданной сети, регулируют активность, деградацию и транспорт 58 белков, вовлеченных в развитие РАС, а также экспрессию 91 гена, ассоциированного с этими расстройствами. Анализ перепредставленности биологических процессов Gene Ontology выявил статистически значимые ассоциации этих генов с процессами, связанными с развитием и работой центральной нервной системы. Анализ топологических характеристик сети и оценка функциональной значимости элементов сети через их ассоциацию с биологическими процессами Gene Ontology, связанными с РАС, позволили выделить 21 цитокин, оказывающий наибольшее влияние на элементы сети. Среди них наибольший приоритет имели восемь цитокинов (IL-4, TGF- $\beta$ 1, BMP4, VEGFA, BMP2, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), которые занимали высокое положение по результатам всех использованных методик приоритизации. Кроме того, из 21 приоритетного цитокина выделяются восемь цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17), которые являются мишенями препаратов, применяемых в качестве иммуносупрессантов и противоопухолевых средств. Установленная роль этих цитокинов в патогенезе РАС создает предпосылки для потенциального перепрофилирования препаратов, направленных на их ингибирование, для терапии расстройств аутистического спектра.

**Ключевые слова:** расстройства аутистического спектра (РАС); нарушения нейроразвития; цитокины; автоматический анализ текстов научных публикаций; патогенез РАС; терапия РАС; компьютерная реконструкция генных сетей

**Для цитирования:** Леванова Н.М., Вергунов Е.Г., Савостьянов А.Н., Яцык И.В., Иванисенко В.А. Компьютерная реконструкция генной сети цитокиновой регуляции генов и белков, ассоциированных с РАС. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(7):1000-1008. doi 10.18699/vjgb-25-105

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках бюджетного проекта № FWNR-2022-0020 в Институте цитологии и генетики СО РАН.


## *In silico* reconstruction of the gene network for cytokine regulation of ASD-associated genes and proteins

N.M. Levanova<sup>1</sup> , E.G. Vergunov <sup>1, 2, 3</sup>, A.N. Savostyanov <sup>1, 2, 3</sup>, I.V. Yatsyk <sup>1</sup>, V.A. Ivanisenko <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 levanova@bionet.nsc.ru

**Abstract.** Accumulated evidence links dysregulated cytokine signaling to the pathogenesis of autism spectrum disorder (ASD), implicating genes, proteins, and their intermolecular networks. This paper systematizes these findings using bioinformatics analysis and machine learning methods. The primary tool employed in the study was the ANDSystem cognitive platform, developed at the Institute of Cytology and Genetics, which utilizes artificial intelligence techniques for automated knowledge extraction from biomedical databases and scientific publications. Using ANDSystem, we reconstructed a gene network of cytokine-mediated regulation of autism spectrum disorder (ASD)-associated genes and proteins. The analysis identified 110 cytokines that regulate the activity, degradation,

and transport of 58 proteins involved in ASD pathogenesis, as well as the expression of 91 ASD-associated genes. Gene Ontology (GO) enrichment analysis revealed statistically significant associations of these genes with biological processes related to the development and function of the central nervous system. Furthermore, topological network analysis and functional significance assessment based on association with ASD-related GO biological processes allowed us to identify 21 cytokines exerting the strongest influence on the regulatory network. Among these, eight cytokines (IL-4, TGF- $\beta$ 1, BMP4, VEGFA, BMP2, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) had the highest priority, ranking at the top across all employed metrics. Notably, eight of the 21 prioritized cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17) are known targets of drugs currently used as immunosuppressants and antitumor agents. The pivotal role of these cytokines in ASD pathogenesis provides a rationale for potentially repurposing such inhibitory drugs for the treatment of autism spectrum disorders.

**Key words:** autism spectrum disorder (ASD); neurodevelopmental disorders; cytokines; automatic text analysis of scientific publications; ASD pathogenesis; ASD treatment; computer reconstruction of gene networks

**For citation:** Levanova N.M., Vergunov E.G., Savostyanov A.N., Yatsyk I.V., Ivanisenko V.A. *In silico* reconstruction of the gene network for cytokine regulation of ASD-associated genes and proteins. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(7):1000-1008. doi 10.18699/vjgb-25-105

## Введение

Согласно DSM-5, диагностическому и статистическому руководству по психическим расстройствам (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth edition), расстройства аутистического спектра (РАС) представляют собой группу вариантов нейроразвития с выраженной генетической предрасположенностью, диагностика которых основывается на поведенческих критериях. Главные диагностические критерии РАС – это постоянные затруднения людей в социальных коммуникациях и взаимодействиях, а также ограниченность и стереотипность поведения. По современным диагностическим стандартам, описанные симптомы РАС должны обязательно проявляться в период раннего развития пациентов. Их выраженность может варьировать, а у ряда пациентов компенсироваться за счет выученных стратегий поведения (American Psychiatric Association, 2013). Признаки РАС характеризуются значительным варьированием поведенческих фенотипов (Van der Zee, Derksen, 2021). Нейрофизиологические особенности, связанные с аутизмом, наблюдаются как у пациентов с диагнозом, так и в общей популяции (Harms et al., 2010; Tsai et al., 2013; Tseng et al., 2015).

Расстройства аутистического спектра подразделяются на идиопатическую и синдромальную формы. Идиопатическая форма характеризуется отсутствием четко идентифицируемых генетических полиморфизмов, тогда как синдромальная ассоциирована с определенными моногенными мутациями и сопровождается дополнительными симптомами (Ziats et al., 2021). Значительная часть случаев синдромального аутизма обусловлена мутациями в генах, кодирующих белки-компоненты сигнального пути mTOR, приводящими к гиперактивации этого пути (Ganesan et al., 2019). В целом, согласно результатам биоинформатического анализа, проведенного ранее с использованием информации из специализированной базы данных SFARI Gene (Abrahams et al., 2013), приблизительно 58 % генов, мутации в которых ассоциированы с РАС, прямо связаны с сигнальным путем mTOR (Trifonova et al., 2019). Белок mTOR, механистическая или типичная для млекопитающих мишень для рапамицина (mammalian or mechanistic target of rapamycin), – это серин/треонин киназа, которая является центральным компонентом двух мультибелковых комплексов: mTORC1 и mTORC2. mTORC1 чувствителен

к рапамицину и реагирует на концентрацию питательных веществ и факторы роста, регулируя рост клеток и метаболизм. mTORC2, напротив, в значительной степени нечувствителен к рапамицину и активируется в ответ стресс и воздействие факторов роста, регулируя процессы выживания и пролиферации клеток (Ragupathi et al., 2024).

Сигнальный путь mTOR вовлечен в регуляцию клеточного и опухолевого роста (Onore et al., 2017), иммунной активности (Liu et al., 2015), а также в формирование памяти и пластичности нейронных связей (Hoeffler, Klann, 2010). Показано, что конститутивная гиперактивация пути mTOR вызывает блокаду аутофагии (McMahon et al., 2012) и нарушение нормального процесса синаптического прунинга (Tang et al., 2014).

Синаптический прунинг – это процесс снижения числа синапсов, происходящий на протяжении всей жизни, в ходе которого микроглия удаляет избыточные синаптические соединения. Он увеличивает нервную проводимость и позволяет перенаправлять ресурсы в значимые области, что обеспечивает эффективность обучения и формирования долговременной памяти (Navlakha et al., 2015). В результате нарушения этого процесса у пациентов с РАС наблюдается увеличение плотности дендритных шипиков и синаптических связей как в поверхностных, так и в глубоких слоях лобной, височной и теменной коры головного мозга (Hutsler, Zhang, 2010).

Микроглия, играющая главную роль в процессе синаптического прунинга, является частью иммунной системы и подвержена регуляторному влиянию цитокинов. Кроме того, микроглия – основной источник провоспалительных цитокинов в мозге, а значит, и ключевой медиатор нейровоспаления, который может индуцировать или модулировать широкий спектр клеточных реакций (Smith et al., 2012). Следы нейровоспаления, обусловленного классической активацией микроглии (M1), обнаружены в аутопсийных препаратах людей с РАС: увеличенные концентрации интерферона IFN- $\gamma$  и цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12p40, TNF- $\alpha$  и CCL2 были зарегистрированы в тканях мозга и в спинномозговой жидкости (Vargas et al., 2005; Li et al., 2009; Morgan et al., 2010).

В целом цитокины обеспечивают регуляцию, необходимую для нормального раннего развития мозга, синаптической пластичности и поддержания процессов гомеостаза

в мозге. Из-за серьезных сдвигов в цитокиновом профиле процессы развития, миграции и дифференцировки нейронов нарушаются, что в конечном итоге приводит к поведенческим отклонениям (Ashwood et al., 2011). Кроме того, показано, что у людей с РАС цитокиновый профиль – количество цитокинов, выделенных из плазмы и сыворотки крови, статистически отличается от такового у нейротипичных людей (Onore et al., 2017). Таким образом, для РАС характерен регуляторный дисбаланс иммунной системы, приводящий к продолжающемуся нейровоспалению.

Для того чтобы выявить и систематизировать регуляторные взаимосвязи между цитокинами, генами и белками, ассоциированными с РАС, была проведена реконструкция ассоциативных генных сетей с применением программных инструментов, основанных на технологиях искусственного интеллекта. В данном исследовании в качестве основного инструмента была использована когнитивная система ANDSystem (Ivanisenko V.A. et al., 2015), предназначенная для автоматизированного анализа научных публикаций и баз данных.

Целью работы стали реконструкция генной сети цитокиновой регуляции генов и белков, ассоциированных с РАС, и анализ полученной генной сети для идентификации цитокинов – перспективных мишеней для иммуномодулирующей терапии РАС.

Анализ реконструированной сети выявил 110 цитокинов, регулирующих активность, деградацию и транспорт 58 белков, а также экспрессию 91 гена, которые ассоциированы с РАС. Изучение перепредставленности биологических процессов Gene Ontology показало значимую ассоциацию этих генов с процессами развития и функционирования ЦНС. Среди 21 цитокина, оказывающего наибольшее влияние на построенную сеть, восемь (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17) являются мишенями уже существующих иммуносупрессивных и противоопухолевых препаратов. Выявленная ключевая роль данных цитокинов в патогенезе РАС создает предпосылки для новых исследований, направленных на перепрофилирование ингибирующих их препаратов для терапии РАС.

## Материалы и методы

На первом этапе была осуществлена компьютерная реконструкция сети взаимодействий цитокинов с белками и генами, ассоциированными с РАС (итоговая генная сеть). Для максимально полного охвата этих регуляторных взаимодействий сначала были реконструированы пять специализированных генных подсетей, отражающих различные пути воздействия цитокинов (табл. S1 Приложения)<sup>1</sup>. Затем эти подсети были интегрированы в единую итоговую генную сеть.

На втором этапе были проведены биоинформатический анализ структуры итоговой генной сети и оценка вовлеченности ее элементов в биологические процессы (согласно терминологии Gene Ontology), которые ассоциированы с РАС. Затем цитокины были приоритизированы

по значимости на основе их потенциального влияния на гены и белки, ассоциированные с РАС.

Последний этап – выявление среди цитокинов, показавших наибольшую значимость в результате выполненного анализа, перспективных мишеней для иммуномодулирующей терапии РАС.

**Этап 1.** Выборка генов, ассоциированных с РАС (234 гена), была извлечена из базы данных SFARI Gene (Abrahams et al., 2013) (<https://gene.sfari.org>). В выборку вошли гены, отмеченные в этой базе данных как с высокой достоверностью ассоциированные с РАС (категория 1 в соответствии с внутренней системой оценки базы данных). Список генов цитокинов (186 генов) и список генов рецепторов цитокинов (114 генов) были составлены по данным, извлеченным из Human Protein Atlas (HPA) (<https://www.proteinatlas.org/>), масштабной базы данных, ориентированной на накопление информации о локализации белков в тканях, клетках и органах человека и их экспрессии (Uhlén et al., 2015).

Для реконструкции генных сетей применялось программное обеспечение ANDVisio (Demenkov et al., 2012), использующее для реконструкции и анализа структуры генных сетей данные из базы знаний когнитивной системы ANDSystem. Когнитивная система ANDSystem предназначена для автоматизированного анализа научных публикаций и баз данных. В системе применяются механизмы онтологического моделирования, анализа графов, обработки естественного языка (Ivanisenko V.A. et al., 2019; Ivanisenko T.V. et al., 2020, 2022, 2024).

Итоговая генная сеть была получена путем объединения подсетей, для реконструкции которых применялась утилита Pathway Wizard, являющаяся частью программного обеспечения ANDVisio и позволяющая осуществить в базе знаний ANDSystem поиск и визуализацию генных сетей, соответствующих заданным шаблонам-запросам. Для построения итоговой генной сети было реконструировано пять отдельных подсетей с использованием нескольких шаблонов-запросов (см. табл. S1), с последующей интеграцией в единый граф.

**Этап 2.** Анализ обогащенности итоговой генной сети биологическими процессами Gene Ontology (Ashburner et al., 2000) (база данных GO\_BP) выполняли в программном инструменте DAVID (Huang et al., 2009; Sherman et al., 2022) (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>). DAVID позволяет проводить функциональную аннотацию генов и оценивать статистическую значимость обогащения генной сети терминами GO с заданным порогом достоверности.

Для анализа структуры итоговой сети и ранжирования цитокинов по степени посредничества и степени вершин в сети задействовали статистические инструменты программы ANDVisio. Степень посредничества (betweenness centrality) вершины определяется числом кратчайших путей, проходящих через нее, в то время как степень вершины (degree centrality) определяется количеством ее непосредственных связей. Обе метрики являются мерой влияния узла на сеть в целом, более высокие значения свидетельствуют о повышенной значимости элемента. Дополнительно с помощью специально разработанного нами скрипта на Python 3.10 была проведена приорите-

<sup>1</sup> Табл. S1 Приложения см. по адресу:  
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2025-29/appx35.pdf>



зация цитокинов на основе их представленности в биологических путях, ассоциированных с PAC.

**Этап 3.** С привлечением информации из баз данных DrugBank (Knox et al., 2024) (<https://go.drugbank.com/>) и GETdb (Zhang et al., 2024) (<https://togodb.org/db/getdb>) отобранные цитокины рассматривались в качестве кандидатов на роль мишеней для фармакологического воздействия.

## Результаты реконструкции генных сетей и их анализа

### Реконструкция взаимодействия цитокинов с белками и генами, ассоциированными с PAC

На первом этапе исследования с использованием программы Pathway Wizard были реконструированы пять подсетей (рис. 1). Построение подсетей осуществляли на основе двух наборов данных: списка генов, ассоциированных с расстройствами аутистического спектра (PAC), из базы данных SFARI (<https://gene.sfari.org>) и перечней цитокинов и их рецепторов из базы данных Human Protein Atlas (HPA) (<https://www.proteinatlas.org/>).

По завершении автоматической реконструкции были вручную просмотрены все полученные в реконструкции связи и элементы для сравнения их с исходными текстами статей, чтобы исключить ошибки из-за неверного извлечения информации.

В результате интеграции реконструированных подсетей была сформирована итоговая сеть взаимодействий цитокинов с белками и генами, ассоциированными с PAC (рис. 2). Сеть содержит 1112 вершин двух типов и 3679 взаимодействий различных видов между ними (табл. 1).

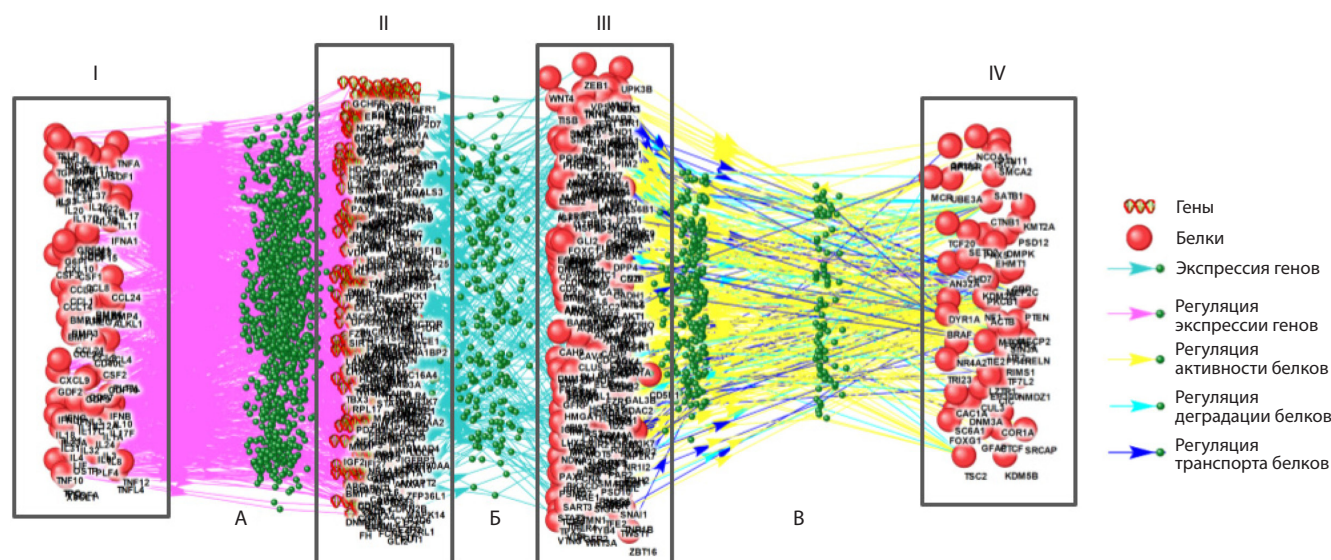
В ходе анализа было идентифицировано 110 цитокинов (см. рис. 2, I), которые регулируют белки и гены, ассоциированные с PAC, а также 58 белков (см. рис. 2, II) и 91 ген (см. рис. 2, III), вовлеченных в формирование PAC, которые регулируются цитокинами.

### Анализ компонентов генной сети

С использованием программного инструмента DAVID был проведен анализ обогащенности итоговой генной сети набором генов, ассоциированных с PAC, экспрессия которых, согласно результатам реконструкции сети, регулируется цитокинами. По материалам базы Gene Ontology этот набор генов статистически значимо связан с биологическими процессами, которые являются специфичными для функционирования и развития нервной системы, такими как формирование дендритных шипиков, развитие гиппокампа, миграция нейронов и др. (табл. 2). Всего в результате анализа было выявлено 56 биологических процессов ( $FDR < 0.05$ , false discovery rate – вероятность ложноположительного исхода), в которые вовлечены гены из полученного набора (согласно базе Gene Ontology). В табл. 2 включены только специфичные биологические процессы с наименьшим значением FDR. Неспецифические процессы, такие как регуляция транскрипции, были опущены.

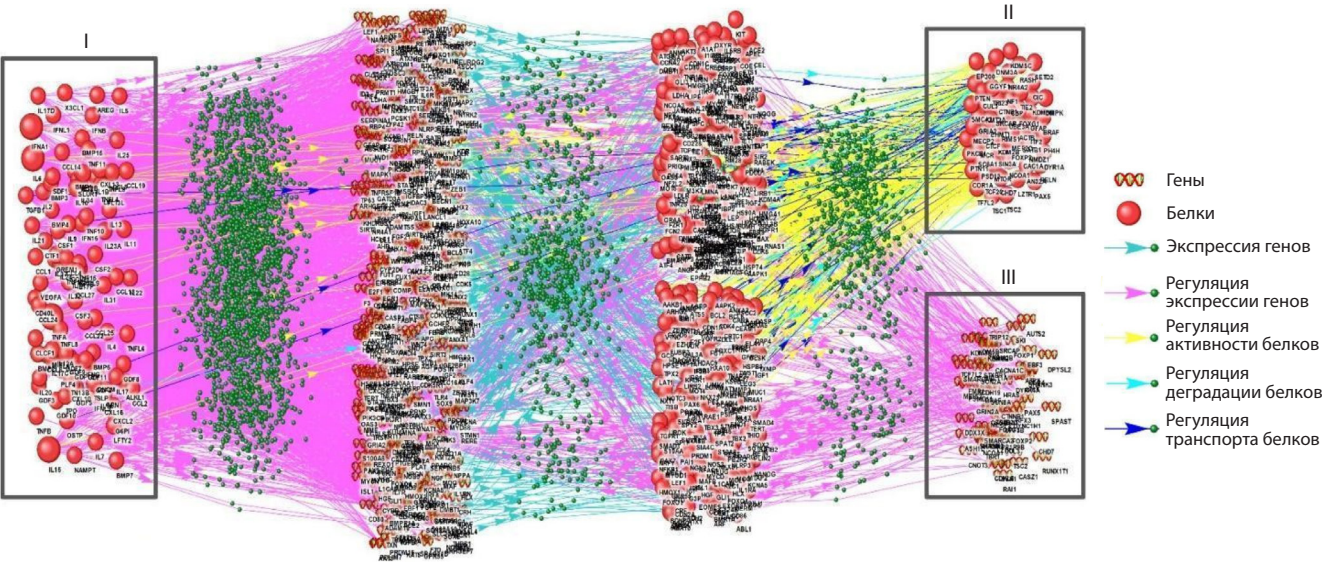
### Приоритизация цитокинов

Для выявления цитокинов, оказывающих наиболее сильное влияние на регуляторную сеть, было проведено их ранжирование по трем ключевым критериям: по степени вершины, по степени посредничества и по представленности в биологических процессах, вовлеченных в патогенез PAC.



**Рис. 1.** Пример реконструкции подсети: реконструкция взаимодействия цитокинов с белками, ассоциированными с PAC, в программе Pathway Wizard по шаблону 1 из табл. S1.

Римскими цифрами обозначены: I – цитокины, которые регулируют белки и гены, ассоциированные с PAC; II – гены-посредники; III – белки-посредники; IV – белки, ассоциированные с PAC, которые через регуляторные пути регулируются цитокинами. Буквами обозначены: А – процессы регуляции экспрессии генов; Б – экспрессия генов; В – процессы регуляции активности, транспорта и деградации белков.



**Рис. 2.** Результаты реконструкции итоговой сети взаимодействия цитокинов с белками и генами, ассоциированными с РАС. Римскими цифрами обозначены: I – цитокины, которые регулируют белки и гены, ассоциированные с РАС; II – белки, ассоциированные с РАС, которые регулируются цитокинами; III – гены, ассоциированные с РАС, которые регулируются цитокинами.

**Таблица 1.** Типы и количество вершин и связей в итоговой генной сети взаимодействия цитокинов с белками и генами, ассоциированными с РАС

Тип связи	Количество	Тип вершины	Количество
Регуляция активности	369	Белок	621
Регуляция деградации	64	Ген	491
Регуляция экспрессии	2772		
Регуляция транспорта	65		
Экспрессия гена	409		

**Таблица 2.** Обогащенность набора генов итоговой генной сети, ассоциированных с РАС, которые регулируются цитокинами

№ п/п	Биологический процесс	Число генов	FDR
1	Возбуждающий постсинаптический потенциал	6	$9.7 \cdot 10^{-4}$
2	Регуляция развития дендритных шипиков	4	$9.7 \cdot 10^{-4}$
3	Развитие гиппокампа	6	$9.7 \cdot 10^{-4}$
4	Положительная регуляция глутаматергической синаптической передачи	5	$8.5 \cdot 10^{-4}$
5	Миграция нейронов	7	$8.5 \cdot 10^{-4}$
6	Нейроразвитие	12	$7.6 \cdot 10^{-4}$
7	Отрицательная регуляция процесса апоптоза нейронов	8	$4.6 \cdot 10^{-4}$
8	Трансмембранный импорт ионов кальция в цитозоль	4	$4.6 \cdot 10^{-4}$

Примечание. FDR (false discovery rate) – вероятность ложноположительного исхода.

Чтобы оценить вовлеченность цитокинов в биологические процессы, ассоциированные с РАС, был разработан специализированный скрипт, который принимал на вход набор цитокинов, выявленных при реконструкции генной сети, и перечень биологических процессов РАС, полученный из анализа обогащения терминами биологических процессов Gene Ontology генов из базы данных SFARI. Алгоритм последовательно оценивал участие каждого

цитокина в биологических процессах из перечня ассоциированных с РАС. Выявлено 13 цитокинов, которые участвуют в биологических процессах, вовлеченных в РАС ( $FDR < 0.05$ ) (табл. 3).

Для ранжирования цитокинов по влиянию в сети использовались две метрики: степень посредничества (betweenness centrality) и степень вершины (degree centrality). Степень посредничества вершины отражает количество

**Таблица 3.** Приоритизация цитокинов по представленности в биологических процессах, ассоциированных с PAC

№ п/п	Название цитокина	Число биологических путей, ассоциированных с PAC	PadjValue	FDR
1	BMP2	6	$1.0 \cdot 10^{-6}$	$3.8 \cdot 10^{-5}$
2	IL-4	5	$5.0 \cdot 10^{-7}$	$2.7 \cdot 10^{-5}$
3	TGFB1	8	$1.9 \cdot 10^{-7}$	$2.1 \cdot 10^{-5}$
4	BMP4	6	$8.7 \cdot 10^{-6}$	$2.0 \cdot 10^{-4}$
5	IFN- $\gamma$	4	$7.2 \cdot 10^{-5}$	$1.5 \cdot 10^{-3}$
6	VEGFA	5	$8.8 \cdot 10^{-5}$	$1.6 \cdot 10^{-3}$
7	BMP7	4	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.8 \cdot 10^{-3}$
8	TNF- $\alpha$	5	$3.0 \cdot 10^{-4}$	$4.3 \cdot 10^{-3}$
9	IL-33	3	$4.0 \cdot 10^{-4}$	$6.0 \cdot 10^{-3}$
10	IL-10	3	$1.9 \cdot 10^{-3}$	$2.1 \cdot 10^{-2}$
11	IFNL1	2	$2.4 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-2}$
12	GPI	2	$5.7 \cdot 10^{-3}$	$4.9 \cdot 10^{-2}$
13	GDF2	2	$5.7 \cdot 10^{-3}$	$4.9 \cdot 10^{-2}$

Примечание. Сортировка выполнена по возрастанию значения FDR; PadjValue – уровень статистической значимости с учетом поправки Бонферрони.

**Таблица 4.** Приоритизация цитокинов по степени посредничества и степени вершины

№ п/п	Название цитокина	Степень посредничества	№ п/п	Название цитокина	Степень вершины
1	TNF- $\alpha$	$19.3 \cdot 10^4$	1	TNF- $\alpha$	100
2	IL-6	$10.4 \cdot 10^4$	2	IL-6	69
3	IL-4	$10.2 \cdot 10^4$	3	IL-4	65
4	TGFB1	$9.8 \cdot 10^4$	4	BMP4	52
5	BMP4	$9.0 \cdot 10^4$	5	TGFB1	51
6	VEGFA	$8.5 \cdot 10^4$	6	VEGFA	51
7	IL-2	$7.7 \cdot 10^4$	7	IL-2	47
8	IL-1 $\beta$	$6.5 \cdot 10^4$	8	IL-1 $\beta$	46
9	BMP2	$5.7 \cdot 10^4$	9	IL-10	46
10	OSTP	$5.5 \cdot 10^4$	10	BMP2	37
11	IL-10	$5.4 \cdot 10^4$	11	IFN- $\gamma$	34
12	IL-8	$4.0 \cdot 10^4$	12	IL-22	32
13	IFN- $\gamma$	$3.9 \cdot 10^4$	13	IL-17	32
14	IL-17	$3.1 \cdot 10^4$	14	OSTP	30
15	IL-15	$2.9 \cdot 10^4$	15	IL-8	29

Примечание. Степень посредничества – количество кратчайших путей в сети, проходящих через данную вершину; степень вершины – число непосредственных связей вершины с другими элементами сети.

кратчайших путей в сети через нее. Степень вершины определяется числом непосредственных ее связей с другими вершинами. Метрики показывают влияние вершины на сеть – чем выше их значения, тем больше роль вершины. В табл. 4 приведены 15 наиболее влиятельных цитокинов по каждой метрике.

#### Цитокины как потенциальные мишени для фармакологических воздействий

На основе табл. 3 и 4 был сформирован список из 21 потенциально важного регулятора: BMP2, BMP4, BMP7,

GDF2, GPI, IFN- $\gamma$ , IFNL1, IL-10, IL-33, IL-15, IL-17, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-22, IL-4, IL-6, IL-8, OSTP, TGFB1, TNF- $\alpha$  и VEGFA. Проверка списка по базе данных GETdb подтвердила статус цитокинов как перспективных фармакологических мишеней.

На основании информации из базы данных DrugBank из 21 цитокина выделено восемь (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17), которые уже являются мишенями одобренных к применению препаратов. При этом четыре из них (IL-4, VEGFA, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ ) оказались в нашем списке восьми наиболее приоритетных, которые



наиболее высоко оценивались по совокупности методик приоритизации: IL-4, TGF- $\beta$ 1, BMP4, VEGFA, BMP2, IL-10, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ .

В клинической практике препараты, действующие на цитокины TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  и IL-17, применяются преимущественно в качестве иммуносупрессоров и противоопухолевых средств. Воздействие реализуется через блокаду рецепторов цитокинов (антагонисты) или нейтрализацию цитокинов (моноклональные антитела).

## Обсуждение

Результатом анализа (см. табл. 3 и 4) стало выделение 21 потенциально важного цитокина (BMP2, BMP4, BMP7, GDF2, GPI, IFN- $\gamma$ , IFNL1, IL-10, IL-33, IL-15, IL-17, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-22, IL-4, IL-6, IL-8, OSTR, TGFB1, TNF- $\alpha$  и VEGFA) как перспективных фармакологических мишеней (согласно базе данных GETdb), и восемь из них (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  и IL-17) являются мишенями уже используемых в клинической практике препаратов, согласно базе данных DrugBank. По литературным данным, в развитии и функционировании ЦНС непосредственно участвуют провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , VEGFA, IL-17A, экспрессируемые активированной микроглией в состоянии классической активации и способствующие развитию нейровоспаления. Некоторые из этих цитокинов (IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-17A) влияют также на эмбриональное развитие мозга и могут способствовать сдвигу развития в направлении PAC при активации материнского иммунного ответа в период беременности (Fujitani et al., 2022; Majerczyk et al., 2022).

Так, в моделировании на мышах активации материнского иммунитета (MIA) CD4<sup>+</sup> Т-лимфоциты пораженного потомства продуцировали более высокие количества IL-17A при активации *in vitro* (Morgan et al., 2010; Parkhurst et al., 2013). Кроме того, установлено, что работа материнских ROR $\gamma$ t-экспрессирующих провоспалительных Т-клеток (Th17), основного источника IL-17A, является необходимым условием для индукции подобных PAC фенотипов у потомства. Блокирование активности IL-17A с помощью антител к нему у беременных мышей защищало от развития у их потомства поведенческих аномалий, вызванных MIA. Такой же эффект вызывает и воздействие на клетки Th17 (Choi et al., 2016). С другой стороны, введение IL-17A в мозг зародыша провоцирует нарушения в развитии полушарий головного мозга и проявление ассоциированных с PAC симптомов. На поведенческом уровне симптомы PAC отражают прежде всего измененную активность правого полушария, отвечающего за механизмы адаптации и приспособления (Николаева, Вергунов, 2020). Помимо того, у детей с PAC значимо чаще отмечается леворукость (Николаева, Гайдамакина, 2018).

Несмотря на эффект, который IL-17A оказывает на развитие ЦНС зародыша, существуют исследования, свидетельствующие о том, что терапия этим цитокином может нормализовывать поведение уже взрослых потомков матерей с MIA. В 2020 г. была опубликована работа M. Reed с коллегами, в которой проверялась эффективность терапии липополисахаридами (LPS) на различных мышинных моделях PAC. LPS-терапия нормализовала поведение у

модельных грызунов, которые являлись потомками матерей с MIA. Однако такая терапия была неэффективна для модельных мышей с моногенными нарушениями, провоцирующими развитие PAC. Установлено, что такой результат обусловлен различиями в уровнях цитокинов, которые выделяются в ответ на LPS (Reed et al., 2020). По сравнению с мышами, у которых PAC развился вследствие MIA, у мышей с моногенными нарушениями IL-17A продуцировался на более низком уровне.

На фоне активности провоспалительных цитокинов выделяется противовоспалительный цитокин IL-4, который играет ключевую роль в альтернативной активации микроглии (M2) и экспрессируется клетками в этом состоянии. Микроглия M2 проявляет противовоспалительную и заживляющую активность, а также секретирует факторы роста, среди которых инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I), фактор роста фибробластов (FGF) и фактор, стимулирующий колонии макрофагов (CSF1), а также нейротрофические факторы (Sica, Mantovani, 2012). Эти факторы задействуют рецепторы Trk (семейство рецепторных тирозинкиназ), которые регулируют синаптическую пластичность.

Значительное повышение уровня IL-4 было выявлено в амниотической жидкости и сыворотке крови беременных, у детей которых впоследствии было диагностировано PAC (Goines, Ashwood, 2013). Патогенетическая роль увеличения концентрации IL-4 остается неясной: оно может как способствовать развитию патологии, так и представлять собой компенсаторный механизм в ответ на воспалительные процессы.

Поскольку речь идет о перепрофилировании уже известных препаратов, то мы предполагаем, что наиболее перспективным направлением может быть проведение исследований, аналогичных работе (Reed et al., 2020), с использованием цитокинов из полученного нами списка и уже применяемых в клинической практике (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17). При планировании последующих экспериментов необходимо учитывать, что эффективность воздействия цитокинов может варьировать в зависимости от этиологии заболевания и стадии онтогенеза организма. Для обеспечения комплексного подхода целесообразно задействовать модельные линии грызунов, которые отличаются способом индуцирования формирования PAC и его форм, с последующим сравнительным анализом полученных данных. Такая методика позволит более глубоко изучить влияние цитокинов на развитие и симптомы PAC различного генеза, а также оценить возможность перепрофилирования соответствующих лекарственных препаратов для терапии и облегчения симптоматики PAC.

## Заключение

- С использованием базы знаний когнитивной системы ANDSystem и компонент ANDSystem была выполнена компьютерная реконструкция пяти специализированных генных подсетей, отражающих различные пути воздействия цитокинов на белки и гены, ассоциированные с PAC, для максимально полного охвата регуляторных взаимодействий цитокинов с белками и генами, которые ассоциированы с PAC.

Путем интеграции этих подсетей в единую итоговую генную сеть впервые была реконструирована генная сеть цитокиновой регуляции генов и белков, которые ассоциированы с РАС. Полученная сеть содержит 1112 вершин двух типов (491 ген, 621 белок) и 3675 взаимодействий пяти различных видов между ними.

- Анализ итоговой генной сети позволил идентифицировать 110 цитокинов, регулирующих активность, транспорт и стабильность компонентов сети, которые вовлечены в РАС, 58 белков и 91 ген, вовлеченных в формирование РАС, которые регулируются цитокинами. Определены значимые характеристики итоговой генной сети, свидетельствующие о важной роли цитокиновой регуляции в патогенезе РАС.

Последующий анализ перепредставленности терминов Gene Ontology (GO), относящихся к биологическим процессам, для генов, ассоциированных с РАС, которые, согласно данным реконструированной сети взаимодействий, находятся под регуляторным контролем цитокинов, выявил 56 статистически значимых биологических процессов, связанных с недоразвитием. Среди этих процессов можно выделить формирование дендритных шипиков, развитие гиппокампа, нейрональную миграцию и регуляцию синаптической передачи.

- Для выявления ключевых регуляторов проведена приоритизация цитокинов с использованием анализа метрик генной сети (степень посредничества и степень вершин) и оценки функциональной значимости элементов сети через ассоциацию с биологическими процессами Gene Ontology, связанными с РАС. В результате был выделен 21 цитокин, при этом восемь из них (IL-4, TGF- $\beta$ 1, BMP4, VEGFA, BMP2, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) показали наивысший приоритет по всем критериям.

Восемь цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4, VEGFA, IL-2, IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17) из 21 являются мишенями уже одобренных лекарственных препаратов, которые применяются в иммуносупрессивной и противоопухолевой терапии. Это открывает перспективы для перепрофилирования существующих иммуномодулирующих препаратов для терапии РАС. Остальные 13 цитокинов представляют собой потенциальные мишени для препаратов, находящихся в стадии клинических испытаний. Дальнейшие исследования *in vitro* и *in vivo* позволят уточнить механизмы влияния выявленных цитокинов на нейроразвитие и оценить эффективность воздействия на них.

## Список литературы / References

Николаева Е.И., Вергунов Е.Г. Функциональная асимметрия мозга и латеральные предпочтения: перезагрузка. Эволюционный, генетический, психологический и психофизиологический подходы к анализу. СПб., 2020  
[Nikolaeva E.I., Vergunov E.G. Functional Asymmetry of the Brain and Lateral Preferences: Reloaded. Evolutionary, Genetic, Psychological and Psychophysiological Approaches to Analysis. St. Petersburg, 2020 (in Russian)]  
Николаева Е.И., Гайдамакина М.Д. Специфика латеральных предпочтений мутичных дошкольников с заболеваниями аутистического спектра. *Асимметрия*. 2018;12(4):367-371  
[Nikolaeva E.I., Gaidamakina M.D. Specificity of lateral preference of mute preschoolers with autism spectrum disorders. *J Asymmetry*. 2018;12(4):367-371 (in Russian)]

Abrahams B.S., Arking D.E., Campbell D.B., Mefford H.C., Morrow E.M., Weiss L.A., Menashe I., Wadkins T., Banerjee-Basu S., Packer A. SFARI Gene 2.0: a community-driven knowledgebase for the autism spectrum disorders (ASDs). *Mol Autism*. 2013;4(1):36. doi 10.1186/2040-2392-4-36  
American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder. American Psychiatric Publ., 2013. doi 10.1176/appi.books.9780890425596  
Ashburner M., Ball C.A., Blake J.A., Botstein D., Butler H., Cherry J.M., Davis A.P., ... Matese J.C., Richardson J.E., Ringwald M., Rubin G.M., Sherlock G. Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nat Genet*. 2000;25(1):25-29. doi 10.1038/75556  
Ashwood P., Krakowiak P., Hertz-Picciotto I., Hansen R., Pessah I., Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav Immun*. 2011;25(1):40-45. doi 10.1016/j.bbi.2010.08.003  
Choi G.B., Yim Y.S., Wong H., Kim S., Kim H., Kim S.V., Hoefler C.A., Littman D.R., Huh J.R. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science*. 2016;351(6276):933-939. doi 10.1126/science.aad0314  
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  
Fujitani M., Miyajima H., Otani Y., Liu X. Maternal and adult interleukin-17A exposure and autism spectrum disorder. *Front Psychiatry*. 2022;13:836181. doi 10.3389/FPSYT.2022.836181/PDF  
Ganesan H., Balasubramanian V., Iyer M., Venugopal A., Subramaniam M.D., Cho S.G., Vellingiri B. mTOR signalling pathway – a root cause for idiopathic autism? *BMB Rep*. 2019;52(7):424-433. doi 10.5483/BMBRep.2019.52.7.137  
Goines P.E., Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013;36:67-81. doi 10.1016/j.ntt.2012.07.006  
Harms M.B., Martin A., Wallace G.L. Facial emotion recognition in autism spectrum disorders: a review of behavioral and neuroimaging studies. *Neuropsychol Rev*. 2010;20(3):290-322. doi 10.1007/S11065-010-9138-6  
Hoeffler C.A., Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci*. 2010;33(2):67-75. doi 10.1016/J.TINS.2009.11.003  
Huang D.W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc*. 2009;4(1):44-57. doi 10.1038/nprot.2008.211  
Hutsler J.J., Zhang H. Increased dendritic spine densities on cortical projection neurons in autism spectrum disorders. *Brain Res*. 2010;1309:83-94. doi 10.1016/j.brainres.2009.09.120  
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(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 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 Systems 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
- Knox C., Wilson M., Klinger C.M., Franklin M., Oler E., Wilson A., Pon A., ... Ackerman D., Jewison T., Sajed T., Gautam V., Wishart D.S. DrugBank 6.0: the DrugBank knowledgebase for 2024. *Nucleic Acids Res.* 2024;52(D1):D1265-D1275. doi 10.1093/nar/gkad976
- Li X., Chauhan A., Sheikh A.M., Patil S., Chauhan V., Li X.M., Ji L., Brown T., Malik M. Elevated immune response in the brain of autistic patients. *J Neuroimmunol.* 2009;207(1-2):111-116. doi 10.1016/j.jneuroim.2008.12.002
- Liu Y., Zhang D.T., Liu X.G. mTOR signaling in T cell immunity and autoimmunity. *Int Rev Immunol.* 2015;34(1):50-66. doi 10.3109/08830185.2014.933957
- Majerczyk D., Ayad E.G., Brewton K.L., Saing P., Hart P.C. Systemic maternal inflammation promotes ASD via IL-6 and IFN- $\gamma$ . *Biosci Rep.* 2022;42(11):BSR20220713. doi 10.1042/BSR20220713
- McMahon J., Huang X., Yang J., Komatsu M., Yue Z., Qian J., Zhu X., Huang Y. Impaired autophagy in neurons after disinhibition of mammalian target of rapamycin and its contribution to epileptogenesis. *J Neurosci.* 2012;32(45):15704-15714. doi 10.1523/JNEUROSCI.2392-12.2012
- Morgan J.T., Chana G., Pardo C.A., Achim C., Semendeferi K., Buckwalter J., Courchesne E., Everall I.P. Microglial activation and increased microglial density observed in the dorsolateral prefrontal cortex in autism. *Biol Psychiatry.* 2010;68(4):368-376. doi 10.1016/j.biopsych.2010.05.024
- Navlakha S., Barth A.L., Bar-Joseph Z. Decreasing-rate pruning optimizes the construction of efficient and robust distributed networks. *PLoS Comput Biol.* 2015;11(7):e1004347. doi 10.1371/JOURNAL.PCBI.1004347
- Onore C., Yang H., Van de Water J., Ashwood P. Dynamic Akt/mTOR signaling in children with autism spectrum disorder. *Front Pediatr.* 2017;5:43. doi 10.3389/fped.2017.00043
- Parkhurst C.N., Yang G., Ninan I., Savas J.N., Yates J.R., Lafaille J.J., Hempstead B.L., Littman D.R., Gan W.B. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell.* 2013;155(7):1596-1609. doi 10.1016/j.cell.2013.11.030
- Ragupathi A., Kim C., Jacinto E. The mTORC2 signaling network: targets and cross-talks. *Biochem J.* 2024;481(2):45-91. doi 10.1042/BCJ20220325
- Reed M.D., Yim Y.S., Wimmer R.D., Kim H., Ryu C., Welch G.M., Andina M., King H.O., Waisman A., Halassa M.M., Huh J.R., Choi G.B. IL-17a promotes sociability in mouse models of neurodevelopmental disorders. *Nature.* 2020;577(7789):249-253. doi 10.1038/S41586-019-1843-6
- Sherman B.T., Hao M., Qiu J., Jiao X., Baseler M.W., Lane H.C., Imamichi T., Chang W. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res.* 2022;50(W1):W216-W221. doi 10.1093/nar/gkac194
- Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012;122(3):787-795. doi 10.1172/JCI59643
- Smith J.A., Das A., Ray S.K., Banik N.L. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in neurodegenerative diseases. *Brain Res Bull.* 2012;87(1):10-20. doi 10.1016/j.brainresbull.2011.10.004
- Tang G., Gudsnek K., Kuo S.H., Cotrina M.L., Rosoklija G., Sosunov A., Sonders M.S., ... Peterson B.S., Champagne F., Dwork A.J., Goldman J., Sulzer D. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits. *Neuron.* 2014;83(5):1131-1143. doi 10.1016/j.neuron.2014.07.040
- Trifonova E.A., Klimenko A.I., Mustafin Z.S., Lashin S.A., Kochetov A.V. The mTOR signaling pathway activity and vitamin D availability control the expression of most autism predisposition genes. *Int J Mol Sci.* 2019;20(24):6332. doi 10.3390/ijms20246332
- Tsai A.C., Savostyanov A.N., Wu A., Evans J.P., Chien V.S.C., Yang H.H., Yang D.Y., Liou M. Recognizing syntactic errors in Chinese and English sentences: brain electrical activity in Asperger's syndrome. *Res Autism Spectr Disord.* 2013;7(7):889-905. doi 10.1016/j.rasd.2013.02.001
- Tseng Y.L., Yang H.H., Savostyanov A.N., Chien V.S.C., Liou M. Voluntary attention in Asperger's syndrome: brain electrical oscillation and phase-synchronization during facial emotion recognition. *Res Autism Spectr Disord.* 2015;13-14:32-51. doi 10.1016/j.rasd.2015.01.003
- Uhlén M., Fagerberg L., Hallström B.M., Lindskog C., Oksvold P., Mardinoglu A., Sivertsson Å., ... Johansson F., Zwahlen M., Von Heijne G., Nielsen J., Pontén F. Tissue-based map of the human proteome. *Science.* 2015;347(6220):1260419. doi 10.1126/science.1260419
- Van der Zee E., Derksen J.J.L. The power of systemizing in autism. *Child Psychiatry Hum Dev.* 2021;52(2):321-331. doi 10.1007/S10578-020-01014-4
- Vargas D.L., Nascimbene C., Krishnan C., Zimmerman A.W., Pardo C.A. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Ann Neurol.* 2005;57(1):67-81. doi 10.1002/ana.20315
- Zhang Q., He Y., Lu Y.P., Wei Q.H., Zhang H.Y., Quan Y. GETdb: a comprehensive database for genetic and evolutionary features of drug targets. *Comput Struct Biotechnol J.* 2024;23:1429-1438. doi 10.1016/j.csbj.2024.04.006
- Ziats C.A., Patterson W.G., Friez M. Syndromic autism revisited: review of the literature and lessons learned. *Pediatr Neurol.* 2021;114:21-25. doi 10.1016/J.PEDIATRNEUROL.2020.06.011

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

Поступила в редакцию 11.08.2025. После доработки 12.09.2025. Принята к публикации 15.09.2025.