

ОПЫТ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ УРСОДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ В КОНТЕКСТЕ *in silico* ПРОГНОЗА ПРОФИЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ¹

© 2020 г. Я. Б. Нескородов^{1, *}, С. Г. Марданлы^{1, 2}, Р. Н. Чупров-Неточин³

¹ЗАО “ЭКОлаб”, Московская область, Электрогорск, 142530 Россия

²Государственный гуманитарно-технологический университет, Московская область, Орехово-Зуево, 142611 Россия

³Московский физико-технический институт (Национальный исследовательский университет),
Московская область, Долгопрудный, 141701 Россия

*e-mail: NeskorodovYB@gmail.com

Поступила в редакцию 21.11.2019 г.

После доработки 05.02.2020 г.

Принята к публикации 11.02.2020 г.

В настоящей статье была впервые предпринята попытка анализа биологической активности урсодезоксихолеовой кислоты в контексте предсказанного *in silico* изменения генетической активности. Прогнозирование динамики изменения активности генов осуществлялось с помощью алгоритма “DIGEP-Pred”. Анализ полученных массивов генов проводился с помощью приложения “GeneMANIA”. Аннотацию генов получали из “The Human Protein Atlas”. Результаты работы показали, что первоначальная выборка генов распределяется по признаку локализации экспрессии на следующие группы: семенники, кора головного мозга, плацента, парашитовидные железы. Группы генов различались между собой как по количеству членов, так и по количеству взаимосвязей между ними. Наиболее крупная группа включала в себя 25 генов. Активность генов данной группы была локализована в семенниках. Согласно полученному прогнозу, все члены данной группы будут репрессированы после воздействия урсодезоксихолеовой кислоты. Следующая группа состояла из 14 генов, локализованных в коре головного мозга. В рамках данной группы прогнозировалось как повышение, так и снижение активности генов при воздействии урсодезоксихолеовой кислоты. Группы плаценты и парашитовидных желез содержали в себе сравнительно мало генов (по девять генов) и характеризовались низким количеством взаимосвязей между членами. Анализ профильной литературы позволил выявить эффекты приема урсодезоксихолеовой кислоты, которые могут быть ассоциированы с предсказанными *in silico* изменениями активности генов. Однозначной взаимосвязи между группами предсказанных *in silico* генов и описанными в литературе эффектами приема урсодезоксихолеовой кислоты выявлено не было. Было выявлено, что из всего массива генов (81 ген) – 45 являются прогностическими маркерами онкопроцессов.

Ключевые слова: биологическая активность, урсодезоксихолеовая кислота, экспрессия генов, фенотип, генотип, фармакогенетика.

DOI: 10.31857/S0016675820100094

Анализ биологической активности химических соединений является актуальной задачей как при разработке новых лекарственных препаратов, так и при охране труда и окружающей среды. Магистральный подход в этой области основан на каталогизации эффектов воздействия изучаемого соединения в различных экспериментальных моделях, в которых, в качестве объекта исследования выступают отдельные белки, клетки, ткани или целые организмы. Такой подход является ин-

формативным, однако чрезвычайно дорогостоящим и ресурсоемким, при этом сама экспериментальная модель содержит в себе ряд проблем.

Во-первых, при экспериментальной оценке биологической активности какого-либо вещества значительное внимание уделяется морфологическим признакам такого воздействия, однако следует учитывать, что отсутствие внешних проявлений не означает отсутствие самого эффекта влияния.

Во-вторых, эффект воздействия какого-либо соединения на многоклеточный организм обычно бывает многоплановым: в один и тот же момент соединение может оказывать различные эффекты на клетки разного типа. Из-за высокой

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0016675820100094 для авторизованных пользователей.

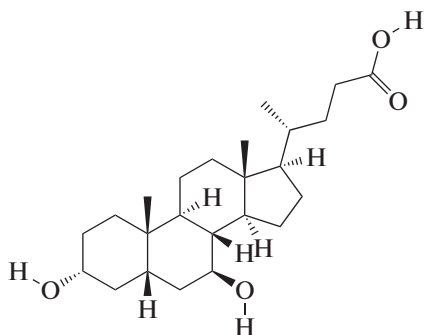


Рис. 1. Структурная формула урсодезоксихолевой кислоты.

сложности биологических объектов, такое воздействие одновременно может вызывать различные каскады модификаций системы и проследить все этапы таких изменений технически очень сложно. Следствием этого является то, что трактовка какого-либо наблюдаемого эффекта становится сложным процессом, так как в основе этого эффекта может лежать целый комплекс изменений, а регистрируемый результат может быть либо вторичным, либо третичными относительно самого факта воздействия.

В-третьих, поиск и изучение биологически активных веществ в большинстве случаев осуществляется с применением клеточных культур, что в дальнейшем вызывает трудности при экстраполяции результатов на многоклеточные организмы.

Многофакторность эффекта биологического воздействия создает потребность в построении модели, которая обладала бы прогностическими функциями. К настоящему моменту уже существует целая линейка подобных алгоритмов (например <http://way2drug.com/projects.php>). Перспективным выглядит прогностический алгоритм, который базируется на анализе динамики экспрессии генов (например DIGEP-Pred <http://www.way2drug.com/ge/>), так как такие изменения являются объективным и лишены той субъективности, которая в той или иной мере присутствует при анализе морфологических признаков. Конечно такой подход также содержит в себе ряд недостатков. Например слабой стороной такой стратегии является недостаточная изученность проблемы взаимосвязи фенотипа и генотипа, что создает сложности при трактовке результата. Также, прогноз изменения динамики экспрессии генов сложно проверять экспериментально, так как на этот процесс оказывает влияние большое количество как внешних, так и внутренних факторов организма. При условии, что генетически одинаковыми организмы могут быть только в исключительных случаях, полученные прогностические данные могут быть до-

стоверны для одной экспериментальной модели и ошибочны для другой.

Тем не менее, представляется интересным провести сравнительный анализ результатов прогноза изменения динамики экспрессии генов для какого-либо хорошо изученного соединения. Можно предположить, что группы генов, динамика которых изменится согласно прогнозу, найдут свое отражение в процессах, которые были ранее описаны эмпирически.

Для решения такой задачи целесообразно использовать вещество, чья биологическая активность хорошо изучена и с этой точки зрения наиболее исследованными являются фармацевтические субстанции. Для этих соединений накоплены обширные массивы статистически достоверной информации, собранной в процессе применения лекарственных препаратов у пациентов различных возрастных групп, пола, рас и т.д. Также в литературе широко представлены данные не только о влиянии этих соединений на клеточные культуры, но и данные о типах и механизмах воздействия на животных разных видов.

В настоящей работе в качестве объекта анализа было выбрана урсодезоксихолевая кислота (УДХК) [1] (рис. 1), которая в форме лекарственного препарата присутствует на международном рынке уже более 50-ти лет. За это время различными исследовательскими группами были собраны обширные данные о механизме воздействия этого вещества на организм человека и животных. В этих исследованиях было описано плейотропное действие урсодезоксихолевой кислоты: некоторые эффекты при приеме УДХК противоречивы и труднообъяснимы (рис. 2).

Первый препарат на основе УДХК был зарегистрирован компанией "Tokyo Tanabe Co." в 1957 г. и носил название URSO [2]. Препараты на основе УДХК активно выпускаются и в настоящее время, являясь стандартом терапии холестатических заболеваний печени с аутоиммунным компонентом.

Урсодезоксихолевая кислота ($C_{24}H_{40}O_4$) (ursodiol) является менее токсичным эписомером другой терапевтически ценной желчной кислоты — хенодезоксихолевой [3]. УДХК — естественный компонент желчи человека, в которой ее содержание колеблется в диапазоне от 1 до 5% от общего количества желчных кислот [4]. С 1970-х годов она применяется для растворения рентгеннегативных конкрементов и билиарного сладжа у пациентов с малосимптомным течением желчнокаменной болезни [5]. Полный механизм этого воздействия все еще не ясен, однако экспериментально была показана подавляющее воздействие УДХК на процесс синтеза холестерина в печени и абсорбцию холестерина из кишечного тракта, что, в свою очередь, приводит к понижению его концентрации в желчи. Предполагается, что такое сниже-



Рис. 2. Влияние УДХК.

ние позволяет постепенно вымывать холестерин из желчных камней, что приводит к их постепенному растворению.

Около 90% терапевтической дозы УДХК абсорбируется в тонком кишечнике: соединение по портальной вене поступает в печень, где эффективно всасывается гепатоцитами. В гепатоцитах происходит конъюгирование УДХК с глицином или таурином. Далее, в составе желчи, УДХК выводится в двенадцатиперстную кишку. В большом круге кровообращения выявляется только небольшое количество урсодезоксихолевой кислоты: в плазме крови УДХК связывается с белками и в небольших количествах экскретируется в мочу [6].

УДХК не изменяется или в существенной степени не катаболизируется в печени и слизистой оболочке кишечника. Как правило УДХК окисляется и восстанавливается на 7-углеродном атоме, образуя либо 7-кето-литохоловую кислоту, либо литохоловую кислоту [7] соответственно. Литохоловая кислота демонстрирует токсические свойства, вызывает холестатические поражения печени и может привести к смерти от печеночной недостаточности у пациентов при нарушенной сульфатации. Литохоловая кислота способна повреждать ДНК, однозначно проявляя мутагенное свойство. Также она приводит к сегментарному поражению желчных протоков, печеночной недостаточности и гибели клеток [8].

Как уже было упомянуто, спектр эффектов при приеме УДХК многогранен. В большинстве случаев применение УДХК снижает повреждение гепатоцитов и улучшает физиологические показатели печени [9, 10]. Тем не менее, УДХК запрещено к применению при лечении детей: назначение этого препарата при холестатическом синдроме у новорожденных практически в два раза снижает

эффективность лечения и вызывает опасные осложнения, печеночную недостаточность и повышенную смертность [11].

В контексте настоящей работы наиболее интересными являются описанные факты воздействия УДХК на клетки, взаимодействие с белками и влияние на генетическую активность. Например известно, что УДХК оказывает негативное влияние на клетки микроглии, непосредственно и эффективно ингибируя продукцию оксида азота этими клетками. Этот эффект может наблюдаться в течение 48 ч [12–14]. Известно, что чрезмерная активация микроглии может приводить к патологическим процессам и в частности к гибели нейронов, что является одним из механизмов некоторых нейродегенеративных расстройств [15, 16]. Так как УДХК способна подавлять активность клеток микроглии, было выдвинуто предположение о том, что данное соединение может каким-либо образом помочь при нейродегенеративных заболеваниях [17, 18].

Структурно молекула УДХК представляет собой стероид и проявляет иммуномодулирующие свойства. УДХК подавляет продукцию IgM, IgG и IgA, индуцированную *Staphylococcus aureus* (Cowan I) в мононуклеарных клетках периферической крови, полученных от здоровых субъектов и пациентов с первичным желчным циррозом, а также в клеточных линиях лимфомы человека. УДХК способно подавлять продукцию интерлейкина-2 и интерлейкина-4, индуцированную конканавалином А (ConA). УДХК также подавляет конканавалин-А-индуцированную пролиферацию тимоцитов. Это снижает уровень экспрессии в печени антигенов лейкоцитов человека (HLA class I) [19, 20], но не оказывает влияния на высвобождение гистамина тучными клетками [21].

Ядерные стероидные рецепторы являются лиганд-активируемыми факторами транскрипции, которые играют ключевую роль во множестве жизненно важных физиологических явлений, включая развитие или эндокринную передачу сигналов, репродукцию и гомеостаз. УДХК модулирует активацию ядерных стероидных рецепторов [22–25]. Данное соединение способно не только связываться с рецептором глюкокортикоидов, но и подавлять NF-κB-зависимую транскрипцию [26]. Внезапная остановка поступления УДХК в организм приводит к синдрому отмены, сходному с синдромом отмены стероидов, который исчезает при возобновлении поступления УДХК [27].

УДХК подавляет распад ядерного фактора каппа В (NF-κB) и его ингибитора — κB [26]. Ядерный фактор каппа (NF-κ) представляет собой белковый комплекс, который вовлечен в процесс транскрипции ДНК и играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа на инфекцию, злокачественную трансформацию и процессы синаптической пластичности и памяти [28–30]. УДХК подавляет NF-κB посредством функционального регулирования глюкокортикоидного рецептора и NF-κB-зависимой транскрипции [31]. Это наблюдение привлекло к себе внимание в контексте того, что положительная регуляция антиапоптозной функции подсемейства p53 связана с уменьшением выживаемости пациентов при гепатоцеллюлярной карциноме [32].

УДХК способна регулировать активность глюкокортикоидного и минералокортикоидного рецептора, а также рецепторов прогестерона и эстрадиола. Также известно, что УДХК специфически ингибирует на уровне транскрипции синтез простагландина A2 [35]. Данные процессы могут быть взаимосвязаны, так как известно, что глюкокортикоиды препятствуют синтезу простагландинов и фосфолипазы A2 [33, 34].

Способность УДХК активировать внутриклеточный глюкокортикоидный рецептор, демонстрирует зависимость от дозы [24]. Данный процесс может быть заблокирован ингибитором транскрипции (посредством ингибирования протеинкиназы C) — сфингозинном [36].

Глюкокортикоидный рецептор и минералокортикоидный рецептор, а также рецепторы прогестерона и андрогеновые рецепторы тесно связаны между собой посредством многих структурных компонентов. Например общими для рецепторных комплексов являются такие белки как белки теплового шока (особенно HSP90 и HSP70), иммуофилины (FKBP51, FKBP52), p23 [37]. Лечение стероидами позволяет глюкокортикоидным рецепторам олигомеризоваться с минералокортикоидами в цитоплазме [38]. УДХК активирует как ядерные глюкокортикоидные, так и минера-

локортикоидные рецепторы [39], и подавляет рецепторы прогестерона и эстрогена [40].

УДХК модулирует иммунный ответ путем ингибирования деполяризации митохондриальной мембраны. Также УДХК ингибирует формирование каналов, производство активных форм кислорода, высвобождение цитохрома C, активацию каспазы и расщепление ядерной полиаденозинвой дифосфатной (АДФ-рибоза) полимеразы [41].

УДХК способна повышать активность естественных киллеров у пациентов с первичным билиарным циррозом [42]. Прием УДХК пациентами с желчными холестериновыми камнями приводит к уменьшению числа активированных макрофагов в мышечном слое желчного пузыря [43]. Также УДХК снижает активность аланинаминотрансферазы на 35%, аспаратаминотрансферазы — на 33%, щелочной фосфатазы — на 40%, γ-глутамил-транспептидазы — на 50% [44].

УДХК способна взаимодействовать с ядерными рецепторами, которые лиганд-зависимым образом регулируют экспрессию генов [45].

УДХК демонстрирует способность подавлять апоптоз, останавливать регенерацию клеток, блокирует восстановление ДНК [46–48] и оказывает влияние на экспрессию *E2F-1* (Gene ID: 1869) и *p53* (Gene ID: 24842) [26]. Белок-супрессор опухолей p53 играет важную роль при процессах злокачественной трансформации поврежденных клеток [49, 50]. Воздействие на активность p53 осуществляется через серию посттрансляционных модификаций [51, 52]. УДХК ингибирует индукцию и стабилизацию p53 с помощью независимого от каспаз механизма [48, 49]. УДХК блокирует апоптоз через ингибирование эффективности связывания p53 с ДНК и меняет клеточную локализацию этого транскрипционного фактора. На экспрессию *p53* и *BAX* (BCL2 associated X, apoptosis regulator. Gene ID: 581) в гепатоцитах оказывает влияние и дезоксихолевая кислота, однако УДХК выступает как ингибитор экспрессии: индуцированное дезоксихолевой кислотой увеличение количества BAX-позитивных клеток, снижается при воздействии на них УДХК [53, 54].

Было обнаружено, что УДХК может подавлять индуцированный дезоксихолевой кислотой апоптоз в клеточной линии рака толстой кишки человека. Исследования сигнального пути показали, что предварительная обработка УДХК подавляла активность связывания ДНК активаторного белка-1 (AP-1) [55], и этот процесс сопровождался подавлением активности как внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK) (Gene ID: 24338), так и Raf-1-киназы (Gene ID: 24703), стимулированной воздействием дезоксихолевой кислотой. Было также обнаружено, что дезоксихолевая кислота активирует рецепторы эпидер-

мального фактора роста (EGFR) (Gene ID: 24329), а УДХК ингибирует их [56].

Эффект анти-апоптоза УДХК значительным образом подавляет естественный каскад событий, обеспечивающих своевременную и эффективную регенерацию поврежденных клеток [57, 58].

УДХК модифицирует ацетилирование гистонов и индуцирует клеточную дифференцировку и старение. Эффект анти-апоптоза сохраняется даже после появления фосфатидилсерина на внешней мембране клетки [56].

Было отмечено, что устойчивость к апоптозу, возникшая под воздействием УДХК, является злокачественной при колоректальном раке человека, так как ингибирование апоптоза приводит к увеличению накопления поврежденных ДНК клеток, что в свою очередь приводит к увеличению риска прогресса онкопроцесса [59, 60].

В другом исследовании было показано, что УДХК способна ингибировать индуцированный дезоксихолевой кислотой апоптоз как в гепатоцитах крыс, так и в клетках других тканей *in vitro*, снижая уровень нарушений митохондриальной мембраны, уменьшая содержание белка Вах (Gene ID: 24887) в митохондриях и ингибируя реактивные виды кислорода [48].

Также УДХК оказывает влияние на эффекты клеточного цикла, включая циклин D1 [61]. Циклин D1, как и другие циклины, регулирует активность циклин-зависимых киназ. Различные циклины задействованы в разных стадиях клеточного цикла. Циклин D1 избыточно экспрессируется при раке молочной железы и рассматривается в качестве биомаркера [62].

Вопреки тому, что УДХК подавляет апоптоз, данное соединение обладает способностью подавлять рост в широком спектре линий раковых клеток толстой кишки. Было обнаружено, что УДХК вызывает изменение морфологии клеток, приводит к их увеличению, повышению активности цитокератинов и Е-кадгерина (Gene ID: 83502). Е-кадгерин — одна из наиболее значимых молекул клеточной адгезии в эпителиальных тканях. Белок кодируется геном *CDH1* и локализуется на поверхности плазмолеммы эпителиальных клеток, участвуя в образовании адгезионных контактов, являющихся характерной особенностью эпителиальных тканей [63]. УДХК способно неизвестным пока образом осуществляет деформацию цитокератина и провоцирует накопление в клетках липидных капель. Это наблюдение позволило сделать предположение о том, что УДХК индуцирует дифференцировку в клетках карциномы толстой кишки. Также исследование показало, что УДХК может индуцировать процесс старения в раковых клетках толстой кишки и ингибировать активность теломераз [64].

Было показано, что УДХК способна ингибировать гистонацетилтрансферазы [65]. Гистоновые ацетилтрансферазы добавляют ацетильные группы к гистонам, расслабляя гистоновый комплекс, что позволяет другим белкам действовать на ДНК. Если ингибиторы гистоновых ацетилтрансфераз подавлены, поврежденная ДНК не может быть восстановлена, что в конечном итоге приводит к гибели клеток [66].

При этом УДХК не является ингибитором деацетилазы гистонов, но способствует гипoaцетилированию гистонов. Исследования показали, что старение, индуцированное УДХК, является независимым от таких факторов, как p53, p21 (Kras2; c-Ki-ras: Gene ID: 24525), Rb (Gene ID: 24708) и то, что гистондеацетилаза 6 (EC 3.5.1.98) играет важную роль в индуцированном УДХК процессе старения клеток [64].

В присутствии УДХК клетки печени, сталкиваясь с цитотоксичностью желчных кислот, не создают цитопротекторный каскад [67, 68]. Антиапоптотическое свойство УДХК проявляется как в гепатоцитах, так и в клетках других типов, предотвращая апоптоз-ассоциированные изменения в трансмембранном потенциале митохондрий [69].

УДХК способна ингибировать кофермент А-зависимые стадии деградации холестерина и конъюгации желчных кислот [70]. Холестерин является предшественником каскада стероидных гормонов, которые определяют многие жизненно важные функции организма [71–73].

УДХК не только влияет на синтез холестерина, но и ограничивает клеточный ответ на цитотоксические стимулы, являясь самым мощным ингибитором аденозинового 3', 5'-циклического монофосфата (цАМФ). ЦАМФ в свою очередь является вторичным посредником внутриклеточной передачи сигнала первичным посредникам. ЦАМФ опосредует биологическую функцию гормонов через активации (инактивации) клеточных протеинкиназ (фосфатаз). УДХК специфически ингибирует индуцированный глюконом синтез ЦАМФ, опосредованный протеинкиназой [74–76].

Желчные кислоты, за исключением урсодезоксихолевой кислоты, положительно регулируют фактор некроза опухоли/фактор-зависимого апоптоз-индуцирующего лиганда (DR5/TRAIL)-рецептора 2 через c-Jun N-концевой киназа-зависимый путь [77].

Несмотря на наблюдаемые эффекты подавления роста некоторых линий опухолевых клеток, УДХК способствует вирулентности опухоли, что связано с ингибированием p53, влиянием на протеинкиназу и блокированием распада NF-κB [78, 79]. К настоящему моменту роль УДХК в прогрессировании злокачественных заболеваний является плохо изученной проблемой.

УДХК является мощным индуктором цитохрома NADPH-СУР-с-редуктазы, аминопириновой N-деметилазы CYP3A1/2, п-нитрофенолгидроксилазы CYP2E1, этоксикумарин-О-деэтилазы, пентоксирезорурфин-О-деалкилазы, метоксирезорурфин-О-деметилазы CYP1A2, этоксирезорурфина-О-деэтилазы CYP1A1 и гидроксилазы лауриновой кислоты CYP4A и подавляет их инактивацию [80]; поднимает уровень глутатиона в плазме, но при этом его концентрация остается субнормальной или в пределах нормы [81]. УДХК также индуцирует множественную лекарственную резистентность, ассоциированную с белком 3 (MOAT-D), но не с белками 4 (MOAT-B) и 5 (MOAT-C) [82].

Приведенные выше данные демонстрируют единовременное воздействие УДХК на различные мишени. Так как изменение динамики экспрессии генов является наиболее глубинным уровнем системного ответа на какое-либо воздействие, то представляется интересным посмотреть изменения динамики экспрессии генов при воздействии УДХК, что, в свою очередь, может выявить какие-либо скрытые механизмы ответа клетки на воздействие данного соединения и, можно предположить, частично объяснить выявленные эффекты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание молекулы урсодезоксихолевой кислоты [1] в системе упрощенного представления молекул в строке ввода (SMILES) было получено из базы данных PubChem Compound Национального центра биотехнологической информации (США): CC(CCC(=O)O)C1CCC2C1(CCC3C2C(CC4C3(CCC(C4)O)C)O)C.

Прогноз *in silico* изменений активности генов при воздействии УДХК был осуществлен по методу, разработанному группой Поройкова [83], где под спектром биологической активности понимали всю совокупность фармакологических эффектов, биохимических механизмов действия и видов специфической токсичности, которые вещество может проявить при взаимодействии с биологическими объектами [83]. Разработанный алгоритм обеспечивает получение устойчивых в статистическом смысле зависимостей “структура-активность” [83]. Средняя точность прогноза при скользящем контроле составляет свыше 85%.

На основе прогноза, составленного программой “DIGEP-Pred: Prediction of drug-induced changes of gene expression profile” (<http://www.way2drug.com/ge/>), был получен перечень генов (Приложение 1), на активность которых может оказывать влияние УДХК. Сервис “DIGEP-Pred” выдает несколько результатов прогноза изменения генной экспрессии. В настоящей статье использовались данные таблиц mRNA (UpRegulation) и mRNA

(DownRegulation). Данные прогноза для клеточных линий: Protein (UpRegulation), Protein (DownRegulation), MCF7 (UpRegulation), MCF7 (DownRegulation), VCAP_6h (UpRegulation), VCAP_6h (DownRegulation), VCAP_24h (UpRegulation), VCAP_24h (DownRegulation) — не учитывались. Первичный анализ двух отобранных выборок mRNA (UpRegulation и DownRegulation) каких-либо противоречий не выявил — каждая выборка была уникальна по своему генному составу.

Прогноз изменения генной экспрессии каждого гена характеризовался величиной *Pa* (оценка вероятности наличия активности) и *Pi* (оценка вероятности отсутствия активности) [83, 84]. *Pa* и *Pi* имеют значения от 0 до 1. Эти вероятности рассчитываются независимо по подвыборкам активных и неактивных соединений, и поэтому их сумма не равна единице. *Pa* и *Pi* интерпретируются как оценки меры принадлежности вещества к классам активных и неактивных соединений соответственно, либо как оценки ошибок первого и второго рода. Чем больше для конкретной активности величина *Pa* и чем меньше величина *Pi*, тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте [83].

Дальнейшая обработка полученных с помощью программы “DIGEP-Pred: Prediction of drug-induced changes of gene expression profile” данных осуществлялась в программе “Microsoft Excel”. Гены были ранжированы согласно их характеристическим величинам *Pa* и *Pi*. Для выделения наиболее вероятных прогнозов, были определены средние значения *Pa* и *Pi*. Для дальнейшего анализа были отобраны гены, чье значение *Pi* было меньше средней величины, а *Pa* — выше среднего значения (рис. 3).

Анализ генных взаимодействий осуществлялся с помощью программы GeneMANIA [85]. Данная программа позволяет осуществлять сбор и анализ широкого спектра данных о генах и их продуктах по различным базам данных. GeneMANIA позволяет получить сведения о белковом взаимодействии продуктов генов (physical interaction), отобразить генетическое взаимодействие (genetic interaction), общие домены белка (shared protein domains), данные о совместной локализации (co-localization), данные о сигнальном пути (pathway) и дать прогноз (predicted) о предполагаемых функциональных связях между генами, который будет базироваться на сопоставлении известных функциональных связей. Условия анализа были следующие: Max resultant genes 3, Max resultant attributes 5 [86]. Генетическое взаимодействие между двумя генами обычно указывает на то, что фенотип двойного мутанта отличается от того, что ожидается от каждого отдельного мутанта [87].

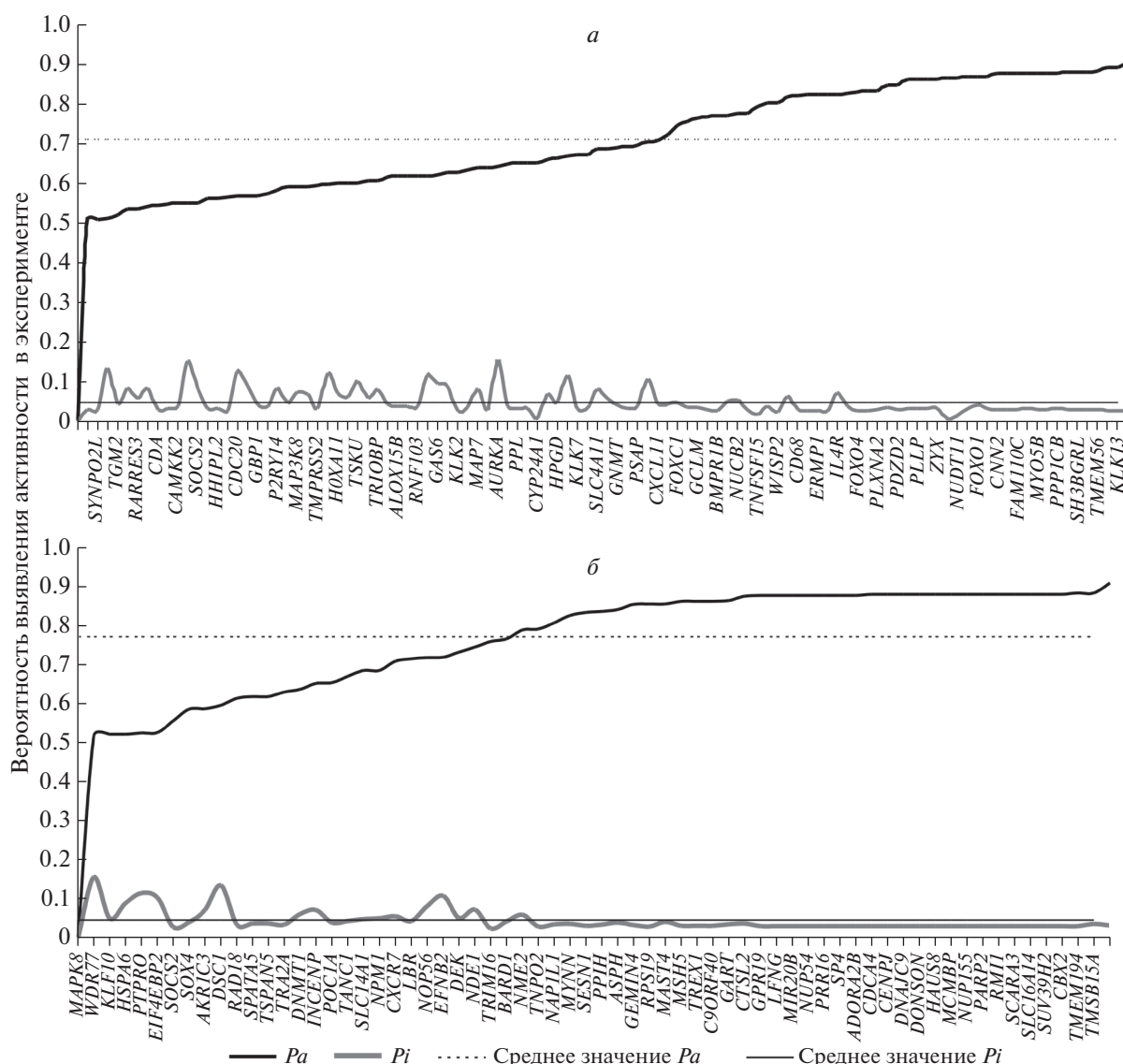


Рис. 3. Перечень генов, созданный на основе прогноза программы DIGEP-Pred, чья активность изменится при воздействии УДХК: *a* – повысится, *б* – понизится.

Анализ нормальной локализации активности генов осуществлялся с помощью The Human Protein Atlas (www.proteinatlas.org) [88–90].

Нагруженность генетической сети определяли как отношение количества выявленных связей (с помощью программы GeneMANIA) к количеству локализованных генов (с помощью The Human Protein Atlas).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обозначенным условиям отбора (были выбраны гены, чье значение P_i было меньше средней величины, а P_a – выше среднего значения) соответствовали следующие гены: прогнозируемое понижение активности (массив генов #1): *NME2*,

TNPO2, *NAP1L1*, *MYNN*, *SESN1*, *PPIH*, *ASPH*, *GEMIN4*, *RPS19*, *MAST4*, *MSH5*, *TREX1*, *C9ORF40*, *GART*, *CTSL2*, *GPR19*, *LFNG*, *MIR20B*, *NUP54*, *PRR16*, *SP4*, *ADORA2B*, *CDCA4*, *CENPJ*, *DNAJC9*, *DONSON*, *HAUS8*, *MCMBP*, *NUP155*, *PARP2*, *RM11*, *SCARA3*, *SLC16A14*, *SUV39H2*, *CBX2*, *TMEM194A*, *TMSB15A*.

Гены, чья активность, согласно прогнозу, повысится под воздействием УДХК (массив генов #2): *CXCL11*, *APPBP2*, *FOXC1*, *C8ORF4*, *GCLM*, *ITGAM*, *BMPRI1B*, *SLC45A2*, *TNFSF15*, *EPB41L3*, *WISP2*, *CD68*, *ABAT*, *ERMP1*, *MSX2*, *SOLE*, *FOXO4*, *FAM49A*, *PLXNA2*, *DNAJB14*, *PDZD2*, *KCNH2*, *PLLP*, *SLC25A4*, *ZYX*, *BLVRA*, *NUDT11*, *CREB3L1*, *FOXO1*, *RNASEL*, *CNN2*, *DYSF*, *FAM110C*, *LGALS9*,

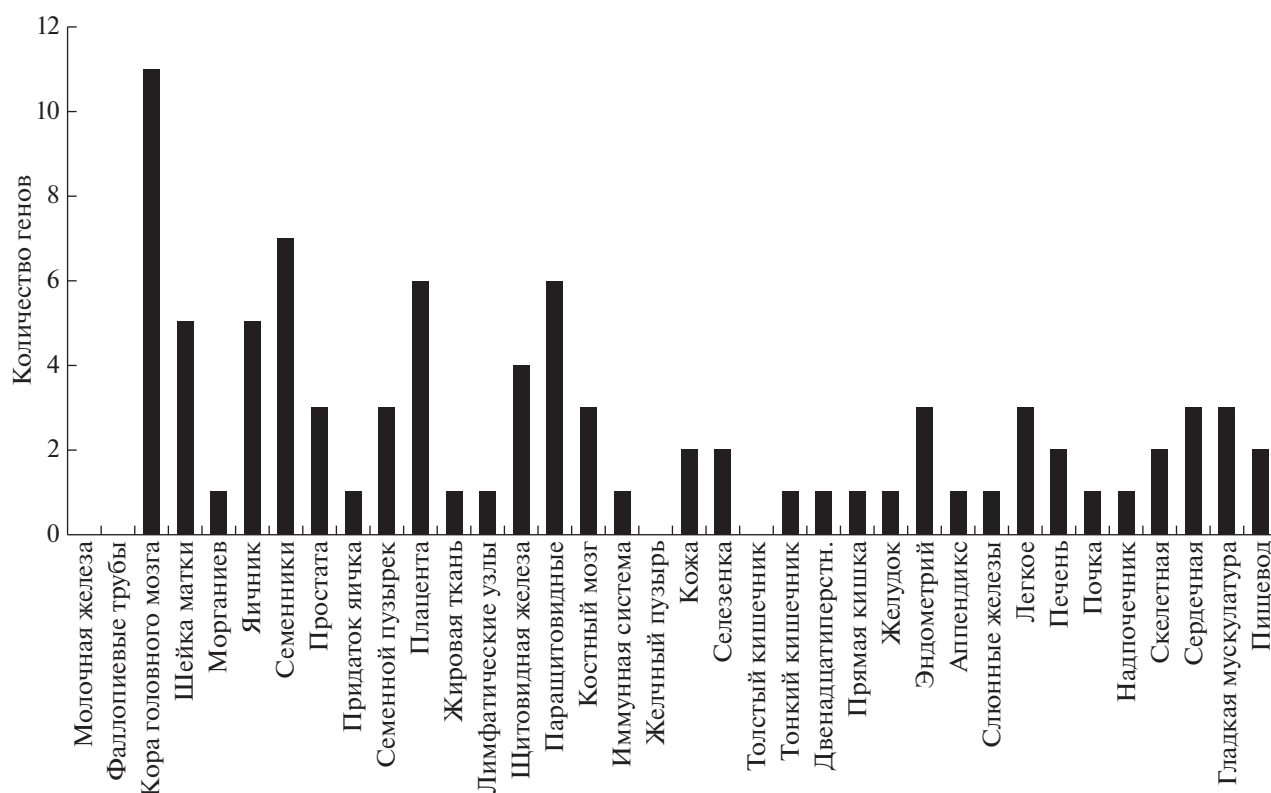


Рис. 4. Тканевая локализация при позитивной регуляции активности генов, прогноз *in silico*.

MYO5B, PPFIBP2, PPP1CB, PFKFB2, SH3BGR1, TRIM13, TMEM56, COL22A1, KLK13, CHRNE.

Анализ тканевой локализации нормальной экспрессии генов в условиях прогнозируемой позитивной регуляции при воздействии УДХК выявил четыре области: кора головного мозга (гены *APPBP2, BMP1B, EPB41L3, ABAT, SQLE, FAM49A, PLXNA2, DNAJB14, PDZD2, PLLP, NUDT11*), семенники (гены *APPBP2, SLC45A2, EPB41L3, SQLE, KCNH2, NUDT11, TRIM13*), плацента (гены *C8ORF4, MSX2, FOXO4, PDZD2, DYSF, SQLE*) и паращитовидные железы (гены *C8ORF4, ERMP1, ZYX, RNASEL, PPFIBP2, PPP1CB*) (рис. 4).

Анализ тканевой локализации нормальной экспрессии генов в условиях прогнозируемой негативной регуляции при воздействии УДХК выявил одну область — семенники (рис. 5). В области семенников прогнозируется репрессия следующих генов: *MYNN, SESN1, GEMIN4, MSH5, C9ORF40, GART, CTSL2, GPR19, NUP54, CENPJ, DONSON, HAUS8, NUP155, PARP2, RMI1, SUV39H2, CBX2, TMEM194A*.

Если суммировать данные как негативно, так и в позитивно регулируемых выборках, то наибольшее количество генов, изменяющих активность при воздействии УДХК, будет локализовано в области семенников (всего 25 генов), далее — в коре

головного мозга (14 генов), потом в плаценте (9 генов) и паращитовидных железах (9 генов).

Кора головного мозга (*Cerebri cortex*)

При анализе взаимодействий в общей выборке генов, локализованных в коре головного мозга, было выявлено 42 различных варианта взаимосвязей. При этом на долю генов первичной выборки приходится 17 вариантов (≈40.5%). Остальные 25 вариантов взаимосвязей приходятся на такие гены как *DHCR7* (13 взаимосвязей), *FDFT1* (8 взаимосвязей), *LSS* (4 взаимосвязи), которые были включены в систему алгоритмом GeneMANIA (Приложение 2).

В рамках данной выборки было выявлено три гена, которые лидировали по количеству взаимосвязей с другими генами группы. Это такие гены как *DHCR7* (Gene ID: 1717) (13 взаимосвязей), *FDFT1* (Gene ID: 2222) (8 взаимосвязей), *LSS* (Gene ID: 4047).

Семенники (*Testis*)

Анализ генного взаимодействия в рамках выборки генов, чья активность позитивно изменится в семенниках, выявил три несвязанные между собой группы. Первая группа включила в себя ге-

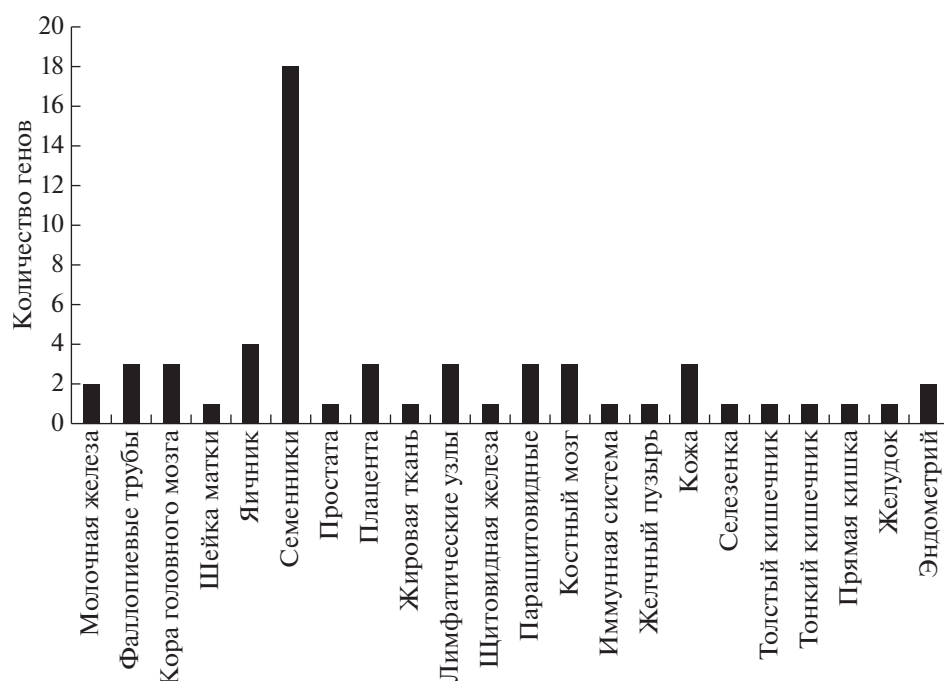


Рис. 5. Тканевая локализация при негативной регуляции активности генов, прогноз *in silico*.

ны *APPBP2*, *KCNH2*, *NUDT11*, *TRIM13*, вторая группа — только один ген *SLC45A2*, третья группа — *EPB41L3*, *SQLE*. Дальнейшее сравнение негативной и позитивной выборки генов этой локализации, показало то, что две выборки взаимно связаны друг с другом через коэкспрессию, однако даже в рамках суммарной выборки, гены с негативной регуляции демонстрируют отсутствие выраженных взаимосвязей (Приложение 2).

Интересно отметить, что для таких генов как *EPB41L3*, *APPBP2*, *SQLE* и *NUDT11* повышение активности было предсказано как в коре головного мозга, так и в семенниках. Отдельно обращает на себя внимание то, что ген *SQLE*, кодирующий скваленэпоксидазу, присутствует в цепях позитивного ответа на УДХК как в выборке, локализованной в коре головного мозга, так и в семенниках и в плаценте. Сквален-эпоксидаза катализирует первую стадию оксигенации в биосинтезе стеролов и считается одним из лимитирующих скорость ферментов в этом пути.

Другим геном, демонстрирующем позитивную регуляцию при различной локализации является *C8ORF4* (известный также как *TC1* и *TC-1*). Этот ген кодирует небольшой мономерный, преимущественно неструктурированный белок, который функционирует в качестве положительного регулятора сигнального пути Wnt/ β -катенин. Этот белок взаимодействует с репрессором β -катенин-опосредованной транскрипции ядерных компартментов факторов сплайсинга. Предполагается, что он конкурентно блокирует взаимодействие репрессора с

β -катенином, что приводит к усилению регуляции генов-мишеней β -катенина. Кодированный белок также может играть роль в сигнальных путях NF- κ B и ERK1/2. Экспрессия этого гена может играть роль в онкогенезе нескольких видов рака, включая рак щитовидной железы, рак молочной железы и гематологические злокачественные новообразования [91].

При анализе общей выборки генов, чья активность в норме локализована в семенниках и изменяется как позитивно, так и негативно при воздействии УДХК, было выявлено 101 различный вариант взаимодействия между генами. При этом на долю генов первичной выборки приходится 77 вариантов ($\approx 76.3\%$). Остальные 24 варианта взаимосвязей приходятся на такие гены как *BLM* (15 взаимосвязей), *CASK* (6 взаимосвязей) и *CARNMT1* (3 взаимосвязи), которые были включены в систему алгоритмом GeneMANIA.

В рамках данной выборки было выявлено четыре гена, которые лидировали по количеству взаимосвязей с другими генами группы. Это такие гены как *NUP155* (Gene ID: 9631) (18 взаимосвязей), *BLM* (Gene ID: 641) (15 взаимосвязей), *DONSON* (Gene ID: 29980) и *RM11* (Gene ID: 80010) (по 11 взаимосвязей соответственно).

Паращитовидные железы (*Glandula parathyreoidea*)

При анализе взаимодействий в общей выборки генов, локализованных в паращитовидных железах, было выявлено 14 различных вариантов взаимосвя-

зей. При этом на долю генов первичной выборки, приходится пять вариантов ($\approx 35.7\%$). Остальные девять вариантов взаимосвязей приходятся на такие гены как *CERS6* (2 взаимосвязи), *CNTF* (2 взаимосвязи), *MTM1* (5 взаимосвязей), которые были включены в систему алгоритмом GeneMANIA. Интересно отметить, что такие гены как *SLC16A14* и *ZYX* не показали какую-либо взаимосвязь с другими генами выборок (Приложение 2).

В рамках данной выборки было выявлен один ген, который лидировал по количеству взаимосвязей с другими генами группы. Это такой ген как *MTM1* (Gene ID: 4534) (5 взаимосвязей).

Плацента (Placenta)

При анализе взаимодействий в общей выборки генов, локализованных в плаценте, было выявлено шесть различных вариантов взаимосвязей. При этом на долю генов первичной выборки приходится один вариант ($\approx 16.7\%$). Остальные пять вариантов взаимосвязей приходятся на такие гены как *AFF1* (2 взаимосвязи), *CSF3R* (2 взаимосвязи), *OXSRI* (1 взаимосвязь), которые были включены в систему алгоритмом GeneMANIA. Интересно отметить, что такие гены как *C8ORF4*, *MSX2*, *PDZD2*, *SQLE* не показали какую-либо взаимосвязь с другими генами выборок (Приложение 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе анализа результатов *in silico* прогноза изменения активности генов при воздействии УДХК были выявлен комплекс взаимосвязей между отобранными генами: в одних случаях это могло быть взаимодействие в рамках процесса экспрессии, а в других, например, через общие домены белка. Само наличие каких-либо взаимосвязей в полученной *in silico* выборке генов с одинаковой локализацией экспрессии, позволяет предположить, что данный подход выявляет какие-то фрагменты генных сетей.

Под генными сетями (согласно данным из литературы) подразумеваются структурно сложные пространственные объекты, состоящие из десятков и сотен элементов разной природы и сложности: генов и их регуляторных участков, РНК и белков, кодируемых этими генами, низкомолекулярных соединений, различных комплексов между ферментами и их мишенями и т.д. [92].

Представленная в определении сложная система взаимодействий позволяет предположить, что в ее рамках должны наблюдаться подсистемы более низкого уровня, функционирование которых должно проходить более или менее автономно в рамках общей сети. Наличие функциональной автономии таких подсистем должно характеризоваться бóльшим количеством взаимосвязей

между отдельными компонентами такой подсистемы, чем между подсистемами равными иерархически. Теоретически оценку функциональной сложности какой-либо подсистемы можно оценить через анализ количества элементов и взаимосвязей между этими элементами. Отношение количества взаимосвязей между элементами к общему количеству элементов может характеризовать функциональную нагруженность системы.

Представление о внутренних взаимосвязях и иерархической организации генных сетей позволило выдвинуть предположение о том, что отдельный организм может быть рассмотрен, как единая генная сеть [93]. В рамках такого допущения становится возможным протянуть гипотетическую цепочку этапов взаимного влияния от любого произвольно выбранного гена к любому другому гену из представленных в системе, что, в свою очередь, предполагает наличие сложных и трудно предсказуемых эффектов от воздействия каких-либо факторов на отдельный организм, представленный в виде единой генной сети.

В нашем исследовании по показателю нагруженности выявленные генные сети распределились следующим образом: кора головного мозга — 3 (отношение 42-х выявленных связей к количеству локализованных генов — 14); семенники — 4.04, парашитовидные железы — 1.555, плацента — 0.666.

В приведенных данных привлекает внимание высокое значение функциональной нагруженности сети в семенниках. Так как генные сети изменяют свое состояние в ответ на появление внешних, или внутренних факторов среды [92], можно предположить, что такая картина является следствием реакции генной сети семенников на стероидоподобных соединений, к которым относится УДХК. Такая реакция может проходить по двум сценариям: в первом варианте, генная сеть может компенсировать воздействие каких-либо внешних веществ (в данном случае — УДХК), а во втором варианте, в семенниках должны происходить либо негативные, либо позитивные процессы.

В первом случае у пациентов, принимающих УДХК, не должно наблюдаться каких-либо ассоциированных с приемом препарата изменений в семенниках. В противном же случае следует ожидать, что прием УДХК должен вызывать либо негативные, либо позитивные морфологические изменения в семенниках у пациентов.

Интересно, что данный спектр биологической активности УДХК сравнительно слабо изучен, хотя хорошо известно, что атрофия яичек обычно отмечается у пациентов с хроническими заболеваниями печени. Тем не менее эффект положительного воздействия УДХК на семенники был впервые описан в 2004 г., когда было проведено ис-

следование, в котором мыши подвергались воздействию 2,3,7,8-тетрахлородибензодиоксина. Это вызывало у животных деграцию яичек, а применение УДХК практически полностью их восстановило [94]. Позже, в 2014 г., были опубликованы результаты исследования о положительном влиянии УДХК на семенники крыс в условиях экспериментального холестаза [95], а в 2015 г. было подтверждено восстановление ультраструктуры семенников при воздействии УДХК [96].

Приведенные экспериментальные данные свидетельствуют в пользу того, что каких-либо механизмов компенсации воздействия в рамках генной сети семенников не наблюдается, и события разворачиваются по второму сценарию, в рамках которого генные сети реактивно отражают воздействие УДХК.

Анализируя локализованную в семенниках генную сеть, можно обратить внимание на то, что наибольшее количество взаимосвязей в данной структуре демонстрируют гены *NUP155* ($P_a = 0.88$ и $P_i = 0.031$), *DONSON* ($P_a = 0.88$ и $P_i = 0.031$), *RM11* ($P_a = 0.88$ и $P_i = 0.031$). Интересно обратить внимание на то, что вторым по количеству взаимодействий в сети является ген *BLM* (Gene ID: 641), известный также как *BS*, *RECQ2*, *RECQL2*, *RECQL3*, *MGRISCE1*. Наличие данного гена в сети не было предсказано прогностическим алгоритмом “DIGEP-Pred: Prediction of drug-induced changes of gene expression profile”, однако он был добавлен в систему алгоритмом GeneMANIA. Гены *NUP155*, *DONSON*, *RM11* и *BLM* являются лидерами по количеству взаимосвязей в анализируемой сети, что создает необходимость их более детального рассмотрения.

Ген *NUP155* (Gene ID: 9631) кодирует белки нуклеопорины. Эти белки играют важную роль в сборке и функционировании комплекса ядерных пор, регулирующих движение макромолекул через ядерную оболочку. Нуклеопорины играют значимую роль в слиянии везикул ядерной оболочки и формировании ее двойной мембраны. В контексте настоящего исследования интересно отметить, что нуклеопорины каким-то образом вовлечены в физиологические процессы сердца и связаны с патогенезом мерцательной аритмии [97]. Если это так, то изменение активности гена *NUP155* под воздействием УДХК может оказывать влияние на сердечные ритмы пациентов. Такое предположение позволяет объяснить некоторые наблюдения из клинической практики. Например привлекает внимание описанный случай, при котором у пациента развилась мерцательная аритмия на фоне приема УДХК [98].

Ранее уже выдвигалась гипотеза о том, что высокие концентрации желчных кислот являются аритмогенными для миокарда взрослого человека и о том, что концентрации и состав желчных кислот

в сыворотке изменяются у пациентов с фибрилляцией. Однако дополнительные исследования показали, что выраженным аритмогенным эффектом обладает таурохолевая кислота, в то время как УДХК такого эффекта не демонстрирует. Было показано, что у взрослых пациентов с фибрилляцией предсердия значительно снижались сывороточные уровни конъюгатов урсодезоксихолевой кислоты и повышались уровни неурсодезоксихолевых желчных кислот. На основе полученных данных авторами исследования было выдвинуто заключение о том, что более высокие уровни токсических (аритмогенных) и низкие уровни защитных желчных кислот создают среду с пониженным аритмическим порогом и, таким образом, могут способствовать аритмическим событиям [99].

Ген *RM11* является компонентом белковых комплексов, которые ограничивают образование структур Холлидея. Способность белка *RM11* оказывать какое-то влияние на процессы, связанные со структурой Холлидея интересна в контексте того, что белок Holliday junction recognition protein (ген *HJURP*) широко представлен в различных процессах канцерогенеза, включая гепатоцеллюлярную карциному [100]. Проведенная в 2019 г. работа показала, что белок *HJURP* коррелирует с пролиферацией гепатоцеллюлярной карциномой, однако роль *HJURP* в этом процессе остается неясной. Было показано, что нокдаун *HJURP* значительно снижал способность клеток гепатоцеллюлярной карциномы к миграции и инвазии как *in vivo*, так и *in vitro*. С другой стороны было показано, что избыточная экспрессия *HJURP* усиливала эти биологические способности. Кроме того, высокая экспрессия *HJURP* является маркером, который связан с негативным прогнозом для пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой. Также было показано, что *HJURP* играет важную роль в метастазировании опухолей.

Данная информация позволяет построить предположения относительно наблюдаемых канцерогенных эффектов УДХК. Известно, что применение УДХК для лечения пациентов с первичным билиарным циррозом, приводит к повышению частоты случаев формирования гепатоцеллюлярной карциномы. В группу риска, при этом попадают пациенты, у которых не происходило улучшения в течение десяти лет лечения (отсутствие нормализации сывороточного билирубина и альбумина через год после начала приема УДХК или отклонение содержания билирубина от нормы за этот же период): через десять лет формирование гепатоцеллюлярной карциномы происходило у 9%, а через 16 лет — у 20% пациентов [101]. В рамках нашего исследования наблюдаемые процессы можно объяснить репрессией гена *RM11* (что было спрогнозировано *in silico*), что в свою очередь может вызывать повышение экспрессии гена *HJURP* и являться

одним из факторов дальнейшего формирования гепатоцеллюлярной карциномы.

Помимо гепатоцеллюлярной карциномы, применение УДХК при лечении первичного склерозирующего холангита вызывает повышение частоты случаев формирования колоректальной карциномы в первые шесть лет с последующим спадом [102]. В механизме процесса формирования этого заболевания также участвует белок HJURP [103], что также позволяет выдвинуть предположение об участии в данном процессе репрессированного гена *RMII*.

Ген *BLM* кодирует белок, относящийся к большому семейству RecQ ДНК-геликаз. Белки этого типа участвуют в процессах репарации и рекомбинации ДНК. К настоящему моменту у человека насчитывается не менее пяти RecQ генов: *RecQ1*, *BLM*, *WRN*, *RecQ4* и *RecQ5*. Мутации в *BLM*, *WRN* и *RecQ4* ассоциированы с синдромами Блума, Вернера и Ротмунда—Томсона соответственно, включая предрасположенность к злокачественным новообразованиям и клеточный фенотип, который включает повышенную нестабильность хромосом [104]. Представители данного семейства генов экспрессируются практически во всех тканях, однако наиболее выражено — в семенниках. Глубокие системные изменения организма, которые происходят при мутации в данных генах, могут свидетельствовать о том, что функции этих генов иерархически значимы в контексте общей сети, а последующее включение представителя данного семейства в анализируемую выборку может указывать на то, что гены, полученные посредством прогностического алгоритма, занимают более низкую иерархическую ступень.

Ген *DONSON* кодирует белок, который входит в состав реплисомы и стабилизирует процесс во время репликации. Наиболее выражено данный ген экспрессируется в семенниках, а его мутация приводит к тяжелым формам микроцефалии-микромелии [105]. В рамках анализируемой модели обращает на себя внимание тот факт, что гены *DONSON*, *RMII* и *BLM* тем или иным способом включены в процесс репликации и репарации ДНК. Это в свою очередь позволяет выдвинуть предположение о том, что прием УДХК каким-то образом может влиять на данный процесс. Такое предположение частично согласуется с экспериментальными наблюдениями, согласно которым УДХК демонстрирует генотоксическую дозозависимую активность (при измерении через продукцию микроядер) и оказывает анеугенный эффект. Производство микроядер в лимфоцитах периферической крови является биомаркером хромосомного повреждения для исследований генотоксичности [106]. Ранее нами уже было упомянуто репрессорирующее действие УДХК на восстановление ДНК [46, 47].

Одним из генов, полученных в результате прогноза и чья активность локализована в семенниках, является *SBX2*. Ранее было показано, что белок данного гена взаимодействует с определяющим фактором яичка, кодируемым геном *SRY* в Y-хромосоме. Оба этих белка являются необходимыми компонентами мужского каскада [107].

В коре головного мозга локализована вторая по нагруженности выборка генов. Лидером по количеству взаимосвязей в данной группе является ген *DHCR7* (Gene ID: 1717). Данный ген кодирует фермент, который удаляет двойную С-связь (7–8) в кольце В-стерина и катализирует превращение 7-дегидрохолестерина в холестерин. Этот ген экспрессируется повсеместно, а его трансмембранный белок локализуется на мембране эндоплазматического ретикулума и внешней мембране ядра. Мутации в этом гене вызывают синдром Смита—Лемли—Опитца. Альтернативный сплайсинг данного гена приводит к множественным вариантам транскриптов, которые кодируют один и тот же белок. Изменение активности данного гена при воздействии УДХК изначально не прогнозировалось, однако он является ядром для первичной выборки генов согласно алгоритмам GeneMANIA.

Вторым значимым по количеству взаимосвязей геном в данной выборке является *FDFT1* (Gene ID: 2222). Изменение активности данного гена также не прогнозировалось. Этот ген кодирует белок, который является первым специфическим ферментом в биосинтезе холестерина, катализирующим димеризацию двух молекул фарнезилдифосфата в двухстадийной реакции с образованием сквалена.

Третьим по значимости геном является ген *LSS* (Gene ID: 4047), который кодирует белок, катализирующий превращение (S)-2,3-оксидосквалена в ланостерол. Кодируемый белок является членом семейства терпенциклазы/мутазы и катализирует первый этап биосинтеза холестерина, стероидных гормонов и витамина D. Обращает на себя внимание то, что все три перечисленных гена каким-либо образом регулируют процессы синтеза и метаболизма холестерина, который является основным липидным компонентом мозга [108, 109]. УДХК способна проникать через гематоэнцефалический барьер [17], что позволяет предположить о ее способности оказывать воздействия на процессы холестеринового обмена в тканях мозга.

Способность УДХК оказывать влияние на холестериновый обмен теоретически может приводить к формированию разнообразных эффектов, так как холестерин способен непосредственно влиять на биофизические свойства мембран, а также прямо взаимодействовать с белками, регулирующими экзо- и эндоцитоз в пресинаптических процессах, обеспечивающих высвобождение ней-

ромедиаторов [108]. Снижение уровня холестерина может влиять на сигнализацию зависимую от многих рецепторов. Например у мутантных мышей с синдромом Смита—Лемли—Опица нарушен ответ NMDA-рецепторов на глутамат [110]. При данном синдроме происходит гиперфосфорилирование кофилина-1, который утрачивает способность разрушать актиновые филаменты. Стабилизация цитоскелета может опосредованно воздействовать на процессы экзо- и эндоцитоза, трафик синаптических везикул/рецепторов. Все это может приводить к нарушению высвобождения различных нейромедиаторов (серотонина, дофамина) и развитию неврологических симптомов [111].

Влияние УДХК на процессы в мозге исследовано слабо. Выше уже упоминалось, что УДХК способна оказывать негативное воздействие на клетки микроглии [12–14]. Также отмечались нейропротекторные эффекты применения УДХК [112, 113]. В 2002 г. было показано, что УДХК каким-то образом способно предотвращать дегенерацию нейронов в рамках мышинной модели болезни Хаттингтона [114]. В 2012 г. на мышинной модели было показано, что УДХК способно увеличить период бодрствования у мышей дикого типа в сравнении с мышами, испытывающими дефицит гистамина [115]. Основываясь на анализе полученных данных, было выдвинуто предположение о том, что УДХК влияет на активность гистаминергических нейронов. В этом же эксперименте было показано, что УДХК не повышает активность нейронов гипоталамуса. Также было показано, что УДХК способна снижать амплитуду и продолжительность возбуждающих и тормозных постсинаптических потенциалов.

Можно предположить, что наблюдаемые эффекты воздействия УДХК могут происходить в контексте данных о нейроактивных стероидах, которые синтезируются *de novo* из холестерина [116]. Если допустить, что УДХК, меняя активность целой группы генов, связанных с синтезом и обменом холестерина, способна действительно влиять на уровень этого вещества, то такое воздействие должно изменять профиль нейроактивных стероидов, что в свою очередь может вызывать наблюдаемые эффекты.

Стимулировать образование холестерина нейронами может нейротрофический фактор мозга BDNF (Gene ID: 627) [117]. Увеличение или снижение экспрессии *ABCA1* (Gene ID: 19) в нейронах усиливает или снижает выведение холестерина из мозга соответственно [118]. Часть генов, отобранных в рамках машинного прогноза (*BMPRII*, *EPB41L3*, *SQLE*, *PLXNA2*, *PDZD2*, *PLLP*, *NUDT11*), демонстрируют наличие взаимосвязи с генами *BDNF* и *ABCA1*. Нагруженность системы в данном случае составляет 79,9, что косвенно может свиде-

тельствовать в пользу предположения о влиянии УДХК на синтез холестерина нейронами.

Интересно упомянуть, что в выборку прогнозируемых генов, изменяющих активность в коре головного мозга при воздействии УДХК, попал такой ген как *PLXNA2*, хотя в рамках анализируемой системы он показывает низкую степень вовлеченности (всего было выявлено две взаимосвязи с другими представителями группы). Тем не менее данный ген чрезвычайно важен для нейрогенеза [119]. В некоторых работах активность данного гена рассматривают как один из факторов развития шизофрении [120], и отмечается ассоциация полиморфизма *PLXNA2* с проявлением тревоги как у мышей так и у людей [121].

Анализ прогнозируемого изменения генетического профиля при воздействии УДХК в таких органах как плацента и паращитовидные железы чрезвычайно затруднен, так как представленные гены в них не демонстрируют каких-либо явных взаимосвязей, т.е., вероятно, не организуются в единые сети. Также процесс анализа осложняется тем, что относительно мало известно о функциональной нагрузке попавших в выборку генов.

Механизмы влияния УДХК на плаценту являются очень актуальной проблемой, так как при беременности сравнительно часто наблюдается развитие такого характерного заболевания как внутрипеченочный холестаз [122], при котором происходит перенос материнских желчных кислот плоду, что грозит целым рядом серьезных осложнений и повышает частоту внезапной его смерти. Общепринятой практикой лечения при данном заболевании является применение УДХК, однако механизмы ее действия в данном контексте неясны и остается вопрос о целесообразности такого подхода. В 2019 г. было проведено исследование, направленное на поиск и выяснение механизмов переноса и воздействия УДХК на плаценту человека [123]. Примененная экспериментальная модель предполагала использование человеческой плаценты, а в роли материнских желчных кислот выступало такое соединение как таурохолат желчной кислоты. Перенос данного соединения через плаценту осуществляется при участии такого белка как анион-транспортирующий полипептид 4A1. Исследование показало, что УДХК выступает в роли конкурентного ингибитора данного полипептида. Это наблюдение позволило исследователям выдвинуть предположение о том, что терапевтическое действие УДХК при внутрипеченочном холестазе беременных основано именно на ингибировании переноса материнских желчных кислот через плаценту, однако вопрос о механизме переноса самой УДХК через плаценту остается открытым и исследователи предположили, что есть какие-то иные механизмы, чем те, ко-

торые основаны на полипептиде 4A1, транспортирующего органические анионы.

В работе [123] был проведен протеомный анализ и построен белковый профиль в плаценте, которая находится под воздействием таурохолата желчной кислоты, что позволяет провести сравнение с тем прогнозируемым профилем генов, которые были получены в рамках нашей работы. Там же [123] представлены данные о белках трех групп: белки реакции клетки на окислительный стресс — HTRA2, VKORC1L1, STAU1, NME2, SIRT2, PRKRA, G6PD, белки клеточной смерти — GAPDH, ATP6V0D1, ATP6V1A, GBA, CDK5, SH3GLB1, ATP6V1H, CAPN1, TBC1D5, ATG7, SH3GLB1, MTDH, TPCN1, FAP, SIRT2, DLC1, белки везикулярного транспорта — ACTR1A, PICALM, CPNE1, YKT6, STX16, RTN3, AP2A2, GOLGA4, VAMP3, CPNE3, MON1B, AP1M2. Анализ генных взаимодействий приведенных в статье показывает наличие большого количества взаимосвязей разной природы: на 35 генов — 233 взаимосвязи. Нагруженность сети в данном случае составляет 6.657. Добавление в выборку шести генов, полученных в результате прогноза, увеличило количество взаимосвязей до 269. Нагруженность сети в этом случае составила 6.56. Данный показатель практически не изменился и даже незначительно уменьшился, что может свидетельствовать о низком вовлечении предсказанных генов в генную сеть, выявленную в процессе протеомного анализа [123].

Результат изолированного анализа взаимодействий между прогнозируемыми генами, активность которых локализована в плаценте, уже упоминался ранее. Нагруженность сети в данном варианте равна 0.666, что позволяет сделать заключение о случайности данной выборки, так как часть генов не демонстрирует каких-либо взаимосвязей с другими представителями группы.

Первоначальная выборка генов, изменение активности которых было спрогнозировано при воздействии УДХК и локализацией в параситовидной железе, состояла из следующих членов: *C8ORF4*, *ERMP1*, *ZYX*, *RNASEL*, *PPFIBP2*, *PPP1CB*. Алгоритмы поиска генного взаимодействия GeneMANIA не показали наличие каких-либо значимых контактов в данной изолированной выборке и нагруженность ее сети смогла вырасти только после введения дополнительных компонентов: генов *CERS6*, *CNTF*, *MAST4*, *MTM1*, *SP4*. Такое наблюдение может свидетельствовать о случайности построения первоначальной выборки, что затрудняет какую-либо трактовку полученных данных.

Вопрос о воздействии УДХК на параситовидные железы в настоящее время слабо изучен. Хорошо известно, что параситовидные железы регулируют обмен кальция и в этом контексте интересно, что у пациентов с хроническим заболеванием

печени наблюдается прогрессирующая дегенерация костной ткани [124]. Можно предположить, что применение УДХК каким-либо образом должно оказывать воздействие на параситовидные железы, но так как специализированных исследований на эту тему мы не нашли, можно сделать вывод о том, что данное воздействие незначительное и не приводит к развитию патологических состояний. В 2002 г. было проведено исследование, которое показало, что УДХК способна усиливать поглощение кальция [125] при первичном билиарном циррозе. В данном исследовании было также показано, что применение УДХК не вызывает изменений в уровне гормона параситовидной железы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трактовка любого прогноза чрезвычайно трудна, так как его реализация зависит от большого количества переменных. Полученный нами *in silico* прогноз изменения активности генов при воздействии УДХК не позволяет предположить тот фон (например, концентрация УДХК, длительность применения, пол пациента и т.д.), в контексте которого прогнозируемые процессы будут наблюдаться, что в свою очередь не дает возможность для экспериментальной проверки.

В процессе анализа результатов прогноза *in silico* обращает на себя внимание то, что в массиве полученных генов большое количество таких, чья активность является прогностическим маркером при диагностике различных онкопроцессов: из 81-го отобранного гена — 45 являются прогностическими маркерами. Это наблюдение можно объяснить спецификой баз данных, которые уделяют прогностическим маркерам большее внимание, однако из этого следует, что прием УДХК может либо маскировать, либо, наоборот, — создавать ложный положительный фон, который как в первом, так и во втором случае может затруднять основанную на анализе онкомаркеров диагностику. К сожалению, к настоящему моменту не удалось обнаружить исследований о влиянии приема УДХК на эффективность диагностики, что не позволяет ни подтвердить, ни опровергнуть выдвинутое предположение.

В заключение хотелось бы отметить, что исследование биологической активности веществ является частным случаем исследования влияния факторов внешней среды на фенотип организма. Под фенотипом в данном случае подразумевается весь комплекс характеристик организма, которые непосредственно не относятся к генотипу. Исследования биологической активности веществ в таком контексте представляется чрезвычайно интересными, так как вопрос о реализации генотипа в фенотип является одним из основных в современной биологии и воздействие какого-либо вещества в данном случае будет острым экспери-

ментом, позволяющим вскрыть некоторые механизмы генетического регулирования фенотипического ответа.

Однако основной проблемой в данной области исследований является то, что методика описания структуры фенотипа, которая по своей информативности могла бы быть сравнима с данными, получаемыми при анализе генома, еще не разработана. Легкость описания и анализа фенотипа — это иллюзия. При внимательном рассмотрении данная проблема может стать одной из наиболее технически сложных в современной биологии. В настоящее время методы анализа и описания фенотипа базируются на статистически вычленимых признаках [126, 127]. Такой подход достаточно информативен при решении некоторых прикладных задач, однако он слабо подходит при исследовании взаимосвязей фенотип–генотип, так как в большинстве случаев описываемые признаки являются продуктом большого числа взаимодействующих событий и проследить непосредственное влияние на их формирование генотипа не удастся. При описании фенотипа многоклеточного организма необходимо учитывать, что он состоит из огромного числа фенотипически различных клеток, каждая из которых имеет одинаковый геном (за редким исключением), но при этом они могут фенотипически отличаться друг от друга даже в рамках гомогенной выборки. Фенотип эпигенетически способен влиять на генотип, что еще более усложняет ситуацию.

В настоящее время технология анализа соотношения генотипа и фенотипа находится в той же стадии, что и первые опыты с фотографией: результаты выглядят туманно и оставляют широкое поле для толкований и спекуляций. Это стадия известной работы фотографа Жозефа Нисефора Ньепса “Вид из окна в Ле Гра”. В рамках данного образа существующие технологии объективного анализа генома являются только первой линзой в объективе неизвестного ранее прибора, а второй линзой, которая может значительно улучшить изображение, должна стать технология объективного описания фенотипа.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=31401. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/31401> (accessed Nov. 15, 2018).

2. Минушкин О.Н. Урсодезоксихолевая кислота (УДХК) в клинической практике // Мед. совет. 2010. № 1–2. С. 10–11.
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=10133. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10133> (accessed Nov. 15, 2018).
4. Hofmann A.F. Pharmacology of ursodeoxycholic acid, an enterohepatic drug // Scand. J. Gastroenterology. 1994. V. 29. № 204. P. 1–15. <https://doi.org/10.3109/00365529409103618>
5. Poupon R.E., Poupon R., Balkau B. et al. Ursodiol for the long-term treatment of primary biliary cirrhosis // New Engl. J. Med. 1994. V. 330. № 19. P. 1342–1347. <https://doi.org/10.1056/NEJM199405123301903>
6. Schiedermaier P., Hansen S., Asdonk D. et al. Effects of ursodeoxycholic acid on splanchnic and systemic hemodynamics // Digestion. 2000. V. 61. № 2. P. 107–112. <https://doi.org/10.1159/000007742>
7. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=9903. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9903> (accessed Nov. 15, 2018).
8. Sinakos E., Marschall H.-U., Kowdley K.V. et al. Bile acid changes after high-dose ursodeoxycholic acid treatment in primary sclerosing cholangitis: Relation to disease progression // Hepatology. 2010. V. 52. № 1. P. 197–203. <https://doi.org/10.1002/hep.23631>
9. Hofmann A.F. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease // Arch. Internal Med. 1999. V. 159. № 22. P. 2647–2658. <https://doi.org/10.1001/archinte.159.22.2647>
10. Kowdley K.V. Ursodeoxycholic acid therapy in hepatobiliary disease // Am. J. Med. 2000. V. 108. № 6. P. 481–486. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(00\)00318-1](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(00)00318-1)
11. Kotb M.A. Ursodeoxycholic acid in neonatal hepatitis and infantile paucity of intrahepatic bile ducts: Review of a historical cohort // Digestive Diseases Scie. 2009. V. 54. № 10. P. 2231. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0600-8>
12. Joo S.S., Kang H.C., Won T.J., Lee D.I. Ursodeoxycholic acid inhibits pro-inflammatory repertoires, IL-1 β and nitric oxide in rat microglia // Arch. Pharm. Res. 2003. V. 26. № 12. P. 1067–1073. <https://doi.org/10.1007/bf02994760>
13. Joo S.S., Won T.J., Hwang K.W., Lee D.I. Inhibition of iNOS expression via Ursodeoxycholic acid in murine microglial cell, BV-2 Cell Line // Immune Network. 2005. V. 5. № 1. P. 45–49. <https://doi.org/10.4110/in.2005.5.1.45>
14. Joo S.S., Won T.J., Lee D.I. Potential role of ursodeoxycholic acid in suppression of nuclear factor kappa B in microglial cell line (BV-2) // Arch. Pharm. Res. 2004. V. 27. № 9. P. 954. <https://doi.org/10.1007/bf02975850>

15. Biber K., Möller T., Boddeke E., Prinz M. Central nervous system myeloid cells as drug targets: Current status and translational challenges // *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2016. V. 15. № 2. P. 110. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.14>
16. Wee Yong V. Inflammation in neurological disorders: A help or a hindrance? // *The Neuroscientist*. 2010. V. 16. № 4. P. 408–420. <https://doi.org/10.1177/1073858410371379>
17. Gareth P.J., Cecilia R., Marcia A.M. et al. Safety, tolerability, and cerebrospinal fluid penetration of ursodeoxycholic acid in patients with amyotrophic lateral sclerosis // *Clin. Neuropharmacol.* 2010. V. 33. № 1. P. 17–21. <https://doi.org/10.1097/WNF.0b013e3181c47569>
18. Ramalho R.M., Viana R.J.S., Low W.C. et al. Bile acids and apoptosis modulation: An emerging role in experimental Alzheimer's disease // *Trends Mol. Med.* 2008. V. 14. № 2. P. 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.12.001>
19. Calmus Y., Gane P., Rouger Ph., Poupon R. Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: Effect of ursodeoxycholic acid // *Hepatology*. 1990. V. 11. № 1. P. 12–15. <https://doi.org/10.1002/hep.1840110104>
20. Yoshikawa M., Tsujii T., Matsumura K. et al. Immunomodulatory effects of ursodeoxycholic acid on immune responses // *Hepatology*. 1992. V. 16. № 2. P. 358–364. <https://doi.org/10.1002/hep.1840160213>
21. Quist R.G., Ton-Nu H.-T., Lillienau J. et al. Activation of mast cells by bile acids // *Gastroenterology*. 1991. V. 101. № 2. P. 446–456. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(91\)90024-f](https://doi.org/10.1016/0016-5085(91)90024-f)
22. Solá S., Amaral J.D., Aranha M.M. et al. Modulation of hepatocyte apoptosis: cross-talk between bile acids and nuclear steroid receptors // *Curr. Med. Chem.* 2006. V. 13. № 25. P. 3039–3051. <https://doi.org/10.2174/092986706778521823>
23. Solá S., Amaral J.D., Castro R.E. et al. Nuclear translocation of UDCA by the glucocorticoid receptor is required to reduce TGF β 1-induced apoptosis in rat hepatocytes // *Hepatology*. 2005. V. 42. № 4. P. 925–934. <https://doi.org/10.1002/hep.20870>
24. Weitzel C., Stark D., Kullmann F. et al. Ursodeoxycholic acid induced activation of the glucocorticoid receptor in primary rat hepatocytes // *Europ. J. Gastroenter. & Hepatology*. 2005. V. 17. № 2. P. 169–177. <https://doi.org/10.1097/00042737-200502000-00007>
25. Amaral D., Sola S., Steer C. et al. Role of nuclear steroid receptors in apoptosis // *Curr. Med. Chem.* 2009. V. 16. № 29. P. 3886–3902. <https://doi.org/10.2174/092986709789178028>
26. Solá S., Ma X., Rui E. et al. Ursodeoxycholic acid modulates E2F-1 and p53 expression through a caspase-independent mechanism in transforming growth factor β 1-induced apoptosis of rat hepatocytes // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. № 49. P. 48831–48838. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300468200>
27. Jacquemin E., Hermans D., Myara A. et al. Ursodeoxycholic acid therapy in pediatric patients with progressive familial intrahepatic cholestasis // *Hepatology*. 1997. V. 25. № 3. P. 519–523. <https://doi.org/10.1002/hep.510250303>
28. Albeni B.C., Mattson M.P. Evidence for the involvement of TNF and NF κ B in hippocampal synaptic plasticity // *Synapse*. 2000. V. 35. № 2. P. 151–159. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(200002\)35:2<151::AID-SYN8>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(200002)35:2<151::AID-SYN8>3.0.CO;2-P)
29. Gilmore T.D. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives // *Oncogene*. 2006. V. 25. № 51. P. 6680. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209954>
30. Perkins N.D. Integrating cell-signalling pathways with NF- κ B and IKK function // *Nat. Reviews Mol. Cell Biology*. 2007. V. 8. № 1. P. 49. <https://doi.org/10.1038/nrm2083>
31. Miura T., Ouchida R., Yoshikawa N. et al. Functional modulation of the glucocorticoid receptor and suppression of NF- κ B-dependent transcription by ursodeoxycholic acid // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 50. P. 47371–47378. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107098200>
32. Schuster A., Schilling T., Laurenzi V. et al. Δ Np73 β is oncogenic in hepatocellular carcinoma by blocking apoptosis signaling via death receptors and mitochondria // *Cell Cycle*. 2010. V. 9. № 13. P. 2629–2639. <https://doi.org/10.4161/cc.9.13.12110>
33. Masferrer J.L., Seibert K. Regulation of prostaglandin synthesis by glucocorticoids // *Receptor*. 1994. V. 4. № 1. P. 25–30.
34. Goppelt-Strube M. Molecular mechanisms involved in the regulation of prostaglandin biosynthesis by glucocorticoids // *Biochem. Pharm.* 1997. V. 53. № 10. P. 1389–1395. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002058>
35. Ikegami T., Matsuzaki Y., Fukushima S. et al. Suppressive effect of ursodeoxycholic acid on type IIA phospholipase A2 expression in HepG2 cells // *Hepatology*. 2005. V. 41. № 4. P. 896–905. <https://doi.org/10.1002/hep.20630>
36. Mitsuyoshi H., Nakashima T., Inaba K. et al. Ursodeoxycholic acid enhances glucocorticoid-induced tyrosine aminotransferase-gene expression in cultured rat hepatocytes // *Bioch. and Biophys. Res. Commun.* 1997. V. 240. № 3. P. 732–736. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7733>
37. Luisi B.F., Xu W.X., Otwinowski Z. et al. Crystallographic analysis of the interaction of the glucocorticoid receptor with DNA // *Nat.* 1991. V. 352. № 6335. P. 497. <https://doi.org/10.1038/352497a0>
38. Savory J.G.A., Préfontaine G.G., Lamprecht C. et al. Glucocorticoid receptor homodimers and glucocorticoid-mineralocorticoid receptor heterodimers form in

- the cytoplasm through alternative dimerization interfaces // *Mol. and Cell. Biol.* 2001. V. 21. № 3. P. 781–793.
<https://doi.org/10.1128/MCB.21.3.781-793.2001>
39. Solá S., Castro R.E., Kren B.T. *et al.* Modulation of nuclear steroid receptors by ursodeoxycholic acid inhibits TGF- β 1-induced E2F-1/p53-mediated apoptosis of rat hepatocytes // *Biochemistry.* 2004. V. 43. № 26. P. 8429–8438.
<https://doi.org/10.1021/bi049781x>
 40. Shi Q.Y., Kong B.H., Ma K.D. *et al.* Effects of ursodeoxycholic acid on the liver plasma membrane fluidity, hepatic glutathione concentration, hepatic estrogen receptors and progesterone receptors in pregnant rats with ethinylestradiol and progesterone induced intrahepatic cholestasis // *Zhonghua fu Chan Ke Za Zhi.* 2003. V. 38. № 11. P. 680–682.
 41. Rodrigues C.M.P., Ma X., Linehan-Stieers C. *et al.* Ursodeoxycholic acid prevents cytochrome c release in apoptosis by inhibiting mitochondrial membrane depolarization and channel formation // *Cell Death and Diff.* 1999. V. 6. № 9. P. 842.
<https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400560>
 42. Nishigaki Y., Ohnishi H., Moriwak H., Muto Y. Ursodeoxycholic acid corrects defective natural killer activity by inhibiting prostaglandin E₂ production in primary biliary cirrhosis // *Digestive Dis. and Sci.* 1996. V. 41. № 7. P. 1487–1493.
<https://doi.org/10.1007/BF02088577>
 43. Guarino M.P.L., Carotti S., Morini S. *et al.* Decreased number of activated macrophages in gallbladder muscle layer of cholesterol gallstone patients following ursodeoxycholic acid // *Gut.* 2008. V. 57. № 12. P. 1740–1741.
<https://doi.org/10.1136/gut.2008.160333>
 44. Bachrach W.H., Hofmann A.F. Ursodeoxycholic acid in the treatment of cholesterol cholelithiasis // *Digestive Dis. and Sci.* 1982. V. 27. № 8. P. 737–761.
<https://doi.org/10.1007/BF01393771>
 45. Zollner G., Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases // *British J. Pharmacol.* 2009. V. 156. № 1. P. 7–27.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2008.00030.x>
 46. Rodrigues C.M.P., Fan G., Wong P.Y. *et al.* Ursodeoxycholic acid may inhibit deoxycholic acid-induced apoptosis by modulating mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen species production // *Mol. Med.* 1998. V. 4. № 3. P. 165–178.
 47. Koh H., Lee K.H., Kim D. *et al.* Inhibition of Akt and its anti-apoptotic activities by tumor necrosis factor-induced protein kinase C-related kinase 2 (PRK2) cleavage // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 44. P. 34451–34458.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M001753200>
 48. Amaral J.D., Castro R.E., Solá S. *et al.* p53 is a key molecular target of ursodeoxycholic acid in regulating apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 47. P. 34250–34259.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M704075200>
 49. Amaral D.J., Xavier J.M., Clifford J.S. *et al.* Targeting the p53 pathway of apoptosis // *Curr. Pharmaceutical Design.* 2010. V. 16. № 22. P. 2493–2503.
<https://doi.org/10.2174/138161210791959818>
 50. Yu J., Zhang L. PUMA, a potent killer with or without p53 // *Oncogene.* 2009. V. 27. № S1. P. S71.
<https://doi.org/10.1038/onc.2009.45>
 51. Gudkov A.V., Komarova E.A. The role of p53 in determining sensitivity to radiotherapy // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. V. 3. № 2. P. 117.
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.03.005>
 52. Joerger A.C., Fersht A.R. Structural biology of the tumor suppressor p53 // *Annu. Rev. Biochem.* 2008. V. 77. P. 557–582.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.060806.091238>
 53. Park I.H., Kim M.K., Kim S.U. Ursodeoxycholic acid prevents apoptosis of mouse sensory neurons induced by cisplatin by reducing p53 accumulation // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 2008. V. 377. № 4. P. 1025–1030.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.06.014>
 54. Ji W.J., Qu Q., Jin Y. *et al.* Ursodeoxycholic acid inhibits hepatocyte-like cell apoptosis by down-regulating the expressions of Bax and Caspase-3 // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2009. V. 89. № 42. P. 2997–3001.
 55. Hess J., Angel P., Schorpp-Kistner M. AP-1 subunits: Quarrel and harmony among siblings // *J. Cell Sci.* 2004. V. 117. № 25. P. 5965–5973.
<https://doi.org/10.1242/jcs.01589>
 56. Im E., Martinez J.D. Ursodeoxycholic acid (UDCA) can inhibit deoxycholic acid (DCA)-induced apoptosis via modulation of EGFR/Raf-1/ERK signaling in human colon cancer cells // *The J. Nutrition.* 2004. V. 134. № 2. P. 483–486.
<https://doi.org/10.1093/jn/134.2.483>
 57. Burnat G., Majka J., Konturek P.C. Bile acids are multifunctional modulators of the Barrett's carcinogenesis // *J. Physiol. Pharmacol.* 2010. V. 61. № 2. P. 185.
 58. Martinez-Diez M.C., Serrano M.A., Monte M.J., Marin J.J.G. Comparison of the effects of bile acids on cell viability and DNA synthesis by rat hepatocytes in primary culture // *Biochim. et Biophys. Acta (BBA) – Mol. Basis of Disease.* 2000. V. 1500. № 2. P. 153–160.
[https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(99\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(99)00099-X)
 59. Ashley A.P., Akare S., Wenqing Qi. *et al.* Resistance to ursodeoxycholic acid-induced growth arrest can also result in resistance to deoxycholic acid-induced apoptosis and increased tumorigenicity // *BMC Cancer.* 2006. V. 6. № 1. P. 219.
<https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-219>
 60. Garewal H., Bernstein H., Bernstein C. *et al.* Reduced bile acid-induced apoptosis in “normal” colorectal mucosa: A potential biological marker for cancer risk // *Cancer Res.* 1996. V. 56. № 7. P. 1480–1483. Published April 1996.

61. *Castro R.E., Amaral J.D., Solá S. et al.* Differential regulation of cyclin D1 and cell death by bile acids in primary rat hepatocytes // *Am. J. Physiol.-Gastrointestinal and Liver Physiol.* 2007. V. 293. № 1. P. G327–G334.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00093.2007>
62. *He Y., Liu Z., Qiao C. et al.* Expression and significance of Wnt signaling components and their target genes in breast carcinoma // *Mol. Med. Reports.* 2014. V. 9. № 1. P. 137–143.
<https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1774>
63. *Засадевич Ю.М., Сазонов С.В.* Роль молекулы клеточной адгезии Е-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии // *Морфология.* 2014. Т. 146. № 5. С. 78–82.
64. *Akare S., Jean-Louis S., Chen W. et al.* Ursodeoxycholic acid modulates histone acetylation and induces differentiation and senescence // *Inter. J. Cancer.* 2006. V. 119. № 12. P. 2958–2969.
<https://doi.org/10.1002/ijc.22231>
65. *Huang J., Plass C., Gerhauser C.* Cancer chemoprevention by targeting the epigenome // *Curr. Drug Targets.* 2011. V. 12. № 13. P. 1925–1956.
<https://doi.org/10.2174/138945011798184155>
66. *Oike T., Ogiwara H., Torikai K. et al.* Garcinol, a histone acetyltransferase inhibitor, radiosensitizes cancer cells by inhibiting non-homologous end joining // *Inter. J. Radiation Oncol., Biol., Physics.* 2012. V. 84. № 3. P. 815–821.
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2012.01.017>
67. *Paumgartner G., Beuers U.* Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited // *Hepatology.* 2002. V. 36. № 3. P. 525–531.
<https://doi.org/10.1053/jhep.2002.36088>
68. *Lazaridis K.N., Gores G.J., Lindor K.D.* Ursodeoxycholic acid ‘mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders’ // *J. Hepatol.* 2001. V. 35. № 1. P. 134–146.
[https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(01\)00092-7](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(01)00092-7)
69. *Rodrigues C.M., Fan G., Ma X. et al.* A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation // *The J. Clin. Investigation.* 1998. V. 101. № 12. P. 2790–2799.
<https://doi.org/10.1172/JCI1325>
70. *Abate N., Carubbi F., Bozzoli M. et al.* Effect of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid administration on acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activity in human liver // *The Italian J. Gastroenterology.* 1994. V. 26. № 6. P. 287–293.
71. *Smith L.L.* Another cholesterol hypothesis: cholesterol as antioxidant // *Free Radical Biol. and Med.* 1991. V. 11. № 1. P. 47–61.
[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90187-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90187-8)
72. *DuSell C.D., Nelson E.R., Wang X. et al.* The endogenous selective estrogen receptor modulator 27-hydroxycholesterol is a negative regulator of bone homeostasis // *Endocrinology.* 2010. V. 151. № 8. P. 3675–3685.
<https://doi.org/10.1210/en.2010-0080>
73. *Galluzzi L., Morselli E., Kepp O. et al.* Mitochondrial gateways to cancer // *Mol. Aspects Med.* 2010. V. 31. № 1. P. 1–20.
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2009.08.002>
74. *Bouscarel B., Gettys T.W., Fromm H., Dubner H.* Ursodeoxycholic acid inhibits glucagon-induced cAMP formation in hamster hepatocytes: a role for PKC // *Am. J. Physiol.-Gastrointestinal and Liver Physiol.* 1995. V. 268. № 2. P. G300–G310.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1995.268.2.G300>
75. *Bouscarel B., Matsuzaki Y., Le M. et al.* Changes in G protein expression account for impaired modulation of hepatic cAMP formation after BDL // *Am. J. Physiol.-Gastrointestinal and Liver Physiol.* 1998. V. 274. № 6. P. G1151–G1159.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.1998.274.6.G1151>
76. *Peterson T.C., Slys G., Isbrucker R.* The inhibitory effect of ursodeoxycholic acid and pentoxifylline on platelet derived growth factor-stimulated proliferation is distinct from an effect by cyclic AMP // *Immunopharmacology.* 1998. V. 39. № 3. P. 181–191.
[https://doi.org/10.1016/s0162-3109\(98\)00021-6](https://doi.org/10.1016/s0162-3109(98)00021-6)
77. *Higuchi H., Grambihler A., Canbay A. et al.* Bile acids up-regulate death receptor 5/TRAIL-receptor 2 expression via a c-Jun N-terminal kinase-dependent pathway involving Sp1 // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 1. P. 51–60.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M309476200>
78. *Andersson Y., Juell S., Fodstad O.* Downregulation of the antiapoptotic MCL-1 protein and apoptosis in MA-11 breast cancer cells induced by an anti-epidermal growth factor receptor–*Pseudomonas* exotoxin a immunotoxin // *Inter. J. Cancer.* 2004. V. 112. № 3. P. 475–483.
<https://doi.org/10.1002/ijc.20371>
79. *Rolo A.P., Palmeira C.M., Holy J.M., Wallace K.B.* Role of mitochondrial dysfunction in combined bile acid-induced cytotoxicity: The switch between apoptosis and necrosis // *Toxicol. Sci.* 2004. V. 79. № 1. P. 196–204.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh078>
80. *Paolini M., Pozzetti L., Montagnani M. et al.* Ursodeoxycholic acid (UDCA) prevents DCA effects on male mouse liver via up-regulation of CYP and preservation of BSEP activities // *Hepatology.* 2002. V. 36. № 2. P. 305–314.
<https://doi.org/10.1053/jhep.2002.34939>
81. *Pemberton P.W., Aboutwerat A., Smith A., Warnes T.W.* Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis improves glutathione status but fails to reduce lipid peroxidation // *Redox Report.* 2006. V. 11. № 3. P. 117–123.
<https://doi.org/10.1179/135100006X116600>
82. *Zollner G., Wagner M., Moustafa T. et al.* Coordinated induction of bile acid detoxification and alternative

- elimination in mice: role of FXR-regulated organic solute transporter- α/β in the adaptive response to bile acids // *Am. J. Physiol.-Gastrointestinal and Liver Physiol.* 2006. V. 290. № 5. P. G923–G932. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00490.2005>
83. Поройков В.В., Филимонов Д.А. Компьютерный прогноз биологической активности химических соединений как основа для поиска и оптимизации базовых структур новых лекарств. М.: Иридиум-пресс, 2001. С. 123–125.
 84. Lagunin A., Ivanov S., Rudik A. et al. DIGEP-Pred: web service for in silico prediction of drug-induced gene expression profiles based on structural formula // *Bioinformatics.* 2013. V. 29. № 16. P. 2062–2063. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTT322>
 85. Warde-Farley D., Donaldson S.L., Comes O. et al. The GeneMANIA prediction server: Biological network integration for gene prioritization and predicting gene function // *Nucl. Ac. Res.* 2010. V. 38. № Suppl–2. P. W214–W220. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKQ537>
 86. Diss G., Lehner B. The genetic landscape of a physical interaction // *Elife.* 2018. V. 7. P. e32472. <https://doi.org/10.7554/eLife.32472>
 87. Boucher B., Jenna S. Genetic interaction networks: better understand to better predict // *Frontiers Genet.* 2013. V. 4. P. 290. <https://doi.org/10.3389/fgene.2013.00290>
 88. Uhlen M., Zhang C., Lee S. et al. A pathology atlas of the human cancer transcriptome // *Science.* 2017. V. 357. № 6352. P. eaan2507. <https://doi.org/10.1126/science.aan2507>
 89. Thul P.J., Åkesson L., Wiking M. et al. A subcellular map of the human proteome // *Science.* 2017. V. 356. № 6340. P. eaal3321. <https://doi.org/10.1126/science.aal3321>
 90. Uhlen M., Fagerberg L., Hallström B.M et al. Tissue-based map of the human proteome // *Science.* 2015. V. 347. № 6220. P. 1260419. <https://doi.org/10.1126/science.1260419>
 91. Zhang P., Cao H.Y., Bai L.L. et al. The high expression of TC1 (C8orf4) was correlated with the expression of β -catenin and cyclin D1 and the progression of squamous cell carcinomas of the tongue // *Tumor Biol.* 2015. V. 36. № 9. P. 7061–7067. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3423-1>
 92. Демиденко Г.В., Колчанов Н.А., Лихошвай В.А. и др. Математическое моделирование регулярных контуров генных сетей // *Журн. вычислительной математики и матем.э физики.* 2004. Т. 44. № 12. С. 2276–2295.
 93. Kolchanov N.A., Ananko E.A., Likhoshvai V.A. et al. Gene networks description and modeling in the GeneNet system // *Gene Regul. and Metabolism-Postgenomic Computational Approaches.* 2002. MIT Press. P. 149–179.
 94. Kwon Y.I., Yeon J.D., Oh S.M., Chung K.H. Protective effects of ursodeoxycholic acid against 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin-induced testicular damage in mice // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* 2004. V. 194. № 3. P. 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.09.024>
 95. Saad R.A., Mahmoud Y.I. Ursodeoxycholic acid alleviates cholestasis-induced histophysiological alterations in the male reproductive system of bile duct-ligated rats // *Reprod. Toxicol.* 2014. V. 50. P. 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.10.011>
 96. Mahmoud Y.I. Testicular immunohistochemical and Ultrastructural changes associated with chronic cholestasis in rats: Effect of ursodeoxycholic acid // *Life Scie.* 2015. V. 136. P. 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.05.027>
 97. Zhang X., Chen S., Yoo S. et al. Mutation in nuclear pore component NUP155 leads to atrial fibrillation and early sudden cardiac death // *Cell.* 2008. V. 135. №. 6. P. 1017–1027. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.10.022>
 98. Balagoni H., Devani K., Phemister J., Young M.F. Ursodiol-associated paroxysmal atrial fibrillation // *Am. J. Therapeutics.* 2017. V. 24. № 5. P. e612–e613. <https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000570>
 99. Rainer P.P., Primessnig U., Harenkamp S. et al. Bile acids induce arrhythmias in human atrial myocardium – implications for altered serum bile acid composition in patients with atrial fibrillation // *Heart.* 2013. V. 99. № 22. P. 1685–1692. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2013-304163>
 100. Chen T., Zhou L., Zhou Y. et al. HJURP promotes epithelial-to-mesenchymal transition via upregulating SPHK1 in hepatocellular carcinoma // *Inter. J. Biol. Scie.* 2019. V. 15. № 6. P. 1139. <https://doi.org/10.7150/ijbs.30904>
 101. Kuiper E.M.M., Hansen B.E., Adang R.P.R. et al. Relatively high risk for hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis not responding to ursodeoxycholic acid // *Europ. J. Gastroenter. & Hepatology.* 2010. V. 22. № 12. P. 1495–1502. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e32834059e7>
 102. Rudolph G., Gotthardt D.N., Kloeters-Plachky P. et al. In PSC with colitis treated with UDCA, most colonic carcinomas develop in the first years after the start of treatment // *Digestive Dis. and Sci.* 2011. V. 56. № 12. P. 3624–3630. <https://doi.org/10.1007/s10620-011-1763-2>
 103. Nye J., Sturgill D., Athwal R., Dalal Y. HJURP antagonizes CENP-A mislocalization driven by the H3. 3 chaperones HIRA and DAXX // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 10. P. e0205948. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205948>
 104. Shimamoto A., Nishikawa K., Kitao S., Furuichi Y. Human RecQ5 β , a large isomer of RecQ5 DNA helicase, localizes in the nucleoplasm and interacts with topoisomerases 3 α and 3 β // *Nucl. Ac. Res.* 2000. V. 28. № 7. P. 1647–1655. <https://doi.org/10.1093/nar/28.7.1647>

105. *Abdelrahman H.A., John A., Ali B.R., Al-Gazali L.* Further Delineation of the Microcephaly-Micromelia Syndrome Associated with Loss-of-Function Variants in DONSON // *Mol. Syndromology*. 2019. V. 10. № 3. P. 171–176.
<https://doi.org/10.1159/000497337>
106. *Fimognari C., Nüsse M., Cesari R. et al.* Micronuclei induction, cell cycle delay and apoptosis as markers of cellular stress caused by ursodeoxycholic acid in human lymphocytes // *Mutation Res./Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2001. V. 495. № 1–2. P. 1–9.
[https://doi.org/10.1016/s1383-5718\(01\)00197-8](https://doi.org/10.1016/s1383-5718(01)00197-8)
107. *García E., Marcos-Gutiérrez C., M del Mar Lorente et al.* RYBP, a new repressor protein that interacts with components of the mammalian Polycomb complex, and with the transcription factor YY1 // *The EMBO J.* 1999. V. 18. № 12. P. 3404–3418.
<https://doi.org/10.1093/emboj/18.12.3404>
108. *Петров А.М., Касимов М.Р., Зефиоров А.Л.* Метаболизм холестерина мозга и его нарушения: связь с нейродегенерацией и синаптической дисфункцией // *Acta Naturae* (русскоязычная версия). 2016. Т. 8. № 1(28). С. 64–80.
109. *Dietschy J.M.* Central nervous system: Cholesterol turnover, brain development and neurodegeneration // *Biol. Chem.* 2009. V. 390. № 4. P. 287–293.
<https://doi.org/10.1515/BC.2009.035>
110. *Wassif C.A., Zhu P., Kratz L. et al.* Biochemical, phenotypic and neurophysiological characterization of a genetic mouse model of RSH/Smith–Lemli–Opitz syndrome // *Hum. Mol. Genet.* 2001. V. 10. № 6. P. 555–564.
<https://doi.org/10.1093/hmg/10.6.555>
111. *Sparks S.E., Wassif C.A., Goodwin H. et al.* Decreased cerebral spinal fluid neurotransmitter levels in Smith–Lemli–Opitz syndrome // *J. Inherit. Metab. Dis.* 2014. V. 37. № 3. P. 415–420.
<https://doi.org/10.1007/s10545-013-9672-5>
112. *Pardue M.T., Allen R.S.* Neuroprotective strategies for retinal disease // *Progress Retinal and Eye Res.* 2018. V. 65. P. 50–76.
<https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.02.002>
113. *Cortez L.M., Campeau J., Norman G. et al.* Bile acids reduce prion conversion, reduce neuronal loss, and prolong male survival in models of prion disease // *J. Virology*. 2015. V. 89. № 15. P. 7660–7672.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01165-15>
114. *Keene C.D., Rodrigues C.M.P., Eich T. et al.* Tauroursodeoxycholic acid, a bile acid, is neuroprotective in a transgenic animal model of Huntington’s disease // *Proceedings The National Academy Sciences*. 2002. V. 99. № 16. P. 10671–10676.
<https://doi.org/10.1073/pnas.162362299>
115. *Yanovsky Y., Schubring S.R., Yao Q. et al.* Waking action of ursodeoxycholic acid (UDCA) involves histamine and GABAA receptor block // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 8. P. e42512.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042512>
116. *Tuem K.B., Atey T.M.* Neuroactive steroids: receptor interactions and responses // *Frontiers Neurology*. 2017. V. 8. P. 442.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00442>
117. *Numakawa T., Suzuki S., Kumamaru E. et al.* BDNF function and intracellular signaling in neurons // *Histol. and Histopathol.* 2010. V. 25. P. 237–258.
<https://doi.org/10.14670/HH-25.237>
118. *Hayashi H.* Lipid metabolism and glial lipoproteins in the central nervous system // *Biol. and Pharmaceutical Bulletin*. 2011. V. 34. № 4. P. 453–461.
<https://doi.org/10.1248/bpb.34.453>
119. *Bron R., Vermeren M., Kokot N. et al.* Boundary cap cells constrain spinal motor neuron somal migration at motor exit points by a semaphorin–plexin mechanism // *Neural Development*. 2007. V. 2. № 1. P. 21.
<https://doi.org/10.1186/1749-8104-2-21>
120. *Allen N.C., Bagade S., McQueen M.B. et al.* Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: The SzGene database // *Nat. Genet.* 2008. V. 40. № 7. P. 827–834.
<https://doi.org/10.1038/ng.171>
121. *Wray N.R., James M.R., Mah S.P. et al.* Anxiety and comorbid measures associated with PLXNA2 // *Arch. General Psychiatry*. 2007. V. 64. № 3. P. 318–326.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.64.3.318>
122. *Ковалева Н.Б., Байрамова И.Х.* Внутривеночный холестаз беременных // *Росс. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктологии*. 2006. Т. 16. № 3. С. 36–40.
123. *Lofthouse E.M., Torrens C., Manousopoulou A. et al.* Ursodeoxycholic acid inhibits uptake and vasoconstrictor effects of taurocholate in human placenta // *The FASEB J.* 2019. V. 33. № 7. P. 8211–8220.
<https://doi.org/10.1096/fj.201900015RR>
124. *Ehnert S., Aspera-Werz R.H., Ruoff M. et al.* Hepatic osteodystrophy – molecular mechanisms proposed to favor its development // *Inter. J. Mol. Sciences*. 2019. V. 20. № 10. P. 2555.
<https://doi.org/10.3390/ijms20102555>
125. *Verma A., Maxwell J.D., Ang L. et al.* Ursodeoxycholic acid enhances fractional calcium absorption in primary biliary cirrhosis // *Osteoporosis Intern.* 2002. V. 13. № 8. P. 677–682.
<https://doi.org/10.1007/s001980200092>
126. *Яблоков А.В.* Фенетика: эволюция, популяция, признак. М.: Наука, 1980. 132 с.
127. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Яблоков А.В.* Фены, фенетика и эволюционная биология. М.: Природа, 1973. № 5. С. 40–51.

The Experience of Analyzing a Biological Activity of Ursodeoxycholic Acid as Part of *in silico* Prediction of the Gene Expression Profile

Ya. B. Neskorodov^{a,*}, S. G. Mardanly^{a,b}, and R. N. Chuprov-Netochin^c

^aCJSC “EKOlabor”, Moscow oblast, Elektrogorsk, 142530 Russia

^bThe State University of Humanities and Technology, Moscow oblast, Orekhovo-Zuyev, 142611 Russia

^cThe Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow oblast, Dolgoprudny, 141701 Russia

*e-mail: NeskorodovYB@gmail.com

This article was the first attempt to analyze the biological activity of ursodeoxycholic acid in the context of the *in silico* prediction of changes in genes activity. Prediction of the dynamics of changes in gene activity was carried out using the algorithm “DIGEP-Pred”. The analysis of the obtained gene arrays was carried out using the “GeneMANIA” application. Gene annotation was obtained from “The Human Protein Atlas”. The results showed that the initial sample of genes is distributed according to the localization of expression into several groups: testes, cerebral cortex, placenta, parathyroid glands. Groups of genes differed among themselves both in the number of members and in the number of relationships between them. The largest group included 25 genes. The activity of the genes of this group was localized in the testes. According to the prediction, all members of this group will be repressed after exposure to ursodeoxycholic acid. The next group consisted of 14 genes located in the cerebral cortex. Within this group, both an increase and a decrease in the activity of genes when exposed to ursodeoxycholic acid are predicted. Groups of the placenta and parathyroid glands contained relatively few genes (9 genes each) and were characterized by a low number of relationships between members. An analysis of the specialized literature revealed the effects of taking ursodeoxycholic acid, which may be associated with changes in gene activity when taking this drug. There was no unambiguous relationship between the groups of identified *in silico* genes and the effects described in the literature. It was revealed that of the entire array of genes (81 genes) — 45 are prognostic markers of oncological processes.

Keyword: biological activity, ursodeoxycholic acid, gene expression, phenotype, genotype, pharmacogenetics.