

УДК: 616.98[578.825-616.155.392]:614.876

І. В. Абраменко✉, Н. І. Білоус, А. А. Чумак, І. С. Дягіль, З. В. Мартина

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, Київ, 04050, Україна

## ДОСЛІДЖЕННЯ ОСНОВНОГО І АЛЬТЕРНАТИВНОГО ТРАНСКРИПТУ (*SORL1-Δ2*) ГЕНА *SORL1* У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЛІМФОЦИТАРНУ ЛЕЙКЕМІЮ, ПОСТРАЖДАЛИХ ВНАСЛІДОК ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ КАТАСТРОФИ

**Мета:** дослідити клініко-гематологічні показники та експресію основного і альтернативних транскриптів гена *SORL1* у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію (ХЛЛ), які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи.

**Методи.** Дослідження проведено в основній групі 34 хворих на ХЛЛ, опромінених внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС (30 учасників ліквідації наслідків аварії і 4 евакуйованих) та в групі порівняння (27 неопромінених хворих на ХЛЛ). Групи досліджених були схожими за статтю, віком, стадією захворювання при постановці діагнозу, мутаційним статусом *IGHV* генів. Експресію основного і альтернативних транскриптів гена *SORL1* оцінювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. Мутаційний статус *IGHV* генів, мутації генів *TP53* і *SF3B1* визначали методом ПЛР з наступним секвенуванням. Отримані дані аналізували у статистичній програмі SPSS software package, version 20.0.

**Результати.** Відносний рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* був низьким ( $1,71 \pm 0,55$ , медіана 0,57), не корелював з мутаційним статусом *IGHV* генів, стадією ХЛЛ, наявністю мутацій генів *TP53* і *SF3B1*. Експресія транскрипту В не виявлена в жодному випадку, транскрипт F експресувався на дуже низькому рівні у 9 хворих. Відносний рівень експресії транскрипту *SORL1-Δ2* становив  $14,1 \pm 6,04$  (медіана 3,48; коливання від 0,01 до 90,51). Експресія транскрипту *SORL1-Δ2* вища за медіану частіше виявлена у хворих на стадії С ( $p = 0,001$ ), а у хворих з немутованим статусом *IGHV* генів була асоційована з вкрай негативним перебігом ХЛЛ (медіана загального виживання 9 міс. проти 61 міс. за низького рівня експресії *SORL1-Δ2*). За експресією основного і альтернативних транскриптів гена *SORL1* хворі на ХЛЛ, які постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, не відрізнялись від пацієнтів групи порівняння.

**Висновки.** Отримані попередні дані свідчать, що значне підвищення експресії альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* за немутованого статусу *IGHV* генів може розглядатись як маркер вкрай негативного прогнозу перебігу ХЛЛ.

**Ключові слова:** хронічна лімфоцитарна лейкемія, *SORL1*, *SORL1-Δ2*, аварія на Чорнобильській АЕС.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2021. Вип. 26. С. 273–283. doi: 10.33145/2304-8336-2021-26-273-283

✉ Абраменко Ірина Вікторівна, e-mail: abramenko\_iryana@ukr.net

I. V. Abramenko✉, N. I. Bilous, A. A. Chumak, I. S. Diagil, Z. V. Martina

State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka Str., Kyiv, 04050, Ukraine

## THE EXPRESSION OF THE MAIN AND ALTERNATIVE TRANSCRIPT (*SORL1-Δ2*) OF THE *SORL1* GENE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA PATIENTS AFFECTED BY THE CHORNOBYL ACCIDENT

**Objective:** to study clinical-hematological data and expression of the main and alternative transcripts of *SORL1* gene in chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients affected by the Chernobyl catastrophe.

**Methods.** Analysis was performed in the main group of 34 CLL patients irradiated due to the Chernobyl NPP accident (30 clean-up workers, and 4 evacuees) and in the control group of 27 non-irradiated CLL patients. Groups of patients were comparable by age, sex, stage of disease, mutational status of *IGHV* genes. Expression of the main and alternative transcripts of *SORL1* gene was evaluated by Quantitative Real-time polymerase chain reaction (PCR). The *IGHV* gene mutational status, *TP53* and *SF3B1* mutations were studied by PCR followed by direct sequencing. Data were analyzed with the SPSS software package, version 20.0.

**Results.** Relative expression level of the main transcript of *SORL1* gene was low (mean  $1.71 \pm 0.55$ , median 0.57), did not correlate with the *IGHV* gene mutational status, *TP53* and *SF3B1* mutations, stage of disease. The expression of B transcript was not detected, F transcript was expressed at a very low level in 9 patients. The average relative expression level of *SORL1-Δ2* transcript was  $14.1 \pm 6.04$  (median 3.48; range 0.01–90.51). The expression of *SORL1-Δ2* transcript above the median was more frequent among patients on C stage ( $p = 0.001$ ), and in patients with unmutated *IGHV* genes was associated with an extremely negative course of CLL (median of overall survival 9 months vs 61 months at low expression). Relative expression levels of the main and alternative transcripts of *SORL1* gene in patients of the main and the control groups did not differ.

**Conclusions.** Our preliminary data suggest that increased expression of *SORL1-Δ2* transcript in CLL patients with unmutated *IGHV* genes can be considered as a negative prognostic marker.

**Key words:** chronic lymphocytic leukemia, *SORL1*, *SORL1-Δ2*, Chernobyl NPP accident.

*Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2021;26:273-283. doi: 10.33145/2304-8336-2021-26-273-283*

### ВСТУП

Ген *SORL1* (sorting protein-related receptor 1) кодує білок з молекулярною масою 250 кДа, що належить до родини білків транспортування, сортилінів. Вперше був ідентифікований у 1996 році як один з рецепторів ліпопротеїдів низької щільності [1].

На відміну від більшості онкогематологічних хвороб, хронічна лімфоцитарна лейкемія (ХЛЛ) належить до захворювань з низьким рівнем експресії гена *SORL1* [2–5]. Як вважають McCaw et al. [6], це унікальна характеристика лейкемічних клітин при ХЛЛ. Автори пов'язують з відсутністю експресії гена *SORL1* особливості метаболізму клітин ХЛЛ, а саме: переважне окислення жирних кислот на відміну від інших злоякісно трансформованих клітин, метаболізм яких залежний від гліколізу.

Якщо факт низької експресії гена *SORL1* при ХЛЛ широко відомий, то її асоціація з клінічними показни-

### INTRODUCTION

*SORL1* gene (sorting protein-related receptor 1) encodes a 250 kDa protein, which belongs to the family of transport proteins (sortilins). It was identified in 1996 as one of the receptors for low-density lipoproteins [1].

Unlike the most oncohematological diseases, chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a disease with low level of *SORL1* gene expression [2–5]. According to McCaw et al. [6], it is a unique characteristic of CLL cells. The authors attribute the lack of *SORL1* expression to peculiarities of CLL cell metabolism, that is the lack of *SORL1* protein promotes the primary oxidation of fatty acids as an energy source in contrast to other malignant transformed cells, which are dependent on glycolysis.

While low *SORL1* gene expression in CLL is well-known, its association with clinical data,

✉ Valentyna A. Prylypko, e-mail: basepril@gmail.com

ками хворих, мутаційним статусом генів важких ланцюгів імуноглобулінів (*IGHV*) досліджена недостатньо. Крім того, останніми роками з'явилися дані щодо експресії альтернативних транскриптів гена *SORL1* [7–9].

## МЕТА

Метою нашої роботи було дослідити клініко-гематологічні показники та експресію основного і альтернативних транскриптів гена *SORL1* у хворих на ХЛЛ. Дослідження проведені на групі хворих, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи (переважно учасники ліквідації наслідків Чорнобильської аварії).

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Обстежено 61 хворого на ХЛЛ, 53 чоловіків (86,9 %) і 8 жінок (13,1 %) віком від 40 до 77 років, середній вік ( $59,96 \pm 1,12$ ) років, медіана 60 років. Хворі перебували на лікуванні в Державній установі «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України» (ННЦРМ). Дослідження було схвалено комітетом з медичної етики ННЦРМ. Діагноз ХЛЛ встановлювали на основі клініко-гематологічних критеріїв та імунофенотипування лімфоцитів периферичної крові. Стадію захворювання визначали за класифікаціями Rai зі співавт. [10, 11], Binet зі співавт. [12] та Міжнародної робочої наради з ХЛЛ 1989 р. [13].

Основну групу склали 34 пацієнти, опромінені внаслідок Чорнобильської катастрофи: 30 учасників ліквідації наслідків Чорнобильської аварії (УЛНА) та 4 евакуйованих з м. Прип'ять. Серед УЛНА 25 брали участь в ліквідації наслідків аварії у 1986 р., 5 – в 1987–1989 рр. До групи порівняння входило 27 хворих на ХЛЛ, які не мали в анамнезі впливу іонізуючого випромінювання. Хворі основної групи і групи порівняння статистично не розрізнялись за статтю, віком, стадією захворювання при постановці діагнозу, мутаційним статусом *IGHV* генів (табл. 1).

РНК хворих для проведення експресійного аналізу виділяли з мононуклеарів периферичної крові методом ізотіоціанат-фенол-хлороформної екстракції за Chomczynski, Sacchi [14]. Комплементарну ДНК (кДНК) синтезували з 1 мкг тотальної РНК з використанням набору Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific), слідуючи рекомендаціям виробника.

Визначали експресію основного транскрипту гена *SORL1* і трьох найбільш охарактеризованих альтернативних транскриптів – *SORL1-Δ2* [9], варіантів В та F [7], з використанням праймерів, вказаних у відповідних роботах. Експресію гена гліцеральдегід-

mutational status of heavy chain immunoglobulin (*IGHV*) genes is poorly studied. In addition, the expression of alternative transcripts of *SORL1* gene has been described in the last years [7–9].

## OBJECTIVE

Therefore, the aim of our work was to study clinical-hematological data and expression of the main and alternative transcripts of *SORL1* gene in CLL patients. The study was performed on a group of patients, affected by the Chernobyl catastrophe, the majority of which were clean-up workers.

## MATERIAL AND METHODS

The studied cohort included 61 CLL patients, 53 males (86.9 %) and 8 females (13.1 %), aged from 40 to 77 years, mean age ( $59.96 \pm 1.12$ ) years, median 60 years, referred to the State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». The study was approved by the local Ethics Review Committee, and all patients gave informed consent prior to participation in it. The diagnosis of CLL was based on clinical history, lymphocyte morphology, and immunophenotypic criteria. Stage of disease was established by Rai et al. [10, 11], Binet et al. [12], and International Workshop on CLL [13].

The main group included 34 patients, suffered due to Chernobyl accident: the Chernobyl accident consequences clean-up workers (ACCW,  $n = 30$ ) and evacuees from Prip'yat city ( $n = 4$ ). Twenty-five CLL patients were clean-up works of 1986, and five were clean-up workers of 1987–1989. The control group included 27 CLL patients with no impact of ionizing radiation in a history. Groups of patients were comparable by age, sex, stage of disease, mutational status of *IGHV* genes (Table 1).

Total RNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells through thiocyanate-phenol-chloroform extraction by Chomczynski, Sacchi to perform the expression analysis [14]. Complementary DNA (cDNA) was synthesized from 1  $\mu$ g RNA using RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific), according to the supplier's instructions.

The expression levels of the main gene transcript *SORL1* and three most characterized alternative transcripts (*SORL1-Δ2*) [9], B and F variants [7]) were studied using primers specified in relevant works. The expression levels were normalized to

**Таблиця 1**

**Клініко-гематологічні показники хворих на ХЛЛ основної групи та групи порівняння**

**Table 1**

**Baseline clinical characteristics**

Показники Characteristics	Кількість хворих, абс (%) / Number of patients, (%)		Вірогідність розбіжностей <i>p</i> value
	Основна група, n = 34 The main group, n = 34	Група порівняння, n = 27 The control group, n = 27	
Вік, роки; медіана (розкид) / Median age, y (range)	59,0 (40–75)	61 (45–77)	0,232
Стать / Sex, n (%)			
чоловіча / male	31 (91,2)	22 (81,5)	0,447
жіноча / female	3 (8,8)	5 (18,5)	
Стадія за Rai / Rai stage at diagnosis, n (%)			
0	2 (5,9)	2 (7,4)	0,363
I	10 (29,4)	8 (29,6)	
II	16 (47,0)	7 (26,0)	
III	4 (11,8)	8 (29,6)	
IV	2 (5,9)	2 (7,4)	
Стадія за Binet / Binet stage at diagnosis, n (%)			
A	12 (35,3)	10 (37,0)	0,138
B	16 (47,0)	7 (26,0)	
C	6 (17,7)	10 (37,0)	
M <i>IGHV</i> гени / M <i>IGHV</i> genes, n (%)	6 (17,6)	7 (25,9)	0,534
UM <i>IGHV</i> гени / UM <i>IGHV</i> genes, n (%)	28 (82,6)	20 (74,1)	

Зфосфат-дегідрогенази (glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase, G3PDH) визначали як контроль (експресія гена-нормалізатора).

Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) в реальному часі проводили з 2 мкл кДНК в реакційній суміші загальним об'ємом 25 мкл, що включала 1 мкМ прямого і зворотного праймерів та суміш для ПЛР Absolute Blue qPCR SYBR Green Fluorescein (Thermo Scientific). Режим ампліфікації був наступним: ініціація – 95 °С, 15 хв, 45 циклів ампліфікації (95 °С – 15 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с). Всі ПЛР реакції були проведені двічі. Кожен ПЛР прогін включав контролю та зразок-калібратор (кДНК здорового донора).

Оцінку результатів реакції проводили за визначенням порогового циклу Ct (threshold cycle), який вказує на перехід графіка ампліфікації з лінійної до експоненційної фази. Застосовували метод розрахунку відношення порогових циклів –  $\Delta\Delta Ct$ . Відносну експресію/кількість (RQ, relative quantity) представляли у вигляді кратної різниці, що дорівнювала  $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ .

Мутаційний статус *IGHV* генів, мутації генів *TP53* і *SF3B1* визначали методом ПЛР з наступним секвенуванням, як описано раніше [15, 16].

Показники загального виживання (overall survival, OS) розраховували за методом Каплана-Мейєра і log-rank тестом. Критичним значенням вірогідності вважали  $p < 0,05$ . Статистичну обробку проводили у програмі SPSS 20.0 Software Package (SPSS, США).

the expression of the housekeeping gene *G3PDH* (glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase) as the control.

Quantitative Real-time polymerase chain reaction PCR (RT-qPCR) was carried out with 2  $\mu$ l of cDNA in a 25  $\mu$ l reaction mixture containing 1  $\mu$ M of each primer and Absolute Blue qPCR SYBR Green Fluorescein Mix (Thermo Scientific). PCR cycling conditions were: an initial denaturation step of 95 °C for 15 min, and 45 cycles of 95 °C for 15 s, 60 °C for 30 s and 72 °C for 30 s. All reactions were done in duplicate. Each PCR run included controls and a sample calibrator (healthy donor cDNA).

The evaluation of the reaction results was performed by determining the threshold cycle Ct, which indicates the transition of amplification graph from linear to exponential phase. Method of calculating the ratio of threshold cycles ( $\Delta\Delta Ct$ ) was used. Relative expression/quantity (RQ) was represented as a multiple difference equal to  $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ .

Mutational status of *IGHV* genes, *TP53* and *SF3B1* mutations were determined by PCR followed by direct sequencing as reported previously [15, 16].

Overall survival (OS) was evaluated by Kaplan-Mayer method using log-rank test. *P* values  $< 0.05$  were considered as statistically significant. All analyses were performed with the SPSS software package, version 20.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ

Відносний рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* у зразках периферичної крові хворих був низьким і коливався в межах від 0,02 до 8,39 умовних одиниць (ум. од.); ( $1,71 \pm 0,55$ , медіана 0,57). Серед обстежених хворих на ХЛЛ у 48 випадках (78,7 %) у лейкомічних клітинах була визначена експресія немутованих (unmutated, UM) *IGHV* генів, а у 13 випадках (21,3 %) – мутованих (mutated, M) *IGHV* генів. Випадки ХЛЛ з UM *IGHV* за рівнем експресії основного транскрипту гена *SORL1* достовірно не відрізнялись від мутованих випадків: ( $2,00 \pm 0,69$ ) ум. од. і ( $0,84 \pm 0,28$ ) ум. од., відповідно,  $p = 0,358$ .

Суттєвих розбіжностей в рівні експресії основного транскрипту гена *SORL1* у хворих основної групи і групи порівняння не виявлено (табл. 2).

Рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* не залежав від статі обстежених хворих ( $p = 0,356$ ), їхнього віку до 65 років чи старше ( $p = 0,793$ ), стадії захворювання на момент діагностики ( $p = 0,567$ ).

Серед обстежених хворих у семи були виявлені мутації гена *TP53*, а у 12 – мутації гена *SF3B1*. Рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* не залежав від наявності/відсутності згаданих вище мутацій,  $p = 0,356$  і  $p = 0,988$ , відповідно.

Експресія альтернативного транскрипту В не виявлена в жодному випадку, як серед хворих на ХЛЛ, так і в мононуклеарах здорових донорів.

Експресія альтернативного транскрипту F виявлена у 9 випадках на вкрай низькому рівні – пороговий цикл коливався в межах 38–42, тоді як для контрольного гена він становив в середньому  $22,3 \pm 0,12$ . Оскільки експресія альтернативного транскрипту не визначалась у здорових донорів, провести кількісну оцінку рівня експресії було неможливо. В подальшому експресію транскрипту F ми не аналізували.

Експресія альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2*, що не містить послідовності другого екзону, була виявлена в мононуклеарах здорових донорів і в усіх обстежених хворих. Рівень експресії у мононуклеарах перифе-

## RESULTS

Relative expression level of the main *SORL1* gene transcript in peripheral blood samples received from patients was low and ranged from 0.02 to 8.39 (mean  $1.71 \pm 0.55$ , median 0.57). There were 48 cases among the CLL patients (78.7 %) with unmutated (UM) *IGHV* genes and 13 cases (21.3 %) with mutated (M) *IGHV* genes among the observed CLL patients. Expression of main *SORL1* gene transcript did not differ in UM *IGHV* ( $2.00 \pm 0.69$ ) and M *IGHV* ( $0.84 \pm 0.28$ ) CLL cases,  $p = 0.358$ .

Significant differences in the expression level of the main *SORL1* gene transcript in patients of the main and the control group were not detected (Table 2).

We did not find any associations between relative expression level of the main *SORL1* gene transcript and gender ( $p = 0.356$ ), age of patients ( $p = 0.793$ ), stage of disease ( $p = 0.567$ ).

*TP53* mutations were revealed in seven, and *SF3B1* mutations were revealed in 12 of observed patients. Expression of the main *SORL1* gene transcript was not associated with mutations of *TP53* ( $p = 0.356$ ) or *SF3B1* ( $p = 0.988$ ) genes.

Expression of B alternative transcript was not detected in any case, namely neither in CLL patients, nor healthy donors.

The alternative F transcript was expressed at a very low level in 9 patients (the threshold cycle ranged from 38 to 42, whereas it averaged  $22.3 \pm 0.12$  for the housekeeping gene *G3PDH*). Because the expression of the alternative transcript was not determined in healthy donors, it was not possible to quantify the level of expression. Subsequently, the expression of transcript F was not analyzed.

*SORL1-Δ2* transcript expression was revealed in mononuclears of healthy donors and all observed CLL patients. This transcript lacks the sequence of the second exon. Relative *SORL1-Δ2* expression

### Таблиця 2

Відносний рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* у хворих основної групи і групи порівняння

Table 2

Relative expression level of the main *SORL1* gene transcript in patients of the main and the control group

Групи пацієнтів Groups of patients	RQ експресії основного транскрипту гена <i>SORL1</i> , ум. од. RQ expression level of the main <i>SORL1</i> gene transcript		
	в цілому / all patients	M <i>IGHV</i> гени / cases	UM <i>IGHV</i> гени / cases
Основна / The main	$2,14 \pm 1,08$	$0,85 \pm 0,34$	$2,14 \pm 1,08$
Порівняння / The control	$1,57 \pm 0,43$	$0,76 \pm 0,21$	$1,93 \pm 0,56$
Вірогідність / p value	0,679	0,882	0,901

ричної крові хворих на ХЛЛ значно варіював: від 0,01 ум. од. до 90,51 ум. од. і становив в середньому ( $14,1 \pm 6,04$ ) ум. од., медіана – 3,48 ум. од. За показниками експресії відносно медіани випадки ХЛЛ були розподілені на дві підгрупи: А – з відносно високим (перевищує медіану, становить в середньому ( $30,05 \pm 11,55$ ) ум. од. та В – з низьким рівнем експресії (нижче за медіану, становить в середньому ( $1,34 \pm 0,46$ ) ум. од.). Розбіжності між підгрупами були вірогідні ( $p < 0,001$ ).

Експресія транскрипту *SORL1-Δ2* позитивно корелювала з експресією основного транскрипту гена *SORL1* ( $r = 0,776$ ;  $p = 0,001$ ).

Випадки ХЛЛ з UM *IGHV* за рівнем експресії транскрипту *SORL1-Δ2* достовірно не відрізнялись від мутованих випадків: ( $17,91 \pm 8,15$ ) ум. од. і ( $4,19 \pm 2,3$ ) ум. од., відповідно,  $p = 0,323$ . До підгрупи А відносився один із 13 досліджених випадків ХЛЛ з M *IGHV* генами (7,7 %), а серед випадків з UM *IGHV* – вісім із 48 (16,7 %),  $p = 0,669$ .

Суттєвих розбіжностей в рівні експресії транскрипту *SORL1-Δ2* у хворих основної групи і групи порівняння не виявлено: ( $20,75 \pm 17,61$ ) ум. од. та ( $11,54 \pm 5,46$ ) ум. од. відповідно;  $p = 0,512$ .

Рівень експресії альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* не залежав від статі обстежених хворих ( $p = 0,437$ ), наявності мутацій гена *TP53* ( $p = 0,935$ ) та гена *SF3B1* ( $p = 0,445$ ). Хоча в середньому не виявлено достовірних розбіжностей у рівні експресії транскрипту *SORL1-Δ2* у хворих до та старше 65 років ( $9,05 \pm 4,69$ ) ум. од. і ( $27,22 \pm 18,07$ ) ум. од., відповідно;  $p = 0,187$ ), серед осіб віком понад 65 років пацієнти з високим рівнем експресії зустрічались частіше (шість із 21; 28,6 %), ніж серед більш молодших хворих (три із 40; 7,5 %),  $p = 0,037$ . Кількість випадків з відносно високим рівнем експресії *SORL1-Δ2* значно збільшувалась у хворих на стадії С за Binet ( $p = 0,001$ ) (рис. 1).

Експресія основного транскрипту гена *SORL1* була представлена як безперервна змінна і ми не змогли виділити групи хворих з високим та низьким рівнем експресії. Це унеможливило аналіз загального виживання за статистикою Каплана-Мейєра. Тому ми дослідили середній рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* серед хворих з короткими показниками тривалості життя (до двох років) і більш тривалим загальним виживанням (табл. 3). Як видно з представлених даних, у хворих з UM *IGHV* генами більш високий рівень основного транскрипту гена *SORL1* спостерігався серед пацієнтів з несприятливим перебігом захворювання.

Аналогічні дані були отримані стосовно експресії *SORL1-Δ2*. Так, за немутованого статусу *IGHV* генів

level in the peripheral blood mononuclear cells from CLL patients ranged from 0.01 to 90.51 (mean  $14.1 \pm 6.04$ , median 3.48). The median *SORL1-Δ2* value (3.48) was used as the cut-off value to designate increased (mean  $30.05 \pm 11.55$ ; subgroup A) vs low expression (mean  $1.34 \pm 0.46$ ; subgroup B) cases selected in two respective subgroups. Differences between subgroups were significant ( $p < 0.001$ ).

*SORL1-Δ2* expression correlated with the expression of the main *SORL1* transcript ( $r = 0.776$ ;  $p = 0.001$ ).

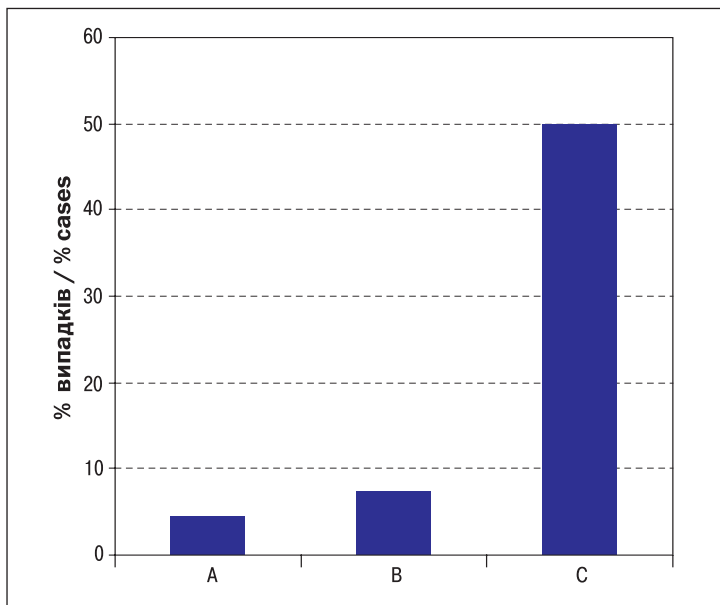
There was no significant difference between CLL cases with UM *IGHV* in expression level of *SORL1-Δ2* transcript from mutated cases, specifically ( $17.91 \pm 8.15$ ) units and ( $4.19 \pm 2.3$ ) units, respectively,  $p = 0.323$ . Subgroup A included one of 13 (7.7 %) studied CLL cases with M *IGHV* genes and eight of 48 (16.7 %) UM *IGHV* cases ( $p = 0.669$ ).

Significant differences in *SORL1-Δ2* expression in patients of the main ( $20.75 \pm 17.61$ ) and the control group ( $11.54 \pm 5.46$ ) were not detected ( $p = 0.512$ ).

The expression level of alternative *SORL1-Δ2* transcript did not depend on gender of study subjects ( $p = 0.437$ ), *TP53* mutations ( $p = 0.935$ ), or *SF3B1* mutations ( $p = 0.445$ ). Despite the fact that no differences were revealed in levels of *SORL1-Δ2* expression in patients over 65 years ( $27.22 \pm 18.07$ ) and younger patients ( $9.05 \pm 4.69$ ),  $p = 0.187$ , cases of subgroup A were however more frequently found among patients over 65 years (6 from 21, 28.6 %) compare to younger patients (3 from 40, 7.5 %),  $p = 0.037$ . The number of cases with relatively high *SORL1-Δ2* expression level increased in patients on Binet C stage ( $p = 0.001$ ) (Fig. 1).

Expression of the main *SORL1* transcript was presented as continuous variable and we could not identify groups of patients with low and high expression. This made it impossible to analyze OS by Kaplan-Mayer method. Therefore, we analyzed mean expression level of the main *SORL1* transcript in patients with short (two years or less) and more longer OS (Table 3). As can be seen from the presented data, in patients with UM *IGHV* genes a higher level of the main *SORL1* transcript was observed among patients with an unfavorable course of the disease.

Similar data were obtained for the *SORL1-Δ2* expression and OS of patients. Thus, with the



**Рисунок 1.** Кількість випадків з відносно високим рівнем експресії альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* у хворих на різних стадіях ХЛЛ за Binet

**Figure 1.** The number of cases with increased *SORL1-Δ2* expression in CLL patients on different Binet stages

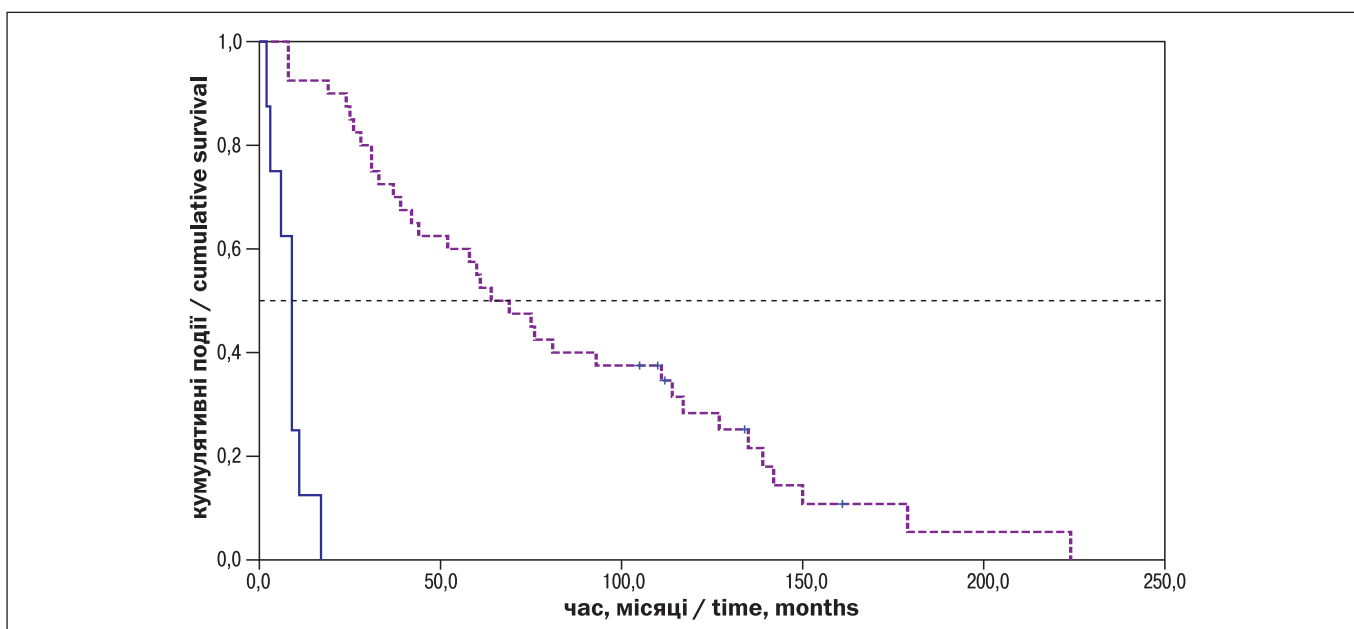
**Таблиця 3**

Відносний рівень експресії основного транскрипту гена *SORL1* у хворих залежно від тривалості загального виживання

**Table 3**

Relative expression level of the main *SORL1* gene transcript in patients with different overall survival

Тривалість загального виживання Overall survival	RQ експресії основного транскрипту гена <i>SORL1</i> , ум. од. RQ expression level of the main <i>SORL1</i> gene transcript		
	в цілому / all patients	M <i>IGHV</i> гени / cases	UM <i>IGHV</i> гени / cases
До 24 міс. / Two years or less	2,20 ± 0,67	0,96 ± 0,68	2,57 ± 0,82
Більше 24 міс. / More than two years	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,10 ± 0,03
Вірогідність / p value	0,045	0,607	0,035



**Рисунок 2.** Показники загального виживання хворих на ХЛЛ з нематованими *IGHV* генами і різним рівнем експресії транскрипту *SORL1-Δ2*: вище (суцільна лінія) та нижче за 3,84 ум. од. (пунктирна)

**Figure 2.** Overall survival of CLL patients with UM *IGHV* genes and different expression level of *SORL1-Δ2*: lower (dotted) and above 3.84 (solid line)

показники загального виживання різко відрізнялись у хворих з відносно високим рівнем експресії транскрипту *SORL1-Δ2*: медіана становила 9 міс. для хворих підгрупи А та 61 міс. для хворих підгрупи В;  $p = 0,0001$  (рис. 2). У хворих з мутованим статусом *IGHV* генів тільки в одному випадку спостерігався високий рівень експресії транскрипту *SORL1-Δ2*, тому аналіз загального виживання залежно від цього показника не проводили.

## ОБГОВОРЕННЯ

Таким чином, отримані нами результати підтвердили низький рівень експресії гена *SORL1* у хворих на ХЛЛ, в тому числі й тих, хто постраждав внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС. Вперше виявлено експресію альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* у хворих на ХЛЛ. Встановлено несприятливе прогностичне значення підвищеної експресії гена *SORL1* у хворих на ХЛЛ. Слід зазначити, що аналогічні дані отримали й дослідники стосовно пацієнтів з іншими формами лімфопроліферативних захворювань. Зокрема, підвищений рівень розчинного фрагменту *SORL1* у сироватці крові був виявлений у хворих на гострі лейкемії мієлоїдного та лімфоїдного походження за відсутності ремісії [2]. Zhang et al. [17] виявили високий рівень експресії гена *SORL1* у  $CD34^{+}CD38^{-}$  гемопоетичних клітинах, причому експресія була відсутня у більш зрілих клітинах, починаючи з  $CD34^{+}CD38^{+}$  клітин-попередниць. Тільки чотири білки були характерні саме для  $CD34^{+}CD38^{-}$  клітин: *SORL1*; серинфосфатаза, що специфічно інактивує мітоген-асоційовані кінрази; та два білки невідомої функції, які також присутні у нейронах головного мозку плодів. Автори вважають, що ці білки важливі для підтримання пулу стовбурових клітин різного походження. У хворих на дифузну лімфому з великих В-лімфоцитів з концентрацією розчинного *SORL1* у сироватці крові 18,1 нг/мл та вище показники дворічного загального і безрецидивного виживання були достовірно гірші, ніж у пацієнтів з більш низькою концентрацією *SORL1*: 56,4 % проти 89 % ( $p < 0,0001$ ) та 56,9 % проти 85,8 % ( $p < 0,0001$ ), відповідно [18–20]. Однак, більш вагоме прогностичне значення мала підвищена експресія альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2*, яка спостерігалась переважно у хворих з вкрай короткою загальною тривалістю життя. Ці дані отримані нами вперше. Для з'ясування вірогідних причин негативного прогностичного значення експресії альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* потрібні додаткові дослідження.

unmutated status of *IGHV* genes thr overall survival rates differed sharply in patients with relatively high levels of *SORL1-Δ2* transcript expression: the median was 9 months for patients of subgroup A and 61 months for patients of subgroup B;  $p = 0.0001$  (Fig. 2). In patients with M *IGHV* genes there was only one case with increased *SORL1-Δ2* transcript expression, so analysis of OS was not possible.

## DISCUSSION

Thus, our results confirmed the low level of *SORL1* gene expression in CLL patients, including those affected by the Chernobyl NPP accident. The expression of an alternative *SORL1-Δ2* transcript in CLL was detected for the first time. An unfavorable prognostic value of increased of *SORL1* gene expression in CLL patients has been established. Similar data were obtained by other authors concerning patients with other lymphoproliferative diseases. In particular, elevated levels of soluble *SORL1* were found in serum of acute lymphoid and myeloid leukemias in the absence of remission [2]. Zhang et al. [17] found a high level of *SORL1* expression in  $CD34^{+}CD38^{-}$  hematopoietic cells and the absence of expression in more mature cells, starting from  $CD34^{+}CD38^{+}$  cells. Only four proteins were specific to  $CD34^{+}CD38^{-}$  cells: *SORL1*; serine phosphatase that inactivates mitogen-associated kinases, and two proteins of unknown function that are also present in fetal brain neurons. The authors suggested that these four proteins are important for maintenance of stem cell pools of various origin. Two-years overall and relapse-free survivals of diffuse large B-cell lymphoma patients with serum concentration of soluble *SORL1* 18.1 ng/ml and above were significantly worse than in patients with lower concentration of *SORL1*: 56.4 % vs 89 % ( $p < 0.0001$ ) and 56.9 % vs 85.8 % ( $p < 0.0001$ ), respectively [18–20]. But, in our work increased *SORL1-Δ2* expression had a more significant prognostic value than *SORL1* expression. It was observed mainly in CLL patients with very short OS. This data were obtained for the first time. Additional studies are needed to determine the possible causes of such negative prognostic value of *SORL1-Δ2* expression.



**ВИСНОВКИ**

1. Експресія гена *SORL1* в лейкомічних клітинах хворих на ХЛЛ низька і не залежить від більшості молекулярно-генетичних (мутаційний статус *IGHV* генів, мутації генів *TP53* і *SF3B1*) та клініко-гематологічних ознак (стать, вік хворих, стадія захворювання).
2. Для хворих на ХЛЛ характерна експресія альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2*, за рівнем якої хворі чітко розподіляються на дві підгрупи: з відносно високим ( $30,05 \pm 11,55$  ум. од.) та з низьким рівнем експресії ( $1,34 \pm 0,46$  ум. од.).
3. Відносно високий рівень експресії альтернативного транскрипту *SORL1-Δ2* у хворих з немутованим статусом *IGHV* генів асоційований з вкрай негативним перебігом ХЛЛ (медіана загального виживання 9 міс. проти 61 міс. за низького рівня експресії).
4. За експресією основного і альтернативних транскриптів гена *SORL1* хворі на ХЛЛ, які постраждали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, не відрізняються від пацієнтів групи порівняння.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Molecular characterization of a novel human hybrid-type receptor that binds the alpha2-macroglobulin receptor-associated protein / L. Jacobsen, P. Madsen, S. K. Moestrup et al. *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271, № 49. P. 31379–31383. doi: 10.1074/jbc.271.49.31379.
2. Circulating soluble LR11/SorLA levels are highly increased and ameliorated by chemotherapy in acute leukemias / S. Sakai, C. Nakaseko, M. Takeuchi et al. *Clin. Chim. Acta.* 2012. Vol. 413, № 19–20. P. 1542–1548. doi: 10.1016/j.cca.2012.06.025.
3. Cell-of-origin subtyping of diffuse large B-cell lymphoma by using a qPCR-based gene expression assay on formalin-fixed paraffin-embedded tissues / W. H. Yan, X. N. Jiang, W. G. Wang et al. *Front. Oncol.* 2020. Vol. 10. e803. doi: 10.3389/fonc.2020.00803.
4. Circulating LR11 is a novel soluble-receptor marker for early-stage clinical conditions in patients with non-Hodgkin's lymphoma / K. Fujimura, H. Ebinuma, I. Fukamachi et al. *Clin. Chim. Acta.* 2014. Vol. 430, № 20. P. 48–54. doi: 10.1016/j.cca.2013.12.039.
5. Integrative analysis of DNA copy number, DNA methylation and gene expression in multiple myeloma reveals alterations related to relapse / P. Krzeminski, L. A. Corchete, J. L. Garcia et al. *Oncotarget.* 2016. Vol. 7, № 49. P. 80664–80679. doi: 10.18632/oncotarget.13025.
6. Low density lipoproteins amplify cytokine-signaling in chronic lymphocytic leukemia cells / L. McCaw, Y. Shi, G. Wang et al. *EBioMedicine.* 2017. № 15. P. 24–35. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.11.033.
7. An intronic ncRNA-dependent regulation of *SORL1* expression affecting Abeta formation is upregulated in post-mortem Alzheimer's disease brain samples / E. Ciarlo, S. Massone, I. Penna, M. Nizzari et al. *Dis. Model Mech.* 2013. Vol. 6, № 2. P. 424–433. doi: 10.1242/dmm.009761.

**CONCLUSION**

1. Relative expression level of the main *SORL1* gene transcript in CLL cells was low and did not depend on most of clinical (gender, age, stage at diagnosis) and molecular-genetic characteristics (mutational status of *IGHV* genes, *TP53* and *SF3B1* mutations).
2. Expression of alternative *SORL1-Δ2* transcript was found in CLL cells. Two subgroups of CLL patients with low ( $1.34 \pm 0.46$ ) and increased ( $30.05 \pm 11.55$ ) *SORL1-Δ2* expression were identified.
3. Increased *SORL1-Δ2* expression in patients with UM *IGHV* genes was associated with an extremely negative course of CLL (median of overall survival 9 months vs 61 months at low expression).
4. Relative expression levels of the main and alternative transcripts of *SORL1* gene in CLL patients survived after the Chernobyl NPP accident and in the control group did not differ.

**REFERENCES**

1. Jacobsen L, Madsen P, Moestrup SK, Lund AH, Tommerup N, Nykjaer A, et al. Molecular characterization of a novel human hybrid-type receptor that binds the alpha2-macroglobulin receptor-associated protein. *J Biol Chem.* 1996;271(49):31379-31383. doi: 10.1074/jbc.271.49.31379.
2. Sakai S, Nakaseko C, Takeuchi M, Ohwada C, Shimizu N, Tsukamoto S, et al. Circulating soluble LR11/SorLA levels are highly increased and ameliorated by chemotherapy in acute leukemias. *Clin Chim Acta.* 2012;413(19-20):1542-1548. doi: 10.1016/j.cca.2012.06.025.
3. Yan WH, Jiang XN, Wang WG, Sun YF, Wo YX, Luo ZZ, et al. Cell-of-origin subtyping of diffuse large B-cell lymphoma by using a qPCR-based gene expression assay on formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Front Oncol.* 2020;10:e803. doi: 10.3389/fonc.2020.00803.
4. Fujimura K, Ebinuma H, Fukamachi I, Ohwada C, Kawaguchi T, Shimizu N, et al. Circulating LR11 is a novel soluble-receptor marker for early-stage clinical conditions in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Chim Acta.* 2014;430(20):48-54. doi: 10.1016/j.cca.2013.12.039.
5. Krzeminski P, Corchete LA, Garcia JL, Lopez-Corral L, Ferminan E, Garcia EM, et al. Integrative analysis of DNA copy number, DNA methylation and gene expression in multiple myeloma reveals alterations related to relapse. *Oncotarget.* 2016;7(49):80664-80679. doi: 10.18632/oncotarget.13025.
6. McCaw L, Shi Y, Wang G, Li YJ, Spaner DE. Low density lipoproteins amplify cytokine-signaling in chronic lymphocytic leukemia cells. *EBioMedicine.* 2017;15:24-35. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.11.033.
7. Ciarlo E, Massone S, Penna I, Nizzari M, Giloni A, Dieci G, et al. An intronic ncRNA-dependent regulation of *SORL1* expression affecting Abeta formation is upregulated in post-mortem Alzheimer's dis-

8. An alternative transcript of the Alzheimer's disease risk gene *SORL1* encodes a truncated receptor / J. Blechinger, A. S. A. Poulsen, M. Kjolby et al. *Neurobiol. Aging*. 2018. Vol. 71, № 266. e11–266.e24. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.021.
9. Expression of SORL1 and a novel SORL1 splice variant in normal and Alzheimers disease brain / K. E. Grear, I. F. Ling, J. F. Simpson et al. *Mol. Neurodegener.* 2009. Vol. 4. e46. doi: 10.1186/1750-1326-4-46.
10. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia / K. R. Rai, A. Sawitsky, E. P. Cronkite et al. *Blood*. 1975. Vol. 46, № 2. P. 219–234.
11. Rai K. R. A critical analysis of staging in CLL. Chronic lymphocytic leukemia. Recent progress and future direction. NewYork, 1987. 253 p.
12. Binet J. L., Aiguier A., Dighiero G. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariant survival analysis. *Cancer*. 1981. Vol. 48, № 1. P. 198–205.
13. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. *Ann. Intern. Med.* 1989. Vol. 110. P. 236–238.
14. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 1987. Vol. 162. P. 156–159.
15. Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident--with focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis / I. Abramenko, N. Bilous, A. Chumak et al. *Leuk. Res.* 2008. Vol. 32, № 4. P. 535–545. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.013.
16. The spectrum of TP53, SF3B1, and NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chornobyl NPP accident / N.I. Bilous, I.V. Abramenko, A.A. Chumak et al. *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2018. Vol. 23. P. 283–301. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-283-301.
17. Zhang X., Dormady S. P., Basch R. S. Identification of four human cDNAs that are differentially expressed by early hematopoietic progenitors. *Exp. Hematology*. 2000. Vol. 28, № 11. P. 1286–1296. doi: 10.1016/s0301-472x(00)00539-7.
18. Prognostic impact of serum soluble LR11 in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma: A multicenter prospective analysis / Y. Sugita, C. Ohwada, T. Kawaguchi et al. *Clin. Chim. Acta*. 2016. Vol. 463, № 1. P. 47–52. doi: 10.1016/j.cca.2016.10.008.
19. Serum soluble LR11, a novel tumor derived biomarker associated with the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma / C. Ohwada, A. Yamazaki, T. Kawaguchi et al. *Leuk. Lymphoma*. 2015. Vol. 56, № 10. P. 2982–2985. doi: 10.3109/10428194.2015.1016930.
20. Potential utility of serum soluble LR11 as a diagnostic biomarker for intravascular large B-cell lymphoma / T. Kawaguchi, C. Ohwada, M. Takeuchi et al. *Leuk. Lymphoma*. 2014. Vol. 55, № 10. P. 2391–2394. doi: 10.3109/10428194.2014.880430.
- ease brain samples. *Dis Model Mech.* 2013;6(2):424-433. doi: 10.1242/dmm.009761.
8. Blechinger J, Poulsen ASA, Kjolby M, Monti G, Allen M, Ivarsen AK, et al. An alternative transcript of the Alzheimer's disease risk gene *SORL1* encodes a truncated receptor. *Neurobiol Aging*. 2018; 71(266):e11-266.e24. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.021.
9. Grear KE, Ling IF, Simpson JF, Furman JL, Simmons CR, Peterson SL, et al. Expression of SORL1 and a novel SORL1 splice variant in normal and Alzheimers disease brain. *Mol Neurodegener.* 2009;4:e46. doi: 10.1186/1750-1326-4-46.
10. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-234.
11. Rai KR. A critical analysis of staging in CLL. Chronic lymphocytic leukemia. Recent progress and future direction. NewYork; 1987. 253 p.
12. Binet JL, Aiguier A, Dighiero G. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariant survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-205.
13. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. *Ann Intern Med*. 1989;110:236-238.
14. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162:156-159.
15. Abramenko I, Bilous N, Chumak A, Davidova E, Kryachok I, Martina Z, et al. Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident with focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis. *Leuk Res*. 2008;32(4):535-45. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.013.
16. Bilous NI, Abramenko IV, Chumak AA, Dyagil IS, Martina ZV, Saenko V, Bazyka DA. The spectrum of TP53, SF3B1, and notch1 mutations in chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chornobyl NPP accident. *Probl Radiac Med Radiobiol*. 2018;23:283-301. doi: 10.33145/2304-8336-2018-23-283-301.
17. Zhang X, Dormady SP, Basch RS. Identification of four human cDNAs that are differentially expressed by early hematopoietic progenitors. *Exp Hematology*. 2000;28(11):1286-1296. doi: 10.1016/s0301-472x(00)00539-7.
18. Sugita Y, Ohwada C, Kawaguchi T, Muto T, Tsukamoto S, Takeda Y, et al. Prognostic impact of serum soluble LR11 in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma: A multicenter prospective analysis. *Clin Chim Acta*. 2016;463(1):47-52. doi: 10.1016/j.cca.2016.10.008.
19. Ohwada C, Yamazaki A, Kawaguchi T, Sugita Y, Takeuchi M, Shimizu N, et al. Serum soluble LR11, a novel tumor derived biomarker associated with the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(10):2982-2985. doi: 10.3109/10428194.2015.1016930.
20. Kawaguchi T, Ohwada C, Takeuchi M, Shimizu N, Sakaida E, Takeda Y, et al. Potential utility of serum soluble LR11 as a diagnostic biomarker for intravascular large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(10):2391-2394. doi: 10.3109/10428194.2014.880430.

**ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ**

**Абраменко Ірина Вікторівна**, доктор медичних наук, головний науковий співробітник, лабораторія молекулярної біології, ІКР ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0001-1261-1680

**Білоус Надія Іванівна**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, лабораторія молекулярної біології, ІКР ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0001-9336-4767

**Чумак Анатолій Андрійович**, доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, директор ІКР ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0002-2117-6174

**Дягіль Ірина Сергіївна**, доктор медичних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділення радіаційної онкогематології та трансплантації стовбурових клітин ННЦРМ, м. Київ, ORCID: 0000-0001-6643-4141

**Мартіна Зоя Володимирівна**, кандидат медичних наук, завідувач відділення радіаційної гематології, ННЦРМ, м. Київ

**INFORMATION ABOUT AUTHORS**

**Iryna V. Abramenko**, Doctor of Medical Sciences, Professor, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-1261-1680

**Nadiia I. Bilous**, Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Researcher, Laboratory of Molecular Biology, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-9336-4767

**Anatoliy A. Chumak**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of NAMS of Ukraine, Director of IKR NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0002-2117-6174

**Iryna S. Dyagil**, Doctor of Medical Sciences, Senior Scientific Researcher, Head of Radiation Hematology and Stem Cell Transplantation Department, NRCRM, Kyiv, Ukraine, ORCID: 0000-0001-6643-4141

**Zoya V. Martina**, Candidate of Medical Sciences, Head of Radiation Hematology Department, NRCRM, Kyiv, Ukraine

*Стаття надійшла до редакції 26.07.2021*

*Received: 26.07.2021*