

МОДЕЛИРОВАНИЕ *IN SITU* И *IN SILICO* ГЕМОПОЭЗИНДУЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ХЕЛИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Насибов Т.Ф.¹, Горохова А.В.¹, Порохова Е.Д.¹, Старосветская А.А.¹,
Бариев У.А.¹, Носов В.Е.¹, Литвинова Л.С.², Авдеева Е.Ю.¹,
Белоусов М.В.¹, Хлусов И.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Томск, Россия

² ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Резюме. Современным трендом регенеративной медицины, в условиях старения населения, является поиск новых путей и средств для оптимизации биоинженерии тканей. Одной из удобных моделей для *in situ* изучения регенерации костного мозга является тест подкожного эктопического остеогенеза на скаффолдах, имитирующих архитектуру костной ткани. Хелидоновая кислота (ХК) представляет собой малую молекулу, способную участвовать в разнообразных клеточных процессах и метаболических путях и активировать остеогенную дифференцировку мезенхимных стволовых клеток. Однако молекулярные механизмы регуляторных эффектов ХК до сих пор неизвестны.

Целью данного исследования была оценка модулирующего влияния ХК на *in situ* формирование очагов кроветворения, а также *in silico* прогнозирование генов-мишеней и внутриклеточных сигнальных путей, которые могут участвовать в реализации гемопоэтической активности тестируемой субстанции.

Водный раствор ХК, выделенной из экстракта растения *Saussurea controversa*. Курсовое (ежедневное в течение 35 дней) пероральное введение ХК. Тест эктопического остеогенеза на мышцах линии *Balb/c*. Морфометрический анализ гистологических срезов через 45 суток. Моделирование экспрессии генов *in silico*. Статистический анализ.

ХК при курсовом пероральном введении в малой дозе (10 мг/кг) в 3 раза увеличивает удельную площадь костного мозга в составе костных тканевых пластинок, выросших *in situ* в тесте эктопического подкожного остеогенеза на мышцах. Гемостимулирующий эффект субстанции прогностически значимо (вероятность активности $P_a > 0,5$ и вероятность неактивности $P_i < 0,5$) связан с усиленной

Адрес для переписки:

Хлусов Игорь Альбертович
ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, стр. 7.
Тел.: 8 (913) 813-14-00.
E-mail: khlusov.ia@ssmu.ru

Address for correspondence:

Igor A. Khlusov
Siberian State Medical University
2 Moskovskii Trakt, Bldg 7
Tomsk
634050 Russian Federation
Phone: +7 (913) 813-14-00.
E-mail: khlusov.ia@ssmu.ru

Образец цитирования:

Т.Ф. Насибов, А.В. Горохова, Е.Д. Порохова, А.А. Старосветская, У.А. Бариев, В.Е. Носов, Л.С. Литвинова, Е.Ю. Авдеева, М.В. Белоусов, И.А. Хлусов «Моделирование *in situ* и *in silico* гемопоэзинуцирующего влияния хелидоновой кислоты» // Российский иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 2. С. 187-196.
doi: 10.46235/1028-7221-16768-ISA

© Насибов Т.Ф. и соавт., 2024

Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.F. Nasibov, A.V. Gorokhova, E.D. Porokhova, A.A. Starosvetskaya, U.A. Bariev, V.E. Nosov, L.S. Litvinova, E.Yu. Avdeeva, M.V. Belousov, I.A. Khlusov "In situ and in silico modeling of the hematopoiesis-inducing effect of chelidonic acid", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 2, pp. 187-196.
doi: 10.46235/1028-7221-16768-ISA

© Nasibov T.F. et al., 2024

The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16768-ISA

экспрессией 358 генов-регуляторов кроветворения по данным *in silico* исследования. Топ-лист с наибольшим значением P_a включал 10 целевых генов: *GATA1*, *CITED2*, *SFRP1*, *EP300*, *LGALS9*, *VNN1*, *IL10RB*, *RARA*, *CD83*, *HMOX1*.

ХК обладает существенной способностью усиливать репаративное ремоделирование кроветворной ткани *in situ*. Следующим этапом исследований является проверка реальных генов-мишеней и сигнальных путей, реализующих регуляторное влияние ХК на гемопоэз *in vitro*, *in vivo* и в клинике.

Ключевые слова: мыши, эктопический тест, площадь костного мозга, гены-мишени, сигнальные пути, прогнозирование

IN SITU AND IN SILICO MODELING OF THE HEMATOPOIESIS-INDUCING EFFECT OF CHELIDONIC ACID

Nasibov T.F.^a, Gorokhova A.V.^a, Porokhova E.D.^a, Starosvetskaya A.A.^a, Bariev U.A.^a, Nosov V.E.^a, Litvinova L.S.^b, Avdeeva E.Yu.^a, Belousov M.V.^a, Khlusov I.A.^a

^a Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

^b Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract. The current trend in regenerative medicine, in the context of an aging population, is the search for new ways and means to optimize tissue bioengineering. One of the convenient models for *in situ* studying bone marrow regeneration is the subcutaneous ectopic osteogenesis test on scaffolds that imitate the architecture of bone tissue. Chelidonic acid (CA), a small molecule, is capable of participating in various cellular processes and metabolic pathways, and it can activate the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. However, the molecular mechanisms behind the regulatory effects of CA remain unknown. The aim of this study was to investigate the modulatory effect of CA on the *in situ* formation of hematopoietic foci, as well as to predict target genes and intracellular signalling pathways involved in the hematopoietic activity of CA. An aqueous solution of CA, isolated from an extract of the *Saussurea controversa* plant. Course (daily for 35 days) oral administration of CA. Ectopic osteogenesis testing in Balb/c mice. Morphometric analysis of histological sections after 45 days and *in silico* modelling of gene expression with statistical analysis. CA, when administered orally in a low dose (10 mg/kg), threefold increases the normalized area of bone marrow in the composition of bone tissue plates grown *in situ* in a test of ectopic subcutaneous osteogenesis in mice. This effect is associated essentially (a probability of CA activity $P_a > 0.5$ and a probability of inactivity $P_i < 0.5$) with enhanced expression of 358 hematopoiesis-related genes, as predicted by *in silico* analysis. The top list with the highest P_a value included 10 target genes, such as *GATA1*, *CITED2*, *SFRP1*, *EP300*, *LGALS9*, *VNN1*, *IL10RB*, *RARA*, *CD83*, and *HMOX1*. CA has a significant ability to enhance the reparative remodelling of hematopoietic tissue *in situ*. The next phase of research will be to test actual target genes and signalling pathways that mediate the regulatory effect of HC on hematopoiesis both *in vitro* and *in vivo*, as well as in clinical settings.

Keywords: mice, ectopic test, bone marrow area, target genes, signalling pathways, prediction

Исследование выполнено в рамках реализации Государственного задания по проекту № FZWM-2024-0012.

Введение

Современным трендом регенеративной медицины, в условиях старения населения, является

поиск новых путей и средств для оптимизации биоинженерии тканей. Недавно выявлено *in vitro* и *in vivo* остеогенное влияние хелидоновой кислоты (ХК) и ее дериватов, природных компонентов чистотела большого (*Chelidonium majus* L.), Горькуши (*Saussurea*) и некоторых других растений, реализующееся на уровне мезенхимных

стромальных/стволовых клеток (МСК) [2]. Кроме того, ХК обладает определенными иммуномодулирующими свойствами, реализующимися, в частности, на уровне лимфоидного ростка кроветворения. Однако внутриклеточные молекулярные механизмы, лежащие в основе регуляторных эффектов ХК, до сих пор не установлены [1].

Известна тесная связь костной и кроветворной тканей, обусловленная, в том числе, остеобластическими нишами для родоначальных клеток миело- и лимфопоэза [13]. В условиях репаративной регенерации ремоделирование костной ткани часто протекает путем эндохондрального (непрямого) окостенения, которое сопровождается *de novo* формированием очагов костномозгового кроветворения [5]. Одной из удобных релевантных моделей для *in situ* изучения регенерации костного мозга является тест подкожного эктопического остеогенеза на подложках-скаффолдах, имитирующих архитектуру костной ткани [9].

В связи с этим, целью данного исследования была оценка модулирующего влияния ХК на *in situ* формирование очагов кроветворения, а также *in silico* прогнозирование генов-мишеней и внутриклеточных сигнальных путей, которые могут участвовать в реализации гемопоэтический активности тестируемой субстанции.

Материалы и методы

Тест эктопического остеогенеза

Для эксперимента на базе ИФПМ СО РАН (лаборатория физики наноструктурных биоконструктивов – заведующий Ю.П. Шаркеев, г. Томск) были изготовлены титановые подложки (10 × 10 × 1 мм) с микродуговым кальцийфосфатным покрытием. Хелидоновая кислота (ХК) была выделена из экстракта растения *Saussurea controversa* на кафедре фармацевтического анализа СибГМУ (г. Томск). Исследование проводилось на 12 самцах мышей линии *Balb/c* возрастом 12 недель. Четыре мыши служили донорами костного мозга (КМ) из бедренных костей, как источника МСК. Остальным животным под наркозом выполняли разрез кожи на животе с формированием бокового кармана и подкожно имплантировали по одному скаффолду с нанесенным *in vitro* столбиком сингенного КМ. Для улучшения адгезии миелокариоцитов, сингенный КМ предварительно наносили на поверхность имплантатов и инкубировали *in vitro* в течение 45 мин непосредственно перед имплантацией при 37 °С в культуральной среде, состоящей на 95% из среды DMEM (Sigma-Aldrich, США) и на 5% из фетальной бычьей сыворотки (Sigma-Aldrich, США).

Спустя 5 послеоперационных дней, в течение последующих 35 суток животным ежедневно вводили воду (контроль; n = 4) или водный раствор ХК (CA_{ig}, 10 мг/кг) через внутрижелудочный зонд (n = 4). Данная доза ХК является минимально эффективной для стимуляции остеогенной дифференцировки МСК в исследованиях *in vitro* [3].

Через 45 суток после операции (5 суток после окончания курсового введения ХК) животных выводили из эксперимента методом CO₂ асфиксии, извлекали имплантаты из подкожной жировой клетчатки. Из тканевых пластинок (ТП), сформировавшихся на поверхности имплантатов из донорского костного мозга, изготавливали гистологические препараты по методике, описанной ранее [2]. Окрашенные гематоксилином-эозином срезы ТП просматривали на микроскопе Carl Zeiss Axioscop 40 (Carl Zeiss, Германия), делали цифровые фотографии при помощи камеры Canon PowerShot G10 (Canon, Япония; разрешение 14 мегапикселей) и программного обеспечения AxioVision 4.8.2 (Carl Zeiss, Германия). На полученных фотографиях, оценивали наличие локальной воспалительной реакции, формирование тканевых структур и подсчитывали удельную площадь (УП) КМ методом компьютерной морфометрии с применением программного обеспечения ImageJ (версия 1.53j).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ данных выполнялся при помощи языка программирования R в среде RStudio с использованием пакетов MVN [7], brunnermunzel [4]. Проверка количественных признаков на соответствие нормальному закону распределения выполнялась тестом Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk test) с поправкой Ройстона (Royston) AS R94 для больших выборок (3 ≤ n ≤ 5000). Описание количественных нормально распределенных признаков приводится в виде среднего значения и стандартного отклонения (M ± SD), количественных признаков, не соответствующих нормальному распределению, и порядковых признаков в виде медианы и первого и третьего квартилей – Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}). Для ранговых и количественных, не согласующихся с нормальным законом, независимых данных сравнение проводилось при помощи критерия Бруннера–Мюнцеля (Brunner–Munzel test).

Моделирование *in silico* и биоинформатический анализ

Первоначальный анализ был произведен в сервисе Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS Online), который является онлайн-версией

программного продукта PASS, предназначенного для оценки общей биологической активности органических молекул, подобных существующим лекарствам [6]. Прогнозирование основано на концепции локального соответствия, предлагающей в качестве ведущего фактора биологической активности органической молекулы узнавание между определенными атомами лиганда и макромолекулой-мишенью. Для моделирования эффекта, направленного на экспрессию генов, использовался веб-сервис DIGEP-Pred (Prediction of drug-induced changes of gene expression profile), как наиболее удовлетворяющий целям исследования. DIGEP-Pred прогнозирует *in silico* медикаментозные изменения профилей экспрессии генов на основе структурной формулы молекулы [8]. DIGEP-Pred работает на технологии PASS и обучающей выборке (мРНК – 952 гена, белки – 1451 соединение для 129 генов), созданных на основе данных о медикаментозно-индуцированных изменениях профилей экспрессии генов, извлеченных из базы данных сравнительной токсикогеномики (Comparative Toxicogenomics Database, CTD), базы данных Connectivity Map и проекта L1000. Также в ходе исследования использована база данных GeneCards, которая предоставляет доступ к бесплатным веб-ресурсам о более чем 7000 известных генах человека и содержит геномную, протеомную, транскриптомную и функциональную информацию о них. Ядро перечня генов основано на утвержденных генных символах, опубликованных Комитетом по номенклатуре генов HUGO (HGNC). Поиск генов производился по набору ключевых слов. Результатом каждого запроса являлся список генов, содержащий название гена, а также ранговое значение, описывающее частоту встречаемости упоминаний данного гена в публикациях в сочетании с ключевым словом. После выполнялось сравнение результатов прогноза DIGEP-Pred со списком генов, полученных из GeneCards, выбирались те гены, которые наблюдались в обоих списках. Процесс был оптимизирован при помощи языка программирования R. Перед следующим этапом все «перекрестные» гены были разделены на две группы по направлению изменения моделируемой экспрессии: гиперэкспрессируемые гены и гипоекспрессируемые. Далее для каждой группы производили поиск общих онтологий и возможных метаболических путей, в которых участвуют продукты исследуемых генов, методом анализа чрезмерной репрезентативности (Over-representation analysis, ORA), для которого в среде RStudio, на языке программирования R был создан скрипт. Для

его работы использовались пакеты DOSE [12], clusterProfiler [11], rWikiPathways [10]. В ходе ORA гены собирались в группы согласно метаболическому пути или общей онтологии генов, в которых участвуют их продукты, затем определялась статистическая значимость объединения той или иной группы генов при помощи точного теста Фишера. Перечень возможных метаболических путей был получен из баз данных KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes), Reactome, WikiPathways, а онтология генов из GO.db (Gene Ontology data base). Результатом работы скрипта являлась таблица, содержащая следующий перечень данных: идентификатор метаболического пути, его краткое название, список генов, продукты которых входят в данный путь, их количество, а также уровень значимости p . Выбирались метаболические пути, связанные с гемопоэзом и имеющие $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При макроскопическом изучении зон имплантации у животных всех экспериментальных групп отсутствовали признаки острой воспалительной реакции (выраженная гиперемия кровеносных сосудов и образование экссудата в месте имплантации). На поверхности всех исследуемых имплантатов (в контроле и опыте) в зоне нанесения донорского костного мозга в 100% случаев (4 из 4 в каждой группе) у мышей-реципиентов наблюдалось образование ТП.

При гистологическом исследовании ТП и окружающих тканей не наблюдалось расширения и гиперемии сосудов, лейкоцитарной инфильтрации и некротических изменений тканей, что свидетельствует об отсутствии острой воспалительной реакции в зоне имплантации. В составе ТП присутствовали участки пластинчатой костной ткани, формирующей примитивное компактное и губчатое вещество кости. В полостях между трабекулами губчатого вещества кости наблюдались участки красного костного мозга (рис. 1).

При этом у животных, получавших воду *per os* (группа Control), костная ткань формировалась на поверхности имплантатов в 100% случаев, однако содержала полости, заполненные красным костным мозгом (ККМ), только в 75% случаев. У животных, получавших ХК (группа CA_{ig}), тканевые пластинки в 100% случаев содержали участки костной ткани и ККМ. Важно, что пероральное назначение ХК в 2,88 раза увеличивало УП ККМ в сравнении с контролем (Brunner–Munzel test statistic = 4,95, $p = 0,0026$) (рис. 2).

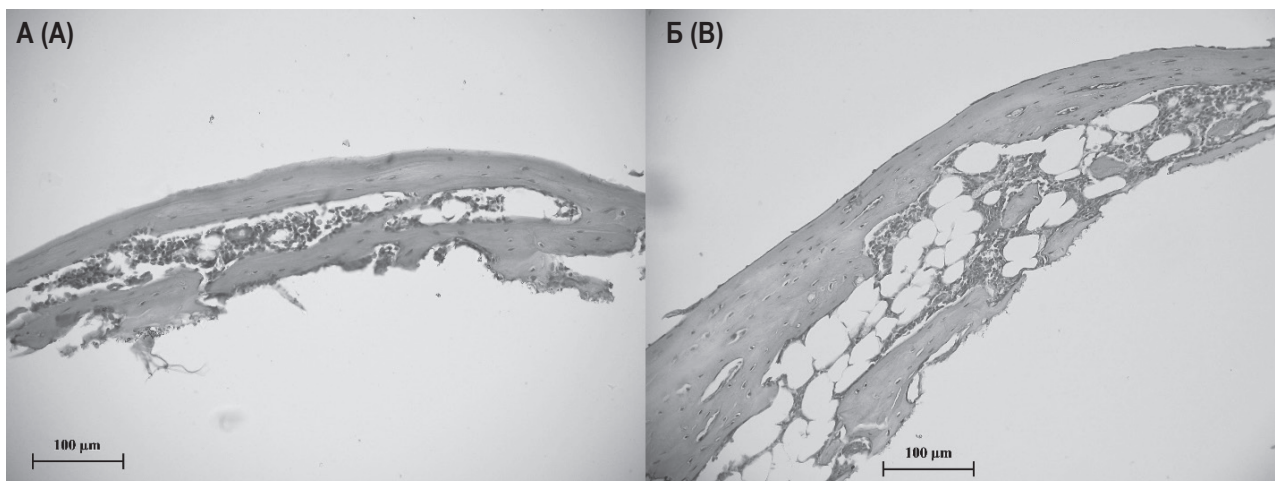


Рисунок 1. Срез эктопической кости с образовавшимся костным мозгом внутри (А – Control, Б – CA_ig)

Примечание. Окраска гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 50$.

Figure 1. Section of ectopic bone with formed bone marrow inside (A, Control; B, CA_ig)

Note. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 50$.

В ходе *in silico* прогнозирования оценки общей биологической активности ХК получены значения активности (Pa) и неактивности (Pi) субстанции в отношении различных молекул-мишеней. Значения Pa и Pi оценивают вероятность принадлежности исследуемого соединения к классу активных веществ, т. е. структур, которые часто встречаются среди активных соединений в обучающей выборке, и к классу неактивных веществ, т. е. структур, характерных для неактивных молекул в обучающей выборке соответственно.

В ходе прогноза общей биоактивности ХК получили упорядоченный список генов и оценок вероятностей Pa и Pi; всего найдено 1168 генов. Для последующей обработки выбрано 358 генов, для которых были справедливы следующие условия: вероятность ХК быть активной в отношении прогноза экспрессии гена Pa > 0,5; вероятность быть активной (Pa) больше вероятности быть неактивной (Pi).

В ходе ORA был получен список метаболических путей, из которых пути и онтологии генов, прямо ассоциированные с гемопоэзом и имеющие $p < 0,05$. Таким образом было выделено несколько различных путей и онтологий, образованных только генами из группы гиперэкспрессии, среди которых выделяли пути регуляции лейкопоэза (regulation of leukocyte differentiation), лимфопоэза (positive regulation of lymphocyte differentiation), эритропоэза и метаболизма гемоглобина (hematopoietic progenitor cell differentiation, erythrocyte homeostasis, heme metabolic process), и противовоспалительные механизмы организма (IL-4 and IL-13 signaling,

IL-10 signaling). Гены, составляющие эти пути, объединялись в единый список с удалением повторяющихся наименований, таким образом нами найдены целевые гены, экспрессия которых изменяется при добавлении ХК в изучении гемопоэза. Из них (целевых генов) нами был со-

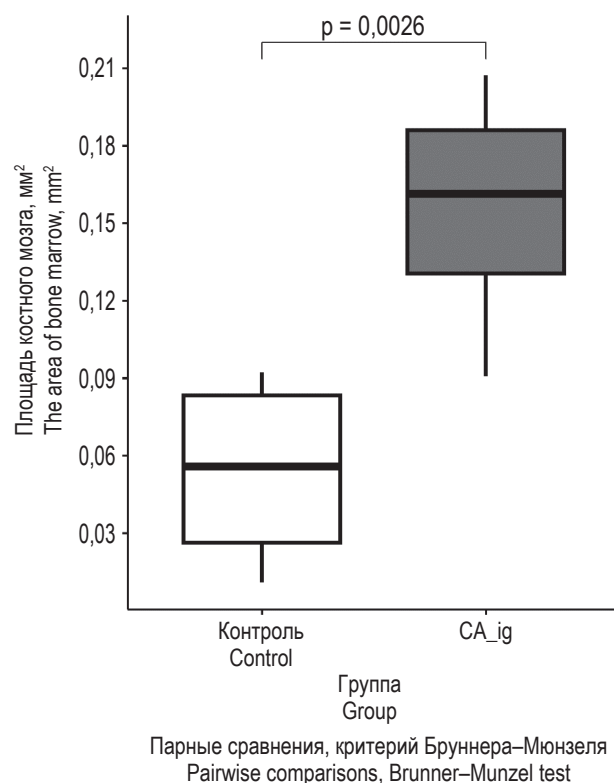


Рисунок 2. График сравнения удельной площади костного мозга в исследуемых группах

Figure 2. Graph comparing the normalized bone marrow areas in the study groups

ТАБЛИЦА 1. СПИСОК ПРИОРИТЕТНЫХ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРОВЕРКИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПУТЕЙ ВЛИЯНИЯ ХЕЛИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ГЕМОПОЭЗ

TABLE 1. LIST OF PRIORITY TARGET GENES FOR EXPERIMENTAL VERIFICATION OF MOLECULAR PATHWAYS OF THE EFFECT OF CHELIDONIC ACID ON HEMATOPOIESIS

Ген Gene	Продукт гена Gene product	Тип регуляции Type of regulation	Влияние на гемопоэз Effect on hematopoiesis	Источник Reference
GATA1	ГАТА-связывающий белок 1 GATA Binding Protein 1	Up	Считается «главным» фактором транскрипции эритропоэза, регулирует большинство процессов во время созревания предшественников It is considered the "main" factor of erythropoiesis transcription, regulates most processes during the maturation of precursors	KEGG, GO.db, WikiPathways
CITED2	Трансактиватор, взаимодействующий с Сbp/P300 с богатым Glu/Asp Карбоксиконцевым доменом 2 Cbp/P300 Interacting Transactivator With Glu/Asp Rich Carboxy-Terminal Domain 2	Up	Транскрипционный коактиватор транскрипционного комплекса. Действует как мост, связывающий другие факторы транскрипции, участвуя в поддержании ГСК Transcriptional coactivator of the transcription complex. It acts as a bridge linking other transcription factors, participating in the maintenance of HSC	KEGG, GO.db, WikiPathways, Reactome
SFRP1	Секретируемый белок, связанный с завитками, 1 Secreted Frizzled Related Protein 1	Up	Ингибирует транслокацию β-катенина в ядро (канонической передачи сигналов WNT), регулируя дифференцировку и самоподдержание ГСК (предотвращает истощение) Inhibits the translocation of β-catenin into the nucleus (canonical WNT signaling), regulating the differentiation and self-maintenance of HSCs (prevents depletion)	GO.db, WikiPathways, Reactome
EP300	Гистонацетилтрансфераза P300 E1A Binding Protein P300	Up	Клеточный коактиватор транскрипции, ацетилирует гистоновые и негистоновые белки, тем самым модулирует связывание ДНК с транскрипционными факторами. Играет важную роль в лимфоидной и миелоидной дифференцировке A cellular transcription coactivator, acetylates histone and non-histone proteins, thereby modulating DNA binding to transcription factors. It plays an important role in lymphoid and myeloid differentiation	KEGG, GO.db, WikiPathways, Reactome
LGALS9	Галектин 9 Galectin 9	Up	Обильно экспрессируется в остеогенных нишах, необходим для межклеточных контактов в эритропоэзе, лимфопоэзе и миелопоэзе It is abundantly expressed in osteogenic niches, is necessary for intercellular contacts in erythropoiesis, lymphopoiesis and myelopoiesis	KEGG, GO.db

Таблица 1 (окончание)
Table 1 (continued)

Ген Gene	Продукт гена Gene product	Тип регуляции Type of regulation	Влияние на гемопоэз Effect on hematopoiesis	Источник Reference
VNN1	Ванин 1 Vanin 1	Up	Молекула клеточной адгезии, экспрессируемая периваскулярными клетками, участвует в регуляции хоминга предшественников Т-лимфоцитов из ККМ в тимус The cell adhesion molecule expressed by perivascular cells is involved in the regulation of the homing of T lymphocyte precursors from the RBM to the thymus	KEGG, GO.db, WikiPathways, Reactome
IL10RB	Бета-субъединица рецептора IL-10 IL-10 Receptor Subunit Beta	Up	Вспомогательная цепь, необходимая для активного комплекса IL-10R, лиганд которого (IL-10) участвует в защите предшественников миелопоэза во время воспаления, тем самым обеспечивая устойчивость популяции An auxiliary chain required for the active IL-10R complex, the ligand of which (IL-10) participates in the protection of myelopoiesis precursors during inflammation, thereby ensuring the stability of the population	KEGG, GO.db, WikiPathways
RARA	Альфа-рецептор ретиновой кислоты Retinoic Acid Receptor Alpha	Up	Ядерный рецептор регулирует транскрипцию лигандзависимым образом. Усиливает конечное созревание коммитированных предшественников, но тормозит дифференцировку ранних предшественников гранулоцитов и моноцитов The nuclear receptor regulates transcription of ligands in a dependent manner. Enhances the final maturation of committed precursors, but inhibits the differentiation of early granulocyte and monocyte precursors	GO.db, WikiPathways
CD83	Антиген CD83 CD83 Antigen	Up	Является членом суперсемейства генов Ig, важным маркером для определения активированных дендритных клеток человека. По современным представлениям может экспрессироваться на Т-лимфоцитах, определяя прогноз в клинической аллопластике It is a member of the Ig gene superfamily, an important marker for determining activated human dendritic cells. According to modern concepts, it can be expressed on T-lymphocytes, determining the prognosis in clinical alloplasty	KEGG, GO.db, Reactome
HMOX1	Гемооксигеназа 1 Heme Oxygenase 1	Up	Фермент, участвующий в катаболизме гема. Участвует в поддержании ГСК ниши и регулирует дифференцировку предшественников в зрелые клетки крови An enzyme involved in heme catabolism. Participates in the maintenance of the HSC niche and regulates the differentiation of precursors into mature blood cells	GO.db, WikiPathways

ставлен «топ-лист», члены которого являются приоритетными для последующего изучения реального влияния хелидоновой кислоты на молекулярные механизмы гемопоэза (табл. 1).

Заключение

ХК при курсовом пероральном введении в малой дозе существенно усиливает репаративное ремоделирование кроветворной ткани в тесте эктопического остеогенеза. В связи с явным недостатком гемопоэзиндуцирующих средств, обладающих регуляторным эффектом при пе-

роральном назначении, полученные результаты имеют как фундаментальное, так и практическое значение.

Гемостимулирующий эффект субстанции прогностически значимо связан с генами-регуляторами кроветворения по данным исследования *in silico*. Следующим этапом является проверка реальных генов-мишеней и сигнальных путей, реализующих влияние ХК на гемопоэз *in vitro*, *in vivo* и в клинике.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

Список литературы / References

1. Мирошниченко Л.А., Полякова Т.Ю., Авдеева Е.Ю., Кривошеков С.В., Хлусов И.А., Белоусов М.В. Хелидоновая кислота и ее дериваты: общий спектр биологической активности и остеогенные свойства // Разработка и регистрация лекарственных средств, 2022, Т. 11, № 4, С. 60-71. [Miroshnichenko L.A., Polyakova T.U., Avdeeva E.Yu., Krivoshchekov S.V., Khlusov I.A., Belousov M.V. Chelidonic acid and its derivatives: general spectrum of biological activity and osteogenic properties. *Razrabotka i registraciya lekarstvennykh sredstv = Development and Registration of Medicines*, 2022, Vol. 11, no. 4, pp. 60-71. (In Russ.)]
2. Avdeeva E., Porokhova E., Khlusov I., Rybalova T., Shults E., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Sukhodolo I., Belousov M. Calcium chelidonate: semi-synthesis, crystallography, and osteoinductive activity in vitro and in vivo. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, Vol. 14, no. 6, 579. doi: 10.3390/ph14060579.
3. Avdeeva E., Shults E., Rybalova T., Reshetov Y., Porokhova E., Sukhodolo I., Litvinova L., Shupletsova V., Khaziakhmatova O., Khlusov I., Guryev A., Belousov M. Chelidonic acid and its derivatives from saussurea controversa: isolation, structural elucidation and influence on the osteogenic differentiation of multipotent mesenchymal stromal cells in vitro. *Biomolecules*, 2019, Vol. 9, no. 5, 189. doi:10.3390/biom9050189.
4. Brunner-Munzel Test // CRAN. Access mode: <https://search.rproject.org/CRAN/refmans/brunnermunzel/html/00Index.html> (Accessed 22 February 2024).
5. Chan C.K., Chen C.C., Luppen C.A., Kim J.B., DeBoer A.T., Wei K., Helms J.A., Kuo C.J., Kraft D.L., Weissman I.L. Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation. *Nature*, 2009, Vol. 457, no. 7228, pp. 490-494.
6. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., Poroikov V.V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 2014, Vol. 50, no. 3, pp. 444-457.
7. Korkmaz S., Göksülük D., Zararsiz G. MVN: An R package for assessing multivariate normality. *R Journal*, 2014, Vol. 6, no. 2, pp. 151-162.
8. Lagunin A., Ivanov S., Rudik A., Filimonov D., Poroikov V. DIGEP-Pred: web service for *in silico* prediction of drug-induced gene expression profiles based on structural formula. *Bioinformatics*, 2013, Vol. 29, no. 16, pp. 2062-2063.
9. Scott M.A., Levi B., Askarinam A., Nguyen A., Rackohn T., Ting K., Soo C. James A.W. Brief review of models of ectopic bone formation. *Stem Cells Dev.*, 2012, Vol. 21, no. 5, pp. 655-667.
10. Slenter D.N., Kutmon M., Hanspers K., Riutta A., Windsor J., Nunes N., Mélius J., Cirillo E., Coort S.L., Digles D., Ehrhart F., Giesbertz P., Kalafati M., Martens M., Miller R., Nishida K., Rieswijk L., Waagmeester A., Eijssen L.M.T., Evelo C.T., Willighagen E.L. WikiPathways: a multifaceted pathway database bridging metabolomics to other omics research. *Nucleic Acids Res.*, 2018, Vol. 46, no. D1, pp. D661-D667.
11. Wu T., Hu E., Xu S., Chen M., Guo P., Dai Z., Feng T., Zhou L., Tang W., Zhan L., Fu X., Liu S., Bo X., Yu G. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation (Camb)*, 2021, Vol. 2, no. 3, 100141. doi: 10.1016/j.xinn.2021.100141.

12. Yu G., Wang L.G., Yan G.R., He Q.Y. DOSE: an R/Bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis. *Bioinformatics*, 2015, Vol. 31, no. 4, pp. 608-609.
13. Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Melashchenko E.S., Malashchenko V.V., Shunkin E.O., Shupletsova V.V., Ivanov P.A., Khlusov I.A., Litvinova L.S. Cellular and molecular basis of osteoblastic and vascular niches in the processes of hematopoiesis and bone remodeling (a short review of modern views). *Curr. Pharm. Des.*, 2019, Vol. 25, no. 6, pp. 663-669.

Авторы:

Насибов Т.Ф. — сотрудник лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Горохова А.В. — сотрудник лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Порохова Е.Д. — ассистент кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Старосветская А.А. — студент медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Бариев У.А. — студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Носов В.Е. — лаборант кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Authors:

Nasibov T.F., Laboratory Assistant, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Gorokhova A.V., Laboratory Assistant, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Porokhova E.D., Assistant Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Starosvetskaya A.A., Student of the Faculty of Medicine and Biology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Bariev U.A., Student of the Faculty of Medicine, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Nosov V.E., Laboratory Assistant, Department of Normal Physiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Литвинова Л.С. — д.м.н., директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Авдеева Е.Ю. — д.фарм.н., научный сотрудник лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Белюсов М.В. — д.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Хлусов И.А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточных и микрофлюидных технологий ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Litvinova L.S., PhD, MD (Medicine), Director, Center for Immunology and Cellular Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Avdeeva E.Yu., PhD, MD (Pharmaceutical), Research Associate, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Belousov M.V., PhD, MD (Pharmaceutical), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Khlyusov I.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, Laboratory of Cellular and Microfluidic Technologies, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Поступила 30.03.2024

Отправлена на доработку 01.04.2024

Принята к печати 05.04.2024

Received 30.03.2024

Revision received 01.04.2024

Accepted 05.04.2024