

А.С. Матвеева¹
Л.М. Ковалевська¹
О.С. Поліщук¹
М. Муштак²
О.В. Кашуба^{1,2}

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

²Каролінський Інститут, Стокгольм, Швеція

Ключові слова: хронічний лімфолейкоз, фактори транскрипції, профіль експресії генів.

ПРОФІЛЬ ЕКСПРЕСІЇ ФАКТОРІВ ТРАНСКРИПЦІЇ У ЗРАЗКАХ КРОВІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ЛІМФОЛЕЙКОЗ

Мета: дослідити профіль експресії факторів транскрипції у клітинах хронічного лімфолейкозу (ХЛЛ) порівняно з лімфоцитами крові здорових людей для виявлення механізму виникнення непластичних клітин ХЛЛ. **Об'єкт і методи:** зразки периферичної крові хворих на ХЛЛ, виділення РНК, аналіз експресії факторів транскрипції з використанням RT² profiler Array і кількісної полімеразної ланцюгової реакції. **Результати:** застосовуючи платформу PARN-075Z, вивчили експресію 84 факторів транскрипції у суміші РНК, виділених із В-клітин хворих на ХЛЛ, порівняно з В-клітинами, а також із сумішшю РНК, виділеною з лімфоцитів крові здорових донорів. Показано, що гени POU2ATF1, NFAT5, NFATC1, JUNB, JUN та RELB експресуються на більш високому рівні у суміші РНК із клітин ХЛЛ порівняно з В-клітинами здорових осіб. З урахуванням гетерогенності пацієнтів проведено аналіз генів з варіабельною експресією на зразках, взятих в окремих хворих. Підтверджено, що гени HAND1, HOXA5 і SMAD9 експресуються на низькому рівні у клітинах ХЛЛ окремих пацієнтів на відміну від генів ID1 та JUNB, що показали гетерогенний патерн експресії. **Висновки:** чітка різниця у профілі експресії дозволяє продовжити дослідження з метою ідентифікувати блоковані клітинні шляхи у клітинах ХЛЛ за допомогою біоінформатичного аналізу.

ВСТУП

Хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) є злоякісним клональним лімфопроліферативним захворюванням, що характеризується накопиченням атипових зрілих CD5-/CD19-/CD23-позитивних В-лімфоцитів переважно в крові, кістковому мозку, лімфатичних вузлах, печінці і селезінці. ХЛЛ є однією із найбільш поширених онкогематологічних хвороб: щорічна захворюваність становить близько 3 випадків на 100 тис. осіб, причому захворювання зазвичай діагностують у літньому віці, у чоловіків — у 1,5–2 рази частіше, ніж у жінок [1]. В Україні загальна захворюваність становить 3,28 на 100 тис. дорослого населення. Середній вік чоловіків у момент виявлення захворювання становить 70 років, жінок — 74 роки. ХЛЛ у людей віком молодше 50 років виявляють досить рідко і практично не діагностують у підлітковому віці [2]. Більшості випадків ХЛЛ, якщо не всім, передують передлейкозний стан (моноклональний В-клітинний лімфоцитоз), який виникає у 5–10% людей віком старше 40 років і прогресує в ХЛЛ з частотою близько 1% на рік [3].

Основною гіпотезою походження ХЛЛ є накопичення довгоживучих імунологічно некомпетентних В-лімфоцитів, які не проліферують. Припускають також, що частина злоякісних клітин проліферує, причому кількість нових клітин, що утворюються за добу, становить 0,1–0,35% від загального обсягу клітин клону [4]. Вважається, що проліферація клітин ХЛЛ відбувається в мікроанатомічних структу-

рах, або проліферативних центрах [5]. Показано, що при високій швидкості проліферації більш імовірним є агресивний перебіг хвороби. На користь першої гіпотези свідчить факт відсутності проліферуючих клітин ХЛЛ у крові пацієнтів. Як правило, клітини ХЛЛ представлені мономорфними малими округлими В-лімфоцитами, які мають високі значення відношення ядро/цитоплазма, з домішками пролімфоцитів із характерними псевдофолікулярними центрами проліферації (псевдофолікулами) у гістологічних зрізах тканин [2]. Для диференційної діагностики ХЛЛ з іншими лімфопроліферативними захворюваннями, як правило, аналізують кількість В-клітин у периферичній крові, кістковому мозку та проводять імунофенотипування циркулюючих лімфоцитів [6].

Незважаючи на довгу історію вивчення ХЛЛ, механізми виникнення і розвитку захворювання залишаються недостатньо дослідженими. Швидше за все, мікросередовище впливає на проліферування клітин та апоптоз через сигнали, трансдуковані за допомогою В-клітинного рецептора, хемокінів і рецепторів цитокінів або при безпосередньому контакті клітин-прекурсорів ХЛЛ з іншими клітинами.

Показано [7], що більшість клітин ХЛЛ мають високий рівень експресії CDKN1B (P27). Цим можна пояснити той факт, що клітини ХЛЛ, як правило, перебувають в фазі клітинного циклу G0/G1. Також відомо, що інші білки родини BCL2 (BCLXL, BAG1, BCLXS) експресуються на високому рівні в кліти-

нах ХЛЛ. Найбільш вірогідно, що виникнення ХЛЛ є результатом відбору клонів довгоживучих лімфоцитів. Можливо, експресія певних факторів транскрипції дерегульована, що також може призводити до повільної проліферації клітин ХЛЛ або її відсутності. Метою цієї роботи було дослідження профілю експресії факторів транскрипції у клітинах ХЛЛ порівняно з В-клітинами крові здорових людей-донорів з метою більш повного розуміння механізмів виникнення цього захворювання.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічні зразки. Зразки периферичної крові мешканців міста Києва і областей України, хворих на ХЛЛ, отримано у відділі онкогематології (завідувач — професор Д.Ф. Глузман) в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології (ІЕПОР) ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук (НАН) України, співробітники якого здійснювали діагностичні дослідження. Вивчали мазки периферичної крові, кісткового мозку, які забарвлювали за методом Май-Грюнвальд — Гімзи для морфологічного аналізу. З метою верифікації ХЛЛ використовували ензимцитохімічні, імуноцитохімічні методи із застосуванням антитіл проти лужної фосфатази (АРААР), міченого стрептавідину-біотину і лужної фосфатази (LSAB-AP) та широку панель моноклональних антитіл для типування патологічних клітин. У дослідження включено 38 пацієнтів, типовий В-клітинний ХЛЛ відповідно до нової класифікації Всесвітньої організації охорони здоров'я [8] діагностовано у 29 осіб. Ще 4 особи мали В-клітинний ХЛЛ змішаного типу, 2 пацієнти — В-клітинну лімфому; Т-клітинну проліферативну лімфому виявлено у 3 пацієнтів. Для контролю В- і Т-клітини виділено з периферичної крові 3 здорових людей-донорів.

Схему експерименту затверджено Комітетом з біоетики при ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

Клітини ХЛЛ, виділені з периферичної крові за допомогою градієнтного центрифугування на фіколі, ресуспендували у реагенті TRIzol (GibcoBRL, США) та зберігали при -80°C до подальшого використання. Загальну РНК виділяли за допомогою набору RNeasy Mini Kit (Qiagen Inc., Німеччина) згідно з інструкцією виробника. Комплементарну ДНК (кДНК) синтезували за допомогою зворотної транскриптази (M-MLV Reverse Transcriptase) та інгібітору РНКаз (Ribonuclease Inhibitor Rnase OUTTM, Invitrogen, США) відповідно до протоколу виробника. 2 мкг тотальної РНК використовували для отримання кДНК.

Отриману кДНК було використано у реакціях на платі PARN-075Z, RT² profiler PCR Array (SABioscience, Qiagen Inc., Німеччина), а також у кількісній полімеразній ланцюговій реакції (к-ПЛР).

Профіль експресії 84 факторів транскрипції вивчено разом із 12 позитивними та негативними контролюями (усього 96 генів) на двох ідентичних

сумішах РНК (ізольованих із клітин пацієнтів). Суміш РНК складалася із 25 мкл розчину РНК кожного пацієнта. Групою контролю слугувала суміш РНК, виділених із В-клітин периферичної крові здорових донорів, а також суміш РНК, виділених з їх В- і Т-клітин.

к-ПЛР проводили з використанням 2 мкг кДНК у реальному масштабі часу з використанням SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc., США) на PCR System 7500 (Applied Biosystem, США). C_T не вимірювали після 35 циклів. Отримані значення C_T були завантажені на веб-сайт виробника (Thermo Fisher Scientific Inc., США) для онлайн-аналізу експресії факторів транскрипції.

Далі було вивчено експресію декількох генів (табл. 1) на зразках РНК окремих пацієнтів. Ендogenous контролем рівня експресії для к-ПЛР слугував ген, що кодує білок ТВР (TATA binding protein). Концентрацію праймерів для к-ПЛР доводили до кінцевої концентрації 3 мкМ. Загальний обсяг реакційної суміші протягом усіх експериментів к-ПЛР становив 20 мкл. к-ПЛР проводили з використанням SYBR Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Кожну к-ПЛР проводили тричі. Зміни рівня мРНК кожного гена порівнювали, використовуючи непараметричний тест Манна — Уїтні. Розраховане середнє значення мало середню похибку <30%.

Таблиця 1

Праймери для аналізу експресії вибраних факторів транскрипції за допомогою к-ПЛР

	Ген	Послідовність праймерів
1	<i>HAND1</i>	Forward: 5'-TGAACCTCAAGAAGGCGGATG-3' Reverse: 5'-AATCCTCTCTCGACTGGGC-3'
2	<i>HOXA5</i>	Forward: 5'-GCGCAAGCTGCACATAAGTC-3' Reverse: 5'-GAACCTCTCTCCAGCTCCA-3'
3	<i>ID1</i>	Forward: 5'-GGAATCCGAAGTTGGAACC-3' Reverse: 5'-ACACAAGATGCGATCGTCC-3'
4	<i>JUNB</i>	Forward: 5'-GAACAGCCCTTCTACCACGA-3' Reverse: 5'-AGGCTCGGTTTCAGGAGTTT-3'
5	<i>SMAD9</i>	Forward: 5'-TCAACGATAGAAAATACCAGGAGA-3' Reverse: 5'-AGATGCTGCTGTCACTCACG-3'
Конт- роль	<i>TBP</i>	Forward: 5'-ACATCTCAGCAACCCACACA-3' Reverse: 5'-GTGAAGGGTACAAGGGGGTG-3'

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Патерн експресії генів у клітинах ХЛЛ. Дані щодо загальної експресії 84 факторів транскрипції на рівні РНК, виділених із В-клітин 38 пацієнтів із ХЛЛ, порівняно з В-клітинами в нормі, а також сумішшю РНК В- і Т-клітин здорових донорів наведено на рис. 1. Як видно, тільки декілька генів експресуються на більш високому рівні у суміші РНК із клітин ХЛЛ при зіставленні з В-клітинами в нормі, а саме *POU2ATF1*, *NFAT5*, *NFATC1*, *JUNB*, *JUN* та *RELB*. Детальний аналіз змін у рівнях експресії факторів транскрипції у клітинах ХЛЛ порівняно з В-клітинами наведено на рис. 2, а та у табл. 2. Цікаво відзначити, що експресія гена *RB1* знижена у клітинах ХЛЛ у 2,70 раза, а гена *SP1* — не суттєво підвищена (у 1,46 раза), що збігається з даними аналізу мікромасивів [9]. Проте ми отримали інші результа-

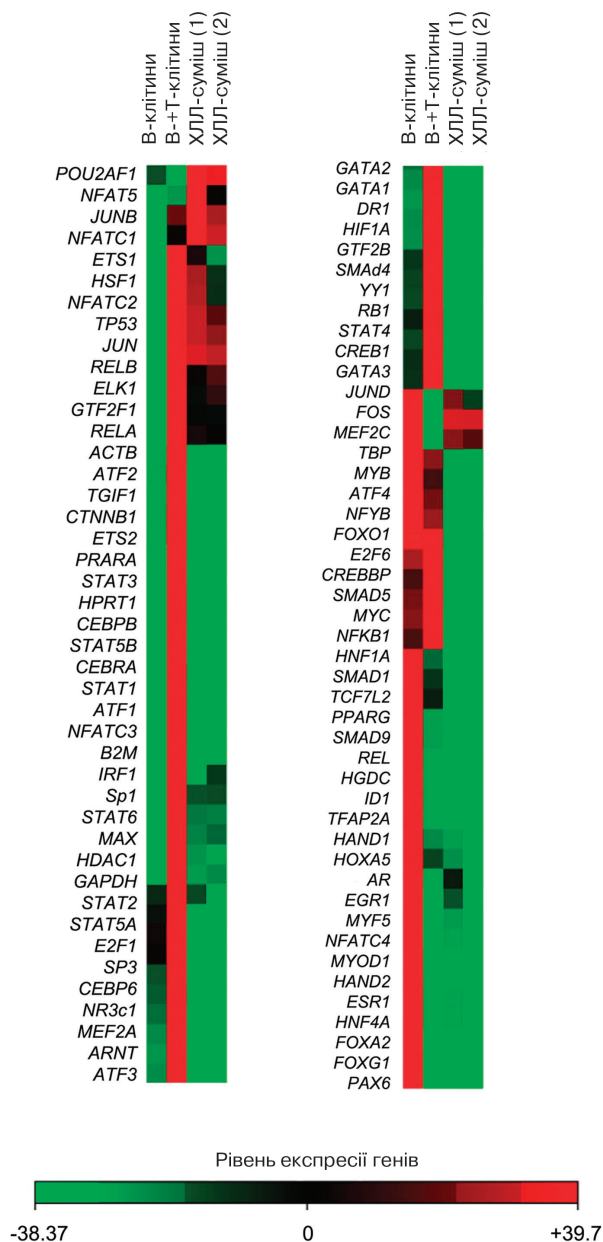


Рис. 1. Загальна експресія факторів транскрипції у клітинах ХЛЛ, В- та В- + Т-лімфоцитах здорових донорів

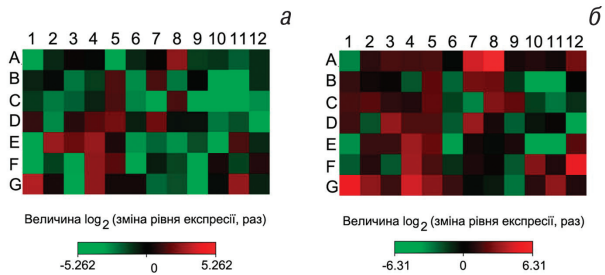


Рис. 2. Різниця у рівні експресії генів, виражена за допомогою теплокарт: а – різниця в експресії генів між клітинами ХЛЛ і В-клітинами крові донорів; б – різниця в експресії генів між сумішшю В- і Т-клітин і В-клітинами

ти для генів, які стимулюють проліферацію, наприклад для *C-MYC* та *NfκB1*, експресія яких знижена (у 3,26 та 4,23 рази відповідно) у клітинах ХЛЛ, що контрастує з опублікованими даними [9], однак відповідає природі клітин ХЛЛ, що практично не проліферують. Слід зазначити, що ген *REL* експресувався на нижчому рівні у клітинах ХЛЛ (у 9,91 рази нижче, ніж у В-клітинах), що також відрізняється від даних стосовно експресії, описаних раніше [10]. Така різниця може бути пов'язана як із природою зразків, так і з використанням різних методів аналізу та ендогенних контролів. Зокрема, нами використано ген *TBP*, який експресується на невисокому рівні в усіх клітинах, а не β₂-мікроглобулін, який часом індукується у В-клітинах, що, можливо, вплинуло на аналіз для генів, які експресуються на невисокому рівні.

Дані вказують, у скільки разів експресія гена знижена (-) або підвищена (+) у клітинах ХЛЛ порівняно з В-клітинами крові здорових людей-донорів.

Різницю у рівні експресії генів між клітинами ХЛЛ і В-клітинами крові донорів також показує так звана теплокарта, або матриця окремих значень експресії генів (рис. 2, а). Аналіз теплокарт демонструє суттєву різницю визначених 84 факторів транскрипції у ХЛЛ-клітинах (проти В-клітин в нормі) та у суміші В- і Т-клітин (проти В-клітин) (рис. 2, б). Червоним означено гени, які експресуються на більш високому рівні, а зелений вказує на гени, експресія

Таблиця 2

Аналіз профілю експресії факторів транскрипції за допомогою RT² profiler PCR Array*

	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
A	AR -9,85	ARNT -1,87	ATF1 1,22	ATF2 -1,13	ATF3 -15,87	ATF4 -1,82	CEBPA 1,09	CEBPB 5,61	CEBPG -2,49	CREB1 -2,29	CREBBP -3,82	CTNNB1 -2,06
B	DR1 -1,74	E2F1 -1,19	E2F6 -5,18	EGR1 -2,53	ELK1 2,83	ESR1 -7,21	ETS1 2,64	ETS2 -5,38	FOS -1,09	FOXA2 -20,48	FOXP1 -38,37	FOXO1 -2,06
C	GATA1 -2,39	GATA2 -5,57	GATA3 -3,96	GTF2B -1,73	GTF2F1 2,72	HAND1 -6,17	HAND2 -16,13	HDAC1 2,54	HIF1A -17,37	HNFB1A -17,64	HNFB4A -13,7	HOXA5 -7,38
D	HSF1 2,04	ID1 -7,06	IRF1 1,77	JUN 2,95	JUNB 4,23	JUND -1,61	MAX 4,00	MEF2A -1,3	MEF2C -1,33	MYB -5,34	MYC -3,26	MYF5 -15,52
E	MYOD1 -12,08	NFAT5 6,39	NFATC1 3,89	NFATC2 6,25	NFATC3 1,53	NFATC4 -7,84	NFKB1 -4,23	NFYB -7,55	NR3C1 -3,02	PAX6 -20,11	POU2AF1 2,75	PRARA -1,89
F	PPARG -24,35	RB1 -2,66	REL -9,91	RELA 5,79	RELB 2,93	SMAD1 -18,15	SMAD4 -1,57	SMAD5 -2,84	SMAD9 -18,01	SP1 1,46	SP3 -2,65	STAT1 1,65
G	STAT2 8,78	STAT3 1,42	STAT4 -18,59	STAT5A 5,79	STAT5B 1,38	STAT6 1,37	TBP -4,30	TCF7L2 -3,15	TFAP2A -18,25	TGIF1 -1,24	TP53 6,11	YY1 -1,67

*Профіль експресії 96 генів (12 з них – позитивні та негативні контроли) вивчено на двох ідентичних сумішах РНК (ізольованих із клітин пацієнтів з ХЛЛ) на платформі PARN-075Z. Група контролю – суміш РНК, виділена з В-клітин периферичної крові здорових людей-донорів. Внутрішнім контролем слугував ген, що кодує білок TBP (TATA binding protein). C_t не вимірювали після 35 циклів.

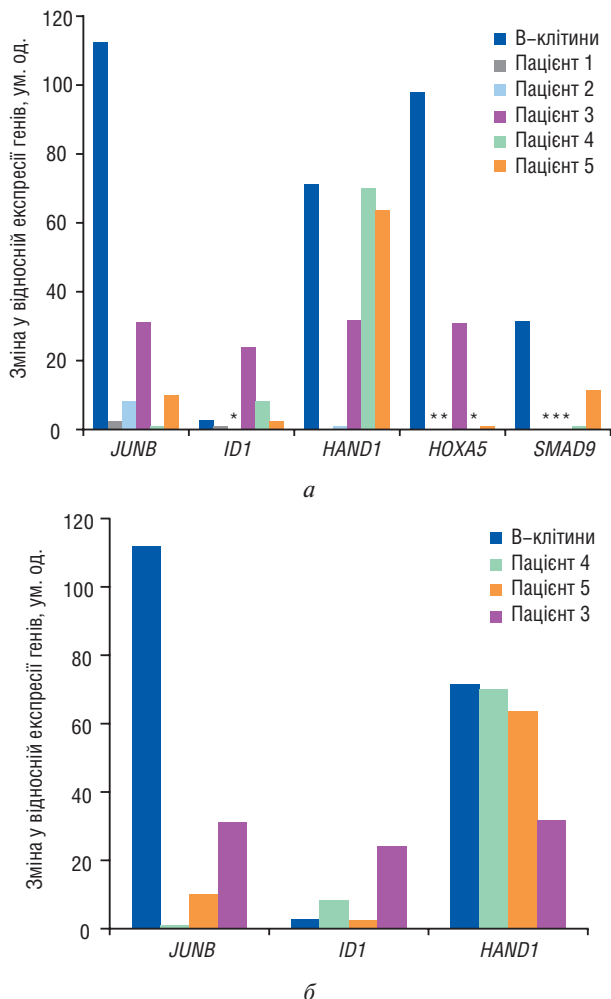


Рис. 3. Експресія вибраних факторів транскрипції у клітинах ХЛЛ окремих пацієнтів: *а* — середні значення (після трьох експериментів) експресії генів у клітинах ХЛЛ порівняно з В-клітинами крові донорів; *б* — значення середньої експресії генів, скомпонованих за вмістом клітин ХЛЛ у периферичній крові пацієнтів (3 — 98%, 4 — 92%, 5 — 94%). Експресію гена *HAND1* у В-клітинах на рисунку подано зниженою у 10 разів. *Дані відсутні

яких більш низька. Перелік факторів транскрипції, які кодуються літерами і номерами на теплокартах, наведено у табл. 2.

Експресія генів у клітинах ХЛЛ окремих пацієнтів. З урахуванням гетерогенності пацієнтів (див. розділ «Об'єкт і методи дослідження») наступним етапом було проведення аналізу експресії генів, які експресуються на різному рівні у клітинах ХЛЛ на зразках окремих хворих із підтвердженим діагнозом ХЛЛ методом к-ПЛР. В обраних 5 пацієнтів вміст клітин ХЛЛ у периферичній крові становив від 84 до 98%, що було показано за допомогою імуноцитохімічного аналізу. Проаналізовано експресію генів *HAND1*, *HOXA5*, *ID1*, *JUNB*, *SMAD9* порівняно з *TBP*. Результати аналізу надано на рис. 3. Підтверджено, що ген *HAND1* експресується на низькому рівні у клітинах ХЛЛ окремих пацієнтів: експресія була нижчою у 10–23 рази порівняно з В-клітинами донорів (у суміші РНК 38 пацієнтів знижена у 6,17 раза). Подібні дані зниження експресії отримали для генів *HOXA5*

і *SMAD9* (див. рис. 3, табл. 2). Рівень експресії гена *ID1* був знижений або не змінився тільки у 2 пацієнтів, у 3 інших експресія була підвищеною; у суміші РНК 38 хворих вона була знижена у 7,06 раза. Експресія гена *JUNB* була знижена у всіх 5 пацієнтів, на відміну від підвищення (у 4,23 раза) у суміші РНК (див. рис. 3, табл. 2).

Зазначені відмінності між індивідуальними і груповими даними можуть бути пов'язані з тим, що тільки 29 пацієнтів із 38 обстежених дійсно були хворі на В-клітинний ХЛЛ. Присутність інших клітин вплинула на отримані результати.

Проте чітка різниця у профілі експресії дозволяє продовжити наше дослідження з метою ідентифікувати блоковані клітинні шляхи за допомогою біоінформатичного аналізу, що буде предметом майбутньої роботи.

Відомо, що ген *HAND1* задіяний у диференціації трофобластів та розвитку серцевих м'язів [11], а протеїн, кодований геном *HOXA5*, бере участь у ембріогенезі, а також може індукувати білок p53 [12], тому ці гени експресуються на низькому рівні у клітинах ХЛЛ.

На відміну від суміші РНК, у окремих пацієнтів ген *ID1* показує високу гетерогенність у експресії (від зниженої у 2 рази до підвищеної у 10 разів) порівняно з експресією у В-клітинах крові донорів. Відомо, що *ID1*, інгібітор диференціювання, високо експресується у про-В-клітинах, його експресія знижується при розвитку у пре-В- та зрілі В-клітини [13]. Також показано, що ступінь диференціювання залежить від рівня експресії *ID1*, що може регулюватися на рівні транскрипції гена [14]. Цікаво відзначити, що у пацієнтів рівень експресії зростає при збагаченні периферичної крові клітинами ХЛЛ (рис. 3, б).

Відмінною від показника у суміші є також експресія гена *JUNB* в окремих пацієнтів (вона нижча, ніж при аналізі суміші РНК). Раніше продемонстровано, що білок JUNB може індукувати апоптоз. Він часто дерегульований або мутований при гемобластозах, особливо при гострій Т-клітинній лімфобластній лейкемії [15]. Як описано вище, у когорті пацієнтів було 3 особи з Т-клітинною лімфомою, що могло вплинути на результати аналізу експресії цього гена в суміші РНК.

Наразі відомо, що однією із причин гетерогенності клінічних проявів ХЛЛ є відмінності в мутаційному статусі варіабельних ділянок генів важких ланцюгів імуноглобулінів (IgHV). Соматичні мутації генів IgH виявляють в клітинах 50–60% хворих на ХЛЛ. Якщо IgHV не мутовані, як правило, це вказує на більш агресивний перебіг захворювання, тобто на менш сприятливий прогноз. Підвищена експресія CD38 і ZAP-70 корелює з відсутністю мутацій в IgHV і поганим прогнозом. Також на агресивність перебігу ХЛЛ вказує підвищена експресія тимидинкінази, CD23, а також β_2 -мікроглобуліну в сироватці крові [2].

ВИСНОВКИ

1. Вивчення експресії 84 факторів транскрипції у суміші РНК, виділених із В-клітин крові хворих на ХЛЛ, порівняно з В-клітинами здорових людей-донорів показало, що тільки декілька генів експресуються на більш високому рівні в клітинах ХЛЛ: *POU2ATF1*, *NFAT5*, *NFATC1*, *JUNB*, *JUN*, *RELB*.

2. З урахуванням гетерогенності клінічних і патологічних проявів у пацієнтів проведено аналіз генів із різною експресією на зразках клітин крові окремих хворих на ХЛЛ. Підтверджено, що гени *HAND1* *HOXA5* і *SMAD9* експресуються на низькому рівні у клітинах ХЛЛ, на відміну від генів *ID1* та *JUNB*, що показали гетерогенний патерн експресії.

3. Чітка різниця у профілях експресії пацієнтів із ХЛЛ і здорових людей дозволяє продовжити дослідження з метою ідентифікувати заблоковані клітинні шляхи за допомогою біоінформатичного аналізу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010; **60** (5): 277–300.
2. Глузман ДФ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА. Диагностическая онкогеамтология. Киев: ДИА, 2011. 256 с.
3. Gaidano G, Foà R, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. J Clin Invest 2012; **122** (10): 3432–8.
4. Chiorazzi N, Ferrarini M. Evolving view of the *in vivo* kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. Hematology 2006; (1): 273–8.
5. Messmer BT, Messmer D, Allen S L, et al. *In vivo* measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. J Clin Invest 2005; **115** (3): 755–64.
6. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. Blood 2008; **111** (12): 5446–56.
7. Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia. Lancet 2008; **371** (9617): 1017–29.
8. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood 2016; **127**: 2375–90.
9. Savli H, Sunnetci D, Cine N, et al. Gene expression profiling of B-CLL in Ukrainian patients in post-Chernobyl period. Exp Oncol 2012; **34** (1): 57–63.
10. Savli H, Akkoyunlu RU, Gine N, et al. Deregulated levels of the NF-KB1, NF-KB2, and REL genes in Ukrainian patients with leukemia and lymphoma in the post-Chernobyl period. Turk J Hematol 2016; **33** (1): 8–14.
11. Knöfler M, Meinhardt G, Bauer S, et al. Human Hand1 basic helix-loop-helix (bHLH) protein: extra-embryonic expression pattern, interaction partners and identification of its transcriptional repressor domains. Biochem J 2002; **361** (3): 641–51.
12. Lee DH, Forscher C, Di Vizio D, Koeffler HP. Induction of p53-independent apoptosis by ectopic expression of HOXA5 in human liposarcomas. Sci Rep 2015; **5** (Article No. 12580). 11 p.
13. Sun XH, Copeland NG, Jenkins NA, et al. Id proteins Id1 and Id2 selectively inhibit DNA binding by one class of helix-loop-helix proteins. Mol Cell Biol 1991; **11** (11): 5603–11.

14. Sun XH. Constitutive expression of the Id1 gene impairs mouse B cell development. Cell 1994; **79** (5): 893–900.

15. Fan SJ, Li HB. miRNA-149 promotes cell proliferation and suppresses apoptosis by mediating JunB in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Leuk Res 2016; **41** (2): 62–70.

EXPRESSION PROFILE OF TRANSCRIPTION FACTORS IN THE BLOOD SAMPLES OF PATIENTS WITH THE CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

A.S. Matvieieva, L.M. Kovalevska, O.S. Polishchuk, M. Mushtaq, E.V. Kashuba

Summary. Aim: to investigate the expression profile of transcription factors in chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells compared with B cells to identify mechanisms of CLL appearance. **Objects and methods:** Samples of peripheral blood of patients with CLL, RNA isolation, analysis of expression of transcription factors, using RT² profiler Array and quantitative polymerase chain reaction. **Results:** using the PARN-075Z platform, expression of the 84 transcription factors was studied in a mixture of RNA isolated from CLL cells of patients, in comparison B cells and a mixture of RNA isolated from B- and T-cells of healthy donors. We have found that genes *POU2ATF1*, *NFAT5*, *NFATC1*, *JUNB*, *JUN*, and *RELB* were expressed at higher levels in a mixture of RNA from CLL cells when compared with B-cells. Using quantitative polymerase chain reaction, we have observed that genes *HAND1*, *HOXA5*, and *SMAD9* were similarly expressed in CLL cells of individual patients while the *ID1* gene, in contrast, showed a higher expression compared with normal B-cells. **Conclusions:** the expression of the 84 transcription factors was studied in a mixture of RNA isolated from cells of CLL patients, compared with B cells from healthy donors. Given the heterogeneity of patients, gene expression was analyzed in samples of individual patients. It was confirmed that genes *HAND1*, *HOXA5*, and *SMAD9* expressed at low levels in CLL cells of individual patients, unlike genes *ID1* and *JUNB* that showed a heterogeneous pattern of expression. A clear difference in expression profiles allows us to extend our research to identify cellular pathways blocked in CLL cells, using bioinformatics analysis.

Key Words: chronic lymphocytic leukemia, transcription factors, gene expression profile.

Адреса для листування:

Кашуба О.В.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: lenakash@yahoo.com

Одержано: 08.11.2016