

Ген *MIR142* при лимфомах: комплексный анализ cBioPortal for Cancer Genomics database и собственных данных

Е.Н. Воропаева^{1,2}, О.Б. Серегина¹, М.С. Войтко¹, Т.Н. Бабаева¹, В.Н. Максимов^{1,2}, Т.И. Поспелова¹

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

² НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. МикроРНК miR-142 на многих уровнях вовлечена в пути патогенеза диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы (ДВККЛ): зрелые цепи являются онкосупрессорными и нацелены на ряд важнейших для лимфоогенеза проонкогенов.

Цель. Выполнить сравнительный анализ частоты и спектра aberrаций (мутаций, статуса метилирования и нарушения копийности) в гене *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и первичной лимфомой центральной нервной системы (ПЛЦНС), а также провести анализ их клинического значения.

Материалы и методы. Исследованы биоптаты 137 пациентов с системной ДВККЛ, 35 больных ПЛЦНС и 11 пациентов с реактивной лимфаденопатией (контроль). Анализировались мутации и метилирование гена *MIR142*. Для проверки изменения копийности локуса расположения гена *MIR142* проанализированы результаты профилирования с применением микрочипов Affymetrix SNP 6.0 опухолевого материала 364 больных системной ДВККЛ и 43 – ПЛЦНС, представленные в базе данных cBioPortal for Cancer Genomics.

Результаты. Показаны большая частота выявления мутаций в *MIR142* ($p = 0,010$) и отличный спектр их расположения при ПЛЦНС в сравнении с системной ДВККЛ. При ПЛЦНС подгруппа пациентов с мутациями в *MIR142* характеризовалась достоверно более высоким пролиферативным потенциалом опухолевого субстрата ($p = 0,021$). При системной ДВККЛ мутационный статус *MIR142* ассоциирован с более ранним дебютом заболевания ($p = 0,025$), а также большей частотой вовлечения в опухолевый процесс нелимфатических органов ($p = 0,046$). Сравнительный анализ показал наибольшую гетерогенность представленности метилированного аллеля гена *MIR142* в опухолевой лимфоидной ткани пациентов с системной ДВККЛ. В 43,6 % случаев системной ДВККЛ и 30,0 % ПЛЦНС имело место полное деметилирование анализируемого гена, что не встречалось в группе контрольных образцов ($p = 0,007$ и $p = 0,040$ соответственно). Отмечен больший уровень метилирования анализируемого гена у пациентов старше 60 лет как при ПЛЦНС ($p = 0,042$), так и при системной ДВККЛ ($p = 0,077$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что основным механизмом нарушения копийности *MIR142* являются микроделеционные/микродупликационные события, более частые при ПЛЦНС. Благоприятное значение для общей выживаемости при изученных лимфомах имело снижение копийности гена. Так, показатели 5-летней общей выживаемости больных ПЛЦНС составили 71,4 % в подгруппе с делециями, 56,3 % в подгруппе с дупликациями и 25 % при отсутствии изменений.

Заключение. В нашем исследовании впервые выполнен сравнительный анализ частоты и спектра aberrаций (мутаций, статуса метилирования и нарушения копийности) в гене *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЦНС, а также анализ их ассоциации с особенностями клинического течения данных заболеваний. В целом полученные данные в отношении отдаленных результатов терапии как системной ДВККЛ, так и ПЛЦНС косвенно согласуются с результатами более ранних работ, в которых показана ассоциация высокой экспрессии miR-142 с ухудшением показателей выживаемости пациентов с лимфомами.

Ключевые слова: *MIR142*, диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВККЛ), первичная лимфома центральной нервной системы (ПЛЦНС), регуляция микроРНК, экспрессия генов, мутационный профиль, секвенирование.

Образец цитирования: Воропаева Е.Н., Серегина О.Б., Войтко М.С., Бабаева Т.Н., Максимов В.Н., Поспелова Т.И. Ген *MIR142* при лимфомах: комплексный анализ cBioPortal for Cancer Genomics database и собственных данных // Journal of Siberian Medical Sciences. 2026;10(3):7-33. DOI: 10.31549/2542-1174-2026-10-3-7-33

Поступила в редакцию 27.05.2026
Прошла рецензирование 29.06.2026
Принята к публикации 10.08.2026

Автор, ответственный за переписку
Воропаева Елена Николаевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: vena.81@mail.ru

Received 27.05.2026
Revised 29.06.2026
Accepted 10.08.2026

Corresponding author
Elena N. Voropaeva: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: vena.81@mail.ru

The *MIR142* gene in lymphomas: a comprehensive analysis of data from cBioPortal for Cancer Genomics and our own findings

E.N. Voropaeva^{1,2}, O.B. Seregina¹, M.S. Voytko¹, T.N. Babaeva¹, V.N. Maksimov^{1,2}, T.I. Pospelova¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Research Institute of Internal and Preventive Medicine – branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. MicroRNA miR-142 is involved at multiple levels in the pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): mature chains are oncosuppressive and target a number of pro-oncogenes that are essential for lymphomagenesis.

Aim. To perform a comparative analysis of the frequency and spectrum of aberrations (mutations, methylation status, and copy number alterations) in the *MIR142* gene in the tumor tissue of patients with systemic DLBCL and primary central nervous system lymphoma (PCNSL), and to analyze their clinical significance.

Materials and methods. Biopsies from 137 patients with systemic DLBCL, 35 patients with PCNSL, and 11 patients with reactive lymphadenopathy (controls) were examined. Mutations and methylation of the *MIR142* gene were analyzed. To verify changes in the copy number of the *MIR142* gene locus, the results of profiling, using Affymetrix SNP 6.0 microarrays, of tumor samples from 364 patients with systemic DLBCL and 43 patients with PCNSL, presented in the cBioPortal for Cancer Genomics database, were analyzed.

Results. A higher frequency of mutations in the *MIR142* gene ($p = 0,010$) and a different spectrum of their location in PCNSL compared to systemic DLBCL were demonstrated. In PCNSL, the subgroup of patients with *MIR142* mutations was characterized by a significantly higher proliferative potential of the tumor substrate ($p = 0,021$). In systemic DLBCL, the *MIR142* mutation status was associated with an earlier disease onset ($p = 0,025$), as well as a higher frequency of non-lymphatic organ tumor involvement ($p = 0,046$). Comparative analysis revealed the greatest heterogeneity in the representation of the methylated allele of the *MIR142* gene in the tumor lymphoid tissue of patients with systemic DLBCL. Complete demethylation of the analyzed gene was found in 43,6% of systemic DLBCL and 30,0% of PCNSL patients, which was not observed in the control group ($p = 0,007$ and $p = 0,040$, respectively). A higher methylation level of the analyzed gene was noted in patients over 60 years of age in both PCNSL ($p = 0,042$) and systemic DLBCL ($p = 0,077$). The results obtained indicate that the main mechanism of alterations in *MIR142* copy number is the occurrence of microdeletion/microduplication events, which are more frequent in PCNSL. A decrease in the gene copy number had a favorable effect on overall survival in the patients with lymphomas studied. Thus, the 5-year overall survival rates of patients with PCNSL were 71,4% in the group with deletions, 56,3% – in the group with duplications, and 25% – in the absence of changes.

Conclusion. Our study is the first to compare the frequency and spectrum of aberrations (mutations, methylation status, and copy number alterations) in the *MIR142* gene in tumor tissue from patients with systemic DLBCL and PCNSL, as well as to analyze their association with the clinical course of these diseases. In general, the obtained data on long-term treatment outcomes for both systemic DLBCL and PCNSL are indirectly consistent with the results of previous studies showing an association between high miR-142 expression and decreased survival in lymphoma patients.

Keywords: *MIR142*, diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), primary central nervous system lymphoma (PCNSL), microRNA regulation, gene expression, mutational profile, sequencing.

Citation example: Voropaeva E.N., Seregina O.B., Voytko M.S., Babaeva T.N., Maksimov V.N., Pospelova T.I. The *MIR142* gene in lymphomas: a comprehensive analysis of data from cBioPortal for Cancer Genomics and our own findings. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2026;10(3):7-33. DOI: 10.31549/2542-1174-2026-10-3-7-33

ВВЕДЕНИЕ

МикроРНК – важнейшее звено регуляции экспрессии генов. Механизм их работы основан на комплементарном связывании с целевыми матричными РНК, что препятствует синтезу кодируемого ими белка. До недавнего времени было мало что известно об изменениях в кодирующих микроРНК участках генома при злокачественных новообразованиях [1–3].

INTRODUCTION

MicroRNAs are a key component in the regulation of gene expression. Their action is based on complementary binding to target messenger RNAs, which inhibits the synthesis of the protein they encode. Until recently, little was known about changes in the microRNA-encoding regions of the genome in malignant neoplasms [1–3].

In 2020, as part of The Cancer Genome Atlas (TCGA) project, high-throughput sequencing was

В 2020 г. в рамках проекта «Атлас генома рака» (The Cancer Genome Atlas – TCGA) методами высокопроизводительного секвенирования выполнен анализ последовательности около 2 тыс. генов микроРНК при 33 типах злокачественных новообразований. В исследование вошло более 10 тыс. парных образцов опухолевой и здоровой ткани пациентов, в том числе биоматериал 37 больных диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ). По результатам работы ДВККЛ оказалась на втором месте по частоте соматических мутаций в генах микроРНК, сразу после меланомы, при этом около трети всех мутаций при данном варианте лимфомы приходилось на один единственный ген *MIR142*, кодирующей miR-142 [4].

Уникальность микроРНК miR-142 состоит также в том, что обычно регуляторные взаимодействия микроРНК являются сложным разветвленными сетями. По этой причине нарушение работы одной микроРНК не имеет фенотипических последствий, ее функция дублируется другими участниками сети [5, 6]. Однако нокаут единственного гена *MIR142* приводит к полному отсутствию формирования плюрипотентных стволовых гемопоэтических клеток в период эмбриогенеза; во взрослом же организме – к развитию тяжелой тромбоцитопении, анемии, функциональных и количественных дефектов иммунных клеток. Более того, показано, что единственной мутации в гене *MIR142* достаточно для развития лимфопролиферативного заболевания, тогда как для развития острого миелоидного лейкоза требуется синергичное взаимодействие с другими драйверами опухолевого процесса, например, мутациями *IDH2* [7].

Опубликованный ранее обзор литературы показал, что данная микроРНК на многих уровнях вовлечена в пути патогенеза ДВККЛ: зрелые цепи miR-142 являются онкосупрессорными и нацелены на ряд важнейших для лимфогенеза проонкогенов, участников сигнальных путей выживания и пролиферации В-лимфоцитов, ингибиторы апоптоза, ферменты метаболического перепрограммирования, молекулы, способствующие созданию иммуносупрессивной микросреды и др. [7].

Первичная лимфома центральной нервной системы (ПЦНС) – это редкий вариант экстранодальных неходжкинских лимфом, который изолированно возникает в головном мозге, лептоменингеальных оболочках, спинном мозге или глазах без признаков системного заболевания [8, 9]. Гистологический тип ДВККЛ является

used to analyze the sequences of approximately 2000 microRNA genes in 33 types of malignancies. The study included over 10 000 pairs of tumor and healthy tissue samples from patients, involving samples from 37 patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). The study revealed that DLBCL had the second-highest frequency of somatic mutations in microRNA genes, just behind melanoma. Interestingly, approximately one-third of all mutations in this lymphoma variant were in a single gene, *MIR142*, encoding miR-142 [4].

The uniqueness of miR-142 also lies in the fact that usually the regulatory interactions of microRNAs are complex, branched networks. For this reason, alteration of the function of a single microRNA does not have phenotypic consequences; its function is duplicated by other network participants [5, 6]. However, knockout of a single *MIR142* gene leads to a complete breakdown of the production of pluripotent hematopoietic stem cells during embryogenesis; in an adult organism, it leads to the development of severe thrombocytopenia, anemia, and functional and quantitative defects of immune cells. Moreover, it has been shown that a single mutation in the *MIR142* gene is sufficient for the development of lymphoproliferative disease, whereas acute myeloid leukemia requires synergistic interaction with other tumor drivers, for example, *IDH2* mutations [7].

A previously published literature review showed that this microRNA is involved at many levels in the pathogenesis of DLBCL: mature chains of miR-142 are oncosuppressive and target a number of pro-oncogenes that are essential for lymphomagenesis, participants in signaling pathways for the survival and proliferation of B-lymphocytes, inhibitors of apoptosis, metabolic reprogramming enzymes, molecules that contribute to the formation of an immunosuppressive microenvironment, etc. [7].

Primary central nervous system lymphoma (PCNSL) is a rare variant of extranodal non-Hodgkin lymphomas that occurs isolated in the brain, leptomeninges, spinal cord, or eyes without evidence of systemic disease [8, 9]. The histologic type of DLBCL is the most common (approximately 95%) in PCNSL. Although the tumor is morphologically indistinguishable from systemic disease, DLBCL with primary CNS involvement is characterized by high aggressiveness, rapid progression, extremely poor prognosis, and differs from systemic DLBCL at molecular and genetic levels, as well as at the proteomic level [8, 10–13]. PCNSL exhibits a distinct microRNA pattern compared to systemic DLBCL, suggesting the involvement of different molecular mechanisms in the pathogenesis of these two lymphomas.

наиболее распространенным (около 95 %) при ПЛЦНС. Несмотря на то, что морфологически опухоль не отличима от системного заболевания, ДВККЛ с первичной локализацией в ЦНС характеризуется высокой агрессивностью, быстрым прогрессированием, крайне плохим прогнозом и отличается от системной ДВККЛ молекулярно-генетически, включая протеомный уровень [8, 10–13]. ПЛЦНС демонстрирует особый паттерн микроРНК по сравнению с системной ДВККЛ, что свидетельствует об участии различных молекулярных механизмов в патогенезе этих двух типов лимфом. В то же время профиль экспрессии микроРНК при ДВККЛ, наряду с мутационным профилем, может служить предиктором риска рецидива системной опухоли в ЦНС [11, 12, 14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести сравнительный анализ частоты и спектра aberrаций (мутаций, статуса метилирования и нарушения копийности) в гене *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЦНС, а также провести анализ их клинического значения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоматериал для исследования. В собственную группу исследования вошли 137 пациентов с системной ДВККЛ и 35 больных ПЛЦНС с морфологически подтвержденным вариантом ДВККЛ. Группу контроля составили 11 пациентов с реактивной поликлональной В-клеточной пролиферацией в лимфоузлах.

С блоков с диагностическим биоматериалом – фиксированных формалином и парафинизированных биоптатов – брали 3–4 среза толщиной 10–12 мкм и выделяли геномную ДНК. Оценка концентрации и чистоты выделенных нуклеиновых кислот проводилась путем определения отношения спектрофотометрического поглощения образца при длине волны 260 и 280 нм (A260/A280) на аппарате Epoch (BioTek).

Анализ мутаций в гене *MIR142*. Секвенирование гена *MIR142* в образцах опухолевой ткани пациентов с ДВККЛ и биоинформационный анализ выявленных мутаций проводили описанным ранее методом [15]. Исследовалась вся последовательность первичного транскрипта miR-142 вместе с фланкирующими областями длиной около 25 пар нуклеотидов (п.н.).

Анализ метилирования гена *MIR142*. По 250 нг каждого образца ДНК подвергали бисульфитной конверсии с применением наборов EZ DNA

phoma types. At the same time, the microRNA expression profile in DLBCL, along with the mutational profile, can serve as a predictor of the risk of systemic CNS tumor recurrence [11, 12, 14].

AIM OF THE RESEARCH

To perform a comparative analysis of the frequency and spectrum of aberrations (mutations, methylation status and copy number alterations) in the *MIR142* gene in the tumor tissue of patients with systemic DLBCL and PCNSL and to analyze their clinical significance.

MATERIALS AND METHODS

Samples for research. The main (study) group included 137 patients with systemic DLBCL and 35 patients with PCNSL with a morphologically confirmed variant of DLBCL. The control group consisted of 11 patients with reactive polyclonal B-cell proliferation in the lymph nodes.

Three to four 10- to 12-µm-thick sections were taken from formalin-fixed, paraffin-embedded blocks of tissue samples, and genomic DNA was isolated. The concentration and purity of the isolated nucleic acids were assessed by determining the spectrophotometric absorbance ratio of the sample at a wavelength of 260 and 280 nm (A260/A280) using an Epoch spectrophotometer (BioTek).

Mutation analysis of the *MIR142* gene. Sequencing of the *MIR142* gene in tumor tissue samples from patients with DLBCL and *in silico* analysis of the identified mutations were performed using the method described previously [15]. The entire sequence of the primary miR-142 transcript was analyzed, along with flanking regions of approximately 25 base pairs (bp).

Methylation analysis of the *MIR142* gene. A 250 ng of each DNA sample was subjected to bisulfite conversion using an EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, USA), according to the manufacturer's protocol. A Human Methylated and Unmethylated DNA Control Kit (Zymo Research, USA) served as a negative and positive control, as well as a control for complete conversion.

The methylation status of the *MIR142* gene was determined by methylation-specific polymerase chain reaction (PCR) using a TherCyc DNA amplifier (DNA-Technology, Russia) in two test tubes: one with primers for the methylated allele and one with primers for the unmethylated allele [16]. Electrophoretic analysis of the PCR results was performed in a 5% polyacrylamide gel, onto which 8 µl of each sample were applied; a 100 bp molecular weight marker was used. After electrophoresis, the gel was incu-

Methylation Kit (Zymo Research, США), согласно протоколу производителя. В качестве отрицательного и положительного контроля и контроля полноты конверсии применяли набор контрольных ДНК Human Methylated and Unmethylated DNA Control Kit (Zymo Research, США).

Определение статуса метилирования гена *MIR142* проводили методом метилспецифичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) на ДНК-амплификаторе «Терцик» (ДНК-Технология, Россия) в двух пробирках: с праймерами, комплементарными к метилированному и неметилированному аллелю [16]. Электрофоретический анализ результатов ПЦР выполняли в 5% полиакриламидном геле, на который наносили по 8 мкл каждого образца, использовался маркер молекулярной массы 100 п.н. После электрофореза гель выдерживали в буфере, содержащем интеркалирующий краситель – бромид этидия в концентрации 0,5 мкг/мл. Далее выполнялась цифровая съемка свежеокрашенного геля.

Методом оценки соотношения в биоматериале метилированного и неметилированного аллеля служила аналитическая цифровая денситометрия гелей с помощью программного обеспечения ImageJ (рис. 1) [17]. Суть метода заключается в реализации алгоритма для устранения перенасыщенности пикселей, вычитания фона и

батов в буфере, содержащем интеркалирующий краситель, ethidium bromide, at a concentration of 0,5 µg/ml. Digital imaging of the freshly stained gel was then performed.

The method for assessing the ratio of methylated and unmethylated alleles in the samples was analytical digital densitometry of gels using ImageJ software (Fig. 1) [17]. The essence of the method lies in the implementation of an algorithm for eliminating pixel overabundance, background subtraction, and subsequent semi-automated quantitative determination of nucleic acids in the gel. Since the amount of bound ethidium bromide is proportional to the amount and length of DNA, the nucleic acid content in a certain area of the gel is proportional to the pixel intensity in the corresponding area of the image [18]. Unlike other methods, such as spectrophotometry and colorimetric analysis, digital densitometry of gels allows for both qualitative and quantitative assessment of the DNA isolated [19].

Analysis of copy number alterations in the *MIR142* gene. To check for changes in the copy number of the chromosome region, the location of the *MIR142* gene, the results of profiling tumor samples from lymphoma patients, presented in the cBioPortal for Cancer Genomics database, using Affymetrix SNP 6.0 microarrays, were analyzed.

The copy number of the *MIR142* gene region (chr17:56,408,593-56,408,679 in the GRCh37/hg19

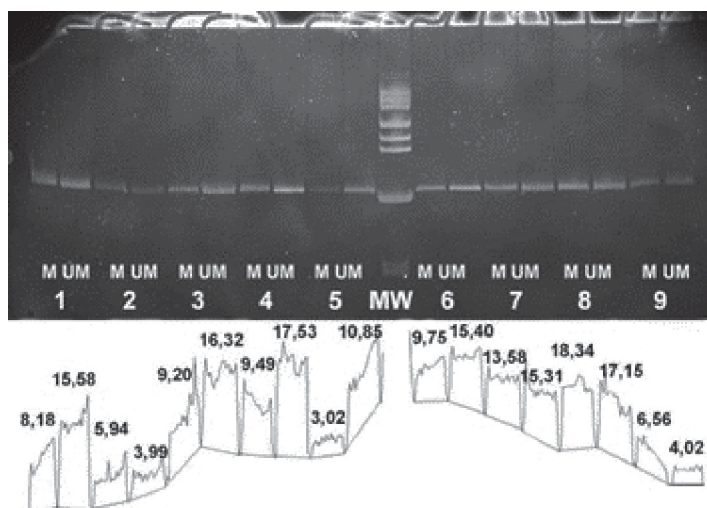


Рис. 1. Результаты метилспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения статуса метилирования гена *MIR142* (вверху) и цифровой денситометрии геля с результатами метилспецифической ПЦР гена *MIR142* (внизу) (М – ПЦР с праймерами, специфичными к метилированному аллелю; UM – ПЦР с праймерами, специфичными к неметилированному аллелю; 1–9 – контрольные образцы; MW – маркер молекулярной массы 100 п.н.)

Fig. 1. Results of methylation-specific polymerase chain reaction (PCR) for determining the *MIR142* methylation status (at the top) and digital densitometry of the gel with the results of *MIR142* methylation-specific PCR (at the bottom) (M – PCR with primers for the methylated allele; UM – PCR with primers for the unmethylated allele; 1–9 – control samples; MW – marker of molecular weight of 100 base pairs)

последующего полуавтоматического количественного определения нуклеиновых кислот в геле. Поскольку количество связанного бромистого этидия пропорционально количеству и длине ДНК, содержание нуклеиновой кислоты в определенной области геля соответствует интенсивности пикселя в соответствующей области изображения [18]. В отличие от других методов, таких как спектрофотометрия и колориметрический анализ, цифровая денситометрия гелей позволяет получить как качественную, так и количественную оценку препарата ДНК [19].

Анализ нарушения копийности гена *MIR142*. Для проверки изменения копийности участка хромосомы – места расположения гена *MIR142* – проанализированы содержащиеся в базе данных cBioPortal for Cancer Genomics результаты профилирования с применением микрочипов Affymetrix SNP 6.0 опухолевого материала больных лимфомами. Оценка копийности региона расположения гена *MIR142* (chr17:56,408,593-56,408,679 в сборке GRCh37/hg19) выполнена в 364 образцах системной ДВККЛ и 43 образцах ПЛЦНС [20].

Анализ мутации p.L265P в гене *MYD88*. В подгруппе ПЛЦНС проводился скрининг рекуррентной мутации p.L265P в гене *MYD88* методом ПЦР-ПДРФ (ПЦР и анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов) с использованием эндонуклеазы рестрикции *HinfI* с последующим подтверждением методом прямого секвенирования по Сэнгеру (рис. 2).

Статистическая обработка. Анализ сочетанности изучаемых молекулярно-генетических нарушений проводился путем вычисления Log2 соотношения шансов (Log2 Odds Ratio) и точного критерия Фишера (p -value). Поправка на множе-

assembly) was assessed in 364 systemic DLBCL and 43 PCNSL samples [20].

Analysis of the p.L265P mutation in the *MYD88* gene. In the PCNS group, screening for the recurrent mutation p.L265P in the *MYD88* gene was performed by PCR-RFLP (PCR and restriction fragment length polymorphism analysis) using the restriction endonuclease *HinfI*, followed by confirmation by direct Sanger sequencing (Fig. 2).

Statistical processing. The co-occurrence of the studied molecular and genetic abnormalities was analyzed using the Log2 Odds Ratio and Fisher's exact test (p -value). False Discovery Rate (FDR) control was performed using the Benjamini-Hochberg procedure (q -value). Using the OncoPrinter online service, a picture of the combined detection and mutual exclusion of mutations and methylation of the analyzed microRNA gene was obtained.

The distribution of variables was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test. The median, 25th, and 75th percentiles (Q25; Q75) were used. Calculations were performed using the Mann-Whitney test. ROC analysis, based on the area under the curve, assessed the quality of the proposed classification models; for each model, a search was performed for threshold values with comparable sensitivity and specificity values. The Spearman rank correlation coefficient was calculated. Differences were considered significant at $p < 0,05$. SPSS version 16.0 (SPSS Inc., USA) was used for statistical analysis.

RESULTS

Mutations in the *MIR142* gene in the tumor tissue of systemic DLBCL and PCNSL patients. The mutation status of *MIR142* was successfully analyzed in tumor tissue samples from 125 patients with systemic DLBCL and 35 patients with PCNSL (Fig. 3).

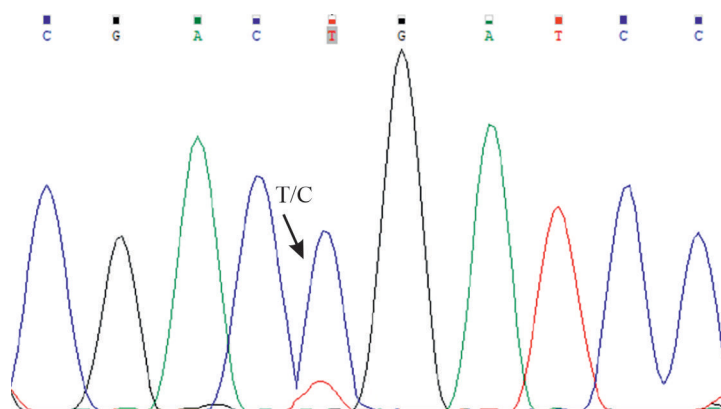


Рис. 2. Хроматограмма секвенса с прямого праймера образца с мутацией p.L265P в гене *MYD88*
Fig. 2. The chromatogram of the sequence from the forward primer of the sample with the p.L265P mutation in the *MYD88* gene

ственность сравнений (False Discovery Rate – FDR) проводилась с помощью процедуры Бенджамини – Хохберга (q -value). С помощью онлайн-сервиса OncoPrinter получена картина совместного выявления и взаимного исключения мутаций и метилирования анализируемого гена микроРНК.

Нормальность распределения параметров проверяли с помощью теста Колмогорова – Смирнова. Использовались значения медианы, 25-го и 75-го перцентилей (Q_{25} ; Q_{75}). Расчеты проводились с применением теста Манна – Уитни. В ходе ROC-анализа по площади под кривой оценивалось качество предлагаемых классификационных моделей, для каждой модели проведен поиск пороговых значений со сравнимыми значениями чувствительности и специфичности. Рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Для статистического анализа использовалось программное обеспечение SPSS версии 16.0 (SPSS Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мутации в гене *MIR142* в опухолевой ткани системной ДВККЛ и ПЛЦНС. Мутационный статус *MIR142* успешно проанализирован в образцах опухолевой ткани 125 пациентов с системной ДВККЛ и 35 больных ПЛЦНС (рис. 3). Частота мутаций составила 21/125 (16,8 %) против 13/35 (37,1 %) при $p = 0,010$ соответственно. В случаях с мутациями в 28,6 % образцов ДВККЛ и 30,8 % – ПЛЦНС выявлены множественные мутации в анализируемом гене.

При системной ДВККЛ выявленные мутации были рассеяны по последовательности гена *MIR142*, тогда как при ПЛЦНС – обогащены в области, кодирующей зрелую цепь miR-142-5p, и в основании шпильки микроРНК-предшественника (рис. 4). Изменения в «ключевых» областях зрелых микроРНК в обеих подгруппах были одинаково редки: 11,5 % при системной ДВККЛ и 5,6 % при ПЛЦНС. При этом в 5/21 (23,8 %) случаев системной ДВККЛ и 3/13 (23,1 %) случаев ПЛЦНС выявлены мутации в первичном транскрипте микроРНК за пределами микроРНК-предшественника.

Предсказанная нами с помощью UNAFold Web Server (<https://www.unafold.org/>) нормальная структура шпильки pri-miR-142 содержала ключевые элементы, необходимые для обработки комплексом Drosha-DGCR8 (рис. 5). Как видно из табл. 1, в подавляющем большинстве случаев мутации в *MIR142*, выявленные в опухо-

ле, частота мутаций была 21/125 (16,8%) versus 13/35 (37,1%) at $p = 0,010$, respectively. Multiple mutations in the analyzed gene were detected in 28,6% of DLBCL and 30,8% of PCNSL samples with mutations.

In systemic DLBCL, the mutations were scattered throughout the *MIR142* gene sequence, whereas in PCNSL, they were accumulated in the region encoding the mature miR-142-5p chain and at the base of the microRNA precursor hairpin (Fig. 4). Changes in the “key” regions of mature microRNAs were equally rare in both groups: 11,5% in systemic DLBCL and 5,6% in PCNSL. Moreover, in 5/21 (23,8%) cases of systemic DLBCL and 3/13 (23,1%) cases of PCNSL, mutations were detected in the primary microRNA transcript outside the microRNA precursor.

The normal structure of pri-miR-142 hairpin predicted using the UNAFold Web Server (<https://www.unafold.org/>) contained key elements required for processing by the Drosha-DGCR8 complex (Fig. 5). As can be seen from Table 1, in the overwhelming majority of cases, mutations in *MIR142* identified in systemic DLBCL and PCNSL tumor tissue led to changes in stem length, the appearance of additional unstructured elements (such as nucleotide mismatches and bubbles on the stem), as well as to disruption of key functional motifs required for miRNA processing: in 13/13 versus 5/21 cases ($p = 0,057$), respectively.

Association of *MIR142* gene mutations with clinical features of lymphoma. In PCNSL, the group with mutations in the analyzed gene was characterized by a significantly higher level of ki-67 expression by tumor cells ($p = 0,021$) and a tendency toward higher erythrocyte sedimentation rate (ESR) values ($p = 0,077$). Multiple foci of CNS lesions were observed 1,6 times more often in cases of mutations in *MIR142*, although the differences with the group without mutations did not reach the significance level ($p = 0,332$), which may be due to the small number of the sample (Table 2).

Data were obtained on the earlier onset of systemic DLBCL in patients with mutations in *MIR142* ($p = 0,025$), as well as a higher frequency of non-lymphatic organ tumor involvement ($p = 0,046$) in this subgroup. Differences in the level of ki-67 expression between the groups with and without *MIR142* mutations did not reach significance ($p = 0,114$) (Table 2).

Associated analysis of mutations in the *MIR142* gene and p.L265P in the *MYD88* gene in PCNSL. The detection rate of p.L265P in the *MYD88* gene in PCNSL was 18/35 (51,4%). The data obtained indicate the independence of mutations in

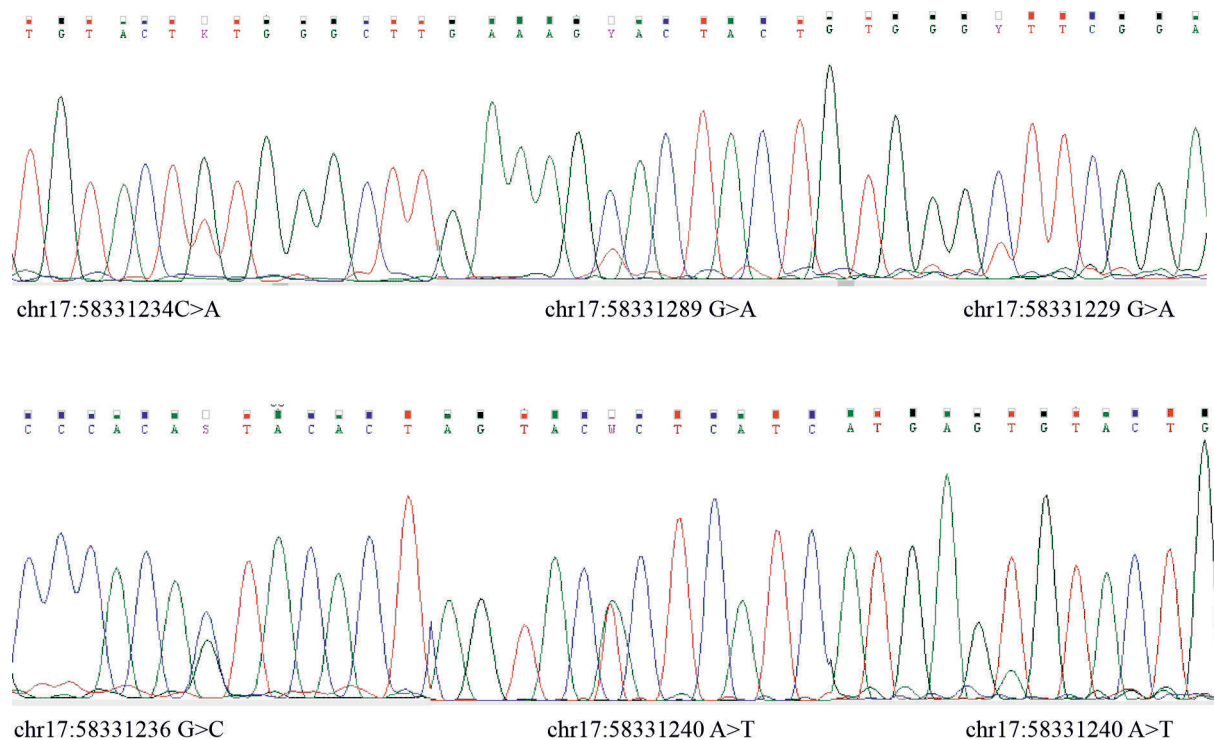


Рис. 3. Хроматограммы сиквенсов с обратного праймера образцов с мутацией в гене *MIR142*
Fig. 3. Chromatograms of sequences from the reverse primer of samples with the mutation in the *MIR142* gene

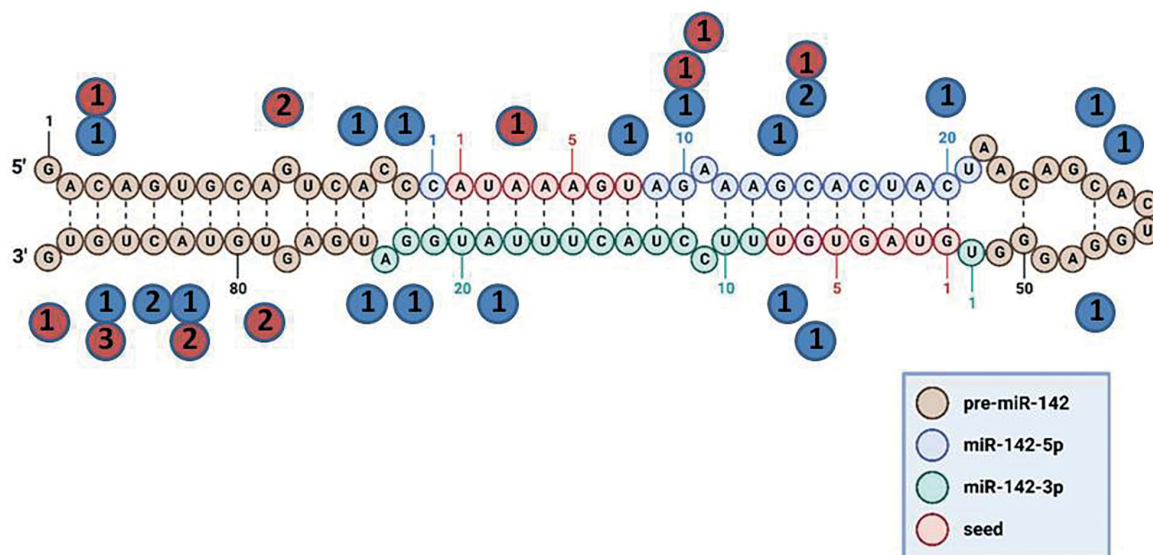


Рис. 4. Распределение мутаций по последовательности предшественника микроРНК miR-142 в исследованных образцах диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы и первичной лимфомы центральной нервной системы (кружками красного цвета обозначено расположение мутаций в исследованных образцах пациентов с первичной лимфомой центральной нервной системы, кружками синего цвета – больных системной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой; цифра в кружках указывает на число случаев с мутациями)

Fig. 4. The distribution of mutations throughout the miR-142 precursor sequence in the studied samples of diffuse large B-cell lymphoma and primary central nervous system lymphoma (red circles indicate the location of mutations in the studied samples of patients with primary lymphoma of the central nervous system, blue circles indicate patients with systemic diffuse large B-cell cell lymphoma; the number in the circles is represented the number of cases with mutations)

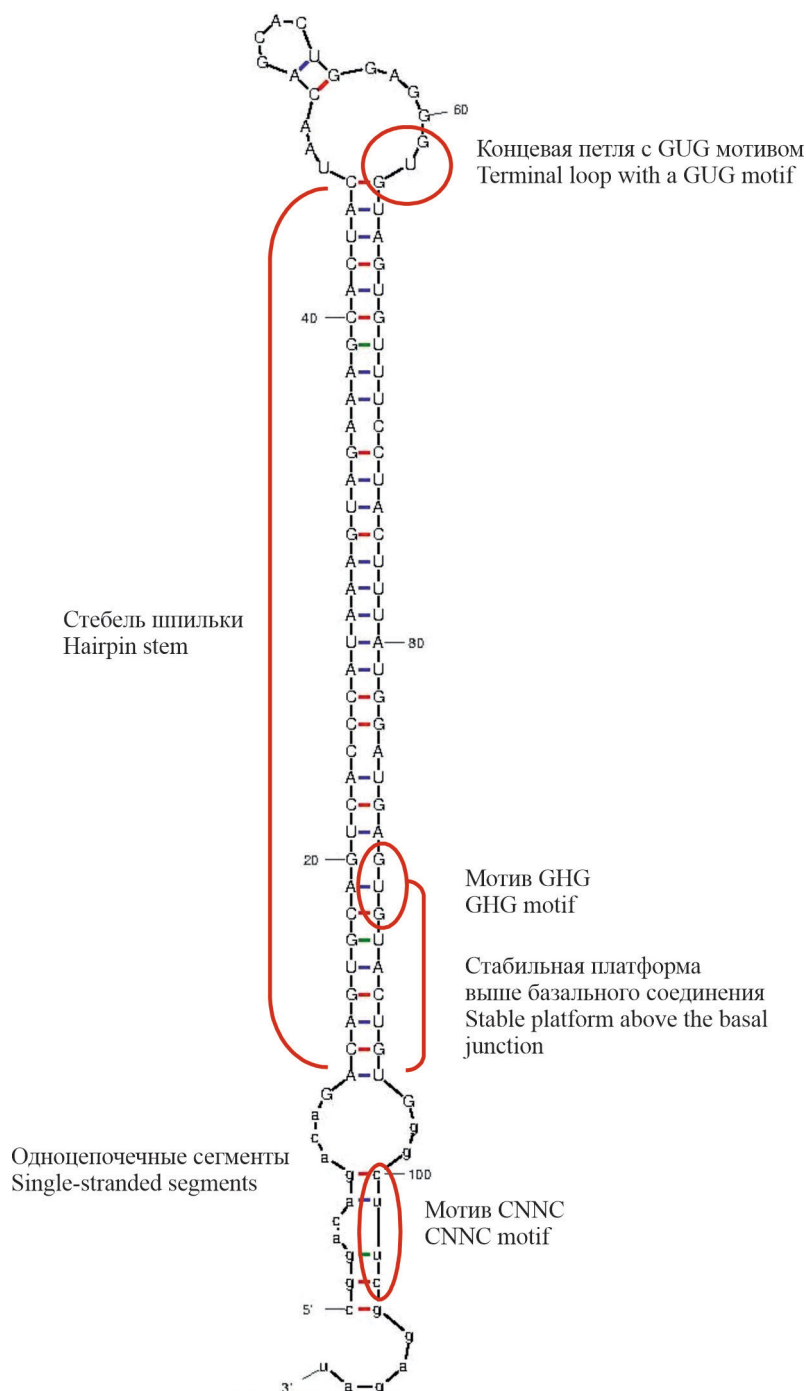


Рис. 5. Вторичная структура шпильки предшественника микроРНК с основными элементами, необходимыми для первичной обработки комплексом Drosha-DGCR8

Fig. 5. The secondary structure of the microRNA precursor hairpin with key elements required for primary processing by the Drosha-DGCR8 complex

левой ткани системной ДВККЛ и ПЛЦНС, приводили к изменению длины стебля, появлению дополнительных неструктурированных элементов (таких как несовпадения нуклеотидов и «пузыри» на стебле), а также нарушению основных функциональных мотивов, необходимых для

the *MIR142* gene and p.L265P in the *MYD88* gene in PCNSL ($p = 0.467$) (Fig. 6).

Methylation of the *MIR142* gene in the tumor tissue of patients with lymphomas and lymph nodes of patients with reactive polyclonal B-cell proliferation. For method-

Таблица 1. Ключевые изменения во вторичной структуре шпильки предшественника микроРНК в результате мутаций в гене *MIR142***Table 1.** Key changes in the secondary structure of the microRNA precursor hairpin due to the mutations in the *MIR142* gene

Образец с мутацией Sample with mutation	Ключевое структурное изменение Key structural change
ДВККЛ (DLBCL) 1 n.33U/A	Изменение в «ключевой» последовательности miR-142-5p Change in the “key” sequence miR-142-5p
ДВККЛ (DLBCL) 2 n.13C/U n.68G/A	Изменение в «ключевой» последовательности miR-142-3p Change in the “key” sequence miR-142-3p
ДВККЛ (DLBCL) 3 n.69U/C	Изменение в «ключевой» последовательности miR-142-3p Change in the “key” sequence miR-142-3p
ДВККЛ (DLBCL) 4 n.35G/A n.39G/A n.52C/U	Дополнительное несоответствие нуклеотидов Additional nucleotide mismatch
ДВККЛ (DLBCL) 5 n.45C/U	Укорочение длины стебля за счет изменения расположения, формы и размера концевой петли шпильки с утратой GUG мотива Shortening of stem length due to changes in the location, shape and size of the terminal loop of the hairpin with GUG motif loss
ДВККЛ (DLBCL) 6 n.40C/G	Дополнительное несоответствие нуклеотидов / Additional nucleotide mismatch
ДВККЛ (DLBCL) 7 n.40C/U	Дополнительное несоответствие нуклеотидов / Additional nucleotide mismatch
ДВККЛ (DLBCL) 8 n.83G/U	Разрушение 5'-сайта расщепления DROSHA / Degradation of the 5' DROSHA cleavage site
ДВККЛ (DLBCL) 9 n.80A/C	Дополнительное несоответствие нуклеотидов / Additional nucleotide mismatch
ДВККЛ (DLBCL) 10 n.95G/A	Укорочение длины стебля за счет изменения расположения базального соединения с изменением вторичной структуры в мотиве CNNC Shortening of stem length due to change in the location of the basal junction with a change in the secondary structure in CNNC motif
ДВККЛ (DLBCL) 11 n.57G/C	Нет данных / No data
ДВККЛ (DLBCL) 12 n.53A/G	Нет данных / No data
ДВККЛ (DLBCL) 13 n.93C/G	Разрушение стабильной платформы в основании шпильки Degradation of the stable platform at the hairpin base
ДВККЛ (DLBCL) 14 n.92A/U	Укорочение длины стебля за счет изменения расположения базального соединения, утрата мотива GHG на 3'-конце выше базального соединения Shortening of stem length due to change in the location of the basal junction, GHG motif loss at the 3' end above the basal junction
ДВККЛ (DLBCL) 15 n.93C/U	Разрушение стабильной платформы в базальном отделе стебля шпильки Degradation of a stable platform in the basal part of the hairpin stem
ДВККЛ (DLBCL) 16 n.85U/C	Дополнительное несоответствие нуклеотидов / Additional nucleotide mismatch
ДВККЛ (DLBCL) 17 n.23A/U n.25C/U	Разрушение 5'-сайта расщепления DROSHA Degradation of the 5' DROSHA cleavage site
ДВККЛ (DLBCL) 18 n.5C/U	Нет данных / No data
ДВККЛ (DLBCL) 19 n.100C/U	Увеличение длины стебля за счет изменения расположения базального соединения Increase in stem length due to change in the location of the basal junction
ДВККЛ (DLBCL) 20 n.109+4G/A	Нет данных / No data
ДВККЛ (DLBCL) 21 n.8A/C n.1-18C/U	Нет данных / No data
ПЛЦНС (PCNSL) 1 n.13C/U n.29A/G n.36A/G	Изменение в «ключевой» последовательности miR-142-5p Change in the “key” sequence of miR-142-5p
ПЛЦНС (PCNSL) 2 n.20G/C n.35G/A	Утрата мотива GHG на 3'-конце выше базального соединения GHG motif loss at the 3' end above the basal junction
ПЛЦНС (PCNSL) 3 n.95G/A n.97G/A	Укорочение стебля за счет изменения расположения базального соединения Shortening of the stem due to a change in the location of the basal junction
ПЛЦНС (PCNSL) 4 n.95G/U n.113C/G	Укорочение стебля шпильки, изменение места базального соединения и вторичной структуры в области мотива CNNC Shortening of the hairpin stem, change in the basal junction site and secondary structure in the CNNC motif region

Окончание табл. 1 / End of Table 1

Образец с мутацией Sample with mutation	Ключевое структурное изменение Key structural change
ПЛЦНС (PCNSL) 5 n.40C/U	Дополнительное несоответствие нуклеотидов Additional nucleotide mismatch
ПЛЦНС (PCNSL) 6 n.20G/C	Утрата мотива GHG на 3'-конце выше базального соединения GHG motif loss at the 3' end above the basal junction
ПЛЦНС (PCNSL) 7 n.100C/U	Удлинение стебля шпильки, укорочение одноцепочечных сегментов ниже базального соединения с утратой мотива CNNC Elongation of the hairpin stem, shortening of single-stranded segments below the basal junction with CNNC motif loss
ПЛЦНС (PCNSL) 8 n.93C/G	Разрушение стабильной платформы в основании шпильки Degradation of the stable platform at the hairpin base
ПЛЦНС (PCNSL) 9 n.93C/G	Разрушение стабильной платформы в основании шпильки Degradation of the stable platform at the hairpin base
ПЛЦНС (PCNSL) 10 n.89U/A	Изменение вторичной структуры в области мотива GHG на 3'-конце выше базального соединения Change in the secondary structure in the GHG motif region at the 3' end above the basal junction
ПЛЦНС (PCNSL) 11 n.89U/A	Изменение вторичной структуры в области мотива GHG на 3'-конце выше базального соединения Change in the secondary structure in the GHG motif region at the 3' end above the basal junction
ПЛЦНС (PCNSL) 12 n.95G/U	Укорочение стебля за счет изменения расположения базального соединения и вторичной структуры в области мотива CNNC Shortening of the stem due to changes in the location of the basal junction and secondary structure in the CNNC motif region
ПЛЦНС (PCNSL) 13 n.101U/G	Укорочение одноцепочечных сегментов ниже базального соединения и изменение вторичной структуры в области мотива CNNC Shortening of single-stranded segments below the basal junction and a change in the secondary structure in the CNNC motif region

П р и м е ч а н и е . ДВБКЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы.

A b b r e v i a t i o n s : DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNS – primary central nervous system lymphoma.

процессинга микроРНК: в 13/13 против 5/21 случаев ($p = 0,057$) соответственно.

Ассоциация мутаций гена *MIR142* с особенностями клинического течения лимфомы. При ПЛЦНС подгруппа с мутациями в анализируемом гене характеризовалась достоверно более высоким уровнем экспрессии опухолевыми клетками ki-67 ($p = 0,021$) и тенденцией к более высоким показателям скорости оседания эритроцитов (СОЭ) ($p = 0,077$). Множественные очаги поражения ЦНС отмечались в 1,6 раза чаще в случае выявления мутантного статуса *MIR142*, хотя различия с подгруппой без мутаций не достигали уровня значимости ($p = 0,332$), что может быть связано с малым числом наблюдений (табл. 2).

Получены данные о более раннем дебюте системной ДВБКЛ у пациентов с мутантным статусом *MIR142* ($p = 0,025$), а также большей частоте вовлечения в опухолевый процесс нелимфатических органов ($p = 0,046$) в данной под-

group. For biological reasons, the analysis of *MIR142* gene methylation was only performed in 101 DLBCL, 30 PCNSL, and 11 reactive lymph node samples (Table 3). The Kolmogorov-Smirnov test revealed an irregular distribution of the *MIR142* methylated allele level in samples. Therefore, the median, 25th, and 75th percentile (Me (25; 75)) values were used for calculations.

When analyzing the representation of the methylated allele of the *MIR142* gene in DNA samples isolated from lymph nodes, it was found that the tumor tissue samples from patients with reactive polyclonal B-cell proliferation exhibited greater homogeneity compared to the samples from patients with systemic DLBCL (Fig. 7).

The median values of the proportion of the methylated allele in systemic DLBCL and PCNSL were statistically significantly lower than in reactive lymph nodes: Me = 3,75% (0,0; 39,37) and Me = 16,11% (0,0; 27,60) versus Me = 47,01% (22,68; 59,37) at $p = 0,002$ and $p = 0,001$, respectively (Table 1).

Таблица 2. Ассоциация мутаций в гене *MIR142* с особенностями клинического течения ДВБКЛ и ПЛЦНС
Table 2. The association of mutations in the *MIR142* gene with clinical features of DLBCL and PCNSL

Системная ДВККЛ (Systemic DLBCL)		ПЛИНС (PCNSL)	
с мутациями в гене <i>MIR142</i> with <i>MIR142</i> mutations	без мутаций в гене <i>MIR142</i> without <i>MIR142</i> mutations	с мутациями в гене <i>MIR142</i> with <i>MIR142</i> mutations	без мутаций в гене <i>MIR142</i> without <i>MIR142</i> mutations
Возраст, лет / Age, years, Me (25; 75)			
45,0 (28,0; 58,5)	58,5 (46,0; 71,0)	61,5 (49,5; 68,0)	65,0 (55,0; 70,0)
<i>p</i> = 0,025		<i>p</i> = 0,674	
Частота вовлечения нелимфатических органов, абс. (%) Frequency of non-lymphatic organ involvement, abs. (%)		Множественные очаги поражения, абс. (%) Multiple lesions, abs. (%)	
14/14 (100,0)	29/38 (76,3)	5/11 (45,5)	5/18 (27,8)
<i>p</i> = 0,046		<i>p</i> = 0,332	
Экспрессия ki-67 / Expression of ki-67, Me (25; 75), %			
76,0 (50,0; 78,5)	66,50 (66,0; 81,3)	90,0 (70,5; 90,0)	55,0 (50,0; 70,0)
<i>p</i> = 0,114		<i>p</i> = 0,021	
СОЭ / ESR, %, Me (25; 75)			
26,0 (18,0; 36,5)	23,1 (17,3; 32,4)	20,0 (18,5; 30,2)	11,5 (6,1; 18,5)
<i>p</i> = 0,972		<i>p</i> = 0,077	

Примечание. ДВБКЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы; СОЭ – скорость оседания эритроцитов.
 Abbreviations: DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNS – primary central nervous system lymphoma; ESR – erythrocyte sedimentation rate.

группе. Различия в уровне экспрессии ki-67 между подгруппами с и без мутаций в анализируемом гене не достигали значимости ($p = 0,114$) (табл. 2).

Сочетанный анализ мутаций в гене *MIR142* и p.L265P в гене *MYD88* при ПЛЦНС. Частота выявления p.L265P в гене *MYD88* при ПЛЦНС составила 18/35 (51,4 %). Полученные данные свидетельствуют о независимости мутаций в гене *MIR142* и p.L265P гена *MYD88* при ПЛЦНС ($p = 0,467$) (рис. 6).

Метилирование гена *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с лимфомами и лимфоузлах больных с реактивной поликлональной В-клеточной пролиферацией. Анализ метилирования гена *MIR142* по методическим

Moreover, in the tumor tissue of patients with systemic DLBCL and PCNSL, complete *MIR142* demethylation was observed in 44/101 (43,6%) and 9/30 (30,0%) cases, respectively (Fig. 8), which was not revealed in the group of control samples ($p = 0,007$ and $p = 0,040$, respectively).

ROC analysis was used to determine the cutoff value for the proportion of the methylated alleles in lymph node samples. This cutoff value was selected based on the requirement for maximum overall sensitivity and specificity of the model. It was found that a methylated allele proportion of less than 10,97% allows for the differentiation of DLBCL patient samples from reactive ones with a sensitivity of 90,9% and a specificity of 49,4% ($p = 0,002$). The area under the ROC curve was 0,780, 95% confidence

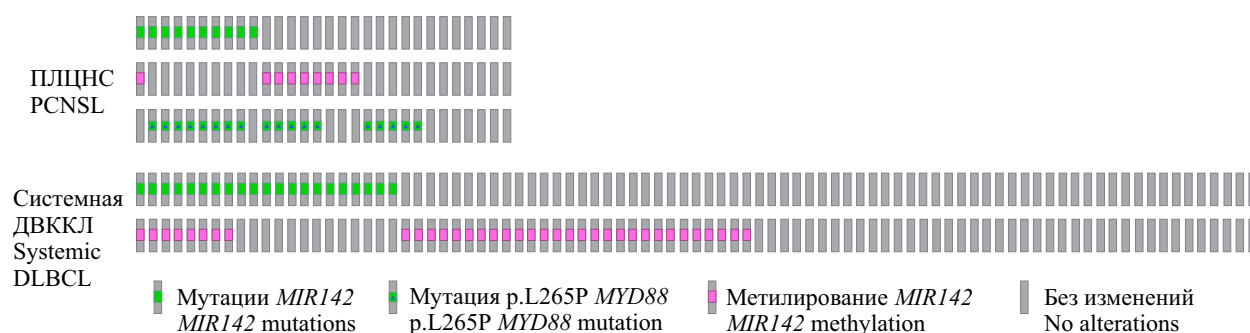


Рис. 6. Сочетанный анализ изучаемых aberrаций при системной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме (ДВБКЛ) и первичной лимфоме центральной нервной системы (ПЛЦНС) в каждом из изученных образцов
Fig. 6. The associated analysis of the studied aberrations in systemic diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and primary central nervous system lymphoma (PCNSL) in each of the samples

Таблица 3. Доля метилированного аллеля гена *MIR142* (%) в лимфоузлах пациентов с реактивной лимфаденопатией и в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЦНС**Table 3.** The proportion of the *MIR142* methylated allele (%) in the lymph nodes of patients with reactive lymphadenopathy and in the tumor tissue of patients with systemic DLBCL and PCNSL

Показатель Parameter	Me (25; 75)	Уровень значимости различий Significance level
Реактивные лимфоузлы / Reactive lymph nodes ($n = 11$)	47,01 (22,68; 59,37)	$p_{1-2} = 0,002$
Системная ДВККЛ / Systemic DLBCL ($n = 101$)	3,75 (0,0; 39,37)	$p_{1-3} = 0,001$
ПЛЦНС / PCNSL ($n = 30$)	16,11 (0,0; 27,60)	$p_{2-3} = 0,959$

П р и м е ч а н и е . ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы.

A b b r e v i a t i o n s : DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNS – primary central nervous system lymphoma.

причинам удалось выполнить в 101 образце ДВККЛ, 30 – ПЛЦНС и 11 образцах реактивных лимфоузлов (табл. 3). Тест Колмогорова – Смирнова свидетельствовал о неправильности распределения уровня метилированного аллеля гена *MIR142* в биоматериале. По этой причине для расчетов использовались значения медианы, 25-го и 75-го процентилей (Me (25; 75)).

При анализе представленности метилированного аллеля гена *MIR142* в образцах ДНК, выделенной из лимфатических узлов, установлено, что в биоматериале пациентов с реактивной поликлональной В-клеточной пролиферацией имела место большая однородность, чем в биоматериале опухолевой ткани больных системной ДВККЛ (рис. 7).

Медианные значения доли метилированного аллеля при системной ДВККЛ и ПЛЦНС были статистически значимо ниже, чем в реактивных лимфоузлах: Me = 3,75 % (0,0; 39,37) и Me = 16,11 % (0,0; 27,60) против Me = 47,01 % (22,68; 59,37) при $p = 0,002$ и $p = 0,001$ соответственно (см. табл. 1). При этом в опухолевой ткани больных системной ДВККЛ и ПЛЦНС в 44/101 (43,6%) и 9/30 (30,0%) случаев соответственно имело место полное деметилирование анализируемого гена (рис. 8), что не встречалось в группе контрольных образцов ($p = 0,007$ и $p = 0,040$ соответственно).

Методом ROC-анализа определено значение порога отсечения доли метилированного аллеля в биоматериале лимфатических узлов, которое выбиралось исходя из требования максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели. Установлено, что значение доли метилированного аллеля менее 10,97 % позволяет с чувствительностью 90,9 % и специфичностью 49,4 % отличать образцы пациентов с ДВККЛ от реактивных ($p = 0,002$). Площадь под ROC-кривой составила 0,780, 95% доверительный интервал – 0,670; 0,891, что соответствует модели хорошего качества (рис. 9).

interval – 0,670; 0,891, which corresponds to a good-quality model (Fig. 9).

No significant difference was found between the groups of systemic DLBCL and PCNSL in terms of the methylated allele proportion (Table 3) or the frequency of detection of complete demethylation of the gene under study ($p = 0,239$).

At the same time, a higher level of *MIR142* methylation was noted in patients of the older age group (over 60 years) both with PCNSL ($p = 0,042$) and with systemic DLBCL ($p = 0,077$) (Table 4).

A strong negative correlation was observed between the levels of *MIR142* methylation and serum lactate dehydrogenase (LDH) in patients with PCNSL ($r = -0,72$ at $p = 0,045$).

The presence of a moderate negative correlation was shown between the levels of *MIR142* methylation level and blood leukocytes in patients with systemic DLBCL ($r = -0,51$ at $p = 0,021$).

Associated analysis of methylation and mutations in the *MIR142* gene. An associated analysis of mutations and methylation status of *MIR142* was performed in 89 samples of systemic DLBCL and 30 – PCNSL. Groups with and without mutations in *MIR142* did not differ in the methylated allele proportion or the frequency of complete demethylation (Table 5).

It was shown that 49/89 (55,0%) samples of systemic DLBCL and 12/30 (40,0%) samples of PCNSL had mutations and/or demethylation in the *MIR142* gene, and the aberrations analyzed were independent events in tumor lymphoid tissue ($p = 1,000$ and $p = 0,611$, respectively) (Fig. 6).

Alteration in the copy number of the *MIR142* gene locus in tumor lymphoma tissue. To check for loss of the copy number in the region chr17:56,408,593-56,408,679 (GRCh37/hg19 assembly), where the *MIR142* gene is located, the results of the Affymetrix SNP 6.0 microarray analysis of tumor tissue samples from 364 patients with systemic DLBCL and 43 patients with PCNSL were assessed.

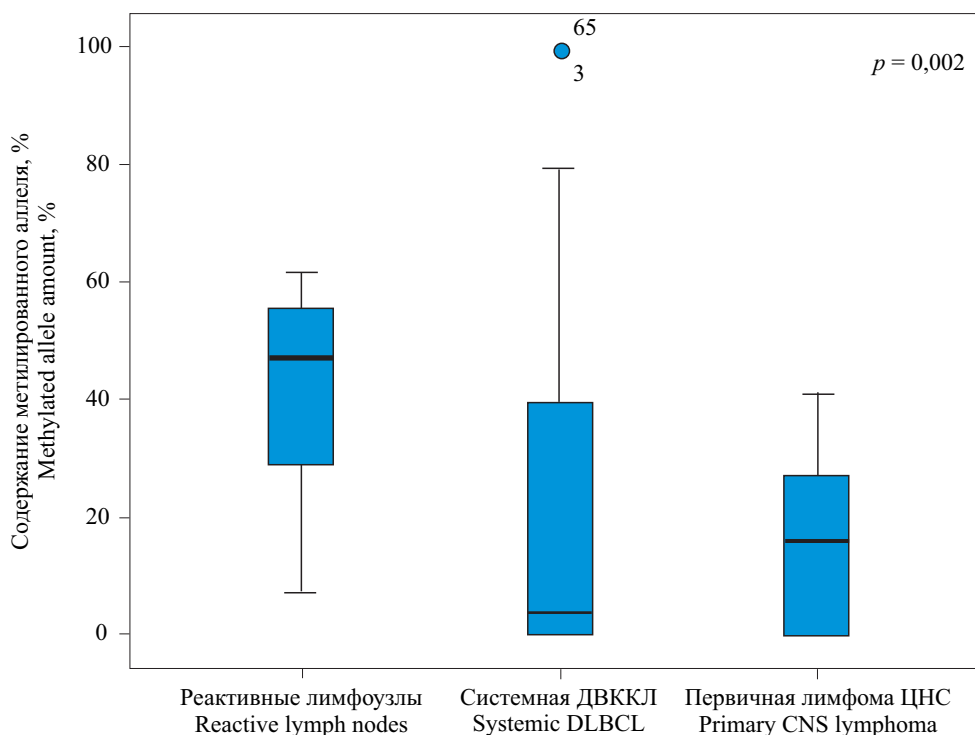


Рис. 7. Доля метилированного аллеля гена *MIR142* в изученных образцах (ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома)

Fig. 7. The proportion of the *MIR142* methylated allele in the studied samples (DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; CNS – central nervous system)

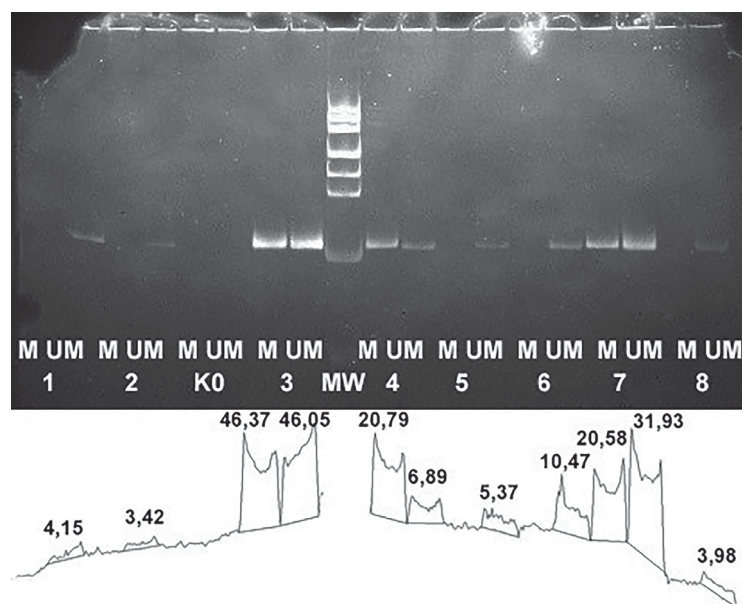


Рис. 8. Результаты метилспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения статуса метилирования гена *MIR142* (вверху) и цифровой денситометрии геля с результатами метилспецифической ПЦР гена *MIR142* (внизу) (М – ПЦР с праймерами, специфичными к метилированному аллелю; УМ – ПЦР с праймерами, специфичными к неметилированному аллелю; 1–8 – образцы лимфомной ткани; Ко – отрицательный контроль; MW – маркер молекулярной массы 100 пар нуклеотидов)

Fig. 8. Results of methylation-specific polymerase chain reaction (PCR) for determining the *MIR142* methylation status (at the top) and digital densitometry of the gel with the results of *MIR142* methylation-specific PCR (at the bottom)

(M – PCR with primers for the methylated allele; UM – PCR with primers for the unmethylated allele;

1–8 – lymphoma tissue samples; Ko – negative control; MW – marker of molecular weight of 100 base pairs)

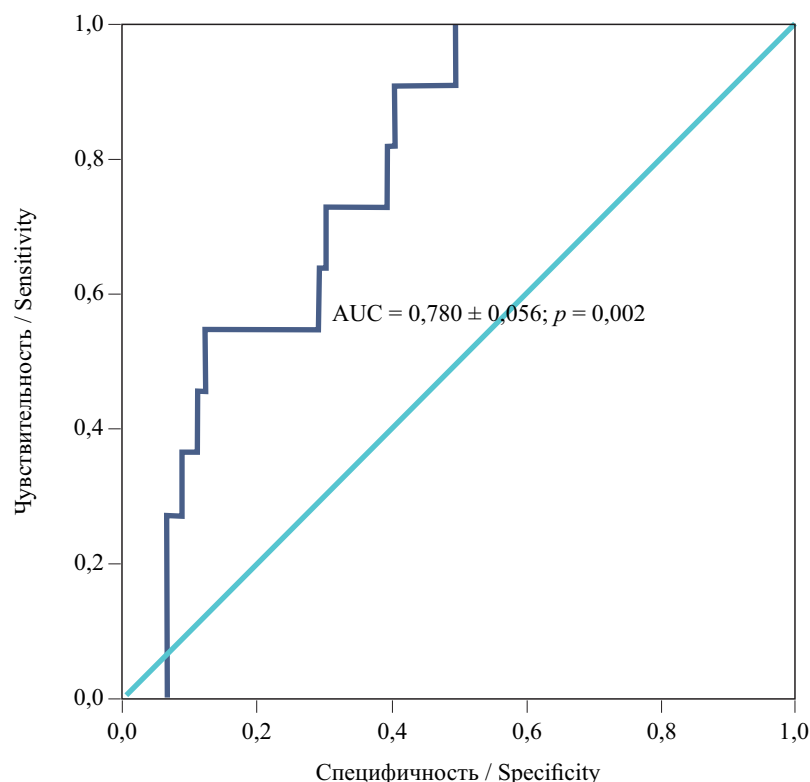


Рис. 9. Результаты ROC-анализа соотношения чувствительности и специфичности определения доли метилированного аллеля гена *MIR142* в лимфоидной ткани у пациентов с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и больных реактивными лимфаденопатиями (AUC – площадь под ROC-кривой)

Fig. 9. Results of the ROC analysis of the sensitivity and specificity ratio for determining the proportion of the *MIR142* methylated allele in the lymphoid tissue in patients with diffuse large B-cell lymphoma and patients with reactive lymphadenopathies (AUC – area under the ROC curve)

Не выявлено достоверной разницы между подгруппами системной ДВККЛ и ПЛЦНС как по доле метилированного аллеля (табл. 3), так и по частоте выявления полного деметилирования изучаемого гена ($p = 0,239$).

Вместе с тем отмечен больший уровень метилирования анализируемого гена у пациентов старшей возрастной группы (старше 60 лет) как при ПЛЦНС ($p = 0,042$), так и при системной ДВККЛ ($p = 0,077$) (табл. 4).

In systemic DLBCL, gene deletions were observed in 18/364 cases (4,9%), while an increase in copy number – in another 53/364 cases (14,6%). In PCNSL, the deletion rate was 7/46 (15,2%, $p = 0,007$), while an increase in copy number – in 16/46 cases (34,8%, $p < 0,001$).

The analysis of the association between the copy number alterations in the *MIR142* gene and the clinical characteristics of systemic DLBCL and PCNSL was carried out (Table 6).

Таблица 4. Ассоциация метилирования гена *MIR142* с особенностями клинического течения ДВККЛ и ПЛЦНС
Table 4. The association of *MIR142* methylation with clinical features of DLBCL and PCNSL

Показатель Parameter	ПЛЦНС / PCNSL		Системная ДВККЛ / Systemic DLBCL	
	до 60 лет <60 years	после 60 лет >60 years	до 60 лет <60 years	после 60 лет >60 years
Метилирование / Methylation, % Me (25;75)	10,8 (0; 21)	28,8 (16,5; 39,7)	0,0 (0,0; 35,0)	20,0 (0,0; 38,2)
<i>p</i>	0,042		0,077	

Примечание. ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы.

Abbreviations: DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNS – primary central nervous system lymphoma.

Таблица 5. Статус метилирования в биоматериале пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЦНС в зависимости от мутаций в гене *MIR142*

Table 5. The methylation status in tissue samples of patients with systemic DLBCL and PCNSL depending on mutations in the *MIR142* gene

Системная ДВККЛ (Systemic DLBCL)		ПЛЦНС (PCNSL)	
с мутациями в гене <i>MIR142</i> with <i>MIR142</i> mutations	без мутаций в гене <i>MIR142</i> without <i>MIR142</i> mutations	с мутациями в гене <i>MIR142</i> with <i>MIR142</i> mutations	без мутаций в гене <i>MIR142</i> without <i>MIR142</i> mutations
Доля метилированного аллеля (Proportion of the methylated allele), % Me (25; 75)			
8,28 (0,0; 47,24)	3,75 (0,0; 39,36)	16,31 (5,50; 27,20)	14,61 (0,0; 25,25)
<i>p</i> = 0,773		<i>p</i> = 0,422	
Частота полного деметилирования, абс. (Frequency of complete demethylation, abs.) (%)			
8/14 (57,1)	38/75 (50,7)	1/10 (10,0)	8/20 (40,0)
<i>p</i> = 0,657		<i>p</i> = 0,091	

П р и м е ч а н и е . ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы.

A b b r e v i a t i o n s : DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNSL – primary central nervous system lymphoma.

Отмечена сильная отрицательная корреляционная связь между уровнем метилирования гена *MIR142* и уровнем лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в сыворотке крови больных ПЛЦНС ($r = -0,72$ при $p = 0,045$).

Показано наличие умеренной отрицательной корреляционной связи между уровнем метилирования гена *MIR142* и уровнем лейкоцитов крови больных системной ДВККЛ ($r = -0,51$ при $p = 0,021$).

Сочетанный анализ метилирования и мутаций в гене *MIR142*. В 89 образцах системной ДВККЛ и 30 образцах ПЛЦНС проведен сочетанный анализ мутаций и статуса метилирования изучаемого гена. Подгруппы заболевания с мутациями в *MIR142* и без таковых по доле метилированного аллеля и частоте выявления полного деметилирования изучаемого гена не различались (табл. 5).

Показано, что 49/89 (55,0 %) образцов системной ДВККЛ и 12/30 (40,0 %) образцов ПЛЦНС имели мутации и/или деметилирование гена *MIR142*, при этом анализируемые абберации являлись независимыми событиями в опухолевой лимфоидной ткани ($p = 1,000$ и $p = 0,611$ соответственно) (см. рис. 6).

Изменение копийности локуса расположения гена *MIR142* в опухолевой лимфотканной ткани. Для проверки потери копийности региона chr17:56,408,593-56,408,679 (в сборке GRCh37/hg19), где расположен ген *MIR142*, рассмотрены результаты анализа на микрочипах Affymetrix SNP 6.0 образцов опухолевой ткани 364 пациентов с системной ДВККЛ и 43 – с ПЛЦНС.

In the group with *MIR142* deletion, the median age of diagnosis of PCNSL was 80,0 (71,0; 87,0) years, compared with 64,0 (56,5; 69,0) and 68,5 (62,3; 75,0) years in the groups with duplication and without copy number alteration ($p = 0,015$ and $p = 0,022$, respectively). Also, the group of patients with *MIR142* deletion was characterized by the predominance of the GCB subtype ($p = 0,036$ and $p = 0,005$, respectively) and a clear trend towards the higher frequency of the overall response to therapy: 100% versus 64,3% ($p = 0,071$) and 72,2% ($p = 0,119$) in the case of duplication and the absence of copy number alterations in the region of gene location, respectively. This was combined with the best 5-year overall survival rates of patients in the group with deletion (Table 6, Fig. 10), which achieved significant differences compared to patients in the group without copy number alteration in *MIR142*: 71,4% versus 25% with a median overall survival of 13 months ($p = 0,029$). The median follow-up was 19 months.

In systemic DLBCL, the group of patients with deletion of the region on chromosome 17, where the *MIR142* gene is located, was characterized by the lowest frequency of stage IV disease: 16,7% versus 52,4% ($p = 0,021$) and 57,4% ($p = 0,094$) with duplication and without copy number alteration, as well as a two-fold lower frequency of liver tumor involvement (22,2% versus 45,1%, $p = 0,088$) compared with patients with duplication. The overall 5-year survival (with a median follow-up of 39 months) in patients with systemic DLBCL tended to a decrease in the group with duplication of the *MIR142* gene ($p = 0,090$) (Table 6, Fig. 11).

Таблица 6. Ассоциация нарушения копийности гена *MIR142* и клинических характеристик системной ДВККЛ и ПЛЦНС
Table 6. The association of copy number alterations in the *MIR142* gene with clinical characteristics of systemic DLBCL and PCNSL

Системная ДВККЛ / Systemic DLBCL				ПЛЦНС / PCNSL			
С делецией гена <i>MIR142</i> With <i>MIR142</i> deletion	С дупликацией гена <i>MIR142</i> With <i>MIR142</i> duplication	Без нарушения копийности гена <i>MIR142</i> Without <i>MIR142</i> copy number alteration	Уровень значимости различий Significance level	С делецией гена <i>MIR142</i> With <i>MIR142</i> deletion 1	С дупликацией гена <i>MIR142</i> With <i>MIR142</i> duplication	Без нарушения копийности гена <i>MIR142</i> Without <i>MIR142</i> copy number alteration	Уровень значимости различий Significance level
1	2	3		1	2	3	
Возраст, лет / Age, years, Me (25; 75)							
62,0 (55,7; 79,0)	70,0 (63,0; 81,0)	69,0 (60,0; 77,0)	$p_{1-2} = 0,358$ $p_{1-3} = 0,382$ $p_{2-3} = 0,844$	80,0 (71,0; 87,0)	64,0 (56,5; 69,0)	68,5 (62,3; 75,0)	$p_{1-2} = 0,015$ $p_{1-3} = 0,022$ $p_{2-3} = 0,102$
Мутаций на образец / Mutations per sample, Me (25; 75)							
14,5 (7,8; 20,5)	10,0 (5,5; 25,6)	11,0 (7,0; 18,0)	$p_{1-2} = 0,179$ $p_{1-3} = 0,378$ $p_{2-3} = 0,247$	16,5 (8,8; 27,3)	18,0 (15,0; 27,3)	19,5 (13,3; 42,0)	$p_{1-2} = 0,617$ $p_{1-3} = 0,385$ $p_{2-3} = 0,642$
Частота стадии IV, абс. (%) Frequency of stage IV, abs. (%)				Частота ABC-подтипа, абс. (%) Frequency of ABC subtype, abs. (%)			
3/18 (16,7)	11/21 (52,4)	58/101 (57,4)	$p_{1-2} = 0,021$ $p_{1-3} = 0,094$ $p_{2-3} = 0,159$	2/7 (28,6)	12/16 (75,0)	17/20 (85,0)	$p_{1-2} = 0,036$ $p_{1-3} = 0,005$ $p_{2-3} = 0,452$
Частота поражения печени, абс. (%) Frequency of liver damage, abs. (%)				Ответ на терапию, CR + PR/SD + PD Treatment response, CR + PR/SD + PD			
4/18 (22,2)	23/51 (45,1)	101/286 (35,3)	$p_{1-2} = 0,088$ $p_{1-3} = 0,181$ $p_{2-3} = 0,340$	7/0 (100,0/0,0)	9/5 (64,3/35,7)	13/5 (72,2/27,8)	$p_{1-2} = 0,071$ $p_{1-3} = 0,119$ $p_{2-3} = 0,631$
5-летняя общая выживаемость, абс. (%) / 5-year overall survival, abs. (%)							
12/18 (66,7)	29/53 (54,7)	193/289 (66,8)	$p_{1-2} = 0,376$ $p_{1-3} = 0,992$ $p_{2-3} = 0,091$	5/7 (71,4)	9/16 (56,3)	5/20 (25,0)	$p_{1-2} = 0,493$ $p_{1-3} = 0,056$ $p_{2-3} = 0,029$

П р и м е ч а н и е . ДВККЛ – диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома; ПЛЦНС – первичная лимфома центральной нервной системы; ABC-подтип – подтип из активированных В-клеток; CR – полные ремиссии; PR – частичные ремиссии; SD – стабилизация заболевания; PD – прогрессия заболевания.

A b b r e v i a t i o n s : DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; PCNS – primary central nervous system lymphoma; ABC – activated B-cell subtype; CR – complete remission; PR – partial remission; SD – stabilization of disease; PD – progression of disease.

При системной ДВККЛ в 18/364 (4,9 %) случаев имела место делеция гена, тогда как еще в 53/364 (14,6 %) – увеличение числа копий гена. При ПЛЦНС частота делеций составила 7/46 (15,2 %, $p = 0,007$), тогда как увеличение числа копий встречалось с частотой 16/46 (34,8 %, $p < 0,001$).

Проведен анализ ассоциации нарушения копийности гена *MIR142* и клинических характеристик системной ДВККЛ и ПЛЦНС (табл. 6).

В подгруппе с делецией анализируемого гена медиана возраста диагностики ПЛЦНС составила 80,0 (71,0; 87,0) года в сравнении с 64,0 (56,5; 69,0) и 68,5 (62,3; 75,0) года в подгруппах с дупликацией и без нарушения копийности гена

DISCUSSION

The *MIR142* gene encodes a key tumor-suppressive microRNA that is important in the pathogenesis of cancers [21]. At the same time, various authors have demonstrated high levels of miR-142 in tumor tissue of patients with B-, T-, and NK-cell neoplasms, such as DLBCL, MALT lymphoma, NK-cell lymphoma, and T- and B-lymphoblastic lymphoma/leukemia [22–26].

The literature data indicate that miR-142 overexpression plays a role in lymphomagenesis and is associated with the activation of the pro-oncogenic transcription factor MYC and the CCND3 protein. The latter is essential for the maturation of B- and T-lymphocytes and the proliferation of germinal cen-

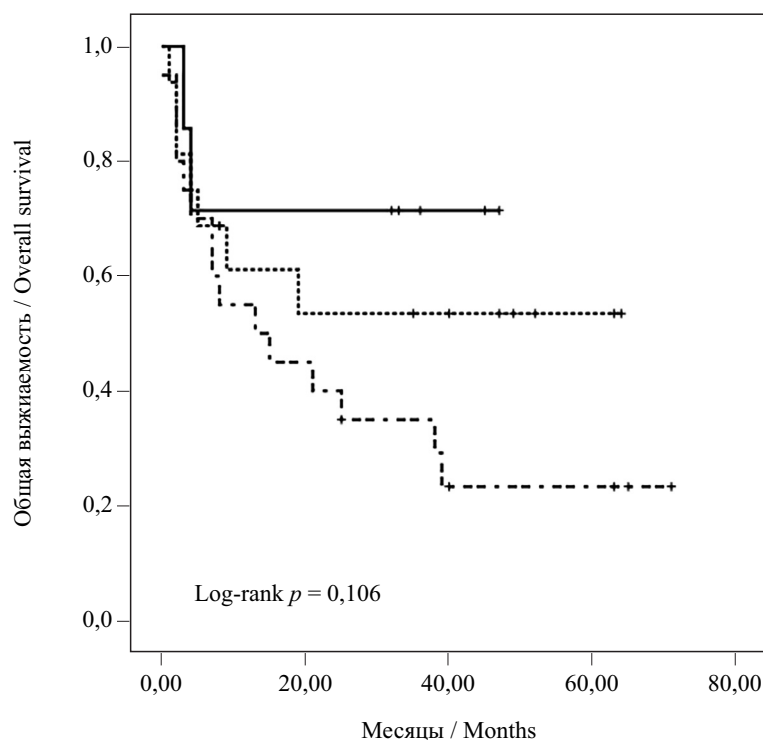


Рис. 10. Общая 5-летняя выживаемость пациентов с первичной лимфомой центральной нервной системы (сплошная линия – подгруппа с делецией; пунктирная – с дупликацией; пунктирная с точкой – без нарушения копийности гена *MIR142*)

Fig. 10. The overall 5-year survival of patients with primary central nervous system lymphoma (solid line – group with deletion; dash line – with duplication; dash and dot line – without copy number alterations in the *MIR142* gene)

($p = 0,015$ и $p = 0,022$ соответственно). Также подгруппа пациентов с делецией *MIR142* характеризовалась преобладанием GCB-подтипа опухоли ($p = 0,036$ и $p = 0,005$ соответственно) и четкой тенденцией к большей частоте общего ответа на терапию: 100 % против 64,3 % ($p = 0,071$) и 72,2 % ($p = 0,119$) в случае дупликации и отсутствия изменения копийности генома в области расположения гена соответственно. Это сочеталось с наилучшими показателями 5-летней общей выживаемости больных подгруппы с делецией (табл. 6, рис. 10), которые достигали значимых различий с пациентами подгруппы без нарушения копийности *MIR142*: 71,4 % против 25 % при медиане общей выживаемости 13 мес ($p = 0,029$). Медиана наблюдения составила 19 мес.

При системной ДВККЛ подгруппа пациентов с делецией региона хромосомы 17, где расположен ген *MIR142*, характеризовалась наименьшей частотой IV стадии заболевания: 16,7 % против 52,4 % ($p = 0,021$) и 57,4 % ($p = 0,094$) при дупликации и в отсутствии изменения копийности, а также в два раза меньшей частотой вовлечения в опухолевый процесс печени (22,2 % против 45,1 %, $p = 0,088$) в сравнении с пациентами с

ter B-cells and is the regulatory subunit of the cyclin kinases CDK4 and CDK6, which mediate the G1 to S transition during the cell cycle [27]. The mechanisms of this phenomenon have not been studied. It is assumed that this may be associated with mutations of the *MIR142* gene [27]. However, additional studies of molecular and genetic abnormalities in the *MIR142* gene in lymphoproliferative diseases are needed.

In our study, we performed the comparative analysis of the frequency and spectrum of aberrations (mutations, methylation status, and copy number alterations) in the *MIR142* gene in tumor tissue of patients with systemic DLBCL and PCNSL, as well as the analysis of their association with the clinical course of these diseases.

According to the literature, the mutation frequency in the analyzed gene in DLBCL is 12–20% [22, 23, 28, 29]. The value for the mutation frequency in the *MIR142* gene in systemic DLBCL (16,8%) we obtained falls within this range. Moreover, mutations in the *MIR142* gene and p.L265P of the *MYD88* gene in PCNSL were independent.

In addition to the higher frequency of *MIR142* mutations in PCNSL (37,1%, $p = 0,010$), the distinct

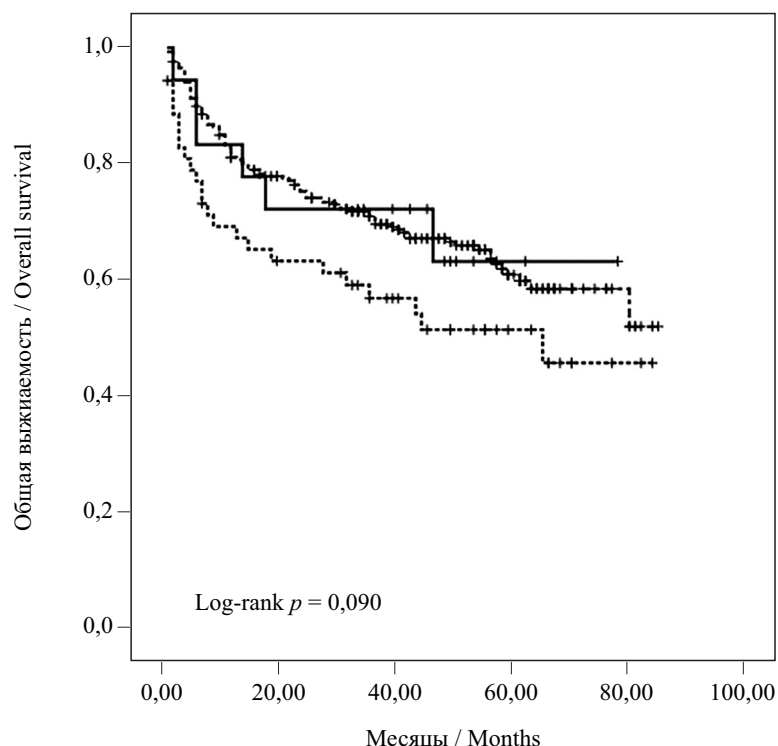


Рис. 11. Общая 5-летняя выживаемость пациентов с системной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (сплошная линия – подгруппа с делецией; пунктирная – с дупликацией; пунктирная с точкой – без нарушения копийности гена *MIR142*)

Fig. 11. The overall 5-year survival of patients with systemic diffuse large B-cell lymphoma (solid line – subgroup with deletion; dash line – with duplication; dash and dot line – without copy number alterations in the *MIR142* gene)

дупликацией. Общая 5-летняя выживаемость (при медиане наблюдения 39 мес) у пациентов с системной ДВККЛ имела тенденцию к снижению в подгруппе с дупликацией анализируемого гена ($p = 0,090$) (табл. 6, рис. 11).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ген *MIR142* кодирует ключевую онкосупрессорную микроРНК, имеющую важное значение в патогенезе онкозаболеваний [21]. В то же время различными авторами показан факт высокого уровня *miR-142* в опухолевой ткани больных В-, Т- и НК-клеточными новообразованиями, такими как ДВККЛ, MALT-лимфома, НК-клеточная лимфома и Т- и В-лимфобластная лимфома/лейкемия [22–26].

Литературные данные свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия *miR-142* имеет значение в лимфомогенезе и ассоциирована с активацией проонкогенного транскрипционного фактора МЫС и белка *CCND3*. Последний играет незаменимую роль в созревании В- и Т-лимфоцитов и пролиферации В-клеток зародышевого центра и является регуляторной субъединицей циклинкиназ *CDK4* и *CDK6*, обеспечивающих переход кле-

spectrum of their locations was also noteworthy. The selectivity of the location of *MIR142* mutations in various hematological malignancies has been confirmed in other studies. Thus, all mutations described to date in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome are localized exclusively within the key *miR-142-3p* sequence [7].

According to the data obtained, in systemic DLBCL, the changes are uniformly distributed throughout the gene, whereas in PCNSL, they are localized only in the region of the mature *miR-142-5p* chain and the base of the precursor microRNA hairpin, the sequence of which plays a key role in recognizing the DROSHA cleavage site. Moreover, in both PCNSL and systemic DLBCL, changes in the “key” regions of mature microRNAs are rare.

According to the studies conducted, the normal structure of the *miRNA* precursor hairpin should contain key functional elements required for processing of mature strands, such as a stem of approximately 33–35 nucleotides in length, an apical loop of 10–15 nucleotides in length with a GUG motif, single-stranded segments at the base of the stem, a CNNC motif below the basal junction, an unpaired GHG motif on the 3' strand at a distance of 7–9 nucle-

ток от G1 к S фазе цикла [27]. Механизмы данного явления не изучены. Предполагается, что это может быть связано с мутантным статусом гена *MIR142* [27]. Вместе с тем необходимы дополнительные исследования молекулярно-генетических нарушений в гене *MIR142* при лимфопролиферативных заболеваниях.

В нашем исследовании выполнен сравнительный анализ частоты и спектра aberrаций (мутаций, статуса метилирования и нарушения копийности) в гене *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЦНС, а также анализ их ассоциации с особенностями клинического течения данных заболеваний.

Частота мутаций в анализируемом гене при ДВККЛ по данным литературы составляет 12–20 % [22, 23, 28, 29]. Полученное нами значение частоты мутаций в гене *MIR142* при системной ДВККЛ (16,8 %) укладывается в этот диапазон. При этом мутации в гене *MIR142* и p.L265P гена *MYD88* при ПЛЦНС носили независимый характер.

Помимо большей частоты выявления мутаций в *MIR142* при ПЛЦНС (37,1 %, $p = 0,010$), обращал на себя внимание и отличный спектр их расположения. Избирательность локализации мутаций в гене *MIR142* при том или ином гемобластозе находит подтверждение и в других исследованиях. Так, все описанные к настоящему моменту мутации при остром миелоидном лейкозе и миелодиспластическом синдроме локализованы исключительно в области ключевой последовательности miR-142-3p [7].

Согласно полученным данным, при системной ДВККЛ изменения равномерно рассредоточены по гену, тогда как при ПЛЦНС затрагивают только область зрелой цепи miR-142-5p и основание шпильки предшественника микроРНК, последовательность которой играет ключевое значение для распознавания сайта расщепления DROSHA. При этом как при ПЛЦНС, так и при системной ДВККЛ изменения в «ключевых» областях зрелых микроРНК редки.

Согласно проведенным исследованиям, нормальная структура шпильки предшественника микроРНК должна содержать ключевые функциональные элементы, необходимые для процессинга зрелых цепей, такие как стебель длиной около 33–35 нуклеотидов, апикальная петля длиной 10–15 нуклеотидов с мотивом GUG, одноцепочечные сегменты у основания стебля, мотив CNNC ниже базального соединения, неспаренный мотив GHG на 3'-цепи на расстоянии 7–9 нуклеотидов от базального соединения (где

otides from the basal junction (where H is any nucleotide except G), a stable platform featuring paired base arrangement in the basal stem, and a cleavage site at the 14th–15th nucleotide positions from the basal junction (Fig. 5). The primary sequence of all these motifs has an additive effect on processing efficiency [30].

Thus, analysis of the predicted structures in pri-miR-142 hairpins in normal conditions and under mutations showed that in PCNSL, in all cases with mutations, and in systemic DLBCL – in 76,2% of cases ($p = 0,057$), they led to alterations in key elements required for processing by the Drosha-DGCR8 complex, namely: a change in stem length, the appearance of additional unstructured elements (such as nucleotide mismatches and bulges), as well as disruption of the main functional motifs that are needed for microRNA processing (Table 1).

A common feature of both PCNSL and systemic DLBCL is our detection of multiple substitutions in a third of cases with mutations in the *MIR142* gene, which indicates the phenomenon of somatic hypermutation at this locus, the mechanism of which is probably kataegis – the occurrence of clusters of somatic mutations such as C>T (G>A) transitions within one of the DNA strands under the action of DNA deaminases AID/APOBEC [31]. The basis for this assumption is the results of an earlier study that established an extremely high frequency of kataegis in the *MIR142* region in DLBCL [32]. There are also data indicating sustained expression of activation-induced cytidine deaminase (AID) in some cases of PCNSL [33]. Additional extended analysis of the samples studied using NGS methods to assess the density of mutations per 1000 base pairs at the *MIR142* locus would strengthen this assumption.

The comparative analysis revealed the most pronounced heterogeneity in the representation of the *MIR142* methylated allele in the tumor lymphoid tissue of patients with systemic DLBCL. It was also noteworthy that the median values of the methylated allele proportion in systemic DLBCL and PCNSL were statistically significantly lower than in reactive lymph nodes ($p = 0,002$ and $p = 0,001$, respectively); in 43,6% and 30,0% of cases, respectively, in these diseases, complete demethylation of the analyzed gene occurred, which was not observed in the group of control samples ($p = 0,007$ and $p = 0,040$, respectively).

Using ROC analysis, we determined the cutoff value for the methylated allele proportion in lymph node samples to be less than 10,9%, which allows to distinguish samples of patients with DLBCL from

Н – любой нуклеотид, кроме G), стабильная платформа с парным расположением оснований в базальном стебле и сайт расщепления в 14–15-й нуклеотидной позиции от базального соединения (см. рис. 5). Первичная последовательность всех этих мотивов оказывает аддитивный эффект на эффективность обработки [30].

Так, анализ предсказанных структур шпилек pri-miR-142 в норме и в случае мутаций показал, что при ПЛЦНС во всех случаях с мутациями, а при системной ДВККЛ в 76,2 % случаев ($p = 0,057$) они приводили к нарушению ключевых элементов, необходимых для обработки комплексом Drosha-DGCR8, а именно: изменению длины стебля, появлению дополнительных неструктурированных элементов (таких как несовпадения нуклеотидов и «пузыри» на стебле), а также нарушению основных функциональных мотивов, необходимых для процессинга микроРНК (см. табл. 1).

Общим как при ПЛЦНС, так и при системной ДВККЛ является обнаружение нами множественных замен в трети случаев с мутациями в гене *MIR142*, что свидетельствует о явлении соматической гипермутации в данном локусе, механизмом которого, вероятно, является катаэгиз – возникновение под действием ДНК-деаминаз AID/АРОВЕС кластеров соматических мутаций типа транзиций С>Т (G>A) в пределах одной из цепочек нити ДНК [31]. Основанием так считать являются результаты более ранней работы, установившей чрезвычайно высокую частоту катаэгиза в области расположения гена *MIR142* при ДВККЛ [32]. Также имеются данные, свидетельствующие об устойчивой экспрессии цитидиндеаминазы (AID) в части случаев ПЛЦНС [33]. Дополнительный расширенный анализ методами NGS исследованных нами образцов для оценки плотности мутаций на 1000 пар оснований в локусе расположения *MIR142* укрепил бы это предположение.

Сравнительный анализ показал наиболее выраженную гетерогенность представленности метилированного аллеля гена *MIR142* в опухолевой лимфоидной ткани пациентов с системной ДВККЛ. Обращало на себя внимание также то, что медианные значения доли метилированного аллеля при системной ДВККЛ и ПЛЦНС были статистически значимо ниже, чем в реактивных лимфоузлах ($p = 0,002$ и $p = 0,001$ соответственно); в 43,6 и 30,0 % случаев соответственно при данных заболеваниях имело место полное деметилирование анализируемого гена, что не встречалось в группе контрольных образцов ($p = 0,007$ и $p = 0,040$ соответственно).

samples of patients with reactive polyclonal B-cell proliferation with a sensitivity of 90,9% and a specificity of 49,4% ($p = 0,002$).

It was also shown that mutations and/or demethylation in the *MIR142* gene were independent events in tumor lymphoid tissue in systemic DLBCL and PCNSL and occurred in 55,0 and 40,0% of samples, respectively.

In addition to mutations, the *MIR142* gene, as was shown by our study, is a target for chromosomal rearrangements that are more frequent in PCNSL. Thus, the results of the Affymetrix SNP 6.0 microarrays analysis of copy number of the genetic material in the chr17:56,408,593-56,408,679 region, where the *MIR142* gene is located, presented in the cBioPortal for Cancer Genomics database, showed that the frequency of deletions in PCNSL is three times higher than in systemic DLBCL (15,2% versus 4,9%, $p = 0,007$), and an increase in copy number occurs in every third case (34,8% versus 15,2%, $p < 0,001$).

The data on a standard karyotyping analysis of systemic DLBCL tumor tissue samples presented in the Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer were previously published [7] and indicated a low frequency of copy number alterations at the *MIR142* locus as a result of gross chromosomal aberrations. Our results may indicate that the primary mechanism for *MIR142* copy number alteration is microdeletion/microduplication events, which are more common in PCNSL.

The analysis of the association of molecular and genetic abnormalities in the *MIR142* gene with clinical features of systemic DLBCL and PCNSL revealed a number of interesting findings.

In particular, a higher level of *MIR142* methylation was noted in patients over 60 years of age both with PCNSL ($p = 0,042$) and systemic DLBCL ($p = 0,077$), which is consistent with the data on solid neoplasms indicating a higher proportion of hypermethylated tumor suppressor genes in elderly patients [34, 35].

In PCNSL, the group of patients with *MIR142* mutations was characterized by a significantly higher proliferative potential of the tumor substrate ($p = 0,021$), while the methylation level of the gene analyzed had a strong negative correlation with the serum LDH level ($r = -0,72$ at $p = 0,045$). Deletions in the *MIR142* region, compared with duplications and natural copy number of the gene, are associated with an older age at tumor onset ($p = 0,015$ and $p = 0,022$, respectively), a favorable GCB subtype of DLBCL ($p = 0,036$ and $p = 0,005$, respectively), and

Методом ROC-анализа нами было определено значение порога отсечения доли метилированного аллеля в биоматериале лимфатических узлов – менее 10,9 %, которое позволяет с чувствительностью 90,9 % и специфичностью 49,4 % отличать образцы пациентов с ДВККЛ от образцов пациентов с реактивной поликлональной В-клеточной пролиферацией ($p = 0,002$).

Показано также, что мутации и/или деметилирование гена *MIR142* являлись независимыми событиями в опухолевой лимфоидной ткани при системной ДВККЛ и ПЛЦНС и имели место в 55,0 и 40,0 % образцов соответственно.

Помимо мутаций, ген *MIR142*, как было показано в данной работе, является мишенью для хромосомных перестроек, более частых при ПЛЦНС. Так, анализ результатов исследования на микрочипах Affymetrix SNP 6.0 копийности генетического материала в регионе chr17:56,408,593-56,408,679, где расположен анализируемый ген, представленных в базе данных cBioPortal for Cancer Genomics, показал, что частота делеций при ПЛЦНС в три раза выше, чем при системной ДВККЛ (15,2 % против 4,9 %, $p = 0,007$), а увеличение числа копий встречается в каждом третьем случае (34,8 % против 15,2 %, $p < 0,001$).

Ранее были опубликованы данные анализа результатов стандартного кариотипирования образцов опухолевой ткани системной ДВККЛ, представленных в Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer [7], свидетельствующие о низкой частоте изменения копийности локуса расположения *MIR142* в результате грубых хромосомных поломок. Полученные нами результаты могут свидетельствовать о том, что основным механизмом нарушения копийности *MIR142* являются микроделеционные/микродупликационные события, более частые при ПЛЦНС.

Анализ ассоциации молекулярно-генетических нарушений в гене *MIR142* с особенностями клинического течения системной ДВККЛ и ПЛЦНС выявил ряд интересных находок.

В частности, отмечен больший уровень метилирования анализируемого гена у пациентов старше 60 лет как при ПЛЦНС ($p = 0,042$), так и при системной ДВККЛ ($p = 0,077$), что согласуется с данными исследований солидных новообразований, свидетельствующих о более высокой доле гиперметилированных генов-онкосупрессоров у пациентов пожилого возраста [34, 35].

better overall response rates (complete and partial remissions) and long-term treatment outcomes. Thus, in the subgroup with deletions, all patients responded to therapy, compared to 64,3% ($p = 0,071$) in those with duplications and 72,2% ($p = 0,119$) in those without changes in genome copy number alteration in the gene region. The 5-year overall survival rates for patients in the analyzed groups were 71,4%, 56,3%, and 25%, respectively.

In systemic DLBCL, the *MIR142* mutation status is associated with an earlier disease onset ($p = 0,025$) and a higher incidence of non-lymphatic organ involvement in the tumor process ($p = 0,046$). The group of patients with the deletion of the region on chromosome 17 where the *MIR142* gene is located was characterized by the lowest incidence of stage IV lymphoma diagnosis: 16,7% versus 52,4% ($p = 0,021$) and 57,4% ($p = 0,094$) with duplication and without copy number alteration, as well as a two-fold lower incidence of liver involvement in the tumor process (22,2% versus 45,1%, $p = 0,088$) compared with patients with duplication. In the group with *MIR142* duplication, there was a tendency towards a decrease in the overall 5-year survival of patients ($p = 0,090$). In general, the obtained data regarding the long-term results of therapy for both systemic DLBCL and PCNSL are indirectly consistent with the findings of Roehle et al. [36] and Lawrie et al. [37], which showed an association of high expression of miR-142 with worsening overall and event-free survival in patients with DLBCL.

CONCLUSION

In this study, we performed the first comprehensive comparative analysis of mutations, methylation status, and copy number alterations in the *MIR142* gene in the tumor tissue from patients with systemic DLBCL and PCNSL, as well as an analysis of their association with the features of the clinical course of these diseases. In general, the data obtained indicate a higher frequency of these aberrations in PCNSL. Regarding the long-term treatment outcomes for both systemic DLBCL and PCNSL, the data are indirectly consistent with the results of previous studies showing an association between high miR-142 expression and worsening survival rates in patients with lymphomas.

Authors' contributions

E.N. Voropaeva: development of the study design and structure, data collection and processing, writing, editing, and final approval of the article.

O.B. Seregina, T.N. Babaeva: data collection and processing, writing and editing the article.

При ПЛЧНС подгруппа пациентов с мутациями в *MIR142* характеризовалась достоверно более высоким пролиферативным потенциалом опухолевого субстрата ($p = 0,021$), тогда как уровень метилирования анализируемого гена имел сильную отрицательную корреляционную связь с уровнем ЛДГ в сыворотке крови больных ($r = -0,72$ при $p = 0,045$). Делеционные события в области расположения *MIR142* в сравнении с дупликациями и сохраненной копийностью гена ассоциированы с более старшим возрастом развития опухоли ($p = 0,015$ и $p = 0,022$ соответственно), благоприятным GCB-подтипом ДВККЛ ($p = 0,036$ и $p = 0,005$ соответственно) и лучшими показателями по частоте общего ответа (полные и частичные ремиссии) и отдаленным результатам лечения. Так, в подгруппе с делециями все пациенты ответили на терапию в сравнении с 64,3 % ($p = 0,071$) при дупликации и 72,2 % ($p = 0,119$) при отсутствии изменения копийности генома в области расположения гена. Показатели 5-летней общей выживаемости больных в анализируемых подгруппах составили 71,4, 56,3 и 25 % соответственно.

При системной ДВККЛ мутационный статус *MIR142* ассоциирован с более ранним дебютом заболевания ($p = 0,025$), а также большей частотой вовлечения в опухолевый процесс нелимфатических органов ($p = 0,046$). Подгруппа пациентов с делецией региона хромосомы 17, где расположен ген *MIR142*, характеризовалась наименьшей частотой диагностики лимфомы в IV стадии: 16,7 % против 52,4 % ($p = 0,021$) и 57,4 % ($p = 0,094$) при дупликации и в отсутствии изменения копийности, а также в два раза меньшей частотой вовлечения в опухолевый процесс печени (22,2 % против 45,1 %, $p = 0,088$) в сравнении с пациентами с дупликацией. В подгруппе с дупликацией анализируемого гена имела место тенденция к снижению общей 5-летней выживаемости больных ($p = 0,090$). В целом полученные данные в отношении отдаленных результатов терапии как системной ДВККЛ, так и ПЛЧНС косвенно согласуются с результатами работ А. Roehle et al. [36] и С.Н. Lawrie et al. [37], в которых показана ассоциация высокой экспрессии miR-142 с ухудшением показателей общей и бессобытийной выживаемости пациентов с ДВККЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном исследовании нами впервые выполнено комплексное сравнительное исследование мутаций, статуса метилирования и

M.S. Voytko: database analysis, writing and editing the article.

V.N. Maksimov: analysis of intellectual content, writing, editing, and final approval of the article.

T.I. Pospelova: development of the study concept, design and structure, analysis of intellectual content, editing, and final approval of the article.

Funding. This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 25-25-00068.

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

нарушения копийности в гене *MIR142* в опухолевой ткани пациентов с системной ДВККЛ и ПЛЧНС, а также анализ их ассоциации с особенностями клинического течения данных заболеваний. В целом полученные данные свидетельствуют о большей частоте данных аберраций при ПЛЧНС. В отношении отдаленных результатов терапии как системной ДВККЛ, так и ПЛЧНС данные косвенно согласуются с результатами более ранних работ, в которых показана ассоциация высокой экспрессии miR-142 с ухудшением показателей выживаемости пациентов с лимфомами.

Вклад авторов

Е.Н. Воропаева: разработка дизайна и структуры исследования, сбор и обработка данных, написание, редактирование и окончательное утверждение статьи.

О.Б. Серегина, Т.Н. Бабаева: сбор и обработка данных, написание и редактирование статьи.

М.С. Войтко: анализ базы данных, написание и редактирование статьи.

В.Н. Максимов: анализ интеллектуального содержания, написание, редактирование и окончательное утверждение статьи.

Т.И. Поспелова: разработка концепции, дизайна и структуры исследования, анализ интеллектуального содержания, редактирование и окончательное утверждение статьи.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда № 25-25-00068.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kumar S., Warrell J., Li S. et al. Passenger mutations in more than 2500 cancer genomes: overall molecular functional impact and consequences // *Cell*. 2020;180(5):915-927. DOI: 10.1016/j.cell.2020.01.032.
2. Воропаева Е.Н., Пospelova Т.И., Березина О.В. и др. Метилирование генов p53-респонзивных онкосупрессорных микроРНК при гемобластозах // *Сибирский онкологический журнал*. 2022;21(2):130-142. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-130-142.
3. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Orlov Y.L. et al. The methylation of the p53 targets the genes MIR-203, MIR-129-2, MIR-34A and MIR-34B/C in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma // *Genes (Basel)*. 2022;13(8):1401. DOI: 10.3390/genes13081401.
4. Urbanek-Trzeciak M.O., Galka-Marciniak P., Nawrocka P.M. et al. Pan-cancer analysis of somatic mutations in miRNA genes // *EBioMedicine*. 2020;61:103051. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103051.
5. Langschie F., Leisegang M.S., Günther S. et al. Loss of multiple micro-RNAs uncovers multi-level restructuring of gene regulation in rodents // *BMC Genomics*. 2025;26(1):800. DOI: 10.1186/s12864-025-11815-3.
6. Fischer S., Handrick R., Aschrafi A., Otte K. Unveiling the principle of microRNA-mediated redundancy in cellular pathway regulation // *RNA Biol*. 2015;12(3):238-247. DOI: 10.1080/15476286.2015.1017238.
7. Воропаева Е.Н., Сeregina О.Б., Войтко М.С. и др. Значение miR-142 в опухолевой прогрессии диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы // *Онкогематология*. 2025;20(2):87-103. DOI: 10.17650/1818-8346-2025-20-2-87-103.
8. Roschewski M., Hodson D.J. Diffuse large B-cell lymphoma involving the central nervous system: biologic rationale for targeted therapy // *Haematologica*. 2024;109(2):388-400. DOI: 10.3324/haematol.2021.278613.
9. Пospelova Т.И., Воропаева Е.Н., Карпова В.С. и др. Поражение центральной нервной системы при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(4):112-132. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-4-112-132.
10. Guo X., Bi L., Zhou D., Ling J. Differences between primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma and intra-lymph node diffuse large B-cell lymphoma based on proteomic research // *Blood*. 2024;144(1):6248. DOI: 10.1182/blood-2024-204461.
11. Severson E.A., Haberberger J., Hemmerich A. et al. Genomic profiling reveals differences in primary central nervous system lymphoma and large B-cell lymphoma, with subtyping suggesting sensitivity to BTK inhibition // *Oncologist*. 2023;28(1):e26-e35. DOI: 10.1093/oncolo/oyac190.
12. Воропаева Е.Н., Пospelova Т.И., Карпова В.С. и др. Мутационный профиль диффузной В-крупноклеточной лимфомы с рецидивами в центральной нервной системе // *Успехи молекулярной онкологии*. 2022;9(3):69-84. DOI: 10.17650/2313-805X-2022 9 3 69 84.
13. Воропаева Е.Н., Гуражева А.А., Пospelova Т.И. и др. Эпидемиология и клинικο-демографическая

REFERENCES

1. Kumar S., Warrell J., Li S. et al. Passenger mutations in more than 2500 cancer genomes: overall molecular functional impact and consequences. *Cell*. 2020;180(5):915-927. DOI: 10.1016/j.cell.2020.01.032.
2. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Berezina O.V. et al. Methylation of p53-responsive oncosuppressive microRNA genes in hemoblastosis. *Siberian Journal of Oncology*. 2022;21(2):130-142. DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-130-142. (In Russ.)
3. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Orlov Y.L. et al. The methylation of the p53 targets the genes MIR-203, MIR-129-2, MIR-34A and MIR-34B/C in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma. *Genes (Basel)*. 2022;13(8):1401. DOI: 10.3390/genes13081401.
4. Urbanek-Trzeciak M.O., Galka-Marciniak P., Nawrocka P.M. et al. Pan-cancer analysis of somatic mutations in miRNA genes. *EBioMedicine*. 2020;61:103051. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103051.
5. Langschie F., Leisegang M.S., Günther S. et al. Loss of multiple micro-RNAs uncovers multi-level restructuring of gene regulation in rodents. *BMC Genomics*. 2025;26(1):800. DOI: 10.1186/s12864-025-11815-3.
6. Fischer S., Handrick R., Aschrafi A., Otte K. Unveiling the principle of microRNA-mediated redundancy in cellular pathway regulation. *RNA Biol*. 2015;12(3):238-247. DOI: 10.1080/15476286.2015.1017238.
7. Voropaeva E.N., Seregina O.B., Voytko M.S. et al. The significance of miR-142 in tumor progression of diffuse large B-cell lymphoma. *Oncohematology*. 2025;20(2):87-103. DOI: 10.17650/1818-8346-2025-20-2-87-103. (In Russ.)
8. Roschewski M., Hodson D.J. Diffuse large B-cell lymphoma involving the central nervous system: biologic rationale for targeted therapy. *Haematologica*. 2024;109(2):388-400. DOI: 10.3324/haematol.2021.278613.
9. Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Karpova V.S. et al. Central nervous system involvement in diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(4):112-132. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-4-112-132.
10. Guo X., Bi L., Zhou D., Ling J. Differences between primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma and intra-lymph node diffuse large B-cell lymphoma based on proteomic research. *Blood*. 2024;144(1):6248. DOI: 10.1182/blood-2024-204461.
11. Severson E.A., Haberberger J., Hemmerich A. et al. Genomic profiling reveals differences in primary central nervous system lymphoma and large B-cell lymphoma, with subtyping suggesting sensitivity to BTK inhibition. *Oncologist*. 2023;28(1):e26-e35. DOI: 10.1093/oncolo/oyac190.
12. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Karpova V.S. et al. Mutation profile of diffuse large B-cell lymphoma with relapses in the central nervous system. *Advances in Molecular Oncology*. 2022;9(3):69-84. DOI: 10.17650/2313-805X-2022 9 3 69 84. (In Russ.)
13. Voropaeva E.N., Gurazheva A.A., Pospelova T.I. et al. Epidemiology and clinicodemographic characteristics of diffuse large B-cell lymphoma in the Novosibirsk

- характеристика диффузной В-крупноклеточной лимфомы на территории г. Новосибирска // Сибирский онкологический журнал. 2021;20(1):5-15. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-5-15.
14. Pillar N., Bairey O., Goldschmidt N. et al. MicroRNAs as predictors for CNS relapse of systemic diffuse large B-cell lymphoma // *Oncotarget*. 2017;8(49):86020-86030. DOI: 10.18632/oncotarget.20902.
15. Воропаева Е.Н., Серегина О.Б., Войтко М.С. и др. Частота, спектр и функциональное значение мутаций в гене MIR-142 при диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфоме // Научные результаты биомедицинских исследований. 2025;11(4):607-627. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-2.
16. Ding M., Hu J., Ni J. et al. Demethylation of microRNA-142 induced by demethylation agents plays a suppressive role in osteosarcoma cells // *Oncol. Lett.* 2015;9(5):2261-2267. DOI: 10.3892/ol.2015.3036.
17. Schneider C., Rasband W., Eliceiri K. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis // *Nat. Methods*. 2012;9(7):671-675. DOI: 10.1038/nmeth.2089.
18. Rehbein P., Schwalbe H. Integrated protocol for reliable and fast quantification and documentation of electrophoresis gels // *Protein Expr. Purif.* 2015;110:1-6. DOI: 10.1016/j.pep.2014.12.006.
19. Hendry P., Hannan G. Detection and quantitation of unlabeled nucleic acids in polyacrylamide gels // *Biotechniques*. 1996;20(2):258-264. DOI: 10.2144/96202rr03.
20. Cerami E., Gao J., Dogrusoz U. et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data // *Cancer Discov.* 2012;2(5):401-404. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
21. Kawano S., Araki K., Bai J. et al. A gain-of-function mutation in microRNA 142 is sufficient to cause the development of T-cell leukemia in mice // *Cancer Sci.* 2023;114(7):2821-2834. DOI: 10.1111/cas.15794.
22. Hezaveh K., Kloetgen A., Bernhart S.H. et al. Alterations of microRNA and microRNA-regulated messenger RNA expression in germinal center B-cell lymphomas determined by integrative sequencing analysis // *Haematologica*. 2016;101(11):1380-1389. DOI: 10.3324/haematol.2016.143891.
23. Soltani S., Zakeri A., Tabibzadeh A. et al. A review on EBV encoded and EBV-induced host microRNAs expression profile in different lymphoma types // *Mol. Biol. Rep.* 2021;48(2):1801-1817. DOI: 10.1007/s11033-021-06152-z.
24. PLOS ONE Editors. Expression of concern: Overexpression of miR-142-5p and miR-155 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma resistant to *Helicobacter pylori* eradication // *PLoS One*. 2023;18(1):e0278797. DOI: 10.1371/journal.pone.0278797.
25. Bellon M., Lepelletier Y., Hermine O., Nicot C. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia // *Blood*. 2009;113(20):4914-4917. DOI: 10.1182/blood-2008-11-189845.
26. Lv M., Zhang X., Jia H. et al. An oncogenic role of miR-142-3p in human T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) by targeting glucocorticoid receptor- α and cAMP/PKA pathways. *Leukemia*. 2012;26(4):769-777. DOI: 10.1038/leu.2011.273.
- city. *Siberian Journal of Oncology*. 2021;20(1):5-15. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-5-15. (In Russ.)
14. Pillar N., Bairey O., Goldschmidt N. et al. MicroRNAs as predictors for CNS relapse of systemic diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2017;8(49):86020-86030. DOI: 10.18632/oncotarget.20902.
15. Voropaeva E.N., Seregina O.B., Voytko M.S. et al. Frequency, spectrum, and functional significance of mutations in the MIR-142 gene in diffuse large B-cell lymphoma. *Research Results in Biomedicine*. 2025;11(4):607-627. DOI: 10.18413/2658-6533-2025-11-4-0-2. (In Russ.)
16. Ding M., Hu J., Ni J. et al. Demethylation of microRNA-142 induced by demethylation agents plays a suppressive role in osteosarcoma cells. *Oncol. Lett.* 2015;9(5):2261-2267. DOI: 10.3892/ol.2015.3036.
17. Schneider C., Rasband W., Eliceiri K. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods*. 2012;9(7):671-675. DOI: 10.1038/nmeth.2089.
18. Rehbein P., Schwalbe H. Integrated protocol for reliable and fast quantification and documentation of electrophoresis gels. *Protein Expr. Purif.* 2015;110:1-6. DOI: 10.1016/j.pep.2014.12.006.
19. Hendry P., Hannan G. Detection and quantitation of unlabeled nucleic acids in polyacrylamide gels. *Biotechniques*. 1996;20(2):258-264. DOI: 10.2144/96202rr03.
20. Cerami E., Gao J., Dogrusoz U. et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov.* 2012;2(5):401-404. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
21. Kawano S., Araki K., Bai J. et al. A gain-of-function mutation in microRNA 142 is sufficient to cause the development of T-cell leukemia in mice. *Cancer Sci.* 2023;114(7):2821-2834. DOI: 10.1111/cas.15794.
22. Hezaveh K., Kloetgen A., Bernhart S.H. et al. Alterations of microRNA and microRNA-regulated messenger RNA expression in germinal center B-cell lymphomas determined by integrative sequencing analysis. *Haematologica*. 2016;101(11):1380-1389. DOI: 10.3324/haematol.2016.143891.
23. Soltani S., Zakeri A., Tabibzadeh A. et al. A review on EBV encoded and EBV-induced host microRNAs expression profile in different lymphoma types. *Mol. Biol. Rep.* 2021;48(2):1801-1817. DOI: 10.1007/s11033-021-06152-z.
24. PLOS ONE Editors. Expression of concern: Overexpression of miR-142-5p and miR-155 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma resistant to *Helicobacter pylori* eradication. *PLoS One*. 2023;18(1):e0278797. DOI: 10.1371/journal.pone.0278797.
25. Bellon M., Lepelletier Y., Hermine O., Nicot C. Deregulation of microRNA involved in hematopoiesis and the immune response in HTLV-I adult T-cell leukemia. *Blood*. 2009;113(20):4914-4917. DOI: 10.1182/blood-2008-11-189845.
26. Lv M., Zhang X., Jia H. et al. An oncogenic role of miR-142-3p in human T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) by targeting glucocorticoid receptor- α and cAMP/PKA pathways. *Leukemia*. 2012;26(4):769-777. DOI: 10.1038/leu.2011.273.

- cAMP/PKA pathways // *Leukemia*. 2012;26(4):769-777. DOI: 10.1038/leu.2011.273.
27. Kuriyama K., Enomoto Y., Suzuki R. et al. Enforced expression of MIR142, a target of chromosome translocation in human B-cell tumors, results in B-cell depletion // *Int. J. Hematol.* 2018;107(3):345-354. DOI: 10.1007/s12185-017-2360-8.
 28. Kwanhian W., Lenze D., Alles J. et al. MicroRNA-142 is mutated in about 20% of diffuse large B-cell lymphoma // *Cancer Med.* 2012;1(2):141-155. DOI: 10.1002/cam4.29.
 29. Hornshøj H., Nielsen M.M., Sinnott-Armstrong N.A. et al. Pan-cancer screen for mutations in non-coding elements with conservation and cancer specificity reveals correlations with expression and survival // *NPJ Genom. Med.* 2018;3:1. DOI: 10.1038/s41525-017-0040-5.
 30. Creugny A., Fender A., Pfeffer S. Regulation of primary microRNA processing // *FEBS Lett.* 2018;592(12):1980-1996. DOI: 10.1002/1873-3468.13067.
 31. Casellas R., Basu U., Yewdell W.T. et al. Mutations, kataegis and translocations in B cells: understanding AID promiscuous activity // *Nat. Rev. Immunol.* 2016;16(3):164-176. DOI: 10.1038/nri.2016.2.
 32. Radke J., Ishaque N., Koll R. et al. The genomic and transcriptional landscape of primary central nervous system lymphoma // *Nat. Commun.* 2022;13(1):2558. DOI: 10.1038/s41467-022-30050-y.
 33. Montesinos-Rongen M., Schmitz R., Courts C. et al. Absence of immunoglobulin class switch in primary lymphomas of the central nervous system // *Am. J. Pathol.* 2005;166(6):1773-1779. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62487-X.
 34. Maugeri A., Barchitta M., Magnano San Lio R. et al. Epigenetic aging and colorectal cancer: state of the art and perspectives for future research // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;22(1):200. DOI: 10.3390/ijms22010200.
 35. Müller H.M., Oberwalder M., Fiegl H. et al. Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? // *Lancet.* 2004;363(9417):1283-1285. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16002-9.
 36. Roehle A., Hoefig K.P., Repsilber D. et al. MicroRNA signatures characterize diffuse large B-cell lymphomas and follicular lymphomas // *Br. J. Haematol.* 2008;142(5):732-744. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07237.x.
 37. Lawrie C.H., Chi J., Taylor S. et al. Expression of microRNAs in diffuse large B cell lymphoma is associated with immunophenotype, survival and transformation from follicular lymphoma // *J. Cell Mol. Med.* 2009;13(7):1248-1260. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00628.x.
 27. Kuriyama K., Enomoto Y., Suzuki R. et al. Enforced expression of MIR142, a target of chromosome translocation in human B-cell tumors, results in B-cell depletion. *Int. J. Hematol.* 2018;107(3):345-354. DOI: 10.1007/s12185-017-2360-8.
 28. Kwanhian W., Lenze D., Alles J. et al. MicroRNA-142 is mutated in about 20% of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med.* 2012;1(2):141-155. DOI: 10.1002/cam4.29.
 29. Hornshøj H., Nielsen M.M., Sinnott-Armstrong N.A. et al. Pan-cancer screen for mutations in non-coding elements with conservation and cancer specificity reveals correlations with expression and survival. *NPJ Genom. Med.* 2018;3:1. DOI: 10.1038/s41525-017-0040-5.
 30. Creugny A., Fender A., Pfeffer S. Regulation of primary microRNA processing. *FEBS Lett.* 2018;592(12):1980-1996. DOI: 10.1002/1873-3468.13067.
 31. Casellas R., Basu U., Yewdell W.T. et al. Mutations, kataegis and translocations in B cells: understanding AID promiscuous activity. *Nat. Rev. Immunol.* 2016;16(3):164-176. DOI: 10.1038/nri.2016.2.
 32. Radke J., Ishaque N., Koll R. et al. The genomic and transcriptional landscape of primary central nervous system lymphoma. *Nat. Commun.* 2022;13(1):2558. DOI: 10.1038/s41467-022-30050-y.
 33. Montesinos-Rongen M., Schmitz R., Courts C. et al. Absence of immunoglobulin class switch in primary lymphomas of the central nervous system. *Am. J. Pathol.* 2005;166(6):1773-1779. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62487-X.
 34. Maugeri A., Barchitta M., Magnano San Lio R. et al. Epigenetic aging and colorectal cancer: state of the art and perspectives for future research. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;22(1):200. DOI: 10.3390/ijms22010200.
 35. Müller H.M., Oberwalder M., Fiegl H. et al. Methylation changes in faecal DNA: a marker for colorectal cancer screening? *Lancet.* 2004;363(9417):1283-1285. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16002-9.
 36. Roehle A., Hoefig K.P., Repsilber D. et al. MicroRNA signatures characterize diffuse large B-cell lymphomas and follicular lymphomas. *Br. J. Haematol.* 2008;142(5):732-744. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07237.x.
 37. Lawrie C.H., Chi J., Taylor S. et al. Expression of microRNAs in diffuse large B cell lymphoma is associated with immunophenotype, survival and transformation from follicular lymphoma. *J. Cell Mol. Med.* 2009;13(7):1248-1260. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2008.00628.x.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Воропаева Елена Николаевна – д-р мед. наук, профессор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии

ABOUT THE AUTHORS

Elena N. Voropaeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine, branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Leading Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Acute Myeloid Leukemia, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований острых миелоидных лейкозов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Серегина Ольга Борисовна – ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6110-4351.

Войтко Мария Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5429-4011.

Бабаева Татьяна Николаевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-2708-1133.

Максимов Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

Поспелова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Olga B. Seregina – Assistant, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6110-4351.

Maria S. Voytko – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5429-4011.

Tatyana N. Babaeva – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2708-1133.

Vladimir N. Maksimov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Professor of the Department of Medical Genetics and Biology, Novosibirsk State Medical University; Head, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine, branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-7165-4496.

Tatyana I. Pospelova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1261-5470.