

Для цитирования: *Перепечаева М.Л., Горева О.Б., Березина О.В., Поспелова Т.И., Гришанова А.Ю.* miR-155 и miR-223 как маркеры клинических особенностей течения хронического лимфолейкоза. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(1): 75–86. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-1-75-86

For citation: *Perpechaeva M.L., Goreva O.B., Berezina O.V., Pospelova T.I., Grishanova A.Yu.* miR-155 and miR-223 as markers of biological and clinical features of chronic lymphocytic leukemia. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(1): 75–86. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-1-75-86

miR-155 И miR-223 КАК МАРКЕРЫ КЛИНИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

М.Л. Перепечаева¹, О.Б. Горева¹, О.В. Березина², Т.И. Поспелова²,
А.Ю. Гришанова¹

¹Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Аннотация

Введение. Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – заболевание, которое характеризуется высокой межиндивидуальной гетерогенностью как клинического течения, так и молекулярных паттернов экспрессии генов и регуляторных РНК, способных оказывать влияние на патологический процесс. Вовлеченность регуляторных miR-155 и miR-223 в патогенез ХЛЛ в целом известна, но информации о возможных колебаниях экспрессии miR-155 и miR-223 в зависимости от динамики развития патологического процесса и характеристик врачебного вмешательства недостаточно. **Цель исследования** – изучение уровня экспрессии miR-155 и miR-223 у больных ХЛЛ с разными биологическими, клиническими особенностями и характеристиками проводимой терапии в субстратах периферической крови: плазме, лимфоцитах, внеклеточных везикулах, а также в костном мозге. **Материал и методы.** При выполнении работы использовались образцы периферической крови и костного мозга 38 пациентов с диагнозом ХЛЛ из Городского гематологического центра ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница № 2» с 2016 по 2017 г. Оценка уровня экспрессии miR-155 и miR-223 проводилась методом ОТ-ПЦР в реальном времени по принципу TaqMan. Оценка значимости различий групп проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни либо непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением с помощью критерия Манна–Уитни. **Результаты.** Выявлена высокая гетерогенность исследуемых показателей. Анализ продемонстрировал сниженный уровень экспрессии miR-155 и miR-223 в микровезикулах у больных с неблагоприятными хромосомными aberrациями в сравнении с пациентами с хромосомными нарушениями или нормальным кариотипом, ассоциированными с промежуточным влиянием на прогноз ХЛЛ, а также повышенный уровень miR-223 в лимфоцитах периферической крови нелеченых больных ХЛЛ по сравнению с лечеными пациентами. **Заключение.** Выявлены различия уровня экспрессии miR-155 и miR-223 в зависимости от хромосомных aberrаций и проведения полихимиотерапии. Полученные предварительные итоги являются заделом для последующих более крупных исследований уровней miR у пациентов с ХЛЛ в зависимости от особенностей течения и лечения заболевания.

Ключевые слова: ХЛЛ, miR-155, miR-223, внеклеточные везикулы, лимфоциты, периферическая кровь, костный мозг, течение ХЛЛ, прогноз ХЛЛ, лечение ХЛЛ.

miR-155 AND miR-223 AS MARKERS OF BIOLOGICAL AND CLINICAL FEATURES OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

M.L. Perepechaeva¹, O.B. Goreva¹, O.V. Berezina², T.I. Pospelova²,
A.Yu. Grishanova¹

¹Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine

2/12, Timakova St., Novosibirsk, 630117, Russia

²Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia
52, Krasny Ave., Novosibirsk, 630091, Russia

Abstract

Introduction. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a disease characterized by large individual differences both in the clinical course and in molecular patterns of expression of genes and regulatory RNAs, which can influence pathological changes. The involvement of regulatory microRNAs miR-155 and miR-223 in the pathogenesis of CLL is fairly well known, but there is insufficient information about possible fluctuations in the expression of miR-155 and miR-223 depending on the time course of pathology development and on parameters of medical treatment. **Purpose** – to investigate the expression of miR-155 and miR-223 in patients having CLL with different biological and clinical features and different characteristics of treatment in terms of peripheral-blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow. **Material and Methods.** This work involved samples of peripheral blood and bone marrow from 38 patients with a diagnosis of CLL from the City Hematology Center at the government-funded healthcare institution (Novosibirsk Oblast) City Clinical Hospital No. 2 from the years 2016 to 2017. Assessment of miR-155 and miR-223 expressions was carried out by reverse-transcription real-time PCR according to the TaqMan principle. Significance of differences between groups was evaluated either by the nonparametric Mann–Whitney test or by the nonparametric Kruskal–Wallis test with subsequent pairwise comparisons via the Mann–Whitney test. **Results.** High variation of the analyzed parameters was found. The expression levels of miR-155 and miR-223 in microvesicles of patients with unfavorable chromosomal anomalies were lower than those in patients with the chromosomal aberrations (or the normal karyotype) associated with a moderate effect on CLL prognosis. The expression level of miR-223 in peripheral blood lymphocytes of untreated patients with CLL was higher than that observed in treated patients. **Conclusion.** Differences in the expression levels of miR-155 and miR-223 were identified depending on chromosomal aberrations and polychemotherapy. Our preliminary results will provide the basis for future larger studies on levels of microRNAs in CLL patients having specific features of the development, clinical course, and treatment of the disease.

Key words: CLL, miR-155, miR-223, extracellular vesicles, lymphocytes, peripheral blood, bone marrow, CLL course, CLL prognosis, CLL treatment.

Введение

МикроРНК (miR) представляют собой эндогенные малые некодирующие регуляторные РНК, вовлеченные в регуляцию широкого спектра биологических процессов, включая канцерогенез [1]. Связь miR с онкологическими заболеваниями может быть опосредована aberrациями последовательностей ДНК, содержащих miR, нарушением контроля их транскрипции, дефектами биогенеза miR, наконец, нарушением регуляции эпигенетических изменений, опосредуемых miR. Зрелые miR опосредуют репрессию своих генов-мишеней, взаимодействуя с их мРНК [2, 3].

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) – по международной классификации chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) [4] – определяют как опухоль из малых В-лимфоцитов, характеризующуюся пролиферацией и накоплением aberrантных лимфоидных клеток в костном мозге, крови, лимфоидных тка-

нях [5]. Хронический лимфолейкоз – неизлечимое злокачественное новообразование, на долю которого в западных странах приходится почти треть лейкозов и при котором наблюдается высокая межиндивидуальная клиническая и молекулярная гетерогенность [6–8]. Эта гетерогенность дополнительно усложняется изменением экспрессии генов и событиями эпигенетической регуляции, за которые отвечают регуляторные РНК, включая miR, выступающие в роли онкогенов либо супрессоров опухолей [9, 10].

Известные геномные биомаркеры для определения прогноза или ответа на лечение при ХЛЛ представляют собой мутации генов и хромосомные aberrации (ХА). Самым частым хромосомным нарушением является делеция 13q.14, которая ассоциирована с благоприятным прогнозом заболевания, мутациями в генах вариабельного региона тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgVH) и типичной морфологией опухолевых клеток. Трисомия

по 12 хромосоме встречается в 7–25 % случаев ХЛЛ, коррелирует с промежуточным прогнозом, атипичной морфологией клеток, яркой экспрессией CD20, хорошим ответом на ритуксимаб. Делеция 11q.22 и делеция 17p.13 встречаются в 3–15 % и 5–12 % соответственно и ассоциированы с отсутствием мутаций в генах IgVH, быстрым прогрессированием заболевания и неблагоприятным исходом. Делеция 17p.13 нарушает функцию белка TP53 и, наряду с мутациями в гене TP53, включена в международный прогностический индекс ХЛЛ (МПИ). В МПИ также входят такие показатели, как мутационный статус генов IgVH, стадия по Binet, возраст, уровень бета2-микроглобулина. Определение мутаций в гене TP53 и мутаций в генах IgVH в реальной клинической практике представляет значительные трудности, в связи с чем расчет МПИ не всегда возможен.

С некоторыми из известных прогностических биомаркеров связывают ряд паттернов miR, например, с малым количеством мутаций в генах IgVH или высоким уровнем экспрессии ZAP-70 в лейкозных клетках [9]. В частности, показана связь с развитием ХЛЛ aberrантной экспрессии miR-155 и miR-223. Например, выявлены более высокие уровни экспрессии miR-223 в лимфоцитах периферической крови пациентов с низким риском прогрессирования ХЛЛ по сравнению с группой высокого риска [10]. Экспрессия miR-223 в мононуклеарах периферической крови ниже у пациентов с ХЛЛ по сравнению со здоровым контролем [11]. Интересно, что экспрессия miR-223 оказалась ниже у курящих пациентов с ХЛЛ, чем у некурящих [11].

В отличие от miR-223, уровень экспрессии miR-155 не связан со статусом IgVH [10], но есть свидетельства, что miR-155 является онкогеном при ХЛЛ [9, 12–14]. Так, при проведении полногеномного секвенирования малых РНК был идентифицирован паттерн дифференциальной регуляции восьми miR при ХЛЛ, среди которых обнаружилась активированная miR-155 [9]. Выявлена повышенная экспрессия miR-155 в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ по сравнению со здоровым контролем; miR-155 была обнаружена в циркулирующих микровезикулах больных ХЛЛ [12]. Определены гиперэкспрессия miR-155 в лимфоцитах и в плазме больных ХЛЛ и ее связь с плохим прогнозом и прогрессированием заболевания [14].

Уровень экспрессии пяти miR человека, включая miR-155-5p и miR-223-3p, определен в сыворотке 224 пациентов с ХЛЛ и у 224 здоровых лиц. Среднее время от момента сбора крови до постановки диагноза ХЛЛ составило 10 лет. Активация miR-155-5p связана с последующим риском развития ХЛЛ, хотя прогностическая эффективность была небольшой. Уровень miR-223-3p не был связан с риском развития ХЛЛ [6]. Устойчивость miR в системном кровотоке делает

их подходящими диагностическими маркерами [6, 11], и, согласно имеющимся данным, уровень экспрессии miR-155 и miR-223 может быть маркером при ХЛЛ [11, 12].

Целью исследования стало выявление возможных закономерностей различий уровня экспрессии miR-155 и miR-223 между больными с разными биологическими и клиническими особенностями ХЛЛ, характеристиками терапии заболевания, а также в костном мозге и в субстратах крови: плазме, лимфоцитах, внеклеточных везикулах у пациентов с ХЛЛ.

Материал и методы

Использовали образцы клинического материала – периферической крови и костного мозга 38 пациентов, которые с 2016 по 2017 г. получали лечение в Городском гематологическом центре ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница № 2» – клинической базе ФГБУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Всем пациентам установлен диагноз ХЛЛ. Диагностика ХЛЛ и показания к терапии определялись в соответствии с международными критериями IWCLL 2008 г. и российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфолифопролиферативных заболеваний [15, 16]. Материал для исследования забирали до начала терапии.

Средний возраст больных составил $62,6 \pm 8,5$ года (43–77 лет). Распределение по полу: 23 мужчины и 15 женщин. Наиболее частым клиническим проявлением был лимфолифопролиферативный синдром, включающий лимфаденопатию, которая определялась у 21 (55 %) пациента, и спленомегалию – у 20 (53 %) больных ХЛЛ. Показатели гемограммы до начала лечения представлены в табл. 1. Инфильтрация костного мозга аномальными клетками, сопровождающаяся вытеснением здоровых кроветворных клеток и выходом аномальных клеток в кровотоки, определяет абсолютный лимфоцитоз, развитие анемического синдрома и тромбоцитопении у пациентов с ХЛЛ. Стадию заболевания определяли по Binet, и среди обследованных пациентов с ХЛЛ стадия А наблюдалась у 13 (34 %), стадия В – у 18 (47 %), стадия С – у 7 (18 %) больных.

Определение хромосомных aberrаций проводилось с помощью стандартного цитогенетического исследования и флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Пациенты разделены на 2 группы на основании потенциального влияния на прогноз выявленных хромосомных нарушений. В 1-ю группу вошли 24 (63 %) пациента с трисомией 12 хромосомы, нормальным кариотипом или генетическими аномалиями неопределенного значения, которые не ассоциированы с отчетливым благоприятным или неблагоприятным прогностическим значением, занимая промежуточную позицию. Во 2-ю группу

Показатели гемограммы и миелограммы у больных ХЛЛ
Hemogram and myelogram parameters in patients with CLL

Показатель анализа крови/Bloodwork parameter	Среднее значение/Mean	Кол-во случаев/Number of cases
Гемоглобин (120–170 г/л)/ Hemoglobin (120–170 g/L)	140,43 ± 12,13	29 (76,32 %)
Анемия легкой степени (Hb=110–90 г/л)/ Mild anemia (Hb=110–90 g/L)	102,17 ± 6,05	6 (15,79 %)
Анемия средней степени (Hb=89–70 г/л)/ Moderate anemia (Hb=89–70 g/L)	79,00 ± 4,24	2 (5,26 %)
Анемия тяжелой степени (Hb<70 г/л)/ Severe anemia (Hb<70 g/L)	50	1 (2,63 %)
Тромбоциты/ (150–400 × 10 ⁹ /л)/ Platelets (150–400 × 10 ⁹ /L)	140,43 ± 12,13	34 (89,47 %)
Тромбоцитопения (Тр<100 × 10 ⁹ /л)/ Thrombocytopenia (Pt<100 × 10 ⁹ /L)	24,75 ± 7,93	4 (10,53 %)
Лейкоциты (Lc=3–9 × 10 ⁹ /л)/ Leukocytes (Lc=3–9 × 10 ⁹ /L)	5,52 ± 1,58	16 (42,11 %)
Лейкоцитоз (Lc=9–30 × 10 ⁹ /л)/ Leukocytosis (Lc=9–30 × 10 ⁹ /L)	17,45 ± 6,70	15 (39,47 %)
Гиперлейкоцитоз (Lc>30 × 10 ⁹ /л)/ Hyperleukocytosis (Lc>30 × 10 ⁹ /L)	108,09 ± 114,04	7 (18,42 %)
Лимфоциты крови (L=19–37 %)/ Blood lymphocytes (L=19–37 %)	5,26 ± 7,07	14 (36,84 %)
Лимфопения (L<19 %)/ Lymphopenia (L<19 %)	10,75 ± 5,85	4 (10,53 %)
Лимфоцитоз (L>37 %)/ Lymphocytosis (L>37 %)	77,10 ± 18,66	20 (52,63 %)
Лимфоциты костного мозга, %/ Bone marrow lymphocytes, %	70,33 ± 25,00	38 (100 %)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

вошли 13 (34 %) больных с делецией 11q или делецией 17p, ассоциированных с неблагоприятным прогнозом заболевания. Один пациент, у которого выявлена изолированная делеция 13q, ассоциированная с благоприятным прогнозом заболевания, в дальнейший анализ не включен.

У всех пациентов определялись показания к началу терапии согласно критериям IWCLL 2008 [15], на основании которых часть больных была включена в группу с показаниями к терапии, в которую вошли 22 (58 %) пациента, и часть – в группу без показаний к терапии – 16 (42 %) человек.

Все пациенты с показаниями к терапии получили 2–8 курсов полихимиотерапии (ПХТ), использовались стандартные протоколы R-SOP (ритуксимаб, циклофосфан, винкристин, преднизолон), R-FC или R-FC lite (ритуксимаб, флударабин, циклофосфан), BR (бендамустин, ритуксимаб), R-CHOP или mini R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфан, доксорубицин, винкристин, преднизолон). При оценке эффективности лечения обследование пациентов проводилось согласно рекомендациям IWCLL 2008 [15].

Венозную кровь забирали в пластиковые пробирки с добавлением ЭДТА. Кровь разводили

в 2 раза в PBS. В пробирку, содержащую 3 мл раствора для выделения лимфоцитов (фиколлурографин, ООО «БиолоТ»), наслаивали кровь, не допуская смешивания жидкостей. Центрифугировали пробирку при 1000 об/мин в течение 40 мин. Лимфоциты отсасывали в сухую коническую центрифужную пробирку, добавляли 2–3 мл холодного PBS, гомогенизировали и центрифугировали при 1000 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость сливали, отмывку повторяли дважды. Выделение моноклеаров костного мозга проводилось аналогичным образом.

Выделение микровезикул из плазмы крови проводили следующим образом. Кровь центрифугировали в течение 20 мин при 2500 g, затем при тех же условиях центрифугировали полученную плазму. Супернатант в количестве 0,5 мл центрифугировали при 4 °C в течение 40 мин при 13000 g, к полученному осадку добавляли 1 мл фосфатно-солевого буфера и центрифугировали еще раз при 4 °C в течение 40 мин при 100000 g. Осадок (фракция микровезикул) ресуспендировали в 0,3 мл фосфатно-солевого буфера.

Суммарную РНК выделяли с помощью набора для выделения РНК Тризол («Ambion», США)

Таблица 2/Table 2

Последовательности олигонуклеотидов для проведения ОТ-ПЦР
Oligonucleotide sequences for reverse-transcription PCR

miR	Тип/Type	Последовательность (5'→3')/ Sequence (5'→3')	Ссылка/ References
miR-155	Адаптер/Adapter	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACACCCCTAT	[25]
	Прямой/Forward	GCCGCTTAATGCTAATCGTG	
	Зонд/Probe	[FAM]TTCGCACTGGATACGACACCCCTAT[BHQ1]	
miR-223	Адаптер/Adapter	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAACCTCAGC	[25]
	Прямой/Forward	GCCGCCGTGTATTGACAA	
	Зонд/Probe	[FAM]TTCGCACTGGATACGACAACCTCAGC[BHQ1]	
RNU6-1	Адаптер/Adapter	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACGGCCATGC	[26]
	Прямой/Forward	GCCGCATACAGAGAAGATTA	
	Зонд/Probe	[FAM]TTCGCACTGGATACGACGGCCATGC[BHQ1]	
	Обратный (общий)/Reverse (common)	AGTGCAGGGTCCGAGGTA	[27]

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

согласно инструкции производителя. Реакцию обратной транскрипции проводили с помощью обратной транскриптазы M-MuLV-RH «Promega» (США) согласно инструкции производителя с модификациями. В реакции использовалось 8 пкмоль микроРНК-специфичного праймера-адаптора шпилевидной конструкции (последовательности представлены в табл. 2.), 25 е.а. ингибитора РНКаз и 1 нг РНК. Смесь инкубировали в течение 30 мин при 18 °С, затем в течение 30 мин при 42 °С и 5 мин при 85 °С.

Оценка экспрессии генов проводилась при помощи ПЦР в реальном времени по принципу TaqMan на оборудовании iCycler CFX96 real-time PCR detection system (Bio-Rad Laboratories, USA). В качестве гена домашнего хозяйства (эталонного гена) использовалась малая ядерная РНК U6, одна из наиболее часто используемых в этом качестве при анализе miR [17]. Реакцию проводили в следующих условиях: начальная денатурация при 95 °С в течение 3 мин, затем 40 циклов: денатурация при 95 °С в течение 15 с и отжиг при 60 °С в течение 30 с. Каждый образец амплифицировали трижды. Для оценки экспрессии применялся показатель ΔСТ. Метод 2^{-ΔСТ} используется для относительного количественного анализа данных ПЦР в реальном времени [18]. При данном методе используется информация о СТ, полученная из системы при проведении ПЦР в реальном времени, для вычисления относительной экспрессии генов в целевых и эталонных образцах с использованием эталонного гена в качестве нормализатора. ΔСТ=СТ (ген-мишень) – СТ (эталонный ген).

Статистическую обработку проводили с использованием программного пакета для статистической обработки STATISTICA software, MS Excel и GraphPad Prism 10. Характер распределения данных определяли с использованием критерия

Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллифорса. Проводилась оценка значимости различий групп с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни либо непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением с помощью критерия Манна–Уитни. При представлении результатов в виде X ± m показатель вариабельности m представляет собой среднеквадратичное отклонение. Значения уровня экспрессии miR-155 и miR-223 представлены в виде медианы и 1 и 3 квартилей – Me (Q1; Q3).

Результаты

На рис. 1 представлены значения уровня экспрессии miR-155 и miR-223 в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в общей выборке больных ХЛЛ. Оценка с помощью критерия Краскела–Уоллиса показала значимость различий – p=0,03 для экспрессии miR-155 и p=0,83 для экспрессии miR-223. Попарное сравнение с помощью U-критерия Манна–Уитни выявило, что наибольший уровень экспрессии miR-155 наблюдается в лимфоцитах периферической крови – 225,97 (17,15; 3902,01), где он на порядок выше, чем в плазме крови, – 11,47 (0,36; 156,33; p=0,01) и во внеклеточных везикулах – 6,63 (0,08; 221,32; p=0,01) (рис. 1А). Различий уровня экспрессии miR-223 в исследованных субстратах не выявлено (рис. 1Б).

Исследована возможная связь уровня экспрессии miR-155 и miR-223 со стадией ХЛЛ, отражающей распространенность и прогрессию опухоли, а также медиану общей выживаемости, которая на А стадии не отличается от общепопуляционной, на стадии В составляет 7 лет, на стадии С – 2 года (по Binet). Оценка с помощью критерия Краскела–Уоллиса показала отсутствие достоверных различий в группах пациентов с разными стадиями

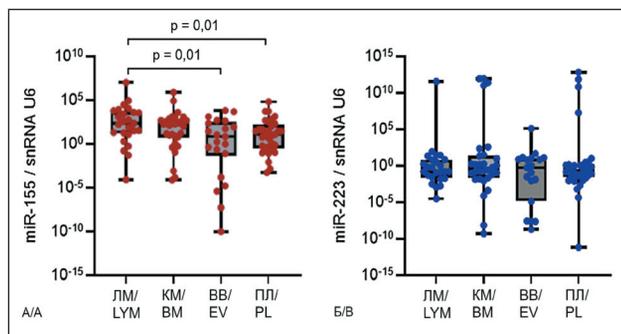


Рис. 1. Относительный уровень экспрессии микроРНК miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге у больных ХЛЛ.

Примечания: ЛМ – лимфоциты; КМ – костный мозг; ВВ – внеклеточные везикулы; ПЛ – плазма крови. Данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами

Fig. 1. The relative expression level of microRNA miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in patients with CLL. Notes: LYM – lymphocytes; BM – bone marrow; EV – extracellular vesicles; PL – blood plasma. Data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

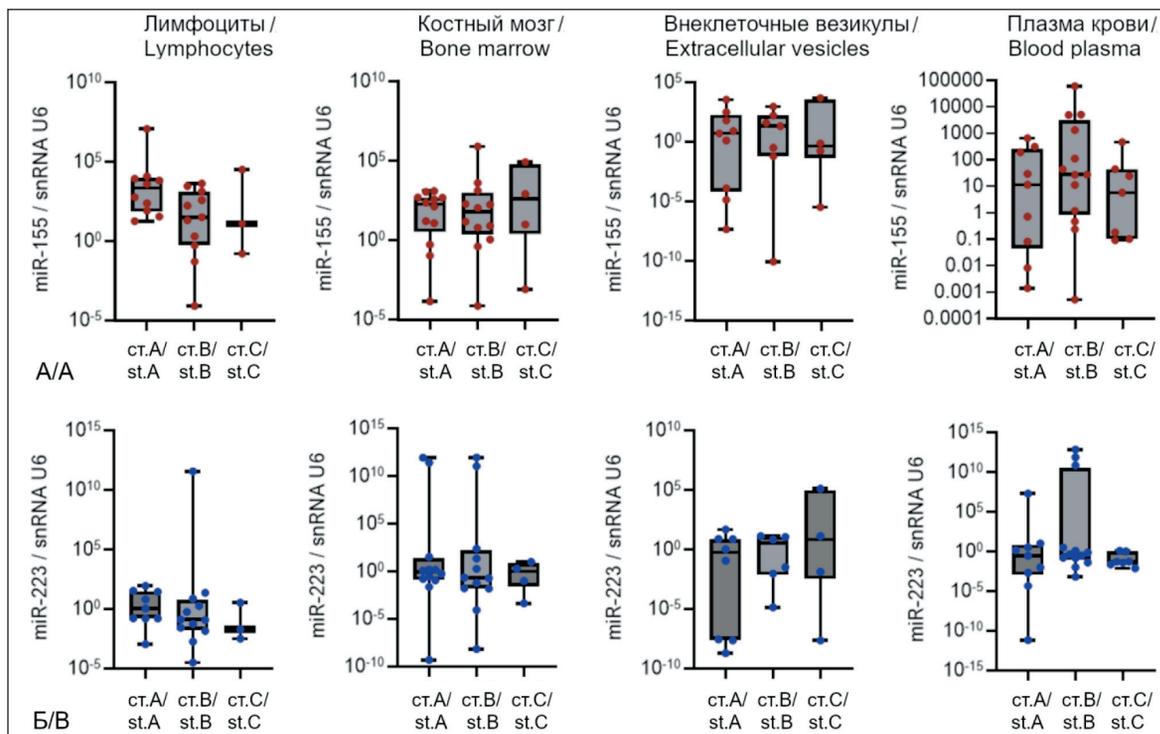


Рис. 2. Уровень экспрессии miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в группах пациентов с разной стадией (ст.) заболевания. Примечания: данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами

Fig. 2. The expression level of miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in groups of patients at different stages (st.) of the disease. Notes: data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

ХЛЛ для экспрессии miR-155 (рис. 2А) и miR-223 (рис. 2Б) во всех исследованных субстратах крови и костном мозге.

Проведено попарное сравнение с помощью U-критерия Манна–Уитни между группами пациентов с ХЛЛ, разделенными на основании потенциального влияния ХА на прогноз заболевания. В 1-ю группу вошли пациенты с трисомией 12 хромосомы, нормальным кариотипом или генетическими аномалиями неопределенного значения, которые не ассоциированы с отчетливым благоприятным или неблагоприятным прогностическим значением, занимая промежуточную позицию. Во 2-ю группу вошли больные с делецией 11q или делецией 17p, ассоциированные с неблагоприятным прогнозом заболевания.

Анализ показал значимо повышенный уровень экспрессии miR-155 – 4,16 (0,0002; 51,98; p=0,049) (рис. 3А) и miR-223 – 6,82 (0,00041; 13,36; p=0,013) (рис. 3Б) в микровезикулах у больных в 1-й группе по сравнению с 2-й группой: miR-155 – 0,22 (0,08; 221,32) и miR-223 – 0,07 (0,005; 9,48). Других значимых различий уровня экспрессии miR-155 и miR-223 в исследованных субстратах в зависимости от хромосомных нарушений не было выявлено.

В группу с показаниями к терапии вошли 22 (58 %) пациента, в группу без показаний к терапии – 16 (42 %) больных. Изучена возможная связь уровня экспрессии miR-155 и miR-223 с этим параметром, отражающим интенсивность патологического процесса (рис. 4). При анализе экспрессии

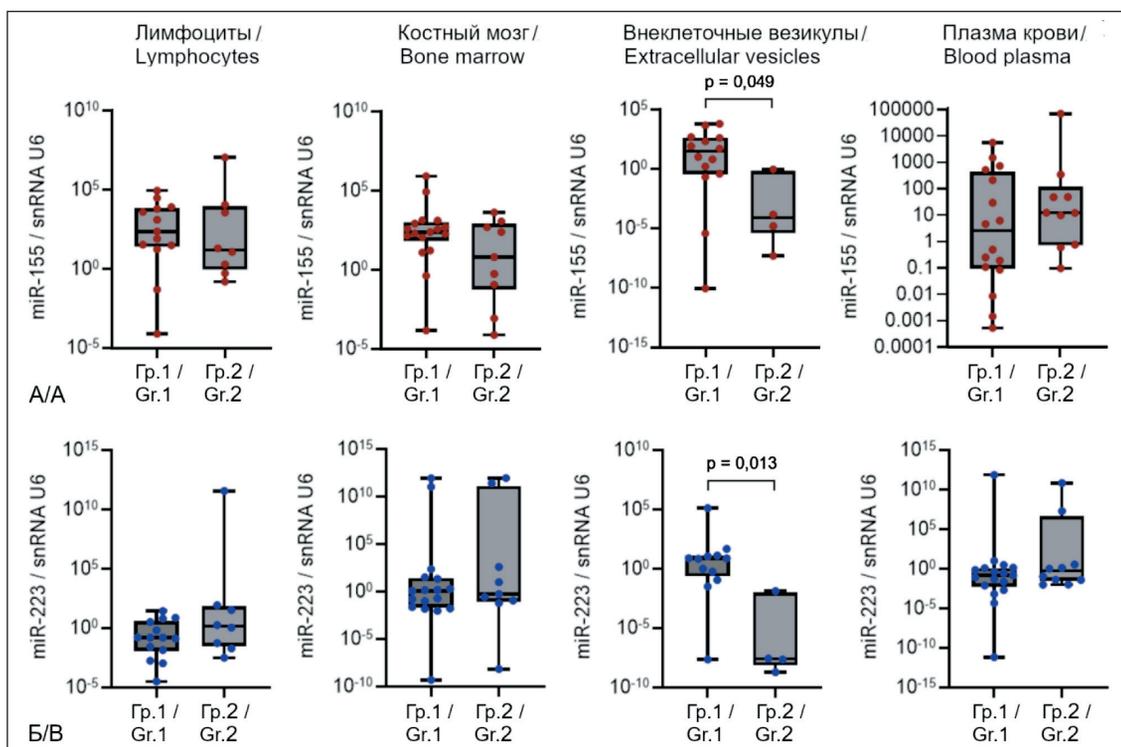


Рис. 3. Уровень экспрессии miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в группах пациентов с хромосомными aberrациями разного прогностического значения. Gr. 1 – группа 1; Gr. 2 – группа 2. Примечания: данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами
 Fig. 3. The expression level of miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in groups of patients with chromosomal aberrations (CAs) of different prognostic significance levels. Gr. 1 – group 1; Gr. 2 – group 2. Notes: data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

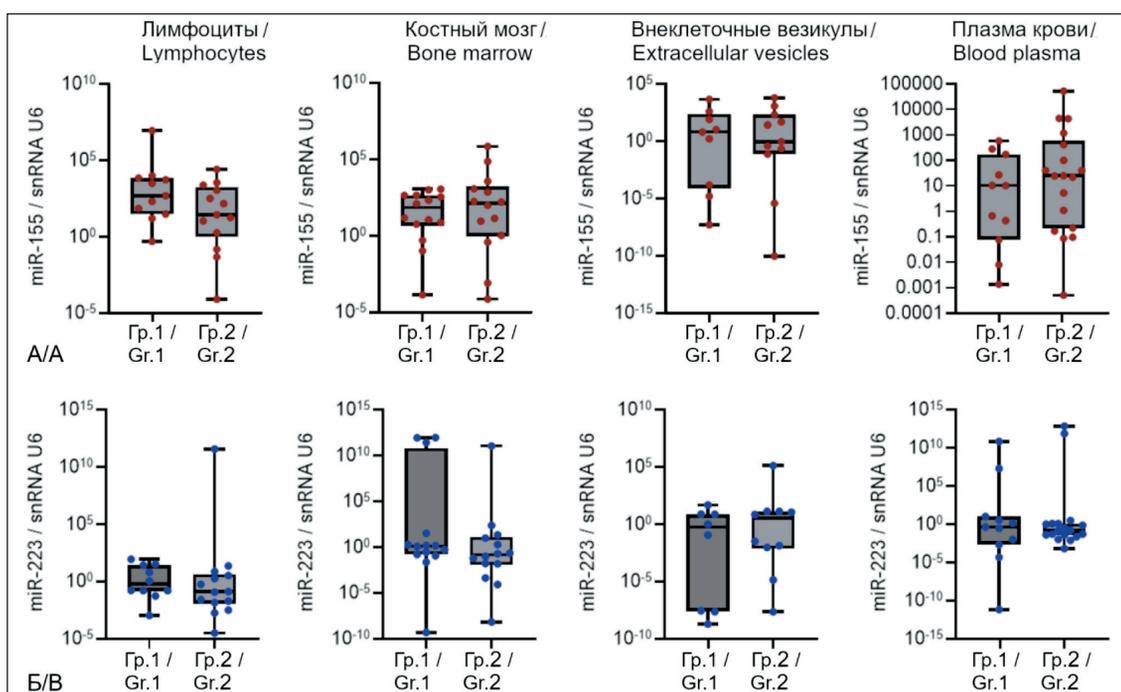


Рис. 4. Уровень экспрессии miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в группах пациентов без показаний (Gr. 1) и с показаниями (Gr. 2) к терапии. Примечания: данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами
 Fig. 4. The expression level of miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in groups of patients without (Gr. 1) or with (Gr. 2) indications for treatment. Notes: data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

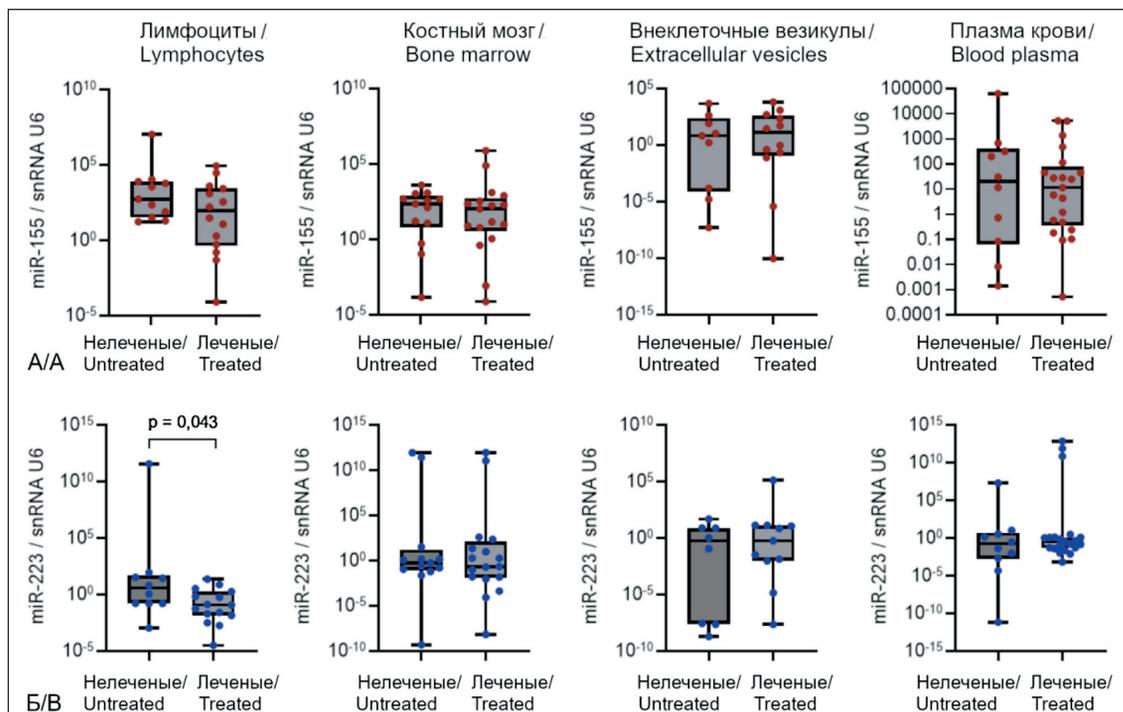


Рис. 5. Уровень экспрессии miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в группах нелеченых и леченых больных ХЛЛ. Примечания: данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами
 Fig. 5. The expression level of miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in groups of untreated and treated patients with CLL. Notes: data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

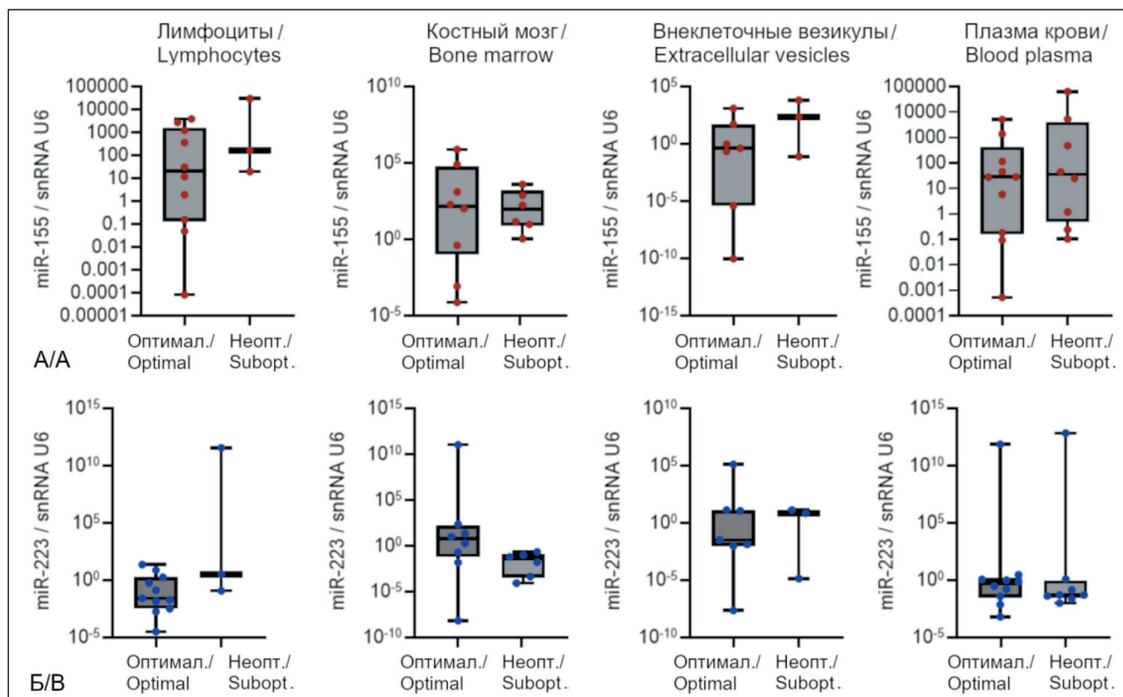


Рис. 6. Уровень экспрессии miR-155 (А) и miR-223 (Б) в субстратах крови (плазма, лимфоциты, внеклеточные везикулы) и костном мозге в группах пациентов с разным ответом на химиотерапию. Примечания: оптимальный – оптимальный ответ на ПХТ; неопт. – неоптимальный ответ на ПХТ. Данные представлены в виде медианы и 25-го – 75-го процентилей; рисунок выполнен авторами
 Fig. 6. The expression level of miR-155 (A) and miR-223 (B) in blood substrates (plasma, lymphocytes, and extracellular vesicles) and bone marrow in groups of patients that showed different, optimal or suboptimal (subopt.) responses to chemotherapy. Notes: data are presented as median and 25th, 75th percentile; created by the authors

miR-155 (рис. 4А) и miR-223 (рис. 4Б) в различных субстратах крови и костном мозге в группах пациентов с показаниями и без показаний к химиотерапии не выявлено значимых ассоциаций.

Проведено сравнение уровней экспрессии miR-155 и miR-223 в группах больных ХЛЛ в зависимости от наличия полученного ранее лечения для оценки возможного отсроченного влияния химиопрепаратов на уровни экспрессии miR. В группу ранее не получавших ПХТ (нелеченые больные), вошли 14 (33 %) пациентов; в группу получавших ПХТ – 29 (67 %) больных, среди которых были первично выявленные больные, а также пациенты с рецидивом заболевания, на момент забора материала получившие один или более курсов ПХТ, а также пациенты в ремиссии, завершившие терапию.

Сравнение уровня экспрессии у больных ХЛЛ, ранее получавших и не получавших ПХТ (рис. 5), показало, что для экспрессии miR-155 (рис. 5А) статистическая значимость различий не отмечена ни для одного субстрата (рис. 5А). При анализе экспрессии miR-223 (рис. 5Б) выявлено, что в лимфоцитах периферической крови у нелеченых больных ХЛЛ уровень miR-223 – 3,80 (0,16; 33,13) в 32 раза выше по сравнению с лечеными пациентами – 0,12 (0,01; 1,83; $p=0,04$) (рис. 5Б). Значимых различий в других исследованных субстратах крови и костном мозге не было выявлено.

В группе больных с показаниями к терапии 5 (23 %) пациентов достигли полной ремиссии, у 9 (41 %) больных наблюдалась частичная ремиссия, они были отнесены в группу с оптимальным ответом на терапию. Остальные пациенты составили группу больных с неоптимальным ответом на ПХТ: 3 (14 %) пациента достигли стабилизации заболевания после проведенной терапии, у 5 (23 %) пациентов было зафиксировано прогрессирование заболевания. Ответ на лечение является одним из показателей долгосрочного прогноза заболевания, в связи с чем были проанализированы уровни экспрессии miR-155 и miR-223 до начала лечения в зависимости от полученного ответа на терапию (рис. 6). При анализе экспрессии miR-155 (рис. 6А) и miR-223 (рис. 6Б) в различных субстратах крови и костном мозге в группах пациентов с разным ответом на ПХТ не выявлено статистически значимых ассоциаций.

Обсуждение

Проанализированы уровни экспрессии miR-155 и miR-223 в различных субстратах крови и костном мозге пациентов с ХЛЛ как в общей выборке, так и в зависимости от стадии заболевания, хромосомных aberrаций, показаний к ПХТ, применения терапии и ответа на ПХТ. Дизайн нашего исследования не предусматривал группу контроля (здоровых добровольцев). Обнаружено, что в лимфоцитах крови пациентов с ХЛЛ уровень miR-223

был выше у пациентов, не получавших терапию, по сравнению с пациентами, которые получили один или несколько курсов ПХТ. В группу пациентов, которые не получали ПХТ, вошли пациенты без показаний к терапии. Можно предположить, что эти больные имеют в целом более благоприятное течение опухолевого процесса, что отражает более высокий уровень miR-223.

Также более высокий уровень экспрессии miR-223 был во внеклеточных везикулах у больных с трисомией хромосомы 12, нормальным кариотипом или другими ХА, ассоциированными с промежуточным влиянием на прогноз ХЛЛ по сравнению с группой пациентов с неблагоприятными ХА (делеции 11q и 17p). Это частично противоречит литературным данным, но следует заметить, что наблюдаемая значимость различий слабая. Также представляет интерес, что уровень экспрессии miR-155 в лимфоцитах периферической крови на порядок выше, чем в плазме крови и во внеклеточных везикулах, что потенциально может свидетельствовать о предпочтительном измерении экспрессии miR-155 в лимфоцитах крови пациентов в случае использования этой miR в рамках диагностической панели молекулярных маркеров.

Многие miR, включая исследуемые miR-155 и miR-223, одновременно влияют на разные биологические процессы в клетке, нацеливаясь на широкий спектр мишеней, в том числе разнонаправленно действующих в отношении опухолевого процесса, а также могут модулироваться другими miR [2, 19]. miR-155 представляет собой транскрипт РНК из кластера интеграции В-клеток; обычно miR-155 характеризуют как проонкогенную и провоспалительную микроРНК [19]. miR-155 участвует в регуляции клеточного роста и пролиферации, инвазии, миграции, апоптоза и ангиогенеза при разных видах неоплазий, включая ХЛЛ [19–22]. Также miR-155 играет важную роль в гемопоэзе и функционировании иммунной системы, в том числе в созревании Т- и В-лимфоцитов и самообновлении гемопоэтических стволовых клеток [20, 21]. Мишенями miR-155 могут быть контрольные точки клеточного цикла [9].

Последовательность, кодирующая miR-223, располагается на X-хромосоме. miR-223 преимущественно экспрессируется гемопоэтическими клетками [23], критически важна для дифференцировки и активации гранулоцитов [24], являясь регулятором миелопоэза [23]. miR-223 является ключевым фактором гомеостаза иммунной системы и противовоспалительной miR, также регулирует сигнальные пути иммунных контрольных точек, процессы апоптоза и инвазии, клеточный цикл [2].

Возможно, при определенных обстоятельствах результирующий эффект miR-155 и miR-223 при ХЛЛ может отличаться от описанного в литературе

и отражать сложность происходящих изменений, связанных, с одной стороны, с динамикой патологического процесса, а с другой – с проводимой терапией. Триггерами изменений экспрессии miR-155 и miR-223 потенциально могут быть проведение ПХТ или другой специальной терапии, развитие рецидива, генетический фон, факторы образа жизни и сопутствующие заболевания. Полученные данные являются заделом для более масштабного исследования уровней miR-155 и miR-223 в группах пациентов с ХЛЛ, имеющих определенные биологические и клинические особенности, а также в разных компартментах патологического очага.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Ratti M., Lampis A., Ghidini M., Salati M., Mirchev M.B., Valeri N., Hahne J.C. MicroRNAs (miRNAs) and Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as New Tools for Cancer Therapy: First Steps from Bench to Bedside. *Target Oncol.* 2020; 15(3): 261–78. doi: 10.1007/s11523-020-00717-x.
- Aziz F., Chakraborty A., Khan I., Monts J. Relevance of miR-223 as Potential Diagnostic and Prognostic Markers in Cancer. *Biology (Basel)*. 2022; 11(2): 249. doi: 10.3390/biology11020249.
- Pashangzadeh S., Moitalbezhad M., Vafashoar F., Khalvandi A., Mojtavani N. Implications the Role of miR-155 in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2021; 12. doi: 10.3389/fimmu.2021.669382.
- Alaggio R., Amador C., Anagnostopoulos I., Attygalle A.D., Araujo I.B.O., Berti E., Bhagat G., Borges A.M., Boyer D., Calaminici M., Chadburn A., Chan J.K.C., Cheuk W., Chng W.J., Choi J.K., Chuang S.S., Coupland S.E., Czader M., Dave S.S., de Jong D., Du M.Q., Elenitoba-Johnson K.S., Ferry J., Geyer J., Gratzinger D., Guitart J., Gujral S., Harris M., Harrison C.J., Hartmann S., Hochhaus A., Jansen P.M., Karube K., Kempf W., Khoury J., Kimura H., Klapper W., Kovach A.E., Ku-mar S., Lazar A.J., Lazzi S., Leoncini L., Leung N., Leventaki V., Li X.Q., Lim M.S., Liu W.P., Louissaint A., Marcogliese A., Medeiros L.J., Michal M., Miranda R.N., Mitteldorf C., Montes-Moreno S., Morice W., Nardi V., Naresh K.N., Naikunam Y., Ng S.B., Oschlies I., Ott G., Parrens M., Pulitzer M., Rajkumar S.V., Rawstron A.C., Rech K., Rosenwald A., Said J., Sarkozy C., Sayed S., Saygin C., Schuh A., Sewell W., Siebert R., Sohani A.R., Tooze R., Traverso-Glehen A., Vega F., Vergier B., Wechalekar A.D., Wood B., Xerri L., Xiao W. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022; 36(7): 1720–48. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2. Erratum in: *Leukemia*. 2023; 37(9): 1944–51.
- Никитин Е.А., Бялик Т.Е., Зарицкий А.Ю., Исебер Л., Капланов К.Д., Лопаткина Т.Н., Луговская С.А., Мухортова О.В., Османов Е.А., Поддубная И.В., Самоилова О.С., Стадник Е.А., Фалалева Н.А., Байков В.В., Ковригина А.М., Невольских А.А., Иванов С.А., Хайлова Ж.В., Геворкян Т.Г. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Современная онкология. 2020; 22(3): 24–44. [Nikitin E.A., Bialik T.E., Zariiskii A.I., Iseber L., Kaplanov K.D., Lopatkina T.N., Lugovskaya S.A., Mukhortova O.V., Osmanov E.A., Poddubnaya I.V., Samoilova O.S., Stadnik E.A., Falaleeva N.A., Baikov V.V., Kovrigina A.M., Nevolskikh A.A., Ivanov S.A., Khailova Z.V., Gevorkian T.G. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Modern Oncology*. 2020; 22(3): 24–44. (in Russian)]. doi: 10.26442/18151434.2020.3.200385.
- Casabonne D., Benavente Y., Seifert J., Costas L., Armesto M., Arestin M., Besson C., Hosnijeh F.S., Duell E.J., Weiderpass E., Masala G., Kaaks R., Canzian F., Chirlaque M.D., Perduca V., Mancini F.R., Pala V., Trichopoulos A., Karakatsani A., La Vecchia C., Sánchez M.J., Tumino R., Gunter M.J., Amiano P., Panico S., Sacerdote C., Schmidt J.A., Boeing H., Schulze M.B., Barricarte A., Riboli E., Olsen A., Tjønneland A., Vermeulen R., Nieters A., Lawrie C.H., de Sanjosé S. Serum levels of hsa-miR-16-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-150-5p, hsa-miR-155-5p and hsa-miR-223-3p and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia in the EPIC study. *Int J Cancer*. 2020; 147(5): 1315–24. doi: 10.1002/ijc.32894.
- Mikulikova Z., Manukyan G., Turcsanyi P., Kudelka M., Urbanova R., Savara J., Ochodkova E., Brychtova Y., Molinsky J., Simkovic M., Starostka D., Novak J., Janca O., Dihel M., Ryznerova P., Mohammad L., Papajik T., Kriegova E. Deciphering the complex circulating immune cell microenvironment in chronic lymphocytic leukaemia using patient similarity networks. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 322. doi: 10.1038/s41598-020-79121-4.

Заклучение

Проведен анализ уровней экспрессии miR-155 и miR-223 в различных субстратах крови и костном мозге пациентов с ПХТ в зависимости от стадии заболевания, хромосомных нарушений, показаний к ПХТ, применения и ответа на ПХТ. Результаты показали очень высокую межиндивидуальную гетерогенность уровня исследуемых miR, а также различия уровня miR-155 и miR-223 во внеклеточных везикулах пациентов в зависимости от хромосомных aberrаций и уровня miR-223 в лимфоцитах периферической крови в зависимости от проведения ПХТ.

- Cuthill K.M., Zhang Y., Pepper A., Boelen L., Coulter E., Asquith B., Devereux S., Macallan D.C. Identification of proliferative and non-proliferative subpopulations of leukemic cells in CLL. *Leukemia*. 2022; 36(9): 2233–41. doi: 10.1038/s41375-022-01656-4.
- Kaur G., Ruhela V., Rani L., Gupta A., Sriram K., Gogia A., Sharma A., Kumar L., Gupta R. RNA-Seq profiling of deregulated miRs in CLL and their impact on clinical outcome. *Blood Cancer J.* 2020; 10(1): 6. doi: 10.1038/s41408-019-0272-y.
- Grenda A., Filip A.A., Wąsik-Szczepanek E. Inside the chronic lymphocytic leukemia cell: miRNA and chromosomal aberrations. *Mol Med Rep.* 2022; 25(2): 65. doi: 10.3892/mmr.2022.12581.
- Davari N., Ahmadpour F., Kiani A.A., Azadpour M., Asadi Z.T. Evaluation of microRNA-223 and microRNA-125a expression association with STAT3 and Bcl2 genes in blood leukocytes of CLL patients: a case-control study. *BMC Res Notes*. 2021; 14(1): 21. doi: 10.1186/s13104-020-05428-0.
- Raeisi F., Mahmoudi E., Dehghani-Samani M., Hosseini S.S.E., Ghahfarrokhi A.M., Arshi A., Forghanparast K., Ghazanfari S. Differential Expression Profile of miR-27b, miR-29a, and miR-155 in Chronic Lymphocytic Leukemia and Breast Cancer Patients. *Mol Ther Oncolytics*. 2020; 16: 230–7. doi: 10.1016/j.omto.2020.01.004.
- Autore F., Ramassone A., Stirparo L., Pagotto S., Fresca A., Innocenti I., Visone R., Laurenti L. Role of microRNAs in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(15): 12471. doi: 10.3390/ijms241512471.
- Anelli L., Zagaria A., Specchia G., Musto P., Albano F. Dysregulation of miRNA in Leukemia: Exploiting miRNA Expression Profiles as Biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(13): 7156. doi: 10.3390/ijms22137156.
- Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., Hillmen P., Keating M.J., Montserrat E., Rai K.R., Kipps T.J.; International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008; 111(12): 5446–56. doi: 10.1182/blood-2007-06-093906. Erratum in: *Blood*. 2008; 112(13): 5259.
- Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. Под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. М., 2016. 324 с. [Russian clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. Ed. by I.V. Poddubnoy, V.G. Savchenko. Moscow, 2016. 324 p. (in Russian)].
- Tang F., Chu L., Shu W., He X., Wang L., Lu M. Selection and validation of reference genes for quantitative expression analysis of miRNAs and mRNAs in Poplar. *Plant Methods*. 2019; 15: 35. doi: 10.1186/s13007-019-0420-1.
- Li A.L., Chung T.S., Chan Y.N., Chen C.L., Lin S.C., Chiang Y.R., Lin C.H., Chen C.C., Ma N. microRNA expression pattern as an ancillary prognostic signature for radiotherapy. *J Transl Med.* 2018; 16(1): 341. doi: 10.1186/s12967-018-1711-4.
- Hu J., Huang S., Liu X., Zhang Y., Wei S., Hu X. miR-155: An Important Role in Inflammation Response. *J Immunol Res.* 2022. doi: 10.1155/2022/7437281.
- Turk A., Calin G.A., Kunej T. MicroRNAs in Leukemias: A Clinically Annotated Compendium. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(7): 3469. doi: 10.3390/ijms23073469.
- Papageorgiou S.G., Kontos C.K., Diamantopoulos M.A., Bouchla A., Glezou E., Bazani E., Pappa V., Scorilas A. MicroRNA-155-5p Overexpression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Is a Novel, Independent Molecular Biomarker of Poor Prognosis. *Dis Markers*. 2017. doi: 10.1155/2017/2046545.

22. Chen N., Feng L., Lu K., Li P., Lv X., Wang X. STAT6 phosphorylation upregulates microRNA-155 expression and subsequently enhances the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Oncol Lett.* 2019; 18(1): 95–100. doi: 10.3892/ol.2019.10294.
23. Yuan S., Wu Q., Wang Z., Che Y., Zheng S., Chen Y., Zhong X., Shi F. miR-223: An Immune Regulator in Infectious Disorders. *Front Immunol.* 2021; 12. doi: 10.3389/fimmu.2021.781815.
24. Jiao P., Wang X.P., Luoreng Z.M., Yang J., Jia L., Ma Y., Wei D.W. miR-223: An Effective Regulator of Immune Cell Differentiation and Inflammation. *Int J Biol Sci.* 2021; 17(9): 2308–22. doi: 10.7150/ijbs.59876.
25. *miRBase*: the microRNA database [Internet]. The University of Manchester. [cited 2023 Aug 14]. URL: <https://mirbase.org>.
26. *The Nucleotide database* [Internet]. National Library of Medicine. [cited 2023 Aug 14]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/> M14486.
27. Kalinina T., Kononchuk V., Alekseenok E., Obukhova D., Sidorov S., Strunkin D., Gulyaeva L. Expression of Estrogen Receptor- and Progesterone Receptor-Regulating MicroRNAs in Breast Cancer. *Genes (Basel).* 2021; 12(4): 582. doi: 10.3390/genes12040582.
- Поступила/Received 15.01.2024
Одобрена после рецензирования/Revised 21.02.2024
Принята к публикации/Accepted 26.02.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Перепечаева Мария Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (г. Новосибирск, Россия). E-mail mlperepechaeva@frcftm.ru. SPIN-код: 1641-9810. Researcher ID (WOS): AAG-1840-2020. Author ID (Scopus): 8283410900. ORCID: 0000-0001-5791-3714.

Горева Ольга Борисовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 2701-0046. Researcher ID (WOS): K-3428-2013. Author ID (Scopus): 8691755700. ORCID: 0000-0002-8129-9176.

Березина Ольга Валерьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8681-4310. ORCID: 0000-0003-0396-3403.

Поспелова Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 1004-0283. Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0001-6791-0314.

Гришанова Алевтина Юрьевна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией чужеродных соединений, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 1913-4413. Researcher ID (WOS): C-1759-2014. Author ID (Scopus): 7004298657. ORCID: 0000-0002-5894-1159.

ВКЛАД АВТОРОВ

Перепечаева Мария Леонидовна: участие в планировании работы, получение, анализ и интерпретация данных, написание черновика статьи, редактирование окончательного варианта статьи.

Горева Ольга Борисовна: участие в планировании работы, получение, анализ и интерпретация данных, статистическая обработка.

Березина Ольга Валерьевна: участие в разработке концепции, сбор и обработка материала.

Поспелова Татьяна Ивановна: разработка концепции, дизайна и структуры исследования, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания.

Гришанова Алевтина Юрьевна: разработка концепции, дизайна и структуры исследования, анализ статьи с точки зрения интеллектуального содержания, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Работа поддержана бюджетным финансированием (проект FGMU-2022-0004, регистрационный номер 1021050601082-2-1.6.4;3.1.6).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено комитетом по биомедицинской этике Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2), протокол № 17 от 22.06.2023.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ABOUT THE AUTHORS

Maria L. Perepechaeva, PhD, Senior Researcher, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia). E-mail mlperepechaeva@frcftm.ru. Researcher ID (WOS): AAG-1840-2020. Author ID (Scopus): 8283410900. ORCID: 0000-0001-5791-3714.

Olga B. Goreva, PhD, Senior Researcher, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): K-3428-2013. Author ID (Scopus): 8691755700. ORCID: 0000-0002-8129-9176.

Olga V. Berezina, MD, PhD, Assistant, Department of Therapy, Haematology and Transfusiology of the FPC and PPV, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-0396-3403.

Tatiana I. Pospelova, MD, Professor, Head of the Department of Therapy, Haematology and Transfusiology of the FPC and PPV, Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Novosibirsk, Russia). Author ID (Scopus): 7005792562. ORCID: 0000-0001-6791-0314.

Alevtina Yu. Grishanova, Professor, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Alien Compounds, Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-1759-2014. Author ID (Scopus): 7004298657. ORCID: 0000-0002-5894-1159.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Maria L. Perepechaeva: participation in the planning of the work; acquisition, analysis, and interpretation of the data; writing of the manuscript draft; editing of the final version of the paper.

Olga B. Goreva: participation in the planning of the work; acquisition, analysis, and interpretation of the data; statistical analysis.

Olga V. Berezina: participation in study conception; collection and processing of the material.

Tatiana I. Pospelova: conception of the study and development of its design and structure; analysis of the manuscript in terms of intellectual content.

Alevtina Yu. Grishanova: conception of the study and development of its design and structure; analysis of the manuscript in terms of intellectual content; critical revision with introduction of valuable intellectual content; approval of the manuscript for publication.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

The work was supported by state funding (project no. FGMU2022-0004, registration No. 1021050601082-2-1.6.4;3.1.6).

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles outlined in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (2, Timakova St., Novosibirsk, 630117, Russia), protocol No. 17 dated June 22, 2023.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.

Acknowledgment

The work was performed using the equipment of the Core Facility “Proteomic Analysis”, supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2021-691).