

Для цитирования: *Расторгуева Е.В., Погодина Е.С., Юрова Е.В., Белобородов Е.А., Сугак Д.Е., Тумозов И.А., Саенко Ю.В., Фомин А.Н.* Экспрессия C/D мякРНК в клеточных линиях лейкоза при хромосомных аномалиях после облучения. Сибирский онкологический журнал. 2024; 23(6): 97–106. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-6-97-106
For citation: *Rastorgueva E.V., Pogodina E.S., Iurova E.V., Beloborodov E.A., Sugak D.E., Tumozov I.A., Saenko Yu.V., Fomin A.N.* snoRNA box C/D levels in leukemia cells in chromosomal abnormalities after irradiation. Siberian Journal of Oncology. 2024; 23(6): 97–106. – doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-6-97-106

ЭКСПРЕССИЯ C/D мякРНК В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ ЛЕЙКОЗА ПРИ ХРОМОСОМНЫХ АНОМАЛИЯХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

Е.В. Расторгуева, Е.С. Погодина, Е.В. Юрова, Е.А. Белобородов, Д.Е. Сугак, И.А. Тумозов, Ю.В. Саенко, А.Н. Фомин

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»
Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42

Аннотация

Цель исследования – изучить экспрессию C/D мякРНК ((англ. snoRNA) малые ядрышковые РНК) в хромосомах с разным уровнем нарушений и оценить возможность их использования в качестве биомаркеров радиорезистентности при хромосомных аномалиях. **Материал и методы.** В исследовании сравнивали значения log2FC экспрессии мякРНК C/D семейства в радиочувствительной (HL-60) и радиорезистентной (K562) клеточных линиях, с разным уровнем хромосомных нарушений. Клетки облучались рентгеновским излучением однократно в дозе 4 Гр. Оценивали экспрессию мякРНК C/D через 1, 4 и 24 ч после облучения при помощи секвенирования нового поколения (NGS) MiSeq. **Результаты.** Получили различные значения log2FC в HL-60 и K562 клеточных линиях через 1, 4 и 24 ч после облучения. В HL-60 преобладала положительная экспрессия C/D мякРНК в ходе всего эксперимента. В K562 через 4 ч после облучения наблюдали преобладание положительных значений экспрессии C/D мякРНК, а через 24 ч – отрицательных значений log2FC. Чем больше встречалось аномалий в хромосоме, тем большую разницу в экспрессии мы наблюдали. При этом количество C/D мякРНК максимально изменялось после облучения через 24 ч в исследуемых клеточных линиях. Нами отмечено большее количество C/D мякРНК в клеточной линии HL-60, и всего 3 экспрессирующиеся C/D мякРНК в 15-й маркерной хромосоме в K562 из 16 в HL-60 в этой же хромосоме. **Заключение.** Показана слабая информативность использования C/D мякРНК семейства в качестве маркеров радиочувствительности при наличии хромосомных аномалий в лейкозных клетках.

Ключевые слова: нкРНК, мякРНК (бокс) семейства, биомаркеры, радиорезистентность, хромосомные нарушения.

snoRNA BOX C/D LEVELS IN LEUKEMIA CELLS IN CHROMOSOMAL ABNORMALITIES AFTER IRRADIATION

E.V. Rastorgueva, E.S. Pogodina, E.V. Iurova, E.A. Beloborodov, D.E. Sugak, I.A. Tumozov, Yu.V. Saenko, A.Ni. Fomin

Ulyanovsk State University
42, Leo Tolstoy St., Ulyanovsk, 432017, Russia

Abstract

The study objective. This paper reviews the express of C/D box snoRNAs (small nucleolar RNAs) and possibility of their use as biomarkers of radioresistance in chromosomal abnormalities. **Material and Methods.** The study compared the values of Log2FC express of snoRNA C/Dbox in radiosensitive (HL-60) and radioresistant (K562) cell lines with different levels of chromosomal abnormalities. The cells were irradiated with X-ray radiation once at a dose of 4 Gy. The expression of snoRNA C/D was evaluated 1, 4 and 24 hours

after irradiation, using new generation sequencing (NGS) MiSeq. **Results.** Different log2FC values were obtained in HL-60 and K562 cell lines 1 hour, 4 and 24 hours after irradiation. Positive expression of C/D snoRNA prevails in HL-60 throughout the experiment. In K562, the predominance of positive values of C/D snoRNA expression was observed 4 hours after irradiation, and negative values of log2FC were observed 24 hours later. The more anomalies there were in the chromosome, the greater the difference in expression we observed. At the same time, the number of C/D snoRNA changed maximally 24 hours after irradiation in the studied cell lines. We noted a greater number of C/D snoRNAs in the HL-60 cell line, and only 3 expressed C/D snoRNAs in the 15th marker chromosome in K562 out of 16 in HL-60 in the same chromosome. **Conclusion.** Our study showed a low informative value of using C/D snoRNAs family as markers of radiosensitivity in the presence of chromosomal abnormalities in cancer cells.

Key words: ncRNA, snoRNA C/D box, biomarkers, radioresistance, chromosomal abnormalities.

Все чаще в роли регуляторов экспрессии генов выступают некодирующие РНК (нкРНК). Одними из них являются малые ядрышковые РНК (мякРНК), их подавление или экспрессия может привести к различным патогенезам, в том числе онкогенезу [1]. Первые исследования мякРНК начались более 50 лет назад [2]. Это консервативный класс нкРНК, участвующих в модификации (метиловании рибозы и псевдоуридилровании), процессинге и сборке рРНК. мякРНК длиной от 60 до 300 нуклеотидов делятся на два основных бокса в зависимости от структуры и функции: C/D мякРНК, участвующие в 2'-модификации О-метилования рибосомной РНК; и H/ACA мякРНК, ответственные за псевдоуридилрование рРНК [2, 3].

В данной работе мы рассмотрели экспрессию C/D мякРНК, имеющих длину от 50 до 100 нуклеотидов и характеризующихся своими консервативными мотивами: бокс C/C' (RUGAUGA) и D/D'. Они взаимодействуют с белками SNU13, NOP56, NOP58 и метил трансферазой фибрилларином (FBL) с образованием C/D мякРНК (англ. snoRNP, малый ядрышковый рибонуклеопротеин). C/D мякРНК необходимы для модификации рРНК. Однако многие из них не имеют идентифицированной канонической модификации мишени и называются орфанными мякРНК, некоторые мякРНК также были описаны как управляющие модификацией матричных РНК (мРНК), расширяющих границы потенциальных РНК мишеней [4, 5]. Множество функций C/D мякРНК еще предстоит открыть [5]. Имеются данные, что H/ACA бокс и C/D бокс – эволюционные предки подмножества предшественников микроРНК [6, 7]. В работе М. Оно et al. [6] протестированы предшественники микроРНК, бокса C/D мякРНК (miR-27b, miR-16-1, miR-28, miR-31 и let-7g), они связываются с фибрилларинном, специфическим белковым компонентом функционального бокса C/D мякРНК комплекса [8]. Недавние исследования выявили аномальную экспрессию и продемонстрировали ключевую роль мякРНК и их генов-хозяев в различных типах гематологических и других злокачественных новообразований [8–13].

мякРНК могут не только регулировать клеточные процессы, но и модулировать радиочувстви-

тельность или радиорезистентность клеток [14]. Хорошо известно, что лучевая терапия является одним из основных методов лечения онкологических заболеваний. Было обнаружено, что *GAS5* модулирует радиационный ответ путем нацеливания miR-205-5p на путь Wnt/ β -catenin и регулирует апоптоз и жизнеспособность клеток после облучения [15]. *GAS5* также повышает радиочувствительность в нескольких моделях за счет нацеливания на miR-106b, которая неспособна ингибировать ген IER3, немедленного раннего ответа, супрессора рака шейки матки [16]. В результате радиочувствительность повышала сверхэкспрессию *GAS5*. В другом исследовании также создавали радиочувствительное состояние клеток рака легких при сверхэкспрессии семейства miRNAslet-7, а снижение экспрессии этого семейства вызывало радиорезистентность [17]. В следующей работе показаны результаты, при которых днкРНК (англ. lncRNA, длинная некодирующая РНК) SNHG12 способствовала экспрессии CDK1 для регуляции чувствительности клеток рака шейки матки к радиации при помощи miR-148a, что дает возможность использовать SNHG12 как биомаркер при данном заболевании [18].

В этих и других исследованиях [14, 19–21] подчеркиваются важность некодирующих РНК при онкогенезе и их влияние на чувствительность клеток к лучевой терапии. Есть ряд исследований, показывающих роль микроРНК и длинных некодирующих РНК в ответ на облучение при различных видах рака [22–24]. Но на сегодняшний момент мало данных об участии C/D мякРНК семейства в клеточном ответе на облучение.

Цель исследования – изучить экспрессию C/D мякРНК ((англ. snoRNA) малые ядрышковые РНК) в хромосомах с разным уровнем нарушений и оценить возможность их использования в качестве биомаркеров радиорезистентности при хромосомных аномалиях.

Материал и методы

В работе использовали клеточные линии промиелоцитарного лейкоза человека HL-60 (RRID:CVCL_0002) и хронического миелоидного лейкоза человека K562 (RRID:CVCL_0004) (Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург). Клетки

культивировали в следующих условиях: 37 °С, 5 % CO₂, 98 % влажности. Использовали среду RPMI-1640 с L-глутамином (ПанЭко, Россия), с добавлением 50 мкг/мл гентамицина (ПанЭко, Россия) и 10 % эмбриональной бычьей сыворотки (PAA Laboratories GmbH, Австрия).

Клетки облучались в дозе 4 Гр γ -излучением (энергия фотонов 10 МэВ), линейным ускорителем «Elekta Synergy» (Elekta, Швеция) 55 сек, при комнатной температуре. Эксперимент проводили в логарифмической фазе роста клеток. Тотальную РНК выделяли из клеток через 1, 4 и 24 ч после облучения набором Absolutely RNA miRNA Kit (Agilent Technologies, США). Библиотеки кДНК готовили с использованием набора NEBNext Small RNA Library Prep Set (NEB, Великобритания). Их очистку осуществляли в 6 % полиакриламидном геле с помощью электрофореза. Количество кДНК оценивали флуориметром «Qubit» (Invitrogen, США). Затем отбирали эквимольные количества (2 нМ) образца для пула библиотек. Секвенировали с помощью системы высокопроизводительного секвенирования «MiSeq System» (Illumina, США), применяя набор для одноконцевого чтения 150 п.н. Обработку полученных файлов FASTQ осуществили при помощи сервиса GenXPro omiRas. Величину экспрессии C/D мякРНК выражали через log₂ отношения нормализованной экспрессии мякРНК в опыте к аналогичному показателю в контроле (log₂fc).

Для определения локализации C/D мякРНК в хромосомах использовали базу данных National Center for Biotechnology Information Search data base (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (RRID:SCR_006472).

Эксперимент проводили в трех повторах. Для оценки статистической значимости различий применяли критерий Манна–Уитни, обработка проводилась в программе Origin. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Эти материалы и методы описаны более подробно в наших предыдущих статьях [25–27], где рассматривались другие классы некодирующих РНК.

Результаты

Количество экспрессирующихся C/D мякРНК через 1, 4 и 24 ч в каждой хромосоме после облучения 4 Гр, в двух клеточных линиях изображено на рис. 1. Через 1 ч мы наблюдаем одинаковое количество C/D мякРНК в 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 16, 17, 18, 22 и XX хромосоме. В 3, 7, 8, 11, 15, 19 и 20-й хромосоме количество C/D мякРНК выше в клеточной линии HL-60, причем в 15-й хромосоме больше в 2,5 раза. Только в 14-й хромосоме количество экспрессирующихся C/D мякРНК через 1 ч выше в клеточной линии K562.

Через 4 ч после облучения одинаковое количество C/D мякРНК остается в 1, 2, 4, 5, 6, 10, 12, 16, 17, 18, 22 и XX хромосоме, в 9-й их количество стало выше, как и в 3, 7, 8, 11, 15, 19 и 20-й хромосоме в HL-60 клеточной линии. В 15-й хромосоме количество C/D мякРНК в 7 раз выше в HL-60 по сравнению с K562. Количество C/D мякРНК больше в K562 только в 14-й хромосоме.

После облучения через 24 ч мы наблюдаем одинаковое количество C/D мякРНК в обеих клеточных линиях в 4, 6, 8, 10, 12, 18, 19 и XX хромосоме. В HL-60 количество C/D мякРНК выше, чем в K562, в 3, 7, 15-й (в 2 раза) хромосоме. В 1, 2, 9,

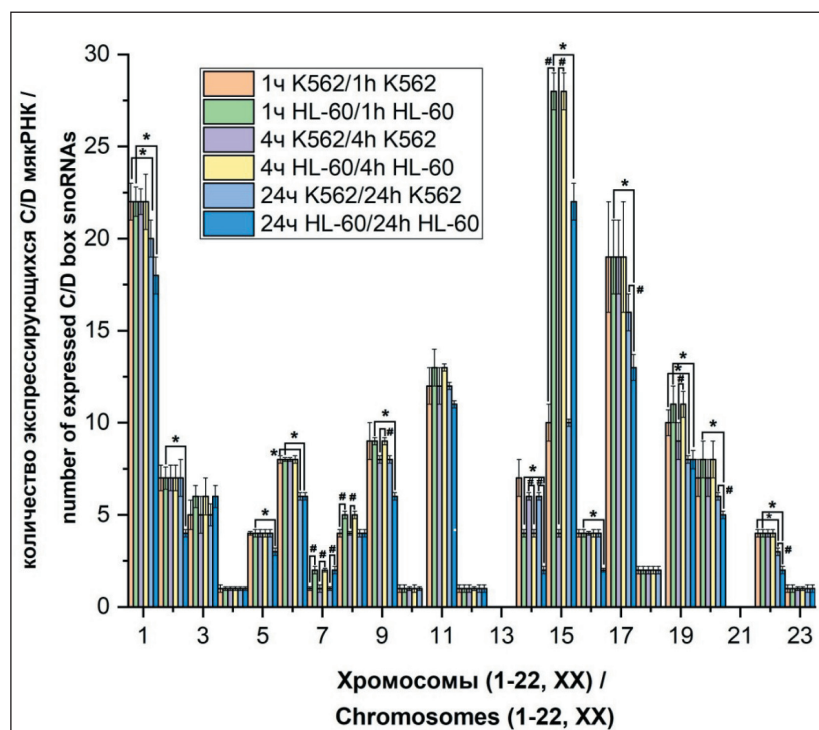


Рис. 1. Количество экспрессирующихся C/D мякРНК после облучения в каждой хромосоме K562 и HL-60 (* – $p < 0,05$ при сравнении с группой через час после облучения, # – $p < 0,05$ при сравнении между K562 и HL-60 клеточными линиями). Примечания: ось абсцисс – номер хромосом; ось ординат – количество экспрессирующихся C/Дмяк РНК после облучения; рисунок выполнен авторами

Fig. 1. The number of expressed C/D snoRNAs after irradiation in each chromosome K562 and HL-60 (* – $p < 0.05$ when compared with the group 1 hour after irradiation). Notes: Abscissa axis is a chromosome number; ordinate axis is a number of expressed C/D snoRNAs after irradiation; created by the authors

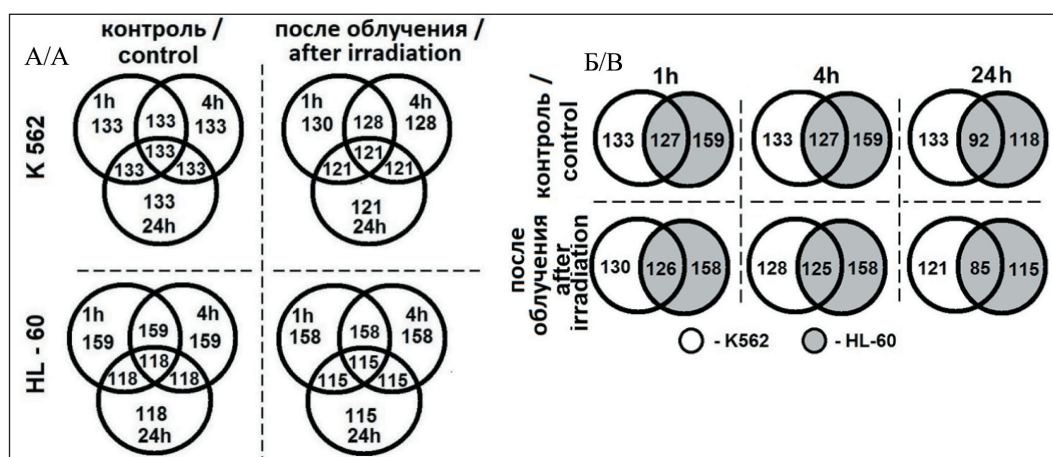


Рис. 2. Общее количество C/D мРНК в K562 и HL – 60 клеточных линиях (в контроле и после облучения через 1, 4 и 24 ч).

Примечания: А – количество по клеточным линиям; Б – сравнение между клеточными линиями; рисунок выполнен авторами

Fig. 2. The total number of C/D snoRNA in K562 and HL – 60 cell lines (in control and after irradiation at 1 hour, 4 and 24 hours).

Notes: A – amount by cell lines, B – comparison between cell lines; created by the authors

11, 14, 16, 17, 20, 22-й хромосоме после облучения через 24 ч экспрессирующихся C/D мРНК стало больше в клеточной линии K562. Статистически значимые отличия получены в основном при сравнении групп после 24 ч облучения с группами через 1 ч облучения внутри клеточных линий, а также в 7, 8, 9, 14, 15, 17, 19, 20, 22-й хромосоме между клеточными линиями в основном через 4 и 24 ч.

На рис. 2 показаны изменения в общем количестве C/D мРНК после облучения через 1, 4 и 24 ч. У клеточной линии K562 в контроле (рис. 3А) количество C/D мРНК не меняется в течение всего времени, а после облучения разница с контролем небольшая: в контроле через 24 ч – 133 C/D мРНК, а через 24 ч после облучения – 121 C/D мРНК. В клеточной линии HL-60 на этом же рисунке мы наблюдаем уменьшение C/D мРНК как в контроле (на 41), так и после облучения (на 43) через 24 ч по сравнению с количеством C/D мРНК через 1 и 4 ч. На рис. 2Б показано общее количество C/D мРНК в обеих исследуемых клеточных линиях в контроле и после облучения. Как в контроле, так и после облучения через 1 и 4 ч общее количество C/D мРНК практически не меняется, через 24 ч она снижается на 30 % в контроле и на 33 % после облучения. Данное снижение количества C/D мРНК происходит за счет клеточной линии HL-60. Несмотря на то, что количество экспрессирующихся C/D мРНК в данной клеточной линии изначально больше, но с течением времени оно меняется как в контроле через 24 ч, так и после облучения через 24 ч.

На рис. 3 представлены графики разброса значений $\log_2 fc$ всех экспрессирующихся C/D мРНК в клеточных линиях HL-60 и K562, распределенных в соответствии с их локализацией в хромосомах, после облучения в дозе 4 Гр через 1, 4 и 24 ч. Через 1 ч (рис. 3А) после облучения в культуре K562 отмечается разброс $\log_2 fc$ в диапазоне от -1,75 до +2. При этом особо выделяется положительная

экспрессия C/D мРНК в 6 (max $\log_2 fc = 1,4$) и 17-й (max $\log_2 fc = 2$) хромосоме и отрицательная в 2, 11 и 19-й хромосоме (min $\log_2 fc = -1,75$; -1,25 и -1,5, соответственно). Другая картина наблюдается в культуре HL-60 (рис. 3Б). Здесь значения $\log_2 fc$ варьируются в диапазоне от -0,7 до 2. Положительная экспрессия C/D мРНК наблюдается в хромосомах 3, 15 и 17 (max $\log_2 fc = 1,9$; 2 и 1,5, соответственно). Однако в половине хромосом фиксируется незначительная отрицательная экспрессия C/D мРНК.

Через 4 ч после облучения (рис. 3В) в культуре K562 наблюдается разброс $\log_2 fc$ в диапазоне от -2 до +3,5. Положительная экспрессия C/D мРНК наблюдается в большинстве хромосом, однако фиксируется отрицательный $\log_2 fc$ (в пределах от -1 до -2) для хромосом 2, 5, 11 и 19. Для культуры HL-60 (рис. 3Г) характерна другая картина, диапазон разбросов $\log_2 fc$ от -1,2 до +2,2. Положительная и/или отрицательная экспрессия C/D мРНК наблюдается во всех хромосомах (большинство значений в диапазоне от -0,5 до +0,7), кроме 10, 13, 16, 18 и 21-й. Отдельно стоит отметить 15-ю хромосому, в которой экспрессия отдельных C/D мРНК варьирует от минимального до максимального значения для всех групп в целом.

После облучения через 24 ч (рис. 3Д) в обеих культурах наблюдается противоположная картина. Если в культуре K562 можно увидеть в большинстве хромосом экспрессию C/D мРНК с отрицательным $\log_2 fc$ (min $\log_2 fc = -3$), то в культуре HL-60 (рис. 3Е) в большинстве хромосом положительная экспрессия и $\log_2 fc$ (max $\log_2 fc = +3,2$). При этом особо выделяется отрицательная экспрессия C/D мРНК в хромосомах 3, 9, 12 и 19 в культуре K562 и положительная экспрессия C/D мРНК в 3, 15 и 17-й в культуре HL-60.

Таким образом, при анализе изменения $\log_2 fc$ всех экспрессирующихся C/D мРНК после облучения дозой 4 Гр, в течение 1, 4 и 24 ч в культуре

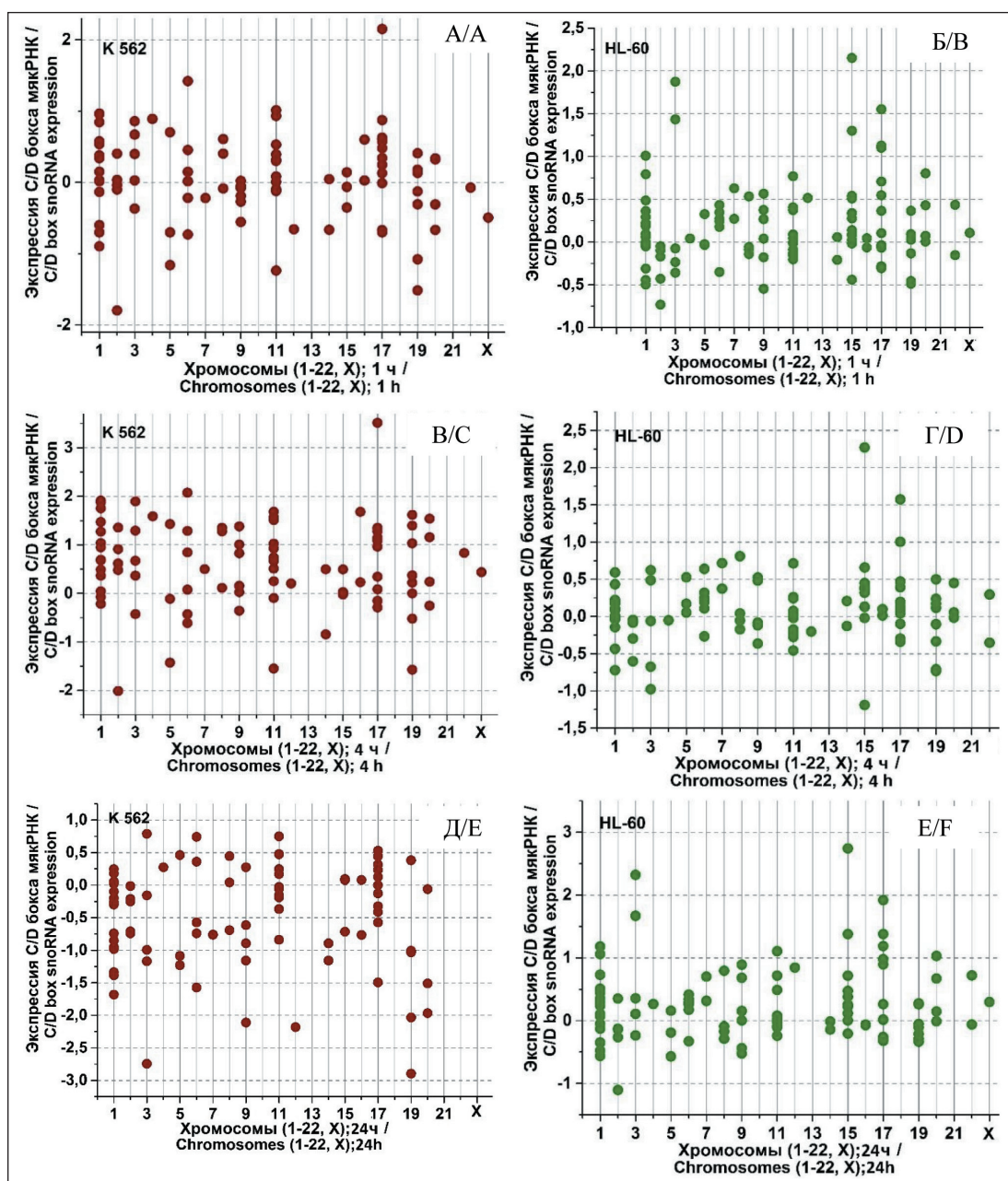


Рис. 3. Log2FC дифференциально экспрессирующихся C/D мякРНК через 1, 4 и 24 ч после облучения в дозе 4Гр в K562 и HL-60 клеточных линиях, в каждой хромосоме. Величину экспрессии C/D мякРНК выражали через log2 отношения нормализованной экспрессии мякРНК в опыте к аналогичному показателю в контроле (log2fc). Примечания: ось абсцисс – номер хромосом; ось ординат – экспрессия бокса C/Dмяк РНК после облучения, через 1, 4 и 24 ч; рисунок выполнен авторами

Fig. 3. Log2FC differentially expressed C/D snoRNA 1, 4 and 24 hours after irradiation at a dose of 4Gr in K562 and HL-60 cell lines, in each chromosome. The C/D snoRNA expression was determined by log2 ratio between the normalized snoRNA expression in the experiment and that in the control (log2fc). Notes: abscissa axis is a chromosome number; ordinate axis – expression of C/Dbox snoRNA 1 hour, 4 and 24 hours after irradiation; created by the authors

К562 можно отметить увеличение экспрессии C/D мякРНК в 6 и 17-й хромосоме и уменьшение во 2, 5, 11 и 19-й хромосоме через 1 ч, с последующим сохранением данных показателей через 4 ч и значительным снижением экспрессии C/D мякРНК в большинстве хромосом через 24 ч. В культуре HL-60 в первый час после облучения отмечается увеличение экспрессии C/D мякРНК в 3, 15 и 17-й хромосоме с частичным сохранением показателей в 15 и 17-й хромосоме и снижением экспрессии

отдельных C/D мякРНК в 3 и 17-й хромосоме через 4 ч. Однако через 24 ч картина возвращается к первоначальному виду.

На рис. 4 представлена экспрессия отдельных C/D мякРНК, выраженная через log2FC к контролю. Здесь были выбраны хромосомы для сравнения с разным уровнем хромосомных aberrаций в исследуемых клеточных линиях. В 3, 6 и 11-й хромосоме наблюдалась экспрессия одинаковых C/D мякРНК в обеих клеточных линиях, но с раз-

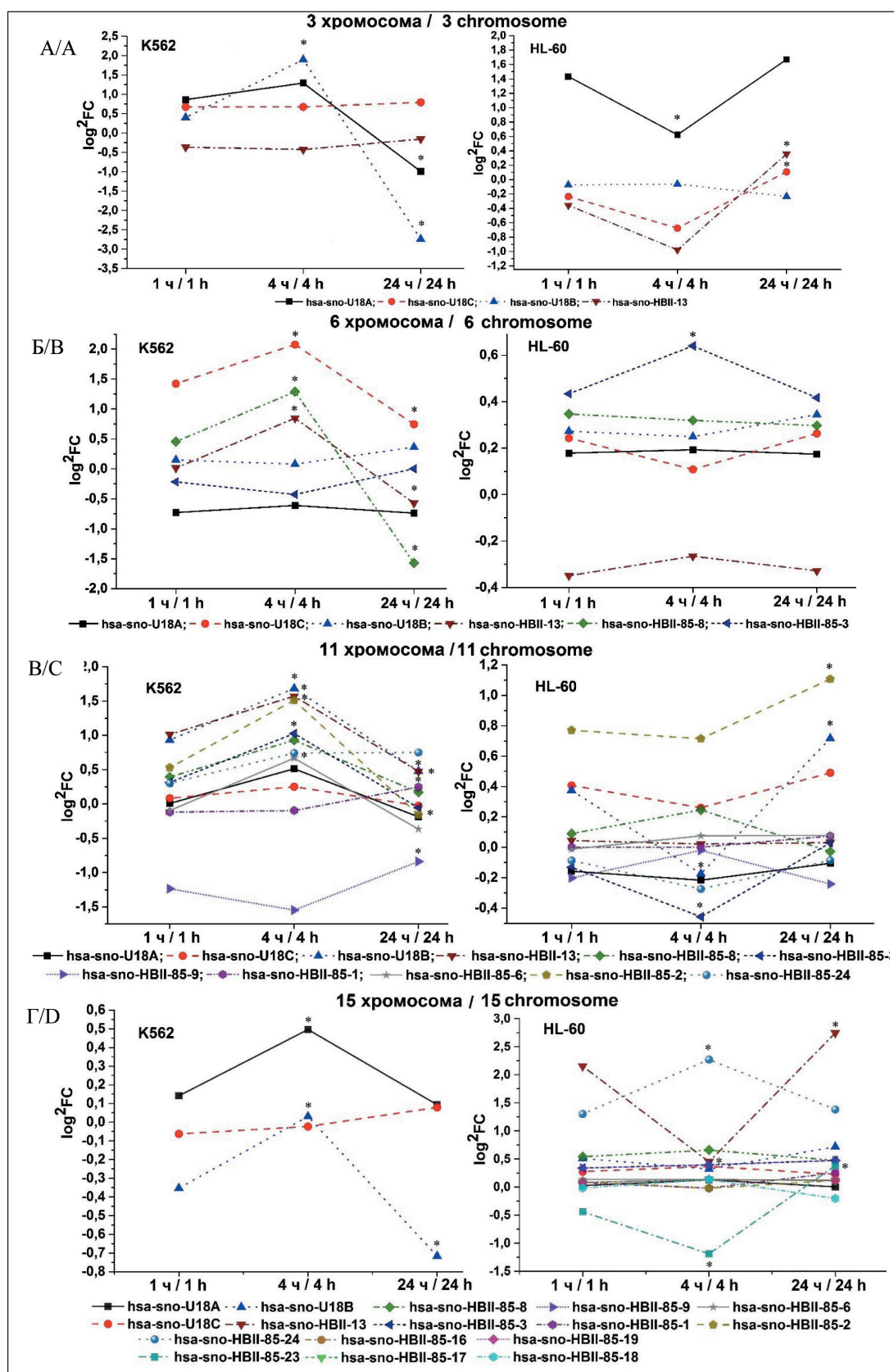


Рис. 4. Log2FC C/D мякРНК в 3, 6, 11 и 15-й хромосоме в K562 и HL-60 клеточных линиях (* – $p < 0,05$ при сравнении с группой через 1 ч после облучения). Примечания: ось абсцисс – время после облучения (1, 4 и 24 ч); ось ординат – значения Log2FC C/D мякРНК после облучения; рисунок выполнен авторами

Fig. 4. Log2FC C/D snoRNA in the 3rd, 6th, 11th and 15th chromosomes in K562 and HL-60 cell lines (* – $p < 0.05$ when compared with control groups without irradiation, # – $p < 0.05$ when comparing expression between K562 and HL-60 cell lines). Notes: abscissa axis – time after irradiation (1, 4 and 24 hours); ordinate axis – Log2FC C/D values of snoRNA after irradiation; created by the authors

ными значениями $\log_2FC$. Так, в культуре K562 в 3-й хромосоме (рис. 4А) *hsa-sno-snR39B* имеет значение +0,9 в первый час с последующим снижением до -1 через 24 ч. В культуре HL-60 для *hsa-sno-snR39B* отмечается $\log_2FC$ в первый час +1,4 с последующим снижением в течение следующих часов до +0,7 и повышением до +1,7 через 24 ч после облучения. *мякРНК hsa-sno-НВІІ-142*, как и *hsa-sno-E2* в 3-й хромосоме культуры K562, не показывают значительных отклонений от первоначальных значений (для *hsa-sno-НВІІ-142* $\log_2FC$ в области +0,75, для *hsa-sno-E2* – -0,25). Однако в культуре HL-60 другая тенденция. Так, *hsa-sno-НВІІ-142* с первоначального значения $\log_2FC$ -0,2 через 1 ч после облучения снижается до -0,7 через 4 ч и снова повышается до +0,1 через 24 ч. Для *hsa-sno-E2* в культуре HL-60 зависимость аналогична более выраженной экспрессии через 24 ч. В случае с *hsa-sno-E3* картина обратная. В культуре K562 в первые 4 ч отмечаются повышение экспрессии *мякРНК* до $\log_2FC$ = +2 и резкое снижение в течение следующих 20 ч до $\log_2FC$ = -2,75. В культуре HL-60 подобного не наблюдается, и значение $\log_2FC$ сохраняется в пределах от -0,1 до -0,2 в течение всех 24 ч после облучения.

В 6-й хромосоме (рис. 4Б) особое внимание стоит уделить следующим *мякРНК*: *hsa-sno-U52*; *hsa-sno-U83*; *hsa-sno-U48* и *hsa-sno-U50B*). Так, в культуре K562 среди *hsa-sno-U52*; *hsa-sno-U83*; *hsa-sno-U48* наблюдается похожая тенденция – увеличение экспрессии в первые 4 ч с последующим снижением через 24 ч, особенно *hsa-sno-U83*, где значение $\log_2FC$ снижается с +1,25 до -1,75 за 20 ч. В культуре HL-60 подобного не отмечается, все значения $\log_2FC$ для *мякРНК* остаются в пределах первоначальных значений ($\log_2FC$ (*hsa-sno-U83*) = +0,3; $\log_2FC$ (*hsa-sno-U48*) = -0,3) за исключением *hsa-sno-U52*, где $\log_2FC$ сначала падает (+0,1), а затем возрастает через 24 ч (+0,3). Также в культуре HL-60 отмечается колебание $\log_2FC$ для *hsa-sno-U50B*: увеличение в первые 4 ч до +0,6 с последующим возвращением к первоначальному значению +0,4.

В 11-й хромосоме (рис. 4В) в культуре K562 *hsa-sno-U29*; *hsa-sno-U27*; *hsa-sno-U97*; *hsa-sno-U26*; *hsa-sno-U25*; *hsa-sno-U22*; *hsa-sno-U15B* демонстрируют похожую закономерность – увеличение в первые 4 ч с последующим снижением через 24 ч от начала облучения. $\log_2FC$ *мякРНК hsa-sno-U31*; *hsa-sno-U25*; *hsa-sno-U14B* прослеживается эта же тенденция с увеличением экспрессии через 24 ч относительно 1 ч после облучения. В культуре HL-60 экспрессия *hsa-sno-U97*; *hsa-sno-U30*; *hsa-sno-U29*; *hsa-sno-U22*; *hsa-sno-U14B* похожа, но отличается от культуры K562. В первые 4 ч после облучения отмечается снижение экспрессии с последующим увеличением (*hsa-sno-U97*; *hsa-sno-U29*; *hsa-sno-U22*) или возвратом к первоначальным значениям (*hsa-sno-U30*; *hsa-sno-U14B*) после облучения через 24 ч. При этом $\log_2FC$ *hsa-sno-U15B*; *hsa-sno-U25*;

hsa-sno-U27; *hsa-sno-U28* не претерпевает значительных колебаний после облучения в течение 24 ч, а *hsa-sno-U26* и *hsa-sno-U31* претерпевают сначала увеличение экспрессии через 4 ч, затем уменьшение через 24 ч.

В 15-й маркерной хромосоме (рис. 4Г) у K562 всего 3 *С/Д мякРНК*: *hsa-sno-U18A*; *hsa-sno-U18B* и *hsa-sno-U18C*. У *hsa-sno-U18A* и *hsa-sno-U18B* одинаково повышается экспрессия в первые 4 ч, а затем снижается через 24 ч после облучения, особенно это выражено у *hsa-sno-U18B*. В HL-60 – 16 *С/Д мякРНК*: *hsa-sno-U18A*, *hsa-sno-U18C*, *hsa-sno-U18B*, *hsa-sno-НВІІ-13*, *hsa-sno-НВІІ-85-8*, *hsa-sno-НВІІ-85-3*, *hsa-sno-НВІІ-85-9*, *hsa-sno-НВІІ-85-1*, *hsa-sno-НВІІ-85-6*, *hsa-sno-НВІІ-85-2*, *hsa-sno-НВІІ-85-24*, *hsa-sno-НВІІ-85-23*, *hsa-sno-НВІІ-85-16*. При этом у *hsa-sno-НВІІ-13* $\log_2FC$ резко падает с +2,25 до +0,5 в первые 4 ч после облучения, а затем возрастает до +2,75 через 20 ч. $\log_2FC$ *hsa-sno-U18A* также уменьшается в первые 4 ч (-1,25) и возрастает в последующие 20 ч (+0,5). $\log_2FC$ *hsa-sno-НВІІ-85-24* возрастает через 4 ч после облучения (+2,25) и возвращается к первоначальному значению через 20 ч (+1,25). Экспрессия остальных *мякРНК* остается в пределах $\log_2FC$ через 1 ч после облучения.

Обсуждение

В наших исследованиях *С/Д мякРНК* в большем количестве экспрессируется в клеточной линии HL-60, клетках с меньшим количеством геномных аномалий. Клеточная линия HL-60 обладает умеренной радиочувствительностью и небольшими геномными аномалиями [28]. В основном *мякРНК* бокс *С/Д* образует, по крайней мере, 10 пар оснований полной комплементарности, и их модификация сильно ингибируется несоответствиями внутри этой области [29]. Значит, чем больше хромосомных аномалий, тем меньше консервативных модификаций, так как меньше экспрессирующихся *С/Д мякРНК*, как в случае с K562. K562 является менее радиочувствительной и имеет 15 мутаций и 21-ю маркерную хромосому [30]. После облучения в дозе 4 Гр мы наблюдали, что количество *С/Д мякРНК* в клеточной линии K562 в контроле не меняется в течение 24 ч, а после облучения количество незначительно падает (рис. 2А). В то время как в HL-60 и в контроле, и после облучения через 24 ч число *С/Д мякРНК* уменьшается примерно на 25 %. Можно сделать вывод, что, несмотря на одинаковое воздействие, количество положительно и отрицательно экспрессирующихся *С/Д мякРНК* после облучения разное при рассмотрении значений $\log_2FC$ в каждой хромосоме в каждой точке эксперимента.

В наших работах мы уже рассматривали влияние хромосомных нарушений на экспрессию всех *мякРНК*, включающих два основных бокса *Н/АСА* и *С/Д* [25], и влияние хромосомных аномалий на экспрессию *мякРНК* бокса *Н/АСА* [27] после

радиационного воздействия в вышеупомянутых клеточных линиях. В клеточной линии HL-60 в целом наблюдали приблизительно одинаковый разброс положительных и отрицательных значений $\log_2 fc$, можно отметить небольшое преобладание положительной экспрессии в ходе всего эксперимента, в K562 мы наблюдали переход из большего числа положительно экспрессируемых мЯКРНК через 4 ч в отрицательные значения $\log_2 fc$ через 24 ч. Похожую картину мы наблюдали и в этой работе, но в ходе эксперимента в клеточной линии HL-60 в основном была отмечена положительная экспрессия C/D мЯКРНК. Так же, как и здесь, мы наблюдали большее количество экспрессирующихся мЯКРНК в клеточной линии HL-60 и экспрессию одинаковых мЯКРНК в нормальных хромосомах. C/D мЯКРНК в большем количестве (около 70 %) экспрессируются в данных клеточных линиях, поэтому они нами были выбраны для более детального изучения в этом эксперименте. В другой своей работе [26] мы рассматривали влияние хромосомных нарушений на экспрессию микроРНК после облучения в дозе 4 Гр. В целом, как и в данном эксперименте, нами были выявлены похожие закономерности, а именно преобладание нкРНК в клеточной линии HL-60 и связь уменьшения их количества при большем наличии хромосомных aberrаций в K562. Исследования не противоречат друг другу, и так же, как и в случае с C/D мЯКРНК, мы видим как положительные, так и отрицательные значения $\log_2 FC$ в течение всего эксперимента. C/D мЯКРНК являются предшественниками микроРНК [6], которые на сегодняшний момент больше изучены в роли регуляторов онкогенов.

В настоящее время, несмотря на стремительный рост исследований C/D мЯКРНК, мало данных по влиянию их экспрессии на радиочувствительность. Но, как и с микроРНК, можно предполагать, что они на разных уровнях экспрессии при раке могут вызывать разные эффекты, такие как повышенная чувствительность к лучевой терапии либо резистент-

ность к ней, что затрудняет лечение [31]. Возможно, многие мишени в будущем можно будет объединить с лучевой терапией для изменения радиочувствительности клеток и прогноза заболевания, но при этом надо учитывать хромосомные аномалии в каждом конкретном случае. Эпигенетическая регуляция достаточно сложно устроена, и необходимо накопить данные для окончательных выводов использования C/D мЯКРНК в качестве биомаркеров.

В недавнем обзоре J.M. May et al. сообщают не только об участии некодирующих РНК в различных клеточных процессах, но и об их сложной регуляторной роли в ответ на радиационное повреждение [14]. Также в обзоре говорится о сложности экстраполяции данных после экспериментов на клеточных линиях и моделях мышей. В нашем случае мы рассматривали проблему некодирующих РНК как биомаркеров при хромосомных нарушениях. Экспрессия генов, а, следовательно, и нкРНК меняется как при генетических мутациях, делециях и дупликациях, так и при эпигенетических изменениях, без изменений последовательности ДНК [32]. Это также надо учитывать при рассмотрении нкРНК в качестве биомаркеров как опухолевых заболеваний, так и показателей радиочувствительности.

В исследованиях воздействия лучевой терапии на различные виды опухоли все большее внимание занимает персонализированная терапия. Различия в уровнях экспрессии нкРНК могут существовать как до облучения у радиорезистентных и радиочувствительных фенотипов, так и могут снова измениться во время лучевой терапии [33]. А хромосомные аномалии в то же время вносят свой вклад в изменение экспрессии нкРНК.

Заключение

Наше исследование показало невозможность использовать семейство C/D мЯКРНК в качестве маркеров радиочувствительности при хромосомных аномалиях.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Coley A.B., DeMeis J.D., Chaudhary N.Y., Borchert G.M. Small Nucleolar Derived RNAs as Regulators of Human Cancer. *Biomedicines*. 2022; 10(8): 1819. doi: 10.3390/biomedicines10081819.
2. Maxwell E.S., Fournier M.J. The Small Nucleolar RNAs. *Ann. Rev. Biochem.* 1995; 64(1): 897–934. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.004341.
3. Terns M.P., Terns R.M. Small nucleolar RNAs: versatile trans-acting molecules of ancient evolutionary origin. *Gene Expr.* 2002; 10(1–2): 17–39.
4. Deschamps-Francoeur G., Couture S., Abou-Elela S., Scott M.S. The snoGloBe interaction predictor reveals a broad spectrum of C/D snoRNA RNA targets. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50(11): 6067–83. doi: 10.1093/nar/gkac475.
5. Baldini L., Charpentier B., Labialle S. Emerging Data on the Diversity of Molecular Mechanisms Involving C/D SnoRNAs. *Noncoding RNA*. 2021; 7(2): 30. doi: 10.3390/nrna7020030.
6. Ono M., Scott M.S., Yamada K., Avolio F., Barton G.J., Lamond A.I. Identification of human miRNA precursors that resemble box C/D snoRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39(9): 3879–91. doi: 10.1093/nar/gkq1355.
7. Scott M.S., Avolio F., Ono M., Lamond A.I., Barton G.J. Human MiRNA Precursors with Box H/ACA SnoRNA Features. *PLoS Comput Biol.* 2009; 5(9). doi: 10.1371/journal.pcbi.1000507.
8. Dong J., Wang H., Zhang Z., Yang L., Qian X., Qian W., Han Y., Huang H., Qian P. Small but strong: Pivotal roles and potential applications of snoRNAs in hematopoietic malignancies. *Front Oncol.* 2022; 12. doi: 10.3389/fonc.2022.939465.
9. Mei Y.P., Liao J.P., Shen J., Yu L., Liu B.L., Liu L., Li R.Y., Ji L., Dorsey S.G., Jiang Z.R., Katz R.L., Wang J.Y., Jiang F. Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis. *Oncogene*. 2012; 31(22): 2794–804. doi: 10.1038/ncr.2011.449.
10. Nachmani D., Bothmer A.H., Grisendi S., Mele A., Bothmer D., Lee J.D., Monteleone E., Cheng K., Zhang Y., Bester A.C., Guzzetti A., Mitchell C.A., Mendez L.M., Pozdnyakova O., Sportoletti P., Martelli M.P., Vulliamy T.J., Safra M., Schwartz S., Luzzatto L., Bluteau O., Soulier J., Darnell R.B., Falini B., Dokal I., Ito K., Clohessy J.G., Pandolfi P.P. Germline NPM1 mutations lead to altered rRNA 2'-O-methylation and cause dyskeratosis congenita. *Nat Genet.* 2019; 51(10): 1518–29. doi: 10.1038/s41588-019-0502-z.
11. Oliveira V., Mahajan N., Bates M.L., Tripathi C., Kim K.Q., Zaher H.S., Maggi L.B. Jr, Tomasson M.H. The snoRNA target of t(4;14) in multiple myeloma regulates ribosome biogenesis. *FASEB Bioadv.* 2019; 1(7): 404–14. doi: 10.1096/fba.2018-00075.
12. Ronchetti D., Todoerti K., Tuana G., Agnelli L., Mosca L., Lionetti M., Fabris S., Colapietro P., Miozzo M., Ferrarini M., Tassone P., Neri A. The expression pattern of small nucleolar and small Cajal body-

specific RNAs characterizes distinct molecular subtypes of multiple myeloma. *Blood Cancer J.* 2012; 2(11). doi: 10.1038/bcj.2012.41.

13. Zhou F., Liu Y., Rohde C., Pauli C., Gerloff D., Köhn M., Misiak D., Bäumer N., Cui C., Göllner S., Oellerich T., Serve H., Garcia-Cuellar M.P., Slany R., Maciejewski J.P., Przychodzen B., Seliger B., Klein H.U., Bartenhagen C., Berdel W.E., Dugas M., Taketo M.M., Farouq D., Schwartz S., Regev A., Hébert J., Sauvageau G., Pabst C., Hüttelmaier S., Müller-Tidow C. AML1-ETO requires enhanced C/D box snoRNA/RNP formation to induce self-renewal and leukaemia. *Nat Cell Biol.* 2017; 19(7): 844–55. doi: 10.1038/ncb3563.

14. May J.M., Bylicky M., Chopra S., Coleman C.N., Aryankalayil M.J. Long and short non-coding RNA and radiation response: a review. *Transl Res.* 2021; 233: 162–79. doi: 10.1016/j.trsl.2021.02.005.

15. Li Y., Ma X., Li J., He S., Zhuang J., Wang G., Ye Y., Xia W. LncRNA Gas5 Regulates Granulosa Cell Apoptosis and Viability Following Radiation by X-Ray via Sponging MiR-205-5p and Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway in Granulosa Cell Tumor of Ovary. *Trop J Pharm Res.* 2020; 19(6): 1153–59.

16. Gao J., Liu L., Li G., Cai M., Tan C., Han X., Han L. LncRNA GAS5 confers the radio sensitivity of cervical cancer cells via regulating miR-106b/IER3 axis. *Int J Biol Macromol.* 2019; 126: 994–1001. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.176.

17. Weidhaas J.B., Babar I., Nallur S.M., Trang P., Roush S., Boehm M., Gillespie E., Slack F.J. MicroRNAs as potential agents to alter resistance to cytotoxic anticancer therapy. *Cancer Res.* 2007; 67(23): 11111–16. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2858.

18. Zhang H., Fang C., Feng Z., Xia T., Lu L., Luo M., Chen Y., Liu Y. and Li Y. The Role of LncRNAs in the Regulation of Radiotherapy Sensitivity in Cervical Cancer. *Front. Oncol.* 2022; 12. doi: 10.3389/fonc.2022.896840.

19. Ebahimzadeh K., Shoorei H., Mousavinejad S.A., Anamag F.T., Dinger M.E., Taheri M., Ghafouri-Fard S. Emerging role of non-coding RNAs in response of cancer cells to radiotherapy. *Pathol Res Pract.* 2021; 218. doi: 10.1016/j.prp.2020.153327.

20. Xiao J., He X. Involvement of Non-Coding RNAs in Chemo- and Radioresistance of Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Manag Res.* 2021; 13: 8781–94. doi: 10.2147/CMAR.S336265.

21. Tian Y., Tang L., Yi P., Pan Q., Han Y., Shi Y., Rao S., Tan S., Xia L., Lin J., Oyang L., Tang Y., Liang J., Luo X., Liao Q., Wang H., Zhou Y. MiRNAs in Radiotherapy Resistance of Nasopharyngeal Carcinoma. *J Cancer.* 2020; 11(13): 3976–85. doi: 10.7150/jca.42734.

22. Masoudi-Khoram N., Abdolmaleki P. Role of non-coding RNAs in response of breast cancer to radiation therapy. *Mol Biol Rep.* 2022; 49(6): 5199–208. doi: 10.1007/s11033-022-07234-2.

23. Li Z., Wang F., Zhu Y., Guo T., Lin M. Long Noncoding RNAs Regulate the Radioresistance of Breast Cancer. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2021. doi: 10.1155/2021/9005073.

24. Zhang S., Wang B., Xiao H., Dong J., Li Y., Zhu C., Jin Y., Li H., Cui M., Fan S. LncRNA HOTAIR enhances breast cancer radioresistance

through facilitating HSPA1A expression via sequestering miR-449b-5p. *Thorac Cancer.* 2020; 11(7): 1801–16. doi: 10.1111/1759-7714.13450.

25. Rastorgueva E., Liamina D., Panchenko I., Iurova E., Beloborodov E., Pogodina E., Sugak D., Slesarev S., Saenko Y. The effect of chromosome abnormalities on expression of SnoRNA in radioresistant and radiosensitive cell lines after irradiation. *Cancer Biomark.* 2022; 34(4): 545–53. doi: 10.3233/CBM-210092.

26. Liamina D., Sibirnyj W., Khokhlova A., Saenko V., Rastorgueva E., Fomin A., Saenko Y. Radiation-Induced Changes of microRNA Expression Profiles in Radiosensitive and Radioresistant Leukemia Cell Lines with Different Levels of Chromosome Abnormalities. *Cancers (Basel).* 2017; 9(10): 136. doi: 10.3390/cancers9100136.

27. Расторгуева Е.В., Погодина Е.С., Юрова Е.В., Белобородов Е.А., Сугак Д.Е., Саенко Ю.В., Фомин А.Н. Экспрессия H/ACA мякРНК в клеточных линиях с хромосомными нарушениями после облучения. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2022; (4): 149–59. [Rastorgueva E.V., Pogodina E.S., Yurova E.V., Beloborodov E.A., Sugak D.E., Saenko Yu.V., Fomin A.N. Expression of H/ACA snoRna in cell lines with chromosomal abnormalities after irradiation. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal.* 2022; (4): 149–59. (in Russian)]. doi: 10.34014/2227-1848-2022-4-149-159.

28. Liang J.C., Ning Y., Wang R.Y., Padilla-Nash H.M., Schröck E., Soenksen D., Nagarajan L., Ried T. Spectral karyotypic study of the HL-60 cell line: detection of complex rearrangements involving chromosomes 5, 7, and 16 and delineation of critical region of deletion on 5q31.1. *Cancer Genet Cytogenet.* 1999; 113(2): 105–9. doi: 10.1016/s0165-4608(99)00030-8.

29. Lafontaine D.L., Tollervey D. Birth of the snoRNPs: the evolution of the modification-guide snoRNAs. *Trends Biochem Sci.* 1998; 23(10): 383–8. doi: 10.1016/s0968-0004(98)01260-2.

30. Naumann S., Reutzel D., Speicher M., Decker H.J. Complete karyotype characterization of the K562 cell line by combined application of G-banding, multiplex-fluorescence in situ hybridization, fluorescence in situ hybridization, and comparative genomic hybridization. *Leuk Res.* 2001; 25(4): 313–22. doi: 10.1016/s0145-2126(00)00125-9.

31. Wang Y., Han Y., Jin Y., He Q., Wang Z. The Advances in Epigenetics for Cancer Radiotherapy. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(10): 5654. doi: 10.3390/ijms23105654.

32. Brooks W.H., Renaudineau Y. Epigenetics and autoimmune diseases: the X chromosome-nucleolus nexus. *Front Genet.* 2015; 6: 22. doi: 10.3389/fgene.2015.00022.

33. Peitzsch C., Cojoc M., Hein L., Kurth I., Mäbert K., Trautmann F., Klink B., Schröck E., Wirth M.P., Krause M., Stakhovsky E.A., Telegeev G.D., Novotny V., Toma M., Muders M., Baretton G.B., Frame F.M., Maitland N.J., Baumann M., Dubrovskaya A. An Epigenetic Reprogramming Strategy to Resensitize Radioresistant Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* 2016; 76(9): 2637–51. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2116.

Поступила/Received 30.05.2023
Одобрена после рецензирования/Revised 06.11.2024
Принята к публикации/Accepted 16.12.2024

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Расторгуева Евгения Владимировна, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 7879-3340. Researcher ID (WOS): F-9859-2019. Author ID (Scopus): 36137821200. ORCID: 0000-0003-1518-4677.

Погодина Евгения Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 7938-9338. Researcher ID (WOS): E-9244-2014. Author ID (Scopus): 57194655594. ORCID: 0000-0001-8183-5103.

Юрова Елена Валерьевна, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 4779-1136. Researcher ID (WOS): D-6956-2017. Author ID (Scopus): 57219328888. ORCID: 0000-0001-7484-2671.

Белобородов Евгений Алексеевич, аспирант, научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 6406-0513. Researcher ID (WOS): E-8072-2017. Author ID (Scopus): 57194654215. ORCID: 0000-0002-5666-5154.

Сугак Дмитрий Евгеньевич, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 5171-5159. ORCID: 0000-0002-3276-8976.

Тумозов Иван Андреевич, стажер-исследователь, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 3569-8723. ORCID: 0009-0002-6107-9261.

Саенко Юрий Владимирович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). SPIN-код: 5831-0291. Researcher ID (WOS): D-9789-2014. Author ID (Scopus): 10440760400. ORCID: 0000-0002-4402-1482.

Фомин Александр Николаевич, кандидат технических наук, директор, старший научный сотрудник, Научно-исследовательский технологический институт им. С.П. Капицы, ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (г. Ульяновск, Россия). Author ID (Scopus): 56973686300. ORCID: 0000-0003-0826-1857.

ВКЛАД АВТОРОВ

Расторгуева Евгения Владимировна: написание и редактирование текста статьи, анализ полученных данных.
Погодина Евгения Сергеевна: редактирование текста статьи.
Юрова Елена Валерьевна: редактирование текста статьи.
Белобородов Евгений Алексеевич: редактирование текста статьи.
Сугак Дмитрий Евгеньевич: анализ полученных данных.
Тумозов Иван Андреевич: анализ полученных данных.
Саенко Юрий Владимирович: написание и редактирование текста статьи, доработка важного интеллектуального контента.
Фомин Александр Николаевич: анализ полученных данных.
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
Данное исследование было профинансировано Министерством высшего образования и науки Российской Федерации, грант № 123020700216-4 (FEUF-2023-0004).
Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Evgenia V. Rastorgueva, Junior Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): F-9859-2019. Author ID (Scopus): 36137821200. ORCID: 0000-0003-1518-4677.
Evgenia S. Pogodina, PhD, Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-9244-2014. Author ID (Scopus): 57194655594. ORCID: 0000-0001-8183-5103.
Elena V. Iurova, Junior Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-6956-2017. Author ID (Scopus): 57219328888. ORCID: 0000-0001-7484-2671.
Evgeniy A. Beloborodov, Postgraduate, Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): E-8072-2017. Author ID (Scopus): 57194654215. ORCID: 0000-0002-5666-5154.
Dmitry E. Sugak, Junior Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0000-0002-3276-8976.
Ivan A. Tumorov, Research Intern, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). ORCID: 0009-0002-6107-9261.
Yuri V. Saenko, DSc, Professor, Leading Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-9789-2014. Author ID (Scopus): 10440760400. ORCID: 0000-0002-4402-1482.
Alexander N. Fomin, PhD, Director, Senior Researcher, S.P. Kapitsa National Research Institute of Technology, Ulyanovsk State University (Ulyanovsk, Russia). Author ID (Scopus): 56973686300. ORCID: 0000-0003-0826-1857.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Evgenia V. Rastorgueva: writing and editing of the manuscript, analysis of the data obtained.
Evgenia S. Pogodina: editing of the manuscript.
Elena V. Iurova: editing of the manuscript.
Evgeniy A. Beloborodov: editing of the manuscript.
Dmitry E. Sugak: analysis of the data obtained.
Ivan A. Tumorov: analysis of the data obtained.
Yuri V. Saenko: writing and editing of the manuscript, finalizing important intellectual content.
Alexander N. Fomin: analysis of the data obtained.
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
This study was funded by the Ministry of Higher Education and Science of the Russian Federation, grant No. 123020700216-4 (FEUF-2023-0004).
Conflict of interests
The authors declare that they have no conflict of interest.