



АНАЛИЗ ДАННЫХ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И МИКРОЧИПОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛЮЧЕВЫХ СИГНАТУР МИКРОРИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ГЛИБЛАСТОМЕ

А.А.Пушкин*, Н.Н.Тимошкина, Д.Ю.Гвалдин, Е.А.Дженкова

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

Резюме

Цель исследования. Данная работа посвящена исследованию паттернов экспрессии мРНК и микроРНК глиобластом с использованием The Cancer Genome Atlas (TCGA) данных, поиску генетических детерминант, определяющих прогноз выживаемости пациентов и созданию сетей взаимодействий для глиобластом.

Материалы и методы. На основании данных открытой базы TCGA были сформированы группы глиобластом и условно нормальных образцов тканей головного мозга. Для каждого образца извлечены данные выживаемости и экспрессии генов и микроРНК. После стратификации данных по группам был проведен дифференциальный анализ экспрессии, осуществлен поиск генов, оказывающих влияние на выживаемость пациентов, выполнен анализ обогащения по функциональной принадлежности и интерактомный анализ.

Результаты. В общей сложности проанализировано 156 образцов глиобластом с данными мРНК-секвенирования, 571 образец с данными микрочипового анализа микроРНК и 15 контрольных образцов. Были построены сети взаимодействий мРНК-микроРНК и разработаны экспрессионные профили генов и микроРНК, характерные для глиобластом. Определены гены, aberrантный уровень которых ассоциирован с выживаемостью, показаны попарные корреляционные связи между ДЭГ и ДЭ микроРНК.

Заключение. Выявленные для глиобластом регуляторные пары микроРНК-мРНК могут стимулировать разработку новых терапевтических подходов, основанных на подтип-специфичных регуляторных механизмах онкогенеза.

Ключевые слова:

глиобластома, атлас генома рака, паттерны экспрессии, мРНК-микроРНК взаимодействия, прогноз выживаемости, геновая онтология, сигнальные пути.

Для цитирования

Пушкин А.А., Тимошкина Н.Н., Гвалдин Д.Ю., Дженкова Е.А. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования и микрочипов для идентификации ключевых сигнатур микроРНК-микроРНК взаимодействий в глиобластоме. Исследования и практика в медицине. 2021; 8(3): 21–33. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-2>

Для корреспонденции

Пушкин Антон Андреевич – научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: anton.a.pushkin@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2385-6285>

SPIN: 9223-1871, AuthorID: 975797

ResearcherID: AAA-8887-2020

Scopus Author ID: 57200548010

Информация о финансировании. Финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Получено 11.11.2020, Рецензия (1) 02.04.2021, Рецензия (2) 16.07.2021, Опубликовано 24.09.2021

DATA ANALYSIS OF HIGH-THROUGHPUT SEQUENCING AND MICROARRAY TO IDENTIFY KEY SIGNATURES OF MICRORIBONUCLEIC ACIDS IN GLIOBLASTOMA

A.A.Pushkin*, N.N.Timoshkina, D.Yu.Gvaldin, E.A.Dzhenkova

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

Abstract

Purpose of the study. This research was devoted to study of mRNA and miRNA expression patterns in glioblastomas using The Cancer Genome Atlas (TCGA) data, to search for genetic determinants that determine the prognosis of patient survival and to create of interaction networks for glioblastomas.

Materials and methods. Based on the data of the open TCGA database groups of glioblastomas and conventionally normal brain tissue samples were formed. Survival gene and miRNA expression data were extracted for each sample. After the data stratification by groups the differential expression analysis and search the genes affecting patient survival was carried out. The enrichment analysis by functional affiliation and an interactome analysis were performed.

Results. A total of 156 glioblastoma samples with mRNA sequencing data, 571 samples with microarray microRNA analysis data, and 15 control samples were analyzed. Networks of mRNA-miRNA interactions were built and expression profiles of genes and miRNAs characteristic of glioblastomas were developed. We have determined the genes which aberrant level is associated with survival and shown the pairwise DEG and DE of microRNA correlations.

Conclusion. The microRNA-mRNA regulatory pairs identified for glioblastomas can stimulate the development of new therapeutic approaches based on subtype-specific regulatory mechanisms of oncogenesis.

Keywords:

glioblastoma, the cancer genome atlas, expression patterns, mRNA-microRNA interactions, prognosis of survival.

For citation

Pushkin A.A., Timoshkina N.N., Gvaldin D.Yu., Dzhenkova E.A. Data analysis of high-throughput sequencing and microarray to identify key signatures of microribonucleic acids in glioblastoma. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2021; 8(3): 21-33. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2021-8-3-2>

For correspondence

Anton A. Pushkin – Researcher, Laboratory of Molecular Oncology National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: anton.a.pushkin@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2385-6285>

SPIN: 9223-1871, AuthorID: 975797

ResearcherID: AAA-8887-2020

Scopus Author ID: 57200548010

Information about funding. No funding of this work has been held.

Conflict of interest. Authors report no conflict of interest.

Received 11.11.2020, Review (1) 02.04.2021, Review (2) 16.07.2021, Published 24.09.2021

АКТУАЛЬНОСТЬ

Глиобластома (ГБ) является наиболее распространенным и злокачественным типом глиом, являющимся основной причиной смерти от рака мозга, при этом средняя продолжительность жизни пациента составляет около 15 мес. после постановки диагноза [1]. Комплексное лечение ГБ включает хирургическое вмешательство, химио- и лучевую терапию, но устойчивость к химиотерапевтическим агентам и высокая частота рецидивов после операции снижают потенциал проводимого лечения [2]. Несмотря на достигнутые успехи в исследованиях ГБ, молекулярные детерминанты недостаточно понятны, что требует определения и установления четкого механизма возникновения и прогрессирования ГБ [3, 4]. Это может помочь в ранней диагностике, а также в разработке новых стратегий борьбы с данным заболеванием.

Микрорибонуклеиновые кислоты (МикроРНК) открыты в 1993 г., но их участие в развитии рака впервые было отмечено только в 2002 г. [5]. МикроРНК представляют собой небольшие некодирующие РНК размером от 17 до 25 нуклеотидов, которые участвуют в посттрансляционной регуляции экспрессии генов. В настоящее время общепринято, что как 5'-нетрансляционная область, так и 3'-нетрансляционная область матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) могут быть мишенями для микроРНК [6]. Комплементарное спаривание оснований затравочной области микроРНК и 5'-нетранслируемая область (НТО) мРНК может повышать стабильность мРНК. Если спаривание оснований происходит с микроРНК и 3'-НТО мРНК, это приведет к дестабилизации мРНК и будет способствовать деградации мРНК. МикроРНК могут регулировать экспрессию генов либо путем расщепления мРНК, либо путем трансляционной репрессии [7]. Некоторые микроРНК выступают в роли супрессоров опухолей путем подавления экспрессии онкогенов, другие действуют для стимулирования онкогенеза путем снижения уровней экспрессии генов супрессоров опухолей [8]. Согласно MiRBase, у человека имеется 1917 предшественников и 2654 зрелых микроРНК, причем каждая микроРНК способна регулировать экспрессию нескольких мРНК. Каждая из этих мРНК, в свою очередь, регулируется различными микроРНК, что подразумевает наличие очень сложного регуляторного механизма, который требует сфокусированного исследования для картирования мРНК и ее регуляторов – микроРНК. Нарушенные паттерны экспрессии микроРНК наблюдаются в большинстве случаев злокачественных опухолей человека, таких как рак поджелудочной железы, молочной железы, толстой кишки, легкого и кожи [9-11].

Несмотря на постоянные усилия по оценке паттернов микроРНК в моделях ГБ, идентификация новых биомаркеров, которые могут быть использованы в диагностических и прогностических целях, является актуальной задачей [12]. Поэтому текущее исследование сфокусировано на изучении данных профиля экспрессии микроРНК в ГБ, собранных из базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA), с последующей идентификацией дифференциально экспрессированных микроРНК между нормальными тканями головного мозга и тканями ГБ. Настоящее исследование также детально демонстрирует цели микроРНК и строит сети взаимодействия генов, чтобы лучше понять механизм, лежащий в основе развития ГБ. Кроме того, препараты на основе нуклеиновых кислот, такие как малая интерферирующая РНК и микроРНК, могут быть использованы для лечения глиобластом.

Цель исследования заключалась в изучении взаимодействий микроРНК и генов в глиобластоме с определением наиболее перспективных мишеней для проверки в экспериментальных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы и сбор данных

На основании данных открытой базы TCGA была сформирована группа образцов глиобластом, подвергнутых РНК-секвенированию (TCGA-GBM), а также микрочиповому анализу микроРНК. В качестве образцов сравнения использовали условно нормальные ткани головного мозга ($n = 15$). Сбор и обработку данных проводили с помощью вычислительной программной среды R 3.6.2 (пакет «TCGABiolinks») [13].

Анализ дифференциальной экспрессии генов

Для анализа дифференциальной экспрессии генов и микроРНК использовали пакет «limma» и glmLRT-критерий (Gene-Wise Likelihood Ratio Test). Точками отсечения служили $FDR < 0,01$ и $|\log FC| > 1$. Результаты были представлены в виде диаграммы рассеивания.

Интерактивный анализ

Для отборочного скрининга был проведен корреляционный и регрессионный анализы экспрессий генов и микроРНК (пакет «miRLAB»). Пары сравнения ген-микроРНК, у которых коэффициенты корреляции или регрессии превышали $-0,5$, были отсеяны. Оставшиеся пары были верифицированы по десяти базам данных (пакет «multiMiR»): miRecords, miRTarBase, TarBase, DIANA-microT-CDS, EIMMO, MicroCosm, miRanda, miRDB, PicTar и PITA. В итоговую сеть взаимодействий микроРНК-мишень вошли валидированные пары (в базах данных имеющие статус – validated) [14].

Анализ выживаемости пациентов

Анализ выживаемости пациентов предполагал несколько этапов. Вначале с помощью метода Каплана-Майера отбирали гены, экспрессия которых оказывала значительное влияние на продолжительность общей выживаемости. Экспрессию каждого гена с учетом квантильных точек отсечения (верхняя – 0,6, нижняя – 0,33) подразделяли на низкую, умеренную и высокую. Затем влияние на выживаемость генов с высокой и низкой экспрессией оценивали с помощью многофакторного регрессионного анализа Кокса.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Идентификация дифференциально-экспрессируемых микроРНК и генов в глиобlastомах

Для исследования мы сформировали выборку из общедоступного набора данных проекта TCGA-GBM, которые содержали данные микрочипов об экспрессии микроРНК в 565 образцах глиобlastом и в 10 контрольных образцах и данные мРНК-секвенирования 156 образцов глиобlastом и 5-ти контрольных образцов. Всего было обнаружено 67 дифференциально-экспрессируемых микроРНК (ДЭ-миРНК): 36 продемонстрировали отрицательную дифференциальную экспрессию и 31 – положительную. Было выявлено, что микроРНК-124-3р наименее экспрессируется со средним отрицательным показателем экспрессии ($\log_{2}FC = -5,9$), а микроРНК-21-5р демонстрирует самую высокую среднюю положительную экспрессию ($\log_{2}FC = 4,8$, рис. 1).

При оценке транскрипционных пулов было выявлено 4815 ДЭГ, среди которых 2324 демонстрировали повышенную активность, а 2491 – пониженную (рис. 2).

Построение регуляторной сети микроРНК-мРНК в глиобlastомах

Поскольку микроРНК играют очень важную роль в регуляции посттрансляционной экспрессии генов, был проведен регрессионный анализ дифференциально экспрессируемых микроРНК (ДЭ-микроРНК) и ДЭГ с использованием пакета «MIRlab» и инструментов «lasso» и «elastic». Было выявлено 854 пары с коэффициентом корреляции ниже -0,5. Для выявления истинных регуляторных взаимодействий все полученные корреляционные пары были сопоставлены с базами данных валидированных взаимодействий микроРНК-ген «mirTarbase», «tarbase» и «micrCosm» с использованием пакета «multimir». Перечисленные базы данных содержат убедительные экспериментальные данные о взаимодействиях микроРНК-мишень (вестерн-блот/ репортерный анализ / количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени и т.д.). Было выявлено 96 валидированных пар между 8 микроРНК и 93 генами: микроРНК-19а-3р, микроРНК-17-5р, микроРНК-27а-3р, микроРНК-20а-3р, микроРНК-379-5р, микроРНК-377-3р, микроРНК-19б-3р, микроРНК-106а-5р (рис. 3). МикроРНК-379-5р имеет только одну ДЭ-мишень, в отличие от других микроРНК, а именно микроРНК-27а-3р, микроРНК-19а-3р, микроРНК-377-3р, микроРНК-106а-5р, микроРНК-19б-3р, микроРНК-20а-5р, микроРНК-17-5р которые име-

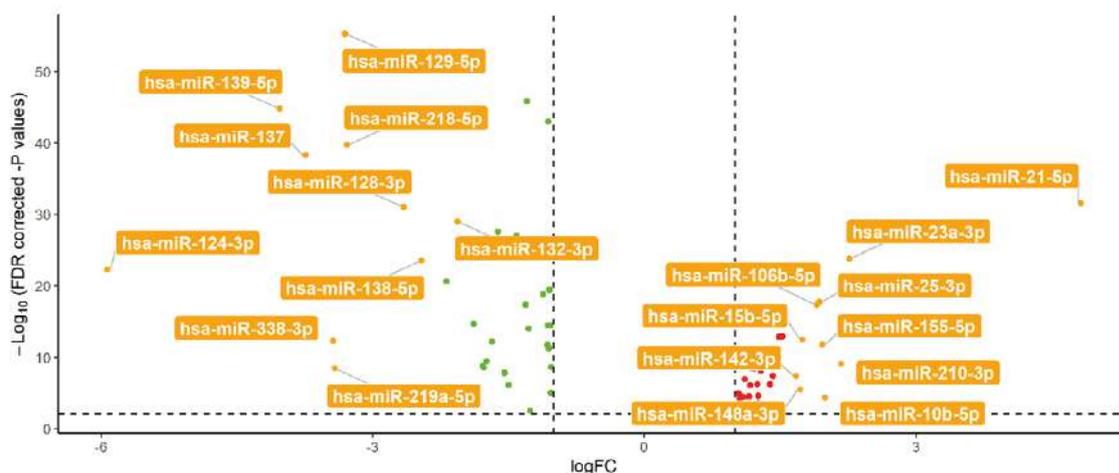


Рис. 1. Идентификация дифференциально экспрессируемых микроРНК (ДЭ-миРНК) в глиобlastомах. $\log_{2}FC > 1$, $\log_{2}FC < -1$ и $p < 0,05$ были установлены в качестве порогов для идентификации ДЭ-миРНК. Красные и зеленые точки представляют собой повышенную и пониженную активность микроРНК в образцах опухолей GBM соответственно.

Fig. 1. Identification of differentially expressed microRNAs (DE-miRNAs) in glioblastomas. $\log_{2}FC > 1$, $\log_{2}FC < -1$, and $p < 0,05$ were set as thresholds for DE-miRNA identification. The red and green dots represent increased and decreased microRNA activity in GBM tumor samples, respectively.

ют 2, 4, 8, 9, 11, 49 ДЭ-мишени соответственно. Ген NFT5 является мишенью для микроРНК-17-5р и микроРНК-379-5р одновременно, как и ROBO4 для микроРНК-20а-5р и микроРНК-17-5р (рис. 3).

Функциональное аннотирование ДЭГ

Для получения представления о биологической роли и участия в сигнальных путях ДЭГ мы выполнили BioCarta и GO анализ с использованием пакета «pathfinder». Минимальное количество генов для классификации по базам данных GO и BioCarta равно 2. Выявлено 63 ассоциаций при запросе к базе данных «Gene ontology» по категории биологических функций, исследуемых ДЭГ-мишеней. Топ 5 биологических функций и сигнальных путей, исследуемых ДЭГ приведены в таблице 1.

BioCarta-анализ выявил 20 сигнальных путей, в которых принимают участие исследуемые ДЭГ-мишени. Наиболее значимые сигнальные пути ассоциированы с развитием и миграцией нейронов, предшественником амилоида, регуляция витамина С в мозге.

Отмеченные сигнальные пути и молекулярные функции исследуемых ДЭГ-мишеней играют важную роль в регуляции экспрессии генов, пролиферации клеток, развитии нервной ткани. Так же отмечено участие сигнальных путей Notch и Wnt.

Формирование сети белок-белковых взаимодействий ДЭГ

Для понимания взаимодействий между ДЭГ-мишенями, была построена сеть взаимодействий с использованием базы данных STRING с критерием минимального показателя взаимодействия, установ-

ленного на высокий уровень достоверности (0,7). После «обогащения» по взаимодействиям исследуемых ДЭГ-мишеней демонстрирует 99 узлов и 60 соединений, со средней степенью узла 1,21 (рис. 4). Сеть взаимодействий была дополнительно исследована для идентификации кластеров с использованием плагина на основе Cytoscape – MCODE. В качестве критериев идентификации функционального модуля были установлены баллы MCODE выше 3 и общее количество узлов выше 3. В итоге идентифицирован только один функциональный кластер, состоящий из 4 узлов (BTRS, UBE2A, UBA52, ASB15) и 6 соединений (рис. 4).

Ассоциация ДЭГ с выживаемостью

Для идентификации в исследуемом пуле генов, ассоциированных с выживаемостью, мы использовали метод Каплана-Майера и регрессионный анализ Кокса. Пациенты были разделены на группы с пониженной и повышенной экспрессией генов, в качестве границы использовался 33-ий перцентиль. В результате было выявлено 6 локусов, достоверно влияющих на выживаемость пациентов: DERL2 ($p = 0,015168531$), GNS ($p = 0,000694855$), PXN ($p = 0,001321283$), RAP1B ($p = 0,022725969$), ROBO4 ($p = 0,039500999$), TANC1 ($p = 0,043696284$). Наиболее высокие уровни значимости демонстрируют локусы GNS и PXN. Анализ показал, что высокий уровень мРНК обоих локусов коррелирует с плохой выживаемостью пациентов (рис. 5). Оба эти локуса обратно пропорционально коррелируют с экспрессией микроРНК-17-5р. Остальные локусы, ассоциированные с выживаемостью так же таргетируются микроРНК-17-5р и, дополни-

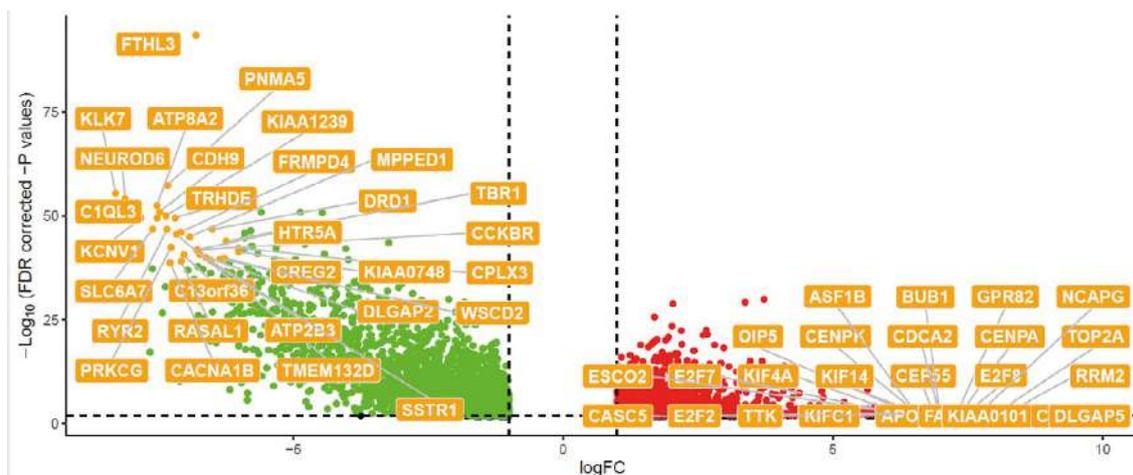


Рис. 2. Идентификация дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в глиобластомах. $\log_{2}FC > 1$, $\log_{2}FC < -1$ и $p < 0,05$ были установлены в качестве порогов для идентификации ДЭГ. Красные и зеленые точки представляют собой повышенную и пониженную активность генов в образцах опухолей ГБ соответственно.

Fig. 2. Identification of differentially expressed genes (DEG) in glioblastomas. $\log_{2}FC > 1$, $\log_{2}FC < -1$, and $p < 0.05$ were set as thresholds for DEG identification. The red and green dots represent increased and decreased gene activity in GB tumor samples, respectively.

тельно, микроРНК-20а-5р. Таким образом, среди 8 микроРНК, регуляция экспрессии микроРНК-17-5р и микроРНК-20а-5р может играть очень важную роль в развитии и течении глиобластом, что может стать основой для разработки новых терапевтических стратегий, увеличивающих общую выживаемость больных с глиобластомой (рис. 3, 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Существует необходимость в идентификации новых терапевтических подходов, которые требуют понимания молекулярных маркеров, играющих важную роль в прогрессировании данного заболевания. Изменения в уровнях экспрессии микроРНК

играют критическую роль в прогрессировании или развитии рака. База данных Genomic Data Commons – это монументальный сборник генетических данных для исследований рака, включающий Атлас генома рака (TCGA) и другие проекты, создающий возможность для выявления новых пар микроРНК-мРНК, влияющих на онкотрансформацию клеток. Наш анализ данных по оценке экспрессии с использованием микрочипов и данных секвенирования из TCGA показал, что 67 микроРНК и 4815 мРНК аббертно экспрессированы в глиобластомах (рис. 1, 2). Регрессионный анализ выявил 854 пары микроРНК-мРНК. Последующая фильтрация по базам данных с валидированными взаимодействиями выявила 96 регуляторных пар, составленных 8 ДЭ-миРНК и 94

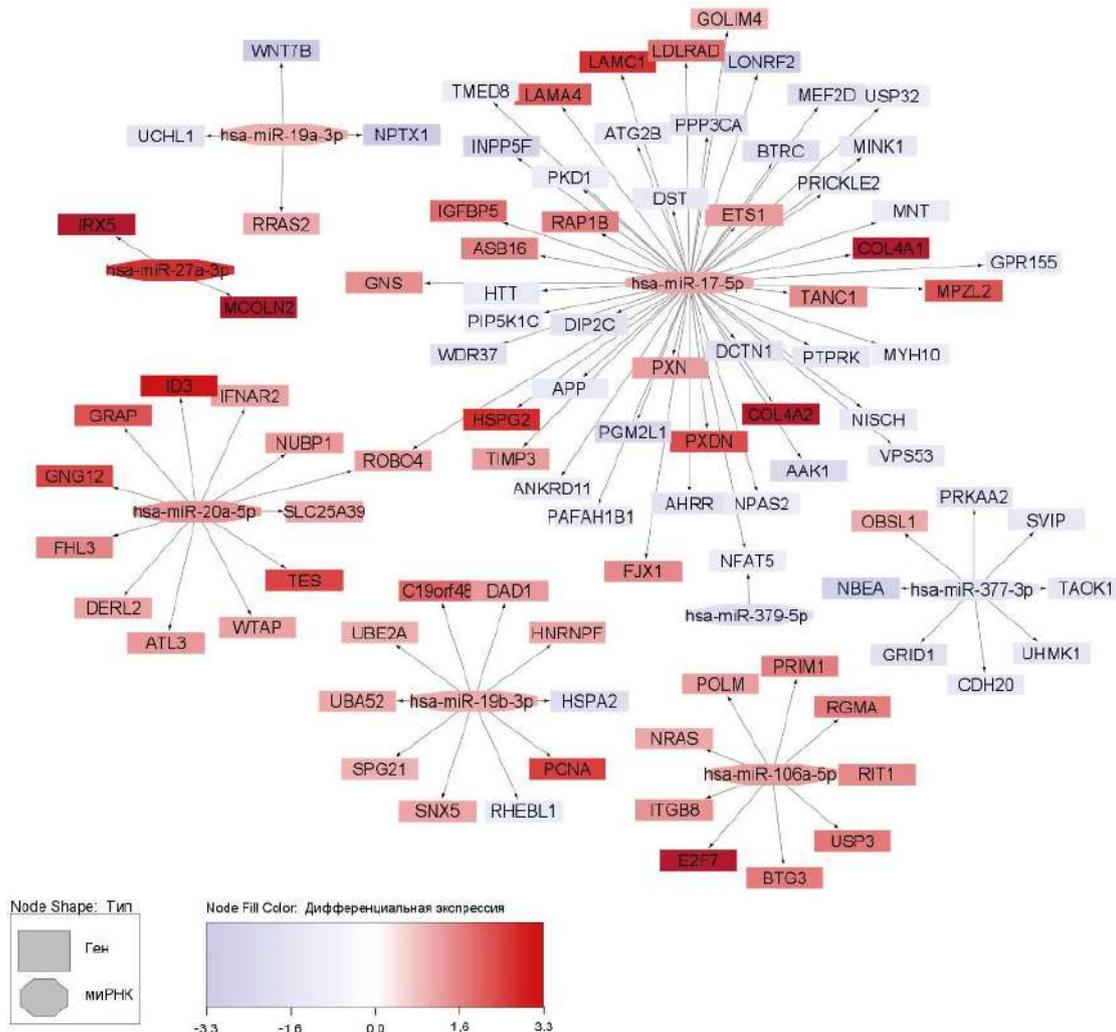


Рис. 3. ДЭ-миРНК и их подтвержденные ДЭ-мишени со значением корреляции < -0,5. В общей сложности идентифицировано 93 ДЭГ в качестве подтвержденных мишеней для ДЭ-миРНК. Четырехугольные фигуры представляют ДЭГ, а шестиугольные – ДЭ-миРНК. Интенсивность цвета фигуры обозначает уровень дифференциальной экспрессии: красный – высокая экспрессия, синий – низкая.

Fig. 3. DE-miRNAs and their confirmed DE-targets with a correlation value < -0.5. Totally 93 DEG were identified as confirmed targets for DE-miRNAs. The quadrangular figures represent DEG, and the hexagonal ones represent DE-miRNA. The intensity of the color of the figure indicates the level of differential expression: red – high expression, blue – low.

ДЭГ. Обнаружено, что микроРНК-379-5р имеет только одну ДЭ-мишень, в отличие от других микроРНК, а именно микроРНК-27а-3р, микроРНК-19а-3р, микроРНК-377-3р, микроРНК-106а-5р, микроРНК-19б-3р, микроРНК-20а-5р, микроРНК-17-5р которые имеют 2, 4, 8, 9, 11, 49 ДЭ-мишени соответственно (рис. 3). Из 96 ДЭ-мишеней, 6 локусов коррелируют с выживаемостью пациентов – GNS, DERL2, PXN, RAP1B, ROBO4 и TANC1 (рис. 5).

Выявленные ДЭ-мишени участвуют в регуляции таких биологических функций как организация экстрацеллюлярного матрикса, поддержание теломер посредством полуконсервативной репликации, фиксации ориентации митотического веретена, клеточный ответ на ДНК-повреждения, убиквитинирование бел-

ков в соответствии с базой данных «Gene ontology». Этот же пул генов участвует в сигнальных путях миграции и развитии нейронов, белка-предшественника амилоида, регуляции минерализации костей, витамина С в мозге, передачи сигналов Notch и Wnt.

Дифференциально экспрессируемая в глиобластомах микроРНК-379-5р, по данным литературы, ассоциирована только с двумя онкологическими нозологиями – рак легкого и назофарингеальная карцинома. Исследование дифференциальной экспрессии микроРНК в периферической крови пациентов, страдающих раком легкого, с использованием микрочипов демонстрирует значительно повышенную экспрессию микроРНК-379-5р относительно контрольной группы [15]. При назофарингеальной

Таблица 1. Генная онтология исследуемых дифференциально экспрессируемых генов
Table 1. Gene ontology of the studied differentially expressed genes

ID gene ontology	Биологический процесс / Biological process	Сниженный уровень экспрессии / Decreased expression level	Повышенный уровень экспрессии / Increased expression level
GO:0030198	Организация экстрацеллюлярного матрикса / Extracellular matrix organization	APP	COL4A1, COL4A2, HSPG2, ITGB8, LAMA4, LAMC1, PXDN
GO:0032201	Поддержание теломер посредством полуконсервативной репликации / Telomere support by half-conservative replication	-	PCNA, PRIM1
GO:0000132	Фиксация ориентации митотического веретена / Fixation of the mitotic spindle orientation	DCTN1, HTT, PAFAH1B1	-
GO:0042769	Клеточный ответ на ДНК-повреждения / Cell response on DNA-damage	-	PCNA, UBA52
GO:0016567	Убиквитинирование белков / Protein ubiquitination	BTRC	PCNA, UBA52, UBE2A
ID Biocarta	Сигнальный путь / Signaling pathway	Сниженный уровень экспрессии / Decreased expression level	Повышенный уровень экспрессии / Increased expression level
h_Lis1Pathway	Ген лиссэнцефалии (LIS1) в миграции и развитии нейронов / The lissencephaly gene (LIS 1) in the migration and development of neurons	PAFAH1B1, DCTN1	-
h_plateletAppPathway	Путь белка-предшественника амилоида / The pathway of the amyloid precursor protein	APP	COL4A1, COL4A2
h_npp1Pathway	Регуляция минерализации костей / Bone mineralization regulation	-	COL4A1, COL4A2
h_vitCBPathway	Регуляция витамина С в мозге / Vitamin C regulation in brain	-	COL4A1, COL4A2
h_ps1Pathway	Активность пресенилина в передаче сигналов Notch и Wnt / Presenilin activity in the transferring of Notch and Wnt signals	BTRC	-

теломер посредством полуконсервативной репликации, клеточном ответе на ДНК-повреждения и убиквитинировании белков. При гепатоцеллюлярной карциноме микроРНК-19-3р способствует метастазированию и химиорезистентности за счет регуляции активности PTEN и PTEN-зависимых путей [25]. Данный механизм был прослежен при исследовании химиочувствительности клеток остеосаркомы.

Для микроРНК-27а-3р и EGFR была показана ассоциация с развитием глиобластом, после чего и рассматривается в качестве первичного биомаркера рака. EGFR демонстрирует гетерогенную экспрессию

при глиобластомах и выступает потенциальной терапевтической мишенью [26]. В нашем исследовании микроРНК-27а-3р демонстрирует высокую активность в образцах глиобластом.

Значение локусов DERL2, GNS, ROBO4 и TANC1 при развитии онкологических заболеваний мало изучено, но при глиобластоме данные маркеры коррелируют с дифференциальной экспрессией микроРНК-20а-5р и микроРНК-17-5р. Генетический локус PXN часто активируется и действует как онкоген посредством регуляции Bcl-2 при раке шейки матки, что позволяет использовать PXN как мощную терапевтическую

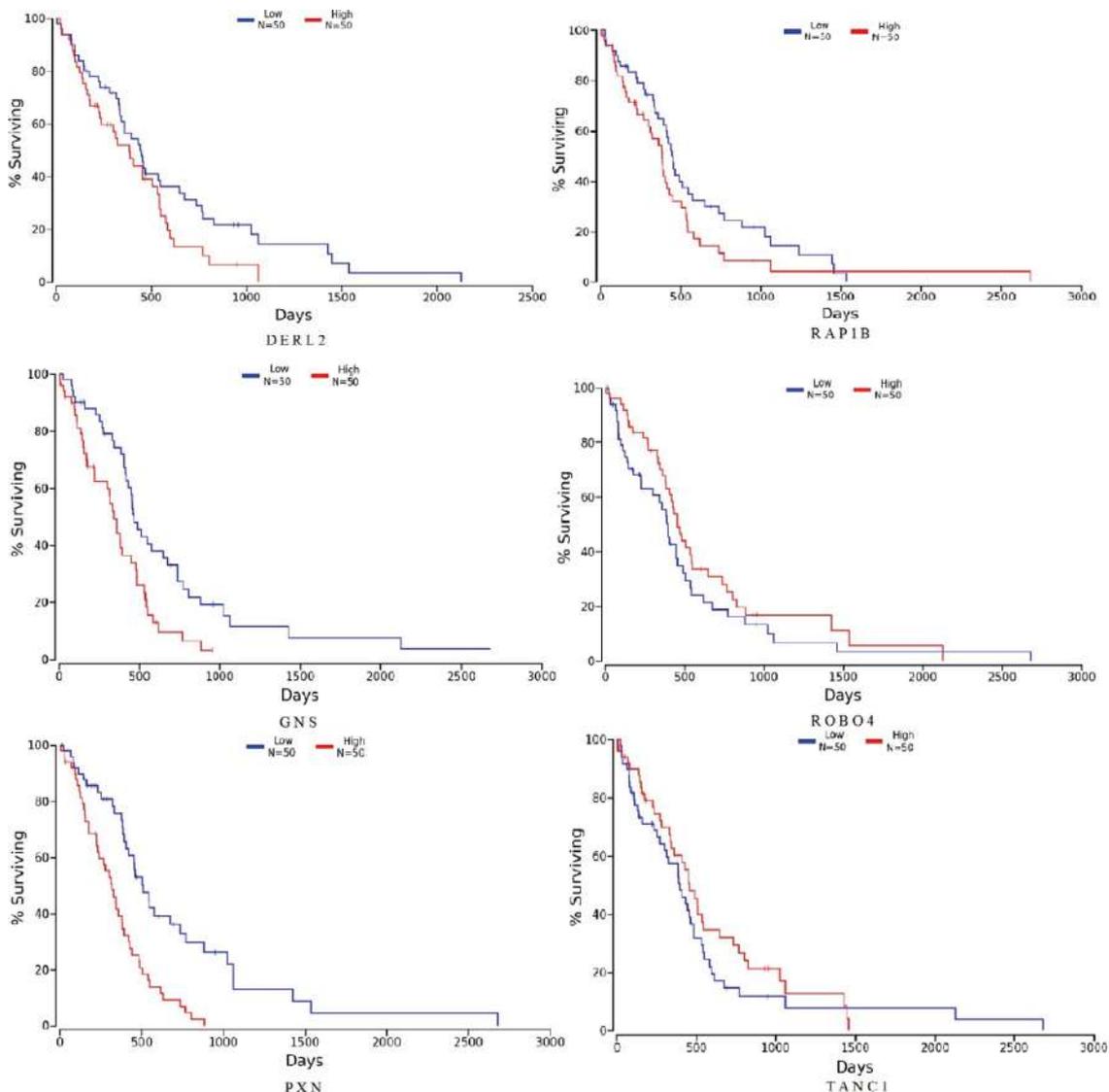


Рис. 5. Анализ выживаемости ДЭГ при глиобластоме. Синим цветом отмечены пациенты с низкой экспрессией генов, красным – с высокой экспрессией. Пониженные уровни мРНК локусов DERL2, GNS, PXN и RAP1B коррелируют с значительным повышением выживаемости пациентов. Повышенные уровни мРНК ROBO4 и TANC1 коррелируют с повышением выживаемости пациентов.

Fig. 5. Analysis of the survival rate of DEG in glioblastoma. Patients with low gene expression are marked in blue, and patients with high expression are marked in red. Reduced mRNA levels of the DRD2, GNS, PSN, and RAP1B loci correlate with a significant increase in patient survival. Increased levels of ROBO4 and TANC1 mRNA correlate with increased patient survival.

мишень [27]. Подавление активности локуса RAR1B снижает клеточную пролиферативную активность, миграцию и инвазию при раке щитовидной железы и метастазирование при колоректальном раке [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании выполнен скрининг *in silico* дифференциальной активности микроРНК и генов. Выявлено 67 дифференциально экспрессируемых микроРНК при глиобластоме. Семь из этих микроРНК коррелируют

с таргетируемыми, дифференциально экспрессируемыми генами в образцах глиобластом. Шесть генов ассоциированы с выживаемостью пациентов. Эти результаты могут быть применимы не только для экспериментальной проверки взаимодействий микроРНК-ген, участвующих в развитии глиобластом, но и для понимания биологических процессов и клеточных механизмов онкогенеза и дифференцировки клеток. Полученные данные демонстрируют новые потенциальные маркеры для прогноза и/или диагностики и терапевтических мишеней при развитии глиобластом.

Участие авторов:

Пушкин А.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала.

Тимошкина Н.Н. – научное редактирование.

Гвалдин Д.Ю. – сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

Дженкова Е.А. – научное редактирование.

Authors contribution:

Pushkin A.A. – concept and design of the study, writing the text, processing the material.

Timoshkina N.N. – scientific editing.

Gvaldin D.Yu. – collection, analysis and interpretation of data, preparation of an article.

Dzhenkova E.A. – scientific editing.

Список литературы

- Gvaldin DY, Pushkin AA, Timoshkina NN, Rostorguev EE, Nalgiev AM, Kit OI. Integrative analysis of mRNA and miRNA sequencing data for gliomas of various grades. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2020 Dec 10;21(1):73. <https://doi.org/10.1186/s43042-020-00119-8>
- Кит О.И., Пушкин А.А., Росторгуев Э.Е., Поркшеян Д.Х., Франциянц Е.М., Кузнецова Н.С. и др. Изменение экспрессионного статуса генов при малигнизации клеток мозга. *Современные проблемы науки и образования*. 2018;(6):8. <https://doi.org/10.17513/spno.28148>
- Кит О.И., Пушкин А.А., Росторгуев Э.Е., Поркшеян Д.Х., Франциянц Е.М., Кузнецова Н.С. и др. Гендерные особенности экспрессии генетических локусов в тканях глиом. *Современные проблемы науки и образования*. 2018;(5):57. <https://doi.org/10.17513/spno.28068>
- Игнатов С.Н., Златник Е.Ю., Сагакянц А.Б., Солдаткина Н.В., Росторгуев Э.Е., Пушкин А.А. Предикторная роль локального уровня интерлейкина-1 β в выборе химиотерапии у пациентов с низкодифференцированными глиальными опухолями. VI Петербургский международный онкологический форум «Белые ночи 2020». Санкт-Петербург: 2020, 431 с. Доступно по: https://forum-onco.ru/upload/unsorted/forum_tezis_2020.pdf. Дата обращения 01.11.2020
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002 Nov 26;99(24):15524–15529. <https://doi.org/10.1073/pnas.242606799>
- Li G, Wu X, Qian W, Cai H, Sun X, Zhang W, et al. CCAR1 5' UTR as a natural miRancer of miR-1254 overrides tamoxifen resistance. *Cell Res*. 2016 Jun;26(6):655–673. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.32>
- Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of

miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009 Dec;7(4):147–154.

[https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(08\)60044-3](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(08)60044-3)

8. Кит О.И., Пушкин А.А., Росторгуев Э.Е., Тимошкина Н.Н., Кузнецова Н.С., Кавицкий С.Э. и др. Дифференциальная экспрессия 15-ти генов в глиальных опухолях различной степени злокачественности. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;(5):66.

<https://doi.org/10.17513/spno.29039>

9. Водолажский Д.И., Пушкин А.А., Васильченко Н.Г., Панченко С.Б., Тимошкина Н.Н. Влияние доксорубина на экспрессию генов и микроРНК EGFR-сигнального пути в культуре клеток линии HeLa. *Злокачественные опухоли*. 2017;7(3-S1):124–125.

10. Pushkin AA, Burda YE, Sevast'yanov AA, Kulikovskiy VF, Burda SY, Golubinskaya PA, et al. Renal cell carcinoma drug and cell therapy: today and tomorrow. *Research Results in Pharmacology*. 2018;4(1):17–26.

<https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.4.25251>

11. Шкурят Т.П., Пушкин А.А., Козлова М.Ю., Колина Е.А., Покудина И.О. Биоинформационное исследование микроРНК-регуляторов генов-супрессоров опухолей. Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины. Материалы VI Международной научно-практической конференции. 2015. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального ун-та, 2015, 64–65 с. Доступно по:

https://elibrary.ru/download/elibrary_29910966_49698769.pdf. Дата обращения 05.11.2020

12. Роспатент. Зарегистрировано 29.11.2018. Патент № RU2709651C1. Кит О.И., Тимошкина Н.Н., Пушкин А.А., Кутилин Д.С., Росторгуев Э.Е., Кузнецова Н.С. Способ дифференциальной диагностики глиом на основании анализа экспрессии генов и микро-РНК.

13. Colaprico A, Silva TC, Olsen C, Garofano L, Cava C, Garolini D, et al. TCGAblinks: an R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Res.* 2016 May 5;44(8):e71. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1507>
14. Ru Y, Kechris KJ, Tabakoff B, Hoffman P, Radcliffe RA, Bowler R, et al. The multiMiR R package and database: integration of microRNA-target interactions along with their disease and drug associations. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(17):e133. <https://doi.org/10.1093/nar/gku631>
15. He Q, Fang Y, Lu F, Pan J, Wang L, Gong W, et al. Analysis of differential expression profile of miRNA in peripheral blood of patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal.* 2019 Nov;33(9):e23003. <https://doi.org/10.1002/jcla.23003>
16. Wu D, Niu X, Tao J, Li P, Lu Q, Xu A, et al. MicroRNA-379-5p plays a tumor-suppressive role in human bladder cancer growth and metastasis by directly targeting MDM2. *Oncol Rep.* 2017 Jun;37(6):3502–3508. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5607>
17. Lv X, Wang M, Qiang J, Guo S. Circular RNA circ-PITX1 promotes the progression of glioblastoma by acting as a competing endogenous RNA to regulate miR-379-5p/MAP3K2 axis. *Eur J Pharmacol.* 2019 Nov 15;863:172643. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172643>
18. Kumar R, DuMond JF, Khan SH, Thompson EB, He Y, Burg MB, et al. NFAT5, which protects against hypertonicity, is activated by that stress via structuring of its intrinsically disordered domain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020 Aug 18;117(33):20292–20297. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911680117>
19. Li Y, Yuan F, Song Y, Guan X. miR-17-5p and miR-19b-3p prevent osteoarthritis progression by targeting EZH2. *Exp Ther Med.* 2020 Aug;20(2):1653–1663. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8887>
20. Pellatt DF, Stevens JR, Wolff RK, Mullany LE, Herrick JS, Samowitz W, et al. Expression Profiles of miRNA Subsets Distinguish Human Colorectal Carcinoma and Normal Colonic Mucosa. *Clin Transl Gastroenterol.* 2016 Mar 10;7:e152. <https://doi.org/10.1038/ctg.2016.11>
21. Ye -B, Li Z-L, Luo D-H, Huang B-J, Chen Y-S, Zhang X-S, et al. Tumor-derived exosomes promote tumor progression and T-cell dysfunction through the regulation of enriched exosomal microRNAs in human nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget.* 2014 Jul 30;5(14):5439–5452. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2118>
22. Wei J, Yin Y, Deng Q, Zhou J, Wang Y, Yin G, et al. Integrative Analysis of MicroRNA and Gene Interactions for Revealing Candidate Signatures in Prostate Cancer. *Front Genet.* 2020;11:176. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00176>
23. Zhang H, Xu S, Liu X. MicroRNA profiling of plasma exosomes from patients with ovarian cancer using high-throughput sequencing. *Oncol Lett.* 2019 Jun;17(6):5601–5607. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10220>
24. Zhang J, Li Y, Dong M, Wu D. Long non-coding RNA NEAT1 regulates E2F3 expression by competitively binding to miR-377 in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett.* 2017 Oct;14(4):4983–4988. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6769>
25. Jiang X-M, Yu X-N, Liu T-T, Zhu H-R, Shi X, Bilegsaikhan E, et al. microRNA-19a-3p promotes tumor metastasis and chemoresistance through the PTEN/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother.* 2018 Sep;105:1147–1154. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.097>
26. Пушкин А.А., Кит О.И. Клиническая значимость паттернов экспрессии генов в глиобластомах. Конгресс молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины». Томск: 2018, 301-302 с. Доступно по: https://elibrary.ru/download/elibrary_36832243_25858437.pdf. Дата обращения: 05.11.2020
27. Liu Q, Wang J, Tang M, Chen L, Qi X, Li J, et al. The overexpression of PXN promotes tumor progression and leads to radioresistance in cervical cancer. *Future Oncol.* 2018 Feb;14(3):241–253. <https://doi.org/10.2217/fon-2017-0474>
28. Fan M, Ma X, Wang F, Zhou Z, Zhang J, Zhou D, et al. MicroRNA-30b-5p functions as a metastasis suppressor in colorectal cancer by targeting Rap1b. *Cancer Lett.* 2020 May 1;477:144–156. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.021>

References

1. Gvaldin DY, Pushkin AA, Timoshkina NN, Rostorguev EE, Nalgiev AM, Kit OI. Integrative analysis of mRNA and miRNA sequencing data for gliomas of various grades. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics.* 2020 Dec 10;21(1):73. <https://doi.org/10.1186/s43042-020-00119-8>
2. Kit OI, Pushkin AARostorguev EE, Porksheyan DH, Franciyants EM, Kuznetsova NS, et al. Changes in the expression status of genes during brain cell malignancy. *Modern Problems of Science and Education.* 2018;(6):8. (In Russian). <https://doi.org/10.17513/spno.28148>
3. Kit OI, Pushkin AA, Rostorguev EE, Porksheyan DH, Franciyants EM, Kuznetsova NS, et al. Gender features of the expression of genetic loci in glioma tissues. *Modern Problems of Science and Education.* 2018;(5):57. (In Russian). <https://doi.org/10.17513/spno.28068>
4. Ignatov SN, Zlatnik EYu, Sagakyants AB, Soldatkina NV, Rostorguev EE, Pushkin AA. The predictor role of the local level of interleukin-1 β in the choice of chemotherapy in patients with low-grade glial tumors. VI St. Petersburg International Cancer Forum "White Nights 2020". St. Petersburg: 2020, 431 p. Available by: https://forum-onco.ru/upload/unsorted/forum_tezis_2020.pdf. Accessed 01.11.2020. (In Russian).
5. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 Nov 26;99(24):15524–15529. <https://doi.org/10.1073/pnas.242606799>
6. Li G, Wu X, Qian W, Cai H, Sun X, Zhang W, et al. CCAR1 5' UTR as a natural miRancer of miR-1254 overrides tamoxifen resistance. *Cell Res.* 2016 Jun;26(6):655–673. <https://doi.org/10.1038/cr.2016.32>

7. Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2009 Dec;7(4):147–154. [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(08\)60044-3](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(08)60044-3)
8. Kit OI, Pushkin AA, Rostorguev EE, Timoshkina NN, Kuznetsova NS, Kavitsky SE, et al. Differential expression of 15 genes in glial tumors of various degrees malignancy. *Modern problems of science and education*. 2019;(5):66. (In Russian). <https://doi.org/10.17513/spno.29039>
9. Vodolazhsky DI, Pushkin AA, Vasilchenko NG, Panchenko SB, Timoshkina NN. The effect of doxorubicin on the expression of genes and microRNA of the EGFR signaling pathway in HeLa cell culture. *Malignant tumors*. 2017;7(3-S1):124–125. (In Russian).
10. Pushkin AA, Burda YE, Sevast'yanov AA, Kulikovskiy VF, Burda SY, Golubinskaya PA, et al. Renal cell carcinoma drug and cell therapy: today and tomorrow. *Research Results in Pharmacology*. 2018;4(1):17–26. <https://doi.org/10.3897/rppharmacology.4.25251>
11. Shkurat TP, Pushkin AA, Kozlova MYu, Kolina EA, Prokudina IO. Bioinformatic research of mRNA regulators of tumor suppressor genes. *Actual problems of biology, nanotechnology and medicine. Materials of the VI International Scientific and Practical Conference*. 2015. Rostov-on-Don: Publishing house of the Southern Federal University, 2015, 64–65 p. Available by: https://elibrary.ru/download/elibrary_29910966_49698769.pdf. Accessed 05.11.2020. (In Russian).
12. Rospatent. Registered on 29.11.2018. Patent number RU2709651C1. Kit OI, Timoshkina NN, Pushkin AA, Kutilin DS, Rostorguev EE, Kuznetsova NS. Method for differential diagnosis of gliomas based on analysis of gene expression and micro-RNA. (In Russian).
13. Colaprico A, Silva TC, Olsen C, Garofano L, Cava C, Garolini D, et al. TCGAbiolinks: an R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Res*. 2016 May 5;44(8):e71. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1507>
14. Ru Y, Kechris KJ, Tabakoff B, Hoffman P, Radcliffe RA, Bowler R, et al. The multiMiR R package and database: integration of microRNA-target interactions along with their disease and drug associations. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(17):e133. <https://doi.org/10.1093/nar/gku631>
15. He Q, Fang Y, Lu F, Pan J, Wang L, Gong W, et al. Analysis of differential expression profile of miRNA in peripheral blood of patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal*. 2019 Nov;33(9):e23003. <https://doi.org/10.1002/jcla.23003>
16. Wu D, Niu X, Tao J, Li P, Lu Q, Xu A, et al. MicroRNA-379-5p plays a tumor-suppressive role in human bladder cancer growth and metastasis by directly targeting MDM2. *Oncol Rep*. 2017 Jun;37(6):3502–3508. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5607>
17. Lv X, Wang M, Qiang J, Guo S. Circular RNA circ-PITX1 promotes the progression of glioblastoma by acting as a competing endogenous RNA to regulate miR-379-5p/MAP3K2 axis. *Eur J Pharmacol*. 2019 Nov 15;863:172643. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172643>
18. Kumar R, DuMond JF, Khan SH, Thompson EB, He Y, Burg MB, et al. NFAT5, which protects against hypertonicity, is activated by that stress via structuring of its intrinsically disordered domain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020 Aug 18;117(33):20292–20297. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911680117>
19. Li Y, Yuan F, Song Y, Guan X. miR-17-5p and miR-19b-3p prevent osteoarthritis progression by targeting EZH2. *Exp Ther Med*. 2020 Aug;20(2):1653–1663. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8887>
20. Pellatt DF, Stevens JR, Wolff RK, Mullany LE, Herrick JS, Samowitz W, et al. Expression Profiles of miRNA Subsets Distinguish Human Colorectal Carcinoma and Normal Colonic Mucosa. *Clin Transl Gastroenterol*. 2016 Mar 10;7:e152. <https://doi.org/10.1038/ctg.2016.11>
21. Ye -B, Li Z-L, Luo D-H, Huang B-J, Chen Y-S, Zhang X-S, et al. Tumor-derived exosomes promote tumor progression and T-cell dysfunction through the regulation of enriched exosomal microRNAs in human nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 2014 Jul 30;5(14):5439–5452. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2118>
22. Wei J, Yin Y, Deng Q, Zhou J, Wang Y, Yin G, et al. Integrative Analysis of MicroRNA and Gene Interactions for Revealing Candidate Signatures in Prostate Cancer. *Front Genet*. 2020;11:176. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00176>
23. Zhang H, Xu S, Liu X. MicroRNA profiling of plasma exosomes from patients with ovarian cancer using high-throughput sequencing. *Oncol Lett*. 2019 Jun;17(6):5601–5607. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10220>
24. Zhang J, Li Y, Dong M, Wu D. Long non-coding RNA NEAT1 regulates E2F3 expression by competitively binding to miR-377 in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2017 Oct;14(4):4983–4988. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6769>
25. Jiang X-M, Yu X-N, Liu T-T, Zhu H-R, Shi X, Bilegsaikhan E, et al. microRNA-19a-3p promotes tumor metastasis and chemoresistance through the PTEN/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother*. 2018 Sep;105:1147–1154. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.097>
26. Pushkin AA, Kit OI. Clinical significance of gene expression patterns in glioblastomas. *Congress of Young Scientists "Topical issues of fundamental and Clinical medicine"*. Tomsk: 2018, 301–302 p. Available by: https://elibrary.ru/download/elibrary_36832243_25858437.pdf. Accessed 05.11.2020. (In Russian).
27. Liu Q, Wang J, Tang M, Chen L, Qi X, Li J, et al. The overexpression of PXN promotes tumor progression and leads to radioresistance in cervical cancer. *Future Oncol*. 2018 Feb;14(3):241–253. <https://doi.org/10.2217/fon-2017-0474>
28. Fan M, Ma X, Wang F, Zhou Z, Zhang J, Zhou D, et al. MicroRNA-30b-5p functions as a metastasis suppressor in colorectal cancer by targeting Rap1b. *Cancer Lett*. 2020 May 1;477:144–156. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.02.021>

Информация об авторах:

Пушкин Антон Андреевич* – научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2385-6285>, SPIN: 9223-1871, AuthorID: 975797, ResearcherID: AAA-8887-2020, Scopus Author ID: 57200548010

Тимошкина Наталья Николаевна – к.б.н., руководитель лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>, SPIN: 9483-4330, AuthorID: 633651, ResearcherID: D-3876-2018, Scopus Author ID: 24077206000

Гвалдин Дмитрий Юрьевич – к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8633-2660>, SPIN: 8426-9283, AuthorID: 1010353, ResearcherID: AAA-9894-2020, Scopus Author ID: 57195716861

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., доцент, ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745

Information about authors:

Anton A. Pushkin* – Researcher, Laboratory of Molecular Oncology National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2385-6285>, SPIN: 9223-1871, AuthorID: 975797, ResearcherID: AAA-8887-2020, Scopus Author ID: 57200548010

Natalya N. Timoshkina – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory Molecular Oncology National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>, SPIN: 9483-4330, AuthorID: 633651, ResearcherID: D-3876-2018, Scopus Author ID: 24077206000

Dmitry Yu. Gvaldin – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, Laboratory of Molecular Oncology National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8633-2660>, SPIN: 8426-9283, AuthorID: 1010353, ResearcherID: AAA-9894-2020, Scopus Author ID: 57195716861

Elena A. Dzhenkova – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, academic secretary National Medical Research Centre of Oncology of the Russian Ministry of Health, Rostov-on-Don, Russian Federation. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, ResearcherID: K-9622-2014, Scopus Author ID: 6507889745