

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Столяр М.А.¹, Горбенко А.С.¹, Бахтина В.И.^{2,3}, Мартынова Е.В.², Москов В.И.², Михалёв М.А.⁴, Ольховик Т.И.⁴, Хазиева А.С.², Ольховский И.А.^{1,5}

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ МИКРОРНК miR-155 В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ И Rh-НЕГАТИВНЫМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

¹ Красноярский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава РФ, 660036, Красноярск, Россия;

² КГБУЗ Краевая клиническая больница, 660022, Красноярск, Россия;

³ ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава РФ, 660022, Красноярск, Россия;

⁴ КГБУЗ Красноярская межрайонная клиническая больница №7, 660003, Красноярск, Россия;

⁵ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный Центр Сибирского отделения РАН», 660036, Красноярск, Россия

МикроРНК miR-155 участвует в различных физиологических процессах в клетке, включая кроветворение, иммунитет, воспаление и дифференцировку. Повышенная экспрессия miR-155 наблюдается при многих злокачественных заболеваниях, в том числе при лимфомах, остром миелолейкозе и ХЛЛ. Однако до сих пор сравнительное исследование экспрессии miR-155 в лейкоцитах крови у пациентов с хроническими миело- и лимфопролиферативными заболеваниями не проводилось.

Цель: исследовать экспрессию микроРНК miR-155 в клетках крови пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) и Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями (ХМН). Проведено исследование экспрессии miR-155 в лейкоцитах крови 28 пациентов с В-ХЛЛ, 52 пациентов с ХМН и 51 донора методом количественной ПЦР в режиме «реального времени». В результате исследования выявлено увеличение miR-155 в лейкоцитах крови как у пациентов с ХЛЛ, так и у пациентов с ХМН по сравнению с группой контроля. В соответствии с результатами ROC-анализа, чувствительность и специфичность тестирования лейкоцитов крови на miR-155 составили 81,8% и 78,4% для ХЛЛ и 55,1% и 82,4% для ХМН соответственно. У пациентов с ХЛЛ, получающих терапию, уровень miR-155 был значительно ниже по сравнению с теми, кто не получал терапию, однако интерферонотерапия не влияла на уровень miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХМН. Полученные данные подтверждают участие miR-155 в патогенезе хронических миело- и лимфо-пролиферативных заболеваний и позволяют предположить возможность использования теста miR-155 для оценки эффективности терапии ХЛЛ.

Ключевые слова: микроРНК miR-155; хронический лимфоцитарный лейкоз; хронические миелопролиферативные новообразования.

Для цитирования: Столяр М.А., Горбенко А.С., Бахтина В.И., Мартынова Е.В., Москов В.И., Михалёв М.А., Ольховик Т.И., Хазиева А.С., Ольховский И.А. Исследование уровня микроРНК miR-155 в крови пациентов с хроническим лимфолейкозом и Rh-негативными миелопролиферативными новообразованиями. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (4): 258-264. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264>

Stolyar M.A.¹, Gorbenco A.S.¹, Bakhtina V.I.^{2,3}, Martynova E.V.², Moskov V.I.², Mikhalev M.A.⁴, Olkhovik T.I.⁴, Haziyeva A.S.², Olkhovskiy I.A.^{1,5}

INVESTIGATION OF MIR-155 LEVEL IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA AND Rh-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

¹Krasnoyarsk branch of the «National Research Center for Hematology» Department of Health, Krasnoyarsk, Russian Federation;

² Krasnoyarsk regional clinic Hospital, Krasnoyarsk, Russian Federation;

³Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Vojno-Yasenytsky, Krasnoyarsk, Russian Federation;

⁴Krasnoyarsk city clinical Hospital №7, Krasnoyarsk, Russian Federation;

⁵Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

MiR-155 is involved in various physiological processes in the cell, including hematopoiesis, immunity, inflammation and differentiation. Increased expression of miR-155 is observed in many malignant diseases, including lymphomas, acute myeloid leukemia and CLL. However, a comparative study of the miR-155 expression in the blood leukocytes in patients with chronic myeloid and lymphoproliferative diseases has not yet been carried out. To investigate the expression of miR-155 in the blood cells

Для корреспонденции: Ольховский Игорь Алексеевич, канд. мед. наук, доц. Красноярского филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава РФ, ст. науч. сотр. ФГБУН «Красноярский научный центр» СО РАН, e-mail: krashemcenter@mail.ru

of patients with lympho- and ph-negative myeloproliferative neoplasms. MiR-155 expression were studied in the blood leukocytes of 28 patients with B-CLL, 52 patients with MPN and 51 donors by "real time" PCR method. The study revealed an increase in miR-155 in blood leukocytes in both patients with CLL and patients with MPN compared with the control group. In accordance with the results of the ROC analysis, the sensitivity and specificity of blood leukocytes testing on miR-155 expression level was 81.8% and 78.4%, respectively, for CLL and 55.1% and 82.4%, respectively, for MPN. At the same time, in patients with CLL who received therapy, the level of miR-155 was significantly lower compared with those who did not receive therapy. Thus, the involvement of miR-155 in the pathogenesis of chronic myeloid and lymphoproliferative diseases was demonstrated.

Key words: miR-155; chronic lymphocytic leukemia; chronic myeloproliferative neoplasms.

For citation: Stolyar M.A., Gorbenko A.S., Bakhtina V.I., Martynova E.V., Moskov V.I., Mikhalev M.A., Olkhovik T.I., Hazieva A.S., Olkhovskiy I.A. Investigation of miR-155 level in the blood of patients with chronic lymphocytic leukemia and Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (4): 258-264. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-4-258-264>

For correspondence: Olkhovskiy I.A., PhD, docent, director of Krasnoyarsk branch of the «National Research Center for Hematology» Department of Health, research fellow of the Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS; e-mail: krashemcenter@mail.ru

Information about authors:

Stolyar M.A., <http://orcid.org/0000-0002-8037-9844>;

Gorbenko A.S., <http://orcid.org/0000-0001-8756-2660>;

Mikhalev M.A., <https://orcid.org/0000-0003-3769-3405>;

Olkhovik T.I., <https://orcid.org/0000-0002-4526-1920>;

Khazieva A.S., <https://orcid.org/0000-0001-7525-6981>;

Olkhovskiy I.A., <http://orcid.org/0000-0003-2311-2219>

Acknowledgment. The present study was conducted in the framework of the research initiative "Study of the diagnostic value of miR-155 miRNA and its association with the level of mRNA HIF 1a and 2a in the blood cells of patients with CLL, CML and Ph-negative myeloproliferative neoplasms No. AAAA-A18-118031390161-0".

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 14.01.2020
Accepted 27.01.2020

Введение. МикроРНК представляют собой некодирующие синтез белка молекулы РНК длиной не более 20-22 нуклеотидов. В большинстве случаев микроРНК взаимодействуют с 3'- или 5'-нетранслируемыми областями мРНК-мишеней для подавления или активации экспрессии генов. Известно также о взаимодействии микроРНК с другими областями генома, включая также ДНК последовательности промоторов отдельных генов [1].

Многочисленные исследования выявили важную роль микроРНК в регуляции различных ключевых биологических процессов, таких как пролиферация и дифференцировка клеток, эмбриогенез, метаболизм, органогенез, апоптоз, онкогенез и т.д. Внеклеточные (циркулирующие) и внутриклеточные микроРНК широко известны также и как потенциальные биомаркеры при различных заболеваниях [2,3]. Показано, что микроРНК играют исключительно важную роль на каждом этапе гемопозеза [4]. МикроРНК вовлечены в патогенез различных злокачественных новообразований, где они могут функционировать как онкогены, способствуя возникновению и прогрессированию опухоли, или как опухолевые супрессоры, предотвращая онкогенез.

На сегодняшний день miR-155 – хорошо охарактеризованная микроРНК иммунной системы, один из ключевых элементов тонкой настройки воспалительного ответа [5]. Дезрегуляция miR-155 вовлечена в канцерогенез при развитии лимфом, воздействуя на пролиферацию и выживание опухолевых клеток [6]. На мышиных моделях показано, что нарушение регуляции miR-155 в В-лимфоцитах ассоциировано с развитием острого лимфобластного лейкоза и экспериментальных лимфом [7]. Также известно, что miR-155 в миелоидных клетках участвует в патогенезе миелопролиферативных заболеваний [8].

Вместе с тем, данные по оценке диагностического значения miR-155 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями весьма противоречивы. В ряде исследований показано, что уровень miR-155 был значительно увеличен в клетках крови у пациентов как с ХЛЛ, так и с хроническими миелопролиферативными новообразованиями (ХМН) по сравнению с группой доноров [5, 9]. Однако не было выявлено однозначной связи с другим прогностическим маркером ХЛЛ – экспрессией ZAP-70 [10, 11].

Параллельное сравнительное исследование уровня микроРНК miR-155 в венозной крови у пациентов с разными вариантами онкогематологических заболеваний до настоящего времени не проводилось. Неизвестно, отражает ли уровень miR-155 в лейкоцитах крови эффективность используемой терапии.

Цель работы – исследование экспрессии микроРНК miR-155 в клетках крови пациентов с лимфо- и Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями и влияния на уровень miR-155 используемой терапии.

Материал и методы. В настоящее исследование были включены пробы крови 28 пациентов с В-ХЛЛ, 66 проб пациентов с диагнозом истинная полицитемия (ИП), 24 пробы крови пациентов с эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ) и 12 проб крови пациентов с миелофиброзом (МФ), характеристика групп представлена в табл. 1. Диагноз онкогематологического заболевания верифицировали в соответствии с клиническими рекомендациями [12, 13]. В группу контроля был включен 51 донор крови. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом, все больные подписали информированное согласие на участие в данном исследовании.

Таблица 1

Характеристика обследованных групп

Показатели	Контроль	ХЛЛ	ХМН		
			ИП	ЭТ	МФ
Количество проб	51	30	66	24	12
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{мл}$	-	48 (10-120)	8,0 (6,8-10,4)	5,5 (4,7-6,5)	5,8 (3,0-18,7)
Количество пациентов	51	28	30	13	9
Мужчины, <i>n</i> (%)	22 (43)	27 (91)	35 (52)	9 (46)	11 (83)
Возраст, годы, медиана (мин.-макс.)	23 (19-58)	60 (42-78)	53 (21-76)	52 (36-76)	67 (59-79)
Стадия заболевания по Binet, количество					
А	-	2	-	-	-
В	-	15	-	-	-
С	-	11	-	-	-
Наличие терапии на момент анализа, количество					
Интерферон- α получали	0	0	10	6	0
не получали	51	30	20	7	9
Терапия по схеме R-FC, R-B, R-L, R-CHOP, R-BAC, R-CD получали	0	16	0	0	0
не получали	51	12	30	13	9

Таблица 2

Аналитическая вариация miR-155

Параметры	miR-155			RNU6B		
	Среднее	SD	CV, %	Среднее	SD	CV, %
Сt	26,4	0,38	1,3	18,8	0,29	1,5
Относительная экспрессия	0,9	0,23	26			

Периферическую венозную кровь забирали утром натощак в вакутейнеры с ЭДТА. Выделение РНК осуществляли из лейкоцитов крови методом фенол-хлороформной экстракции с использованием микроколонок. Обратную транскрипцию проводили с использованием специфического к hsa-miR-155-5p петлевого праймера [14] в объеме реакционной смеси 25 мкл с использованием амплификатора «Терцик» в течение 30 мин при 16°C, затем 30 мин при 42°C, 5 мин при 82°C.

ПЦР в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) проводили на приборе CFX96 (BioRad). Последовательности специфических прямого и обратного праймеров использовались в соответствии с указанными в работе [12]. Последовательность TaqMan-зонда была подобрана с использованием программы Primer3. Амплификацию проводили по следующему протоколу: 95°C 5 мин, [95°C 15 с, 58°C 60 с] x 50 циклов, детекция по каналу FAM. Для нормирования результатов использовали малую ядерную РНК RNU6B. Расчет результатов амплификации осуществляли с использованием метода $\Delta\Delta C_t$. Аналитическая вариация метода составляла не более 3%. Все пробы анализировали в двух повторах в ПЦР-РВ. Стандартное отклонение между дубликатами составляло не более 0,5 значения порогового цикла.

Анализ результатов проводили с помощью программы для статистической обработки данных Statistica 12.0. Сравнение количественных значений между независимыми группами осуществляли с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни, результаты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Для анализа корреляции использовали метод Спирмена.

С целью оценки диагностических возможностей miR-155 был проведен ROC-анализ с использованием программного обеспечения MedCalc, расчет стандартной ошибки и площади под ROC-кривой (AUC) осуществляли с использованием метода DeLong с соавт.

Результаты. Для оценки аналитической вариации уровня экспрессии miR-155 в лейкоцитах проводили измерения в пробах крови трех пациентов, при этом каждая проба анализировалась в трех разных аналитических сериях.

Показатель уровня miR-155 характеризовался широкой вариацией значений как группе контроля, так и среди пациентов (см. рис. 1). При этом уровень экспрессии микроРНК miR-155 был значительно ниже в пробах крови доноров, чем у пациентов с ИП, ЭТ и ХЛЛ (см. рис. 1), у пациентов с МФ наблюдалась тенденция к его повышению ($p=0,06$). Выявлено также, что уровень miR-155 был значимо ниже у пациентов с ИП, чем у пациентов с ХЛЛ ($p < 0,05$), хотя в целом, отличий между группами пациентов с ХМН и ХЛЛ не наблюдалось. При этом уровень miR-155 у пациентов в ремиссии после стандартных циклов химиотерапии ХЛЛ не отличался от уровня, характерного для контрольной группы (см. рис. 1).

У пациентов с ХМН, получающих на момент обследования препараты интерферона, лейкоцитарный уровень miR-155 не отличался от уровня у пациентов, не получающих интерферон.

Вместе с тем, мы не обнаружили значимой корреляции между уровнем miR-155 и количеством циркулирующих лимфоцитов крови ($r=0,2$, $p > 0,05$). Не было

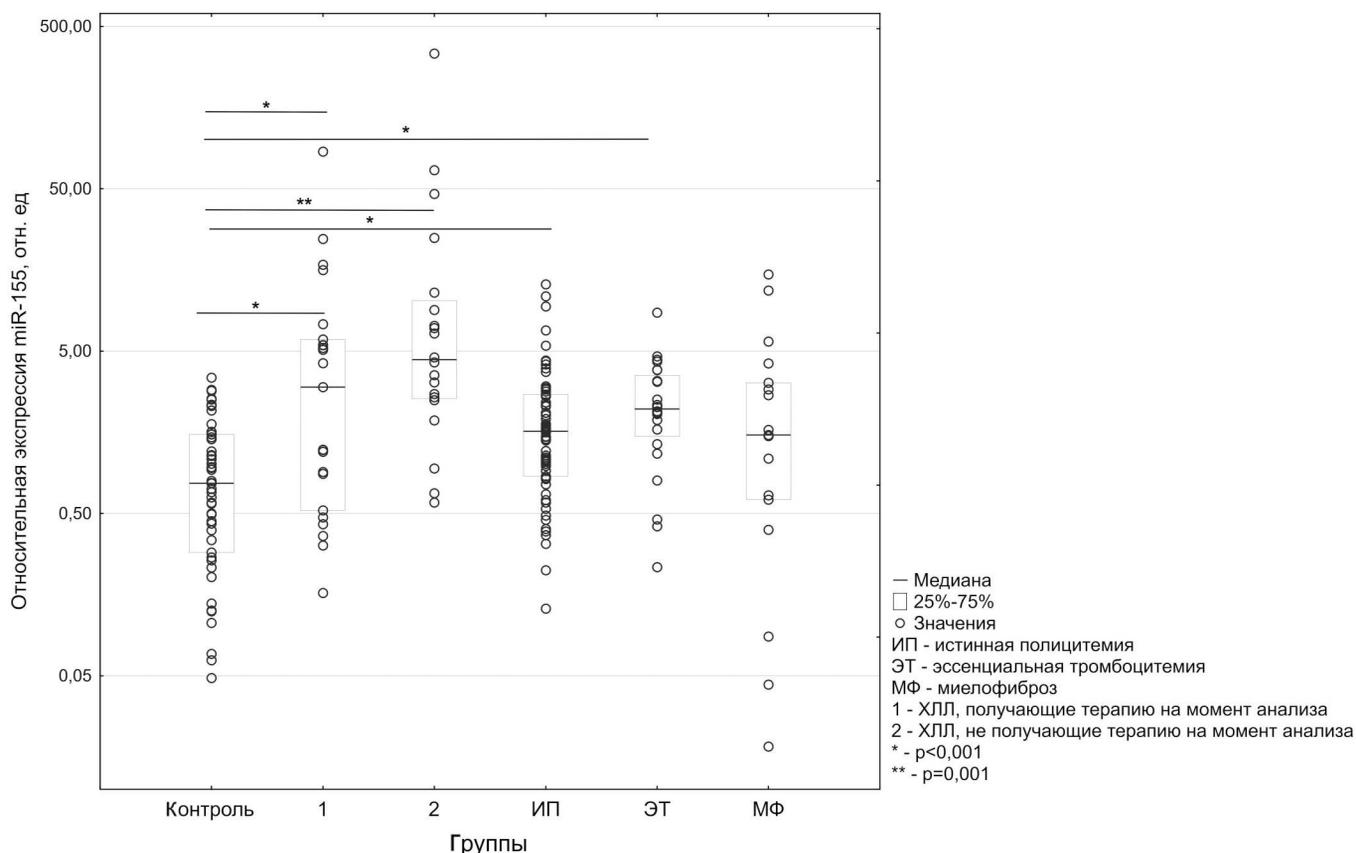


Рис. 1. Относительная экспрессия микроРНК miR-155 у пациентов клинических групп и группы контроля.

обнаружено также какой-либо значимой связи с полом и возрастом обследованных лиц. Не было обнаружено ассоциации уровня лейкоцитарной miR-155 с мутацией JAK2 V617F в группах пациентов с ХМН.

Для определения возможного диагностического потенциала лейкоцитарной miR-155 был проведен ROC-анализ, в результате которого для диагноза ХЛЛ было получено значение AUC=0,85 (95% доверительный интервал (95% ДИ) = 59,7-94,8, $p < 0,001$), диагностическая чувствительность и специфичность теста составили 81,8% и 78,4% соответственно и достигались при пороговом уровне miR-155 равном 1,53 отн. ед. (см. рис. 2,а). Для диагностики ХМН значение AUC составило 0,73 (95% ДИ = 45,2-64,8, $p < 0,001$), диагностическая чувствительность и специфичность теста составили 55,1% и 82,4% соответственно и достигались при пороговом уровне miR-155 равном 1,59 отн. ед. (см. рис. 2,б). В случае расчета неспецифического диагностического потенциала для хронического клонального заболевания крови (ХЛЛ или ХМН) в сравнении с донорами чувствительность теста определения miR-155 составила 58,9%, специфичность 82,4% (AUC-0,748, 95% ДИ = 67,8-80,9, $p < 0,001$) (см. рис. 2,в).

Обсуждение. В условиях нормального кроветворения микроРНК miR-155 участвует в регуляции дифференцировки предшественников миелопоэза, а также соотношения отдельных субтипов Т- и В- лимфоцитов. Повышенный уровень miR-155 обнаружен в активированных Т- и В- клетках и в моноцитах [15]. Кроме того,

miR-155 регулирует дифференцировку Т-хелперов, влияя на регуляцию секреции цитокинов Th1/Th2 профиля [16]. Поэтому вполне закономерно что экспрессия микроРНК miR-155 изменяется при злокачественных гематологических опухолях, включая диффузную лимфому Ходжкина, В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому, острый миелоидный лейкоз, острый и хронический лимфобластный лейкозы и миелодиспластический синдром, что делает её перспективным биологическим маркером злокачественных новообразований [17].

В связи с этим, изучаются возможности применения теста на miR-155 в клинической лабораторной диагностике. Показано, что miR-155 экспрессируется как в клетках-предшественниках гемопоэза, так и в зрелых клетках периферической крови (моноцитах, лимфоцитах, гранулоцитах) [18]. В работе H.Bruchova и соавт. [19] была обнаружена сходная экспрессия miR-155 в эритроцитах, лимфоцитах, гранулоцитах и тромбоцитах, в то время как самый высокий её уровень наблюдался в CD34⁺ клетках.

В табл. 2 показано, что аналитическая вариация miR-155 в лейкоцитах не превышала 26%. Таким образом, сдвиги уровня экспрессии miR-155 в пробах выше этого значения не будет считаться аналитической ошибкой.

В настоящем исследовании не выявлено зависимости уровня экспрессии miR-155 в лейкоцитах периферической крови от пола или возраста, что согласуется с данными, представленными в мета-анализе Lu Tang и соавт.

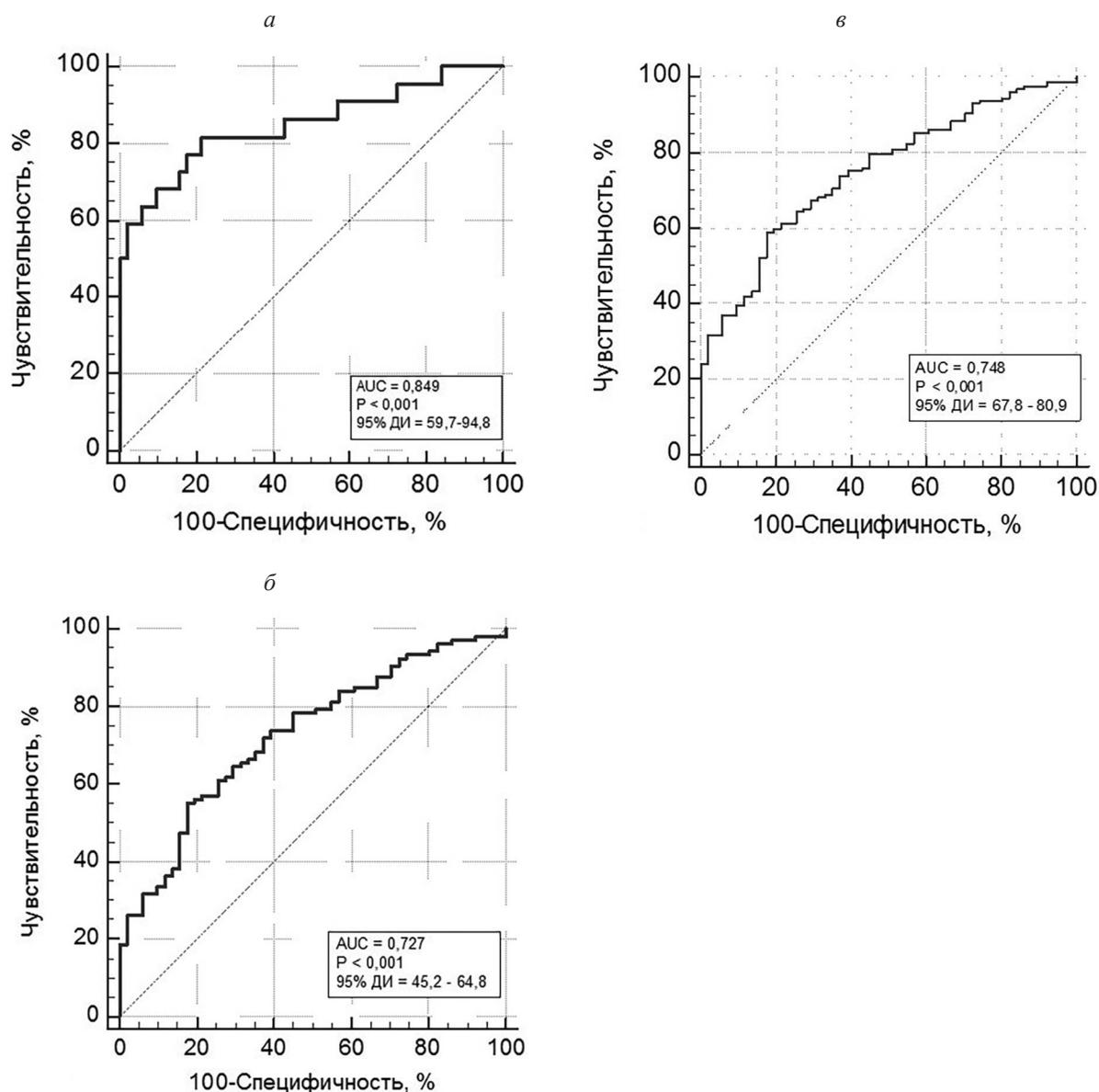


Рис. 2. ROC-кривая, построенная по результатам определения miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХЛЛ (а), ХМН (б), объединенной группе ХЛЛ+ХМН (в) в сравнении с группой контроля.

[17]. Повышение miR-155 в лейкоцитах крови было обнаружено как у пациентов с ХМН, так и с ХЛЛ, что соответствует данным отдельных работ [11, 17, 20-23]. При этом, наши данные параллельного тестирования проб крови пациентов с ХЛЛ и ХМН на одинаковой аналитической платформе демонстрируют сравнимую тенденцию увеличения уровня лейкоцитарной miR-155 и отсутствие существенных различий между нозологическими группами, что говорит о неспецифическом характере сдвигов данного показателя, отсутствии его непосредственной связи с миелоидным или лимфоидным характером онкотрансформации. Этот факт также подтверждается отсутствием корреляции экспрессии miR-155 с количеством циркулирующих клеток крови как у пациентов в нашем исследовании, так и результатами работы по определению miR-155 у пациентов с ХЛЛ [20].

Известно, что одной из основных мишеней для miR-155 является мРНК опухолевого супрессора *SOCS1* [22]. Было показано участие *SOCS1* в регуляции сигнального пути JAK/STAT при ХМН, а также выявлено ингибирование экспрессии *SOCS1* микроРНК miR-155 в В-лимфоцитах при ХЛЛ [7, 22-23], что позволяет предположить единый механизм вовлеченности miR-155 в патогенез хронических как миело-, так и лимфопролиферативных заболеваний.

Помимо *SOCS1*, miR-155 блокирует синтез протоонкогена *PUL1* - известного регулятора дифференцировки В-лимфоцитов, при этом в одном из исследований показано, что онкоген *MYB* стимулирует экспрессию miR-155 и за счет этого способствует онкогенезу [25].

Показано, что воспаление является одним из основных звеньев патогенеза злокачественных заболеваний

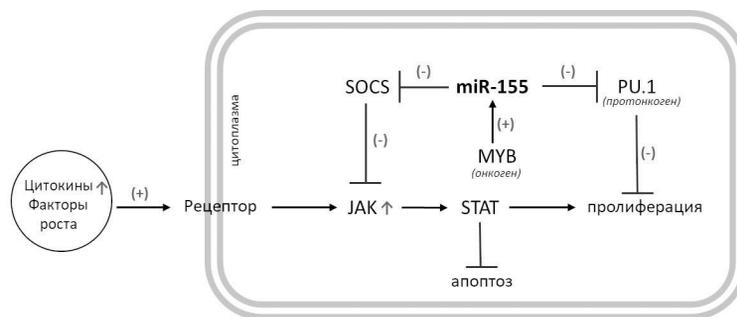


Рис. 3. Предполагаемая схема регуляции miR-155 при лейкогенезе. Значками (-) и (+) отмечены изменения, характерные для опухолевой клетки.

крови, включая ХМН и лимфопрлиферативные опухоли [26-27]. Повышение уровня провоспалительных цитокинов в плазме крови сопряжено с активацией лимфоцитов и повышенной экспрессией miR-155 [5]. Гипотетическая схема, суммирующая проонкогенные механизмы регуляции miR-155 представлена на рис. 3. Активация онкогена MYB повышает уровень miR-155, что снижает ингибирующие влияния SOCS1 и PU.1 на активность сигнального пути цитокинов JAK-STAT.

В нашей работе было обнаружено, что уровень экспрессии miR-155 в лейкоцитах у пациентов с ХЛЛ на фоне эффективной терапии, практически не отличался от уровня, характерного для группы контроля. Подобное снижение miR-155 на фоне терапии в В-лимфоцитах наблюдалось и в исследовании H.Due и соавт. [5]. В этой же работе показано, что дальнейшее наблюдение за динамикой miR-155 позволяет идентифицировать пациентов высокой группы риска с частыми рецидивами заболевания, которые характеризуются повышением уровня miR-155. Вероятно, первоначальное снижение уровня miR-155 связано с элиминацией опухолевого клона, а последующее повышение её экспрессии в ходе дальнейшей терапии сопряжено с возникновением у части пациентов клонов, устойчивых к химиопрепаратам.

Ранее в эксперименте *in vitro* было показано участие miR-155 в сигнальном пути, опосредованном интерфероном, на культурах мононуклеаров периферической крови пациентов с гепатитом С и здоровых доноров [28]. Однако в нашем исследовании не было обнаружено отличий между пациентами с ХМН, принимающими и не принимающими интерферон. Такой же результат был получен у пациентов при интерферонотерапии в работе A. Tombak и соавт. [9]. Очевидно, различия обусловлены экспериментальными особенностями постановок *in vitro*.

В нашем исследовании впервые была проведена оценка диагностической значимости определения miR-155 в лейкоцитах крови пациентов с ХЛЛ и ХМН. Выявленные значения чувствительности (81,8%) и специфичности (78,4%) метода позволяют рассматривать miR-155 как потенциальный биомаркер в комплексной диагностике первичного онкогематологического заболевания, а также в качестве неспецифического скринингового теста для выявления новообразований. Ранее чувствительность и специфичность исследования miR-155 в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ХЛЛ были оценены в работе S.G.Parageorgiou и соавт. [21], в которой при помощи ROC-анализа было пока-

зано что анализ уровня miR-155 может четко разделить пациентов с ХЛЛ и группу контроля (AUC=0,81, 95% ДИ=0.74–0.88, $p<0.001$). В нашем исследовании впервые продемонстрировано, что определение экспрессии miR-155 в лейкоцитах может дифференцировать пациентов с ХЛЛ и ХМН от группы контроля с чувствительностью 58,9% и специфичностью 82,4%.

Таким образом, в настоящем исследовании была выявлена широкая гетерогенность уровня miR-155 в пробах венозной крови как у доноров, так и у пациентов, а также отсутствие взаимосвязи экспрессии miR-155 в лейкоцитах с полом и возрастом и с количеством онкотрансформированных клеток в периферической крови. Возможности исследования цельной крови и недорогой коммерческий набор реактивов могут способствовать внедрению данного теста в клиническую практику, однако существенным ограничением диагностической значимости теста является широкая межиндивидуальная вариабельность аналита, ограничивающая использование метода только при оценке динамики индивидуальных значений.

Впервые в одном клиничко-лабораторном исследовании сравнивались уровни miR-155 в пробах цельной крови пациентов с ХЛЛ и ХМН. Обнаруженное сходное повышение экспрессии miR-155 в лейкоцитах цельной крови у пациентов доказывает вовлеченность исследуемой микроРНК в патогенез этих заболеваний. Использование теста экспрессии miR-155 может быть полезным при первичной диагностике и для оценки эффективности терапии ХЛЛ.

Финансирование. Настоящее исследование проведено в рамках инициативной темы НИР «Исследование диагностического значения микроРНК miR-155 и ее ассоциации с уровнем мРНК HIF 1a и 2a в клетках крови пациентов при ХЛЛ, ХМЛ и Rh-негативных миелопрлиферативных новообразованиях № ГР АААА-А18-118031390161-0».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-11, 14-28 см. REFERENCES)

13. Меликян А.Л., Туркина А.Г., Ковригина А.М. и др. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Rh-негативных миелопрлиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз). *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62 (прил.1):1-60.
14. Клинические рекомендации по обследованию и лечению больных хроническим лимфолейкозом. Савченко В.Г., Под-

дубная И.В., ред., 2014. Доступно по ссылке: <https://www.blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf> Дата обращения: 29.01.2020 г.

REFERENCES

1. Saliminejad K., Khorram Khorshid H., Soleymani Fard S., Ghaffari S. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;234(5): 5451-65.
2. Roderburg C., Luedde T. Circulating microRNAs as markers of liver inflammation, fibrosis and cancer. *J. Hepatol.* 2014; 61(6): 1434-7.
3. Ifikhar H., Carney GE. Evidence and potential in vivo functions for biofluid miRNAs: From expression profiling to functional testing: Potential roles of extracellular miRNAs as indicators of physiological change and as agents of intercellular information exchange. *Bioessays*. 2016; 38(4): 367-78.
4. Undi R., Kandi R., Gutti R. MicroRNAs as Haematopoiesis Regulators. *Advances in Hematology*. 2013;2013: 1-20.
5. Due H., Svendsen P., Bødker J., Schmitz A., Bøgsted M., Johnsen H.E. et al. miR-155 as a Biomarker in B-Cell Malignancies. *BioMed Research International*. 2016;2016: 1-14.
6. Fatica A., Fazi F. MicroRNA-Regulated Pathways in Hematological Malignancies: How to Avoid Cells Playing Out of Tune. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(10): 20930-3.
7. Costinean S., Zaneni N., Pekarsky Y., Tili E., Volinia S., Heerema N. et al. Pre-B cell proliferation and lymphoblastic leukemia/high-grade lymphoma in E -miR155 transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(18): 7024-9.
8. O'Connell R., Rao D., Chaudhuri A., Boldin M.P., Taganov K.D., Nicoll J. et al. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *The Journal of Cell Biology*. 2008;180(5): i15-i15.
9. Tombak A., Ay O.I., Erdal M.E., Sungur M.A., Ucar M.A., Akdeniz A. et al. MicroRNA Expression Analysis in Patients with Primary Myelofibrosis, Polycythemia vera and Essential Thrombocythemia. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2015;31(4): 416-25.
10. Visone R., Rassenti L., Veronese A., Taccioli C., Costinean S., Aguda B.D. et al. Karyotype-specific microRNA signature in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2009;114(18): 3872-9.
11. Rossi S., Shimizu M., Barbarotto E., Nicoloso M.S., Dimitri F., Sampath D. et al. microRNA fingerprinting of CLL patients with chromosome 17p deletion identify a miR-21 score that stratifies early survival. *Blood*. 2010;116(6): 945-52.
12. Melikyan A.L., Turkina A.G., Kovrigina A.M. et al. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of Ph-negative myeloproliferative neoplasms (polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis). *Hematologiya i Transfuziologiya*. 2016;62(suppl.1): 1-60. (in Russian)
13. Clinical recommendations for diagnosis and therapy of chronic lymphocytic leukemia [Klinicheskie rekomendatsii po obsledovaniyu I lecheniyu bol'nykh khronicheskim limfocytokozom]. Savchenko V.G., Poddubnaya I.V., eds. 2014. Available at: <https://www.blood.ru/documents/clinical%20guidelines/26.%20klinicheskie-rekomendacii-2014-xll.pdf> Date of the application: 29.01.2020. (in Russian)
14. Yang L., Wang S., Tang L., Liu B., Ye W.L., Wang L.L. et al. Universal Stem-Loop Primer Method for Screening and Quantification of MicroRNA. *PLoS ONE*. 2014;9(12): e115293.
15. Fabbri M., Croce C., Calin G. MicroRNAs in the ontogeny of leukemias and lymphomas. *Leukemia & Lymphoma*. 2009;50(2):160-70.
16. Thai T., Calado D., Casola S., Ansel K.M., Xiao C., Xue Y. et al. Regulation of the Germinal Center Response by MicroRNA-155. *Science*. 2007;316(5824): 604-8.
17. Tang L., Peng Y., Li C., Jiang H.W., Mei H., Hu Y. Prognostic and Clinicopathological Significance of MiR-155 in Hematologic Malignancies: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Cancer*. 2019;10(3): 654-64.
18. Landgraf P., Rusu M., Sheridan R., Sewer A., Iovino N., Aravin A. et al. A Mammalian microRNA Expression Atlas Based on Small RNA Library Sequencing. *Cell*. 2007;129(7):1401-14.
19. Bruchova H., Yoon D., Agarwal A., Mendell J., Prchal J.T. Regulated expression of microRNAs in normal and polycythemia vera erythropoiesis. *Experimental Hematology*. 2007;35(11): 1657-67.
20. Ferrajoli A., Shanafelt T.D., Ivan C., Shimizu M., Rabe K.G., Nouraei N. et al. Prognostic value of miR-155 in individuals with monoclonal B-cell lymphocytosis and patients with B chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013; 122: 1891-9.
21. Papageorgiou S., Kontos C., Diamantopoulos M., Bouchla A., Glezou E., Bazani E. et al. MicroRNA-155-5p Overexpression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Is a Novel, Independent Molecular Biomarker of Poor Prognosis. *Disease Markers*. 2017;2017: 1-10.
22. di Iasio M., Norcio A., Melloni E., Zauli G. SOCS1 is significantly up-regulated in Nutlin-3-treated p53 wild-type B chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) samples and shows an inverse correlation with miR-155. *Investigational New Drugs*. 2012;30(6): 2403-6.
23. Fulci V., Chiaretti S., Goldoni M., Azzalin G., Carucci N., Tavolaro S. et al. Quantitative technologies establish a novel microRNA profile of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007;109(11): 4944-51.
24. Zhan H., Cardozo C., Raza A. MicroRNAs in myeloproliferative neoplasms. *British Journal of Haematology*. 2013;161(4): 471-83.
25. Vargova K., Curik N., Burda P., Basova P., Kulvait V., Pospisil V. et al. MYB transcriptionally regulates the miR-155 host gene in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;117(14): 3816-25.
26. Mendell J., Olson E. MicroRNAs in Stress Signaling and Human Disease. *Cell*. 2012;148(6): 1172-87.
27. Hermouet S., Bigot-Corbel E., Gardie B. Pathogenesis of Myeloproliferative Neoplasms: Role and Mechanisms of Chronic Inflammation. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:145293.
28. El-Ekiaby N., Hamdi N., Negm M., Ahmed R., Zekri A.R., Esmat G. et al. Repressed induction of interferon-related microRNAs miR-146a and miR-155 in peripheral blood mononuclear cells infected with HCV genotype 4. *FEBS Open Bio*. 2012;2(1):179-86.

Поступила 14.01.20

Принята к печати 27.01.20