

© Коллектив авторов, 2024

УДК 616-006.4

Кузьмина Е.Г.¹, Черкашенко В.Н.², Павлов В.В.¹, Мушкарина Т.Ю.¹, Антонов К.Н.³,
Устинова Е.Е.², Богданенко Е.В.², Сабурин И.Н.²

Анализ структурных особенностей многомерных данных периферической крови при хроническом лимфоцитарном лейкозе и неходжкинской В-лимфоме в сравнении с нормой

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, 249031, Обнинск, Россия, ул. Королева, д. 4;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» 119991, Москва, Россия, Ленинские горы, д. 1, стр. 52

Актуальность. Разработка современных методов диагностики разных форм лимфопролиферативных заболеваний по-прежнему актуальна. Оценка многомерных взаимосвязей в системе «иммунитет-опухолевый рост» создает возможность дифференцировать эти заболевания по данным крови, не используя для диагностики материал других органов и тканей.

Цель исследования – внедрение методов многомерного анализа состава субпопуляций лимфоцитов и опухолевых клеток в периферической крови для выявления иммуноструктурных особенностей неходжкинских В-клеточных лимфом, НХЛ и хронического лимфолейкоза, ХЛЛ, в сравнении с нормой.

Методика. Анализ данных осуществлялся при помощи искусственной нейронной сети-самоорганизующихся карт Кохонена (SOM (self organized map)). Эта ИНС позволяет выявлять структуру в многомерных данных, осуществляя проецирование многомерных образов в пространство пониженной размерности (2-х или 3-х мерное).

Результаты. Для поиска различий многомерных образов болезни ХЛЛ и НХЛ от нормы нами использованы искусственные нейронные сети (ИНС). Состояние иммунитета и опухолевых клеток сопоставлено по данным периферической крови пациентов с В-клеточной НХЛ (352 пациента) и ХЛЛ (315 пациентов) с данными здоровых людей (184 человека). Были выявлены структуры, отражающие различия состояний «здоровые люди – пациенты НХЛ» и «здоровые люди – больные ХЛЛ». Характер распределений и значения показателей иммунитета и опухолевого роста в многомерном пространстве различают состояния ХЛЛ – норма и НХЛ – норма.

Заключение. Отличия образов НХЛ и ХЛЛ, полученные методами многомерного анализа, создают основу для создания алгоритма диагностики патологий НХЛ и ХЛЛ.

Ключевые слова: периферическая кровь; многомерный анализ; иммунитет; опухолевые В-клетки; НХЛ; ХЛЛ

Для цитирования: Кузьмина Е.Г., Черкашенко В.Н., Павлов В.В., Мушкарина Т.Ю., Антонов К.Н., Устинова Е.Е., Богданенко Е.В., Сабурин И.Н. Анализ структурных особенностей многомерных данных периферической крови при хроническом лимфоцитарном лейкозе и неходжкинской В-лимфоме в сравнении с нормой. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2024; 68(1): 55-68.

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.55-68

Участие авторов: концепция, анализ данных проточной цитофлуорометрии, создание базы клинических и иммунологических данных, статистическая обработка, клинико-иммунологическая интерпретация данных многомерного математического анализа, подготовка рукописи, редактирование текста статьи, общее руководство исследованием – Кузьмина Е.Г.; концепция, применение методов многомерного анализа, подготовка рукописи и иллюстративного материала, редактирование текста статьи – Черкашенко В.Н.; клиническая диагностика заболеваний – Павлов В.В.; иммунофенотипирование – Мушкарина Т.Ю.; применение методов многомерного анализа, подготовка иллюстративного материала – Антонов К.Н.; применение методов многомерного анализа, подготовка иллюстративного материала – Устинова Е.Е.; работа с литературой – Богданенко Е.В.; концепция, подготовка и редактирование рукописи, общее руководство исследованием – Сабурин И.Н.; окончательное одобрение рукописи – все авторы.

Для корреспонденции: Кузьмина Евгения Геннадьевна, e-mail: kuzmina_e_g@mail.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.01.2024

Принята к печати 25.01.2024

Опубликована 28.03.2024

Kuzmina E.G.¹, Cherkashenco V.N.², Pavlov V.V.¹, Mushkarina T.U.¹,
Antonov K.N.³, Ustinova E.E.², Bogdanenko E.V.², Saburina I.N.²

Analysis of structural features of multidimensional data for peripheral blood in chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin B-lymphoma compared with the norm

¹Tsyb Medical Radiological Research Center, Branch of the National Medical Research Radiological Center the Ministry of Health of the Russian Federation,

4 Koroleva Str., Obninsk, 249031, Russian Federation;

²Institute of General Pathology and Pathophysiology,
8 Baltiyskaya St., Moscow, 125315, Russian Federation;

³Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University,
1 bld. 52 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

Background. Development of modern methods for diagnosis of various forms of lymphoproliferative diseases is still relevant. Evaluation of multidimensional relationships in the immunity-tumor growth system creates an opportunity to differentiate these diseases based on blood tests, without using materials from other organs and tissues for diagnosis.

Aim. To introduce methods of the multidimensional analysis of the composition of lymphocyte and tumor cell subpopulations in peripheral blood to identify the immuno-structural features of non-Hodgkin B-cell lymphomas (NHL), and chronic lymphocytic leukemia (CLL) by comparison with the norm.

Methods. Data analysis was carried out using an artificial neural network – self-organizing Kohonen maps (SOM (self organized map)). This ANN allows one to reveal the structure in multidimensional data by projecting multidimensional images into a reduced-dimensional space (2- or 3-dimensional).

Results. To detect the differences in multidimensional images of CLL and NHL from the norm, artificial neural networks were used. The state of immunity and tumor cells was compared in patients with B-cell NHL (352 patients) and CLL (315 patients) and in healthy people (184 people) based on data for the peripheral blood. The structures reflecting the differences between «healthy people – NHL patients» and «healthy people – CLL patients» were identified. The nature of distributions and the values of immunity and tumor growth indicators in a multidimensional space distinguish between CLL – normal state and NHL – normal state.

Conclusion. The differences between NHL and CLL images detected by the multivariate analysis provide a basis for creating an algorithm for automated diagnosis of NHL and CLL.

Keywords: peripheral blood; multivariate analysis; immunity; tumor B-cells; CLL; NHL

For citation: Kuzmina E.G., Cherkashenco V.N., Pavlov V.V., Mushkarina T.U., Antonov K.N., Ustinova E.E., Bogdanenko E.V., Saburina I.N. Analysis of structural features multidimensional data of peripheral blood in chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin's B-lymphoma compared with the norm. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2024; 68(1): 55-68. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.55-68

Author's contribution: concept, analysis of flow cytometry data, creation of a clinical and immunological data base, statistical processing, clinical and immunological interpretation of multivariate mathematical analysis data, preparation of the manuscript, editing the text of the article, general supervision of the study – Kuzmina E.G.; concept, application of multivariate analysis methods, preparation of the manuscript and illustrative material, editing the text – Cherkashenko V.N.; clinical diagnosis of diseases – Pavlov V.V.; immunophenotyping – Mushkarina T.Yu.; application of multidimensional analysis methods, preparation of illustrative material – Antonov K.N.; application of multidimensional analysis methods, preparation of illustrative material – Ustinova E.E.; work with literature – Bogdanenko E.V.; concept, preparation and editing of the manuscript, general supervision of the study – Saburina I.N.

For correspondence: Kuzmina Yevgeniya Genad'evna, e-mail: kuzmina_e_g@mail.ru

Information about the authors:

Kuzmina E.G., <https://orcid.org/0000-0002-0728-593X>

Cherkashenko V.N., <https://orcid.org/0009-0009-0071-471X>

Mushkarina T.U., <https://orcid.org/0000-0002-1266-1792>

Antonov K.N., <https://orcid.org/0009-0009-0091-3591>

Ustinova E.E., <https://orcid.org/0009-0008-8976-0212>

Saburina I.N., <https://orcid.org/0000-0003-2014-2535>

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

Funding. The study had no sponsorship

Received 14.01.2024

Accepted 25.01.2024

Published 28.03.2024

Введение

В наши дни методами молекулярной диагностики устанавливается гистогенез, стадия дифференцировки и иммунофенотип опухолевых клеток, свойственный злокачественной зрелоклеточной лимфопротиферации — хроническому лимфоцитарному лейкозу, ХЛЛ, и неходжкинским В-клеточным лимфомам, НХЛ. Выявлены сотни маркеров, отражающих особенности этих заболеваний [1], их число продолжает возрастать. В силу этого параметры болезни многочисленны, что затрудняет выстраивание индивидуально-го диагноза и прогноза.

В охране генетического гомеостаза организма, иммунная система использует механизмы, в которых участвует многокомпонентный состав ее клеток и их продукты. Описаны дисфункции иммунитета, генетические особенности и иммунофенотипы опухолевых В-клеток при зрелоклеточной лимфопротиферации [1-7]. Степень нарушения иммунокомпетентности в сочетании с присутствием в крови опухолевых клеток представляют собой комплексный образ (многомерный паттерн), отражающий динамическое взаимодействие в системе «иммунитет — опухоль». Этот многомерный образ, как правило, отражает определенные изменения состава и численности клеток периферической крови. Логично предположить, что разные патологии крови формируют уникальные паттерны признаков зрелоклеточной лимфопротиферации (НХЛ и ХЛЛ).

Полагаем, что на современном этапе развития науки, для диагностики злокачественной лимфопротиферации необходима не только характеристика ее морфогенетических и других молекулярных признаков, но и сопоставление их размерности с качеством противоопухолевого иммунитета.

Нами разработан алгоритм и выполнена серия системных исследований по сопоставлению состояния иммунитета и признаков опухолевого роста по данным периферической крови при НХЛ и ХЛЛ. На первом этапе предусмотрен многомерный сравнительный анализ данных пациентов (ХЛЛ и НХЛ) с контрольной группой практически здоровых людей. Необходимо отметить, что при анализе имеющихся публикаций нами не найдено исследований, анализирующих многомерный образ НХЛ и ХЛЛ, полученный на основе данных иммунного статуса и опухолевого роста по данным периферической крови.

Цель исследования — методами многомерного анализа структурировать данные состояния иммунной системы и опухолевых В-клеток в периферической крови пациентов с НХЛ и ХЛЛ; выявить отличия патоло-

гических структур от нормы и оценить перспективы их использования для построения алгоритма автоматизированной диагностики НХЛ и ХЛЛ. Для достижения данной цели были решены следующие задачи:

1. Методами искусственных нейронных сетей (ИНС) самоорганизующимся картами Кохонена (СОКК), визуализирован многомерный массив данных, характеризующий состояние иммунитета и опухолевых В-клеток в периферической крови пациентов с ХЛЛ, НХЛ и здоровых людей.

2. На основе визуализации данных выявлены кластеры и описаны структуры, многомерные образы состояния «иммунитет-опухоль», для двух патологий НХЛ и ХЛЛ по сравнению с группой здоровых людей.

3. В многомерных структурах определены показатели, контрастирующие данные в группах сравнения «ХЛЛ — норма» и «НХЛ — норма», которые можно использовать для построения алгоритма различения нормы от заболеваний.

Методика

Объекты исследования. Проведено клиничко-иммунологическое обследование 352 пациентов с В-клеточными НХЛ и 315 пациентов с ХЛЛ. Другие сведения о больных не приведены, т.к. они не будут использоваться для обсуждения результатов. Группу контроля составили данные 184 практически здоровых людей, преимущественно доноров крови; на момент взятия крови у которых не было отклонений в состоянии здоровья. Средний возраст пациентов составил при НХЛ — 60 лет, ХЛЛ — 62 года, практически здоровых людей 58 лет. Обследование больных и сбор контрольного материала проведены в 1996—2019 гг.

Для дифференциальной диагностики ХЛЛ и НХЛ использованы критерии классификации ВОЗ опухолей лимфоидной и кроветворной системы: объективный анализ ультразвукового, магнитно-резонансного обследования пациентов, иммуногистохимического исследования материала лимфатических узлов, тканей и костного мозга, иммунофенотипирования опухолевых клеток крови и костного мозга [4, 8-11].

Оценка состояния иммунитета и опухолевых клеток. По гемограмме (гематологический анализатор UniCel DxH 800) подсчитывали количество лейкоцитов, относительное и абсолютное число лимфоцитов. Состав ядросодержащих клеток оценивали в цельной крови после предварительного лизиса эритроцитов лизирующим раствором фирмы BD Biosciences. Далее в лимфоцитарном гейте определяли фенотипы субпопуляций иммунокомпетентных клеток и опухолевых В-лимфоцитов методами 2-6-цветной проточной ци-

тометрии на приборе FACSCan или FACSCanto II (BD Biosciences) [4, 8-10].

Для многомерного анализа состояния иммунитета и признаков В-клеточной пролиферации нами для каждого пациента использовано по 13 показателей. Это: количество лейкоцитов, Лц абс, $\times 10^9$ кл/л, процент Лф, общих Т-клеток, $CD3^+CD16^-$; Т-хелперы, $CD3^+CD4^+$; Т-киллеры, $CD3^+CD8^+$; иммунорегуляторный индекс, $CD4/CD8$; процент NK-клеток, $CD16^+CD3^-$; активированных Т-клеток, $CD3^+HLADR^+$; активированных лимфоцитов, $HLADR^+$. Идентификация В-лимфоцитов проведена по маркерам $CD19^+$, $CD20^+$, $CD22^+$, $CD23^+$.

Методы анализа экспериментальных данных. Визуализация многомерных данных, характеризующих состояние иммунитета и В-клеточной пролиферации, проведена, используя самоорганизующиеся карты (СОКК, Self Organizing Maps, SOM), разработанные Т. Кохоненом (рис. 1) [12-17]. Этим методом многомерные данные **проецируются** в пространство пониженной размерности и **визуализируются** в виде двух(трех)мер-

ной карты. На основе карты возможно осуществление кластеризации за счет выделения в ней векторов (показателей анализируемых признаков) пациентов и здоровых людей с близкими (похожими) характеристиками. Сети Кохонена относятся к классу сетей, обучение которых производится «без учителя», то есть результат обучения зависит только от структуры входных данных.

Сеть Кохонена имеет два слоя: входной и выходной, составленный из нейронов упорядоченной структуры (рис. 1, а). Выходной слой называют также слоем топологической карты, или «экраном». Нейроны выходного слоя располагаются в узлах двумерной сетки с прямоугольными или шестиугольными ячейками (рис. 1, б). Количество нейронов в сетке определяет степень детализации результата работы алгоритма, и зависит от объема данных, в которых выявляют структуру.

Самоорганизующиеся карты, в ходе своего обучения, анализируют характер расположения точек входного слоя в m -мерном пространстве и воспроизводят на выходе нейронной сети топологический порядок

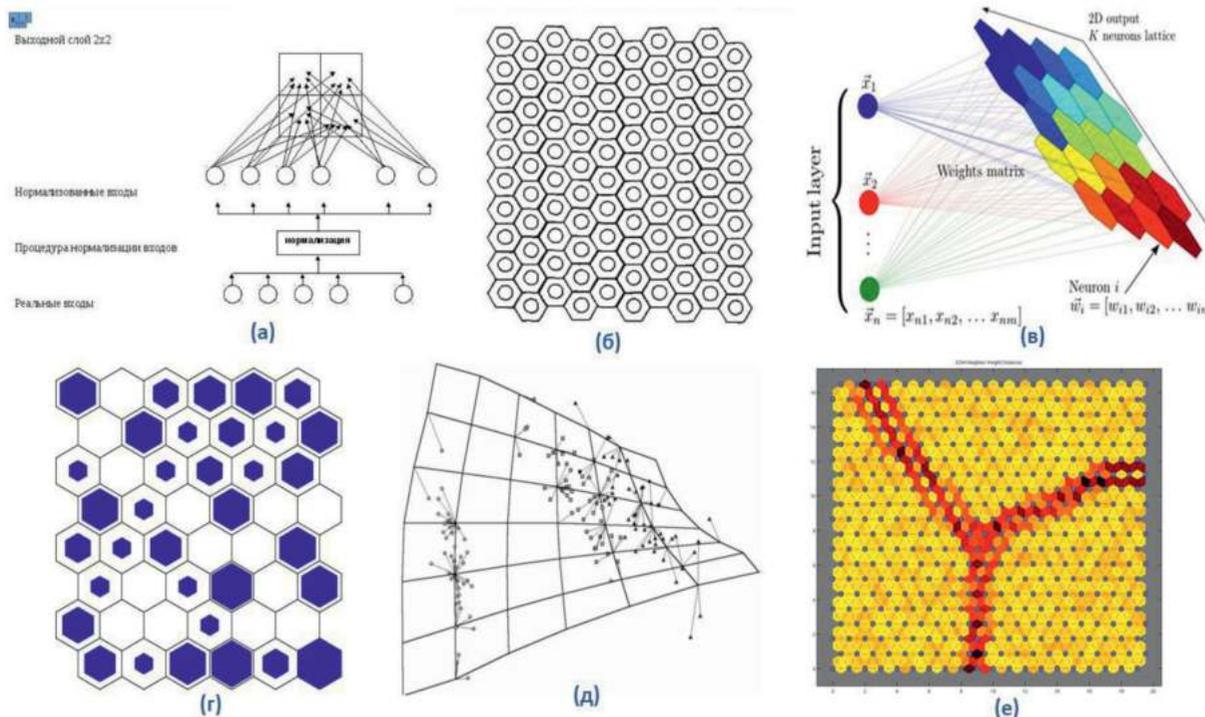


Рис. 1. Иллюстрация алгоритма работы самоорганизующихся сетей СОКК (SOM).

Пояснения алгоритма работы самоорганизующихся сетей Кохонена СОКК (SOM) к рисунку 1 приведены в тексте.

Fig. 1. Illustration of the algorithm of operation of self-organizing SOKK networks (SOM).

Explanations of the algorithm for the operation of self-organizing Kohonen networks SOKK (SOM) to Figure 1 are given in the text.

и определенную степень регулярности исходных данных (т.е. метрическую близость векторов исходных данных). Похожие вектора признаков проецируются в нейроны, расположенные близко на карте. Т.о., объекты, близкие в исходном пространстве остаются близкими и на плоскости карты (**рис. 1, в**). Алгоритм может подсчитывать количество анализируемых признаков, попадающих в каждый нейрон и отображать их количество (например, как на **рис. 1, г**) величиной закрашиваемой площади нейрона. Подгонка СОКК заключается в итеративной настройке вектора весовых коэффициентов каждого нейрона в выходном слое, для чего используется модифицированный алгоритм соревновательного обучения Хебба, действующий по принципу «победитель забирает все», который учитывает не только вклад нейрона-победителя, но и ближайших его соседей, расположенных в его окрестности. При обучении стека нейронов деформируется, увеличивая плотность узлов (нейронов) в местах сгущения данных при обучении (**рис. 1, д**). Места скопления нейронов, в которых концентрируются вектора анализируемых данных, закрашиваются одним цветом – это выявленные кластеры. В зависимости от объема и его «давления», карта деформируется, формируется низменность, (овраг, залив, море). По этой причине плоскость, на которую проецируются анализируемые данные (входные вектора), названа картой.

Процедура анализа многомерных данных состоит из двух шагов:

Сначала сетевым алгоритмом выявляется и визуализируется на плоскости структура многомерных данных (строится так называемая U матрица, раскрашивающая «экран» цветами в соответствии с **расстояниями** между анализируемыми входными векторами-признаками). Синий цвет кодирует малые расстояния (большую схожесть признаков), а красный цвет – границы между выявленными кластерами. Т.о. области, закрашенные алгоритмом обучения в синий цвет, выделяют и визуализируют кластеры (близкие по свойствам объекты), а области, закрашенные в цвета красно-оранжевой гаммы, характеризуют границы между выявленными кластерами.

На следующем этапе алгоритм «раскрашивает «экран» с выявленной кластерной структурой цветами, которые кодируют уже **значения** признаков (красный – высокие значения, а синий цвет – малые значения признаков). Для численных экспериментов с этим типом сетей нами использована программная среда *Матлаб* и библиотеки *SOM Toolbox*, разработанной фирмой *Mathworks* [17].

Результаты

Структура многомерных данных крови в норме и при ХЛЛ

Для выявления структуры в данных пациентов с ХЛЛ применен метод СОКК (**рис. 2**).

На **рисунке 2 (а)** приведена U-матрица (матрица схожести) для двух групп – больных ХЛЛ и здоровых людей. В данных выделена структура, обнаружены два кластера, обозначенные цифрами 1 и 2. Граница между кластерами представлена «хребтом», маркированным пунктирной кривой. Кроме того видно, что данные в кластере 2 очень неоднородны: в правом верхнем углу возвышается «гора». В этой области сконцентрированы записи данных (вектора) пациентов, которые сильно отличаются друг от друга, это область разнородных данных. Она выделена во втором кластере при помощи тонкой черной кривой.

Простое обнаружение структуры в данных, без поиска ее связи с групповой принадлежностью (т.е. с ХЛЛ или с нормой), не несет смысловой нагрузки. Поэтому в правой части **рисунка 2 (б)** приведен результат маркирования нейронов сети СОКК метками принадлежности к одной из двух сравниваемых групп: здоровых людей (метка «DONOR») и пациентов с ХЛЛ (метка «CLL»). Пунктирной кривой показана обнаруженная граница между кластерами, а тонкой кривой в левом нижнем углу показана область высокой неоднородности данных во втором кластере. Видно, что выявленная структура точно совпадает с расставленными метками групповой принадлежности. Необходимо отметить, что алгоритм, при выявлении структуры ничего «не знает» о распределении векторов по группам, эта информация не используется в процессе обучения, то есть обучение сети СОКК идет, как говорят в машинном обучении, «без учителя». После обнаружения структуры в многомерных данных, была дана медико-биологическая интерпретация выявленной кластерной структуры. Для этого на **рисунке 3** представлено распределение всех анализируемых признаков по матрице схожести.

В левом верхнем углу рисунка приведена найденная в данных структура – U-матрица (матрица схожести). Далее располагаются рисунки с распределением по поверхности этой матрицы значений всех анализируемых признаков. В случае с ХЛЛ все признаки делятся на две группы – явно контрастирующие и «шумящие». Причем, к признакам с выраженной контрастной границей между кластерами относится 9 признаков: процент лимфоцитов, CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD20, CD22 и HLA-DR. Три признака из этой группы (CD4, CD8 и CD16) контрастируют кластерную структуру, но они характе-

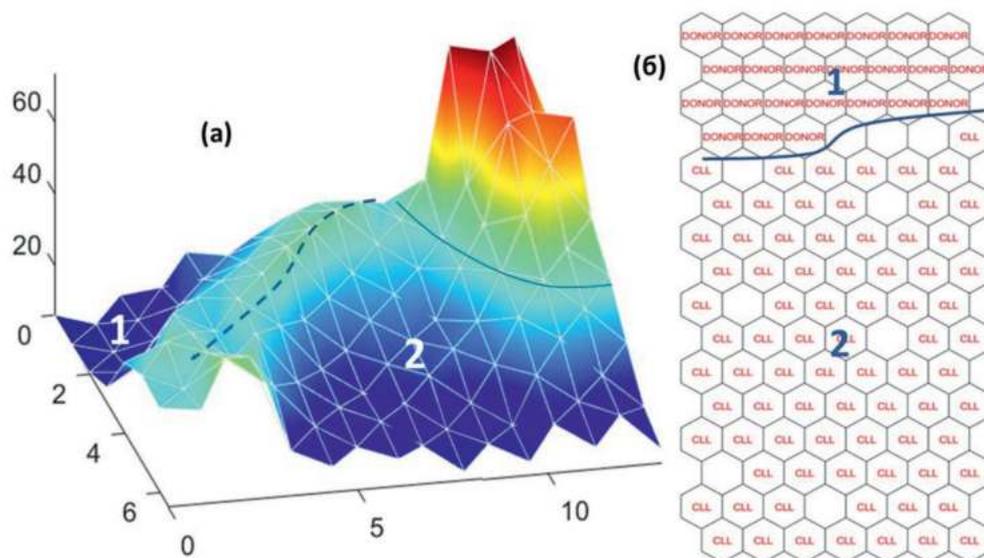


Рис. 2. Результаты выявления структуры в многомерных данных, собранных по показателям для 2 групп испытуемых – пациентов с ХЛЛ и условно здоровых людей (доноров крови).

(a) – U-матрица, иллюстрирующая выявленную в многомерных данных структуру; (б) – размещение на U-матрице цветowych меток, характеризующих принадлежность к 2-м группам (метки – «DONOR» – здоровые люди, «CLL» – пациенты с ХЛЛ).

Fig. 2. Results of identifying structure in multidimensional data collected according to indicators for 2 groups of subjects – patients with CLL and apparently healthy people (blood donors).

(a) – U-matrix illustrating the structure identified in multidimensional data; (б) – placement of color marks on the U-matrix, characterizing membership in 2 groups (marks – “DONOR” – healthy people, “CLL” – patients with CLL).

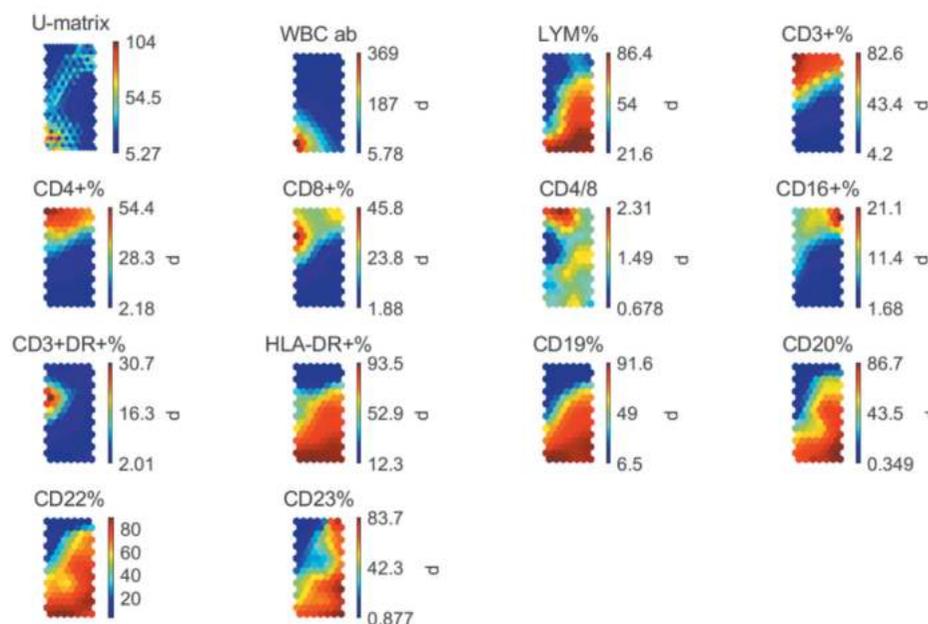


Рис. 3. «Окрашивание», выявленной в многомерных данных пациентов с ХЛЛ и здоровых людей структуры (U-матрицы), значениями признаков, формирующих многомерный образ состояния крови пациентов и здоровых людей.

В левом верхнем углу расположена полученная в результате обучения U-матрица, иллюстрирующая найденную в данных структуру. На остальных полях располагаются закодированные цветом значения анализируемых признаков (синий цвет на этих полях – малые значения соответствующего признака, а красный цвет – большие значения признаков).

Fig. 3. «Coloring» of the structure (U-matrix) identified in the multidimensional data of patients with CLL and healthy people, with the values of features that form a multidimensional image of the blood condition of patients and healthy people.

In the upper left corner is the U-matrix obtained as a result of training, illustrating the structure found in the data. The remaining fields contain color-coded values of the analyzed characteristics (blue color in these fields indicates small values of the corresponding characteristic, and red color indicates large values of the characteristics).

ризуются большой внутригрупповой вариативностью. Шесть признаков (лимфоциты, CD3, CD19, CD 20, CD22 и HLA-DR) имеют очень контрастную границу между группами и обладают для группы здоровых людей и пациентов с ХЛЛ низкой внутригрупповой вариативностью. Чтобы наглядно показать причины этих различий, для сравниваемых групп были построены гистограммы распределений этих признаков (рис. 4).

Вид и взаимное расположение распределений признаков групп здоровых (синий цвет) и пациентов с ХЛЛ (красный цвет) показывают, что, даже при схожих интервалах варьирования (частично перекрывающихся), эти признаки сильно различаются по средним значениям. Так, при значительно перекрывающихся значениях признака «лимфоциты» (рис. 6, г), его средние значения различаются достаточно сильно (около 30% в норме и 75% для пациентов с ХЛЛ). Аналогичная картина наблюдается и для признака CD16: значения сред-

них показателей различны, не смотря на достаточно сильное перекрытие диапазонов. Для остальных признаков картина существенно контрастнее; например, для HLA-DR и CD19.

Оставшаяся группа из 4-х признаков: абсолютное количество лейкоцитов крови, соотношение CD4/CD8, проценты CD3+DR и CD23, бесполезна для разделения состояния здоровья в норме от пациентов с ХЛЛ. Значения этих признаков вариативны и лежат в похожих по значениям диапазонах.

В таблице 1 приведены средние значения для сравниваемых признаков и стандартные ошибки среднего с доверительным уровнем 97,5 % для групп пациентов с ХЛЛ и здоровых людей.

Данные таблицы 1 совместно с рисунком 4 подтверждают вывод о необходимости многомерного анализа данных и сравнения структурных паттернов показателей крови здоровых людей и пациентов с ХЛЛ.

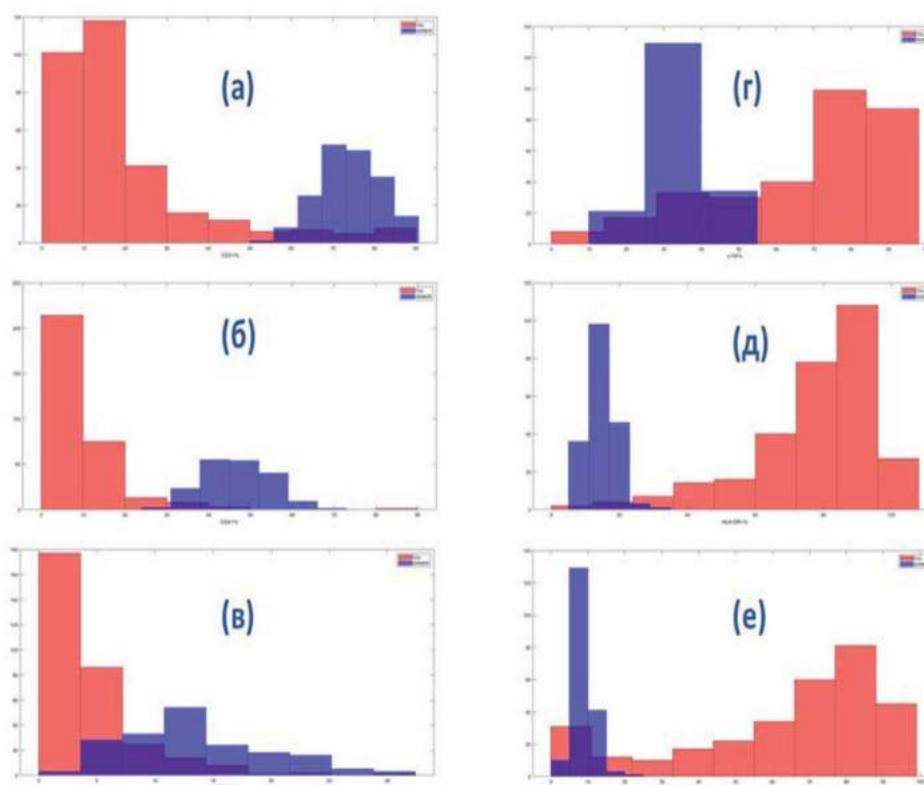


Рис. 4. Гистограммы распределения значений признаков, контрастных и «шумящих» в структуре многомерных данных пациентов с ХЛЛ и здоровых людей. Приведен процент клеток: (а) – CD3, (б) – CD4, (в) – CD16, (г) – лимфоциты, (д) – HLA DR, (е) – CD19.

Красным цветом маркированы гистограммы для больных ХЛЛ, а синим цветом – для здоровых людей.

Fig. 4. Histograms of the distribution of values of features, contrasting and «noisy» in the structure of multidimensional data from patients with CLL and healthy people. The percentage of cells is given: (a) – CD3, (b) – CD4, (c) – CD16, (d) – lymphocytes, (e) – HLA DR, (f) – CD19.

Histograms for patients with NHL are marked in red, and those for healthy people are marked in blue.

Таблица 1/Table 1

Статистические оценки показателей крови для групп ХЛЛ и нормы (доноры)

Statistical estimates of blood parameters for CLL groups and norms (donors)

ХЛЛ										
	Лейкоциты	LYM%	CD3+%	CD4+%	CD8+%	CD4/8	CD16+%	CD3+DR+%	HLA-DR+%	CD19%
Среднее	74,50	67,50	19,20	9,20	9,90	1,40	4,40	8,20	77,00	71,30
Ошибка среднего (97,5%)	5,20	1,32	1,04	0,51	0,72	0,06	0,24	0,68	1,08	1,42
Контроль (доноры)										
Среднее	6,10	33,30	74,10	46,10	26,80	1,80	13,60	5,40	14,20	7,90
Ошибка среднего (97,5%)	0,09	0,53	0,53	0,57	0,43	0,04	0,45	0,21	0,30	0,20

Примечание. Все десять показателей в сравниваемых группах статистически значимо различаются ($p < 0,025$).

Note. All ten indicators in the compared groups are statistically significantly different ($p < 0,025$).

Структура многомерных данных крови в норме и при НХЛ

Далее, был проведен аналогичный анализ по выявлению и сравнению структуры многомерных данных крови пациентов с НХЛ и здоровых людей.

На **рисунке 5, (а)** приведен результат обучения сети SOM на массиве многомерных данных, представленных 13 признаками (см. раздел «Методика»). Как видно из рисунка, в данных не выявлено четкой структуры,

но в данном случае это не означает отсутствие структуры вообще. На заднем плане рисунка формируется «возвышение», которое можно интерпретировать как начало границы, идущей с заднего плана, исчезающей при приближении к передней границе рисунка.

На **рисунке 5, (а)** показана матрица расстояний (похожести объектов). Из этого рисунка следует, что алгоритм не нашел в многомерных данных четко выделяемых кластеров. Но при маркировке нейронов сети СОКК метками групповой принадлежности (здоровым

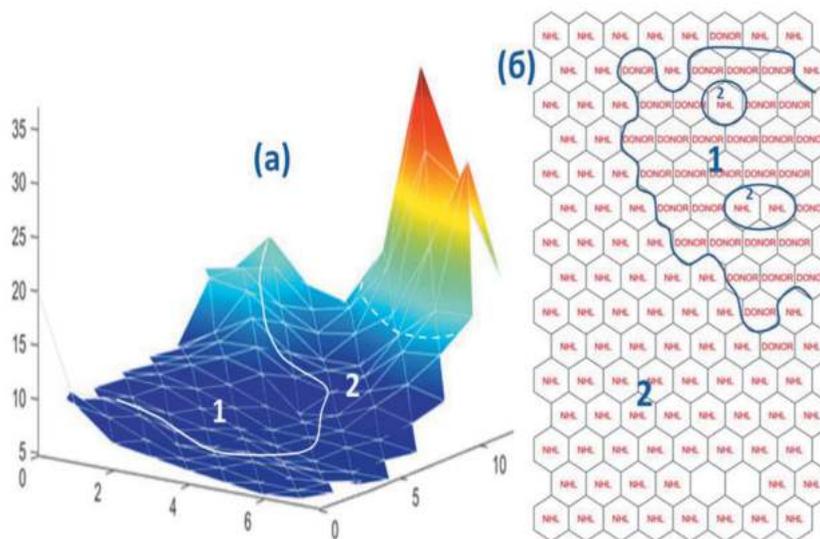


Рис. 5. Результаты выявления структуры в многомерных данных, собранных по показателям для 2 групп испытуемых – пациентов, страдающих НХЛ и условно здоровых людей (доноров крови).

(а) – U-матрица, иллюстрирующая выявленную в многомерных данных структуру; (б) – размещение на U-матрице меток, характеризующих принадлежность к 2-м группам (метка «DONOR» – здоровые люди, «NHL» – пациенты с НХЛ).

Fig. 5. Results of identifying structure in multidimensional data collected according to indicators for 2 groups of subjects – patients suffering from NHL and relatively healthy people (blood donors).

(а) – U-matrix illustrating the structure identified in multidimensional data; (б) – placement on the U-matrix of labels characterizing membership in 2 groups (label «DONOR» – healthy people, «NHL» – patients with NHL).

людям присвоена метка 1, а НХЛ – метка 2, которые не разделены на карте «хребтом», но мы маркировали ее белой кривой, идущей через карту. «Высота» хребта невелика, и в передней части **рисунка 5, (а)** он исчезает вообще; что обусловлено большой неоднородностью 2 кластера. В левом верхнем углу карты располагается «гора», довлеющая над всем «ландшафтом» (по периметру обведена линией). Ее наличие говорит, что в этой области карты локализованы очень непохожие на остальные и сильно отличающиеся друг от друга признаки, т.е. представлены данные с большой неоднородностью. Именно по этой причине «хребет», разделяющий карту (и данные) на два кластера представлен на карте едва различимой границей. Чтобы выяснить соотносятся ли выделенные в данных кластеры с принадлежностью данных к группе НХЛ или к норме, в правой части **рисунка 5, (б)**, на котором выделенная в данных структура (показана синей кривой), маркирована символами принадлежности векторов к одной из двух групп – пациентов с НХЛ (метка «NCL») и здоровых людей (метка «DONOR»). Используемый

подход (алгоритм СОКК) эффективно разделит анализируемые данные: распределение меток формирует четкий кластер 1 (здоровые люди) и вокруг него кластер 2 (НХЛ).

Следующий шаг алгоритма СОКК – проведение анализа вклада признаков в формирование выявленной в многомерных данных кластерной структуры. На **рисунке 6** показано распределение по U-матрице (левый верхний угол рисунка) значений 13 анализируемых признаков. Среди них не выявлено ярких контрастирующих признаков, формирующих структуру U-матрицы. Только 3 из них слабо ее выделяют. Это признаки CD4, CD3+DR, HLA-DR. Область U матрицы (**рис. 6, (а)**), обведенная белой кривой, с темно синей окраской (относительно ближайшего окружения) означает, что объекты в этой области (здоровые люди) имеют очень низкие значения этих показателей. При чем CD4 контрастирует структуру с несколько большим эффектом, чем CD3+DR и HLA-DR. Для здоровых людей значения признака CD4 средние и чуть выше средних значений, а для пациентов с НХЛ вектора

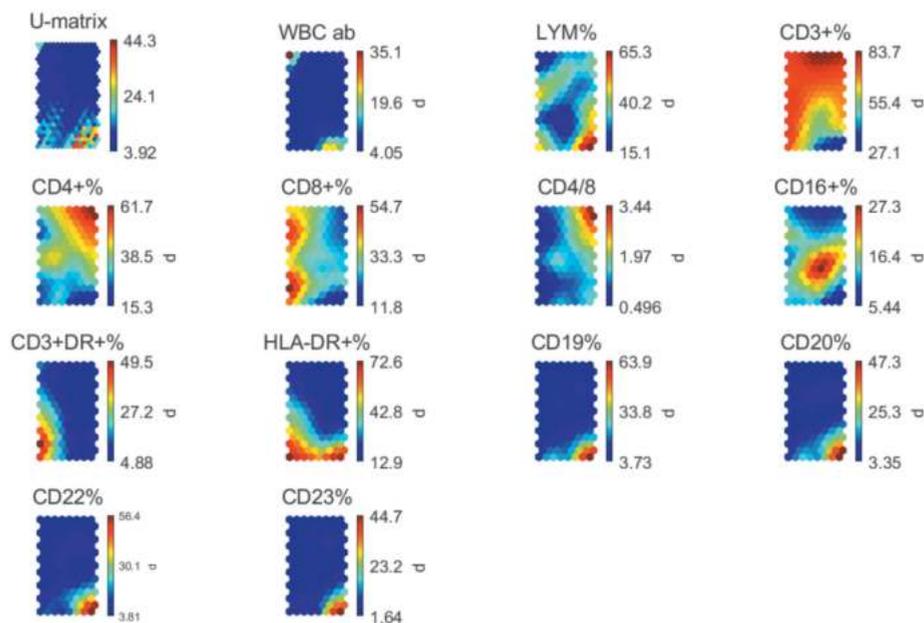


Рис. 6. «Окрашивание» карты структуры (U-матрицы), выявленной в многомерных данных пациентов с НХЛ и здоровых людей, значениями признаков, формирующих многомерный образ состава крови пациентов и здоровых людей. В левом верхнем углу расположена полученная в результате обучения U-матрица, иллюстрирующая найденную в данных структуру. На остальных полях располагаются закодированные цветом значения анализируемых признаков (синий цвет на этих полях – малые значения соответствующего признака, а красный цвет – большие значения признаков).

Fig. 6. «Coloring» the structure map (U-matrix) identified in the multidimensional data of patients with NHL and healthy people, with the values of features that form a multidimensional image of the blood composition of patients and healthy people. In the upper left corner is the U-matrix obtained as a result of training, illustrating the structure found in the data. The remaining fields contain color-coded values of the analyzed characteristics (blue color in these fields indicates small values of the corresponding characteristic, and red color indicates large values of the characteristics).

CD4 принимают либо очень низкие, либо очень высокие значения. Остальные анализируемые признаки крови для различения групп не пригодны, т.к. их распределения по поверхности U матрицы (матрицы похожести) не отражают найденную в данных структуру.

Обнаруженные факты нуждаются в объяснении. Почему, при отсутствии ярко выраженной структуры в данных, метки кластеров образуют структуру на U матрице, которая отражает групповую принадлежность анализируемых векторов признаков? Почему в кластере 1, содержащем признаки здоровых людей, оказались нейроны (обведены на рис. 5, (б) синими овалами), которые относятся к пациентам с НХЛ? Для ответа на вопросы были построены гистограммы распределений значений признаков, часть из которых представлена на рисунке 7.

Одномерные гистограммы распределений 4х признаков: процентов лимфоцитов (а), CD16 (б), CD3 (в) и HLA-DR (г), показывают, что для всех признаков гистограммы распределений группы здоровых людей (доноров) лежат внутри гистограмм распределений группы пациентов с НХЛ. При этом, средние значения этих

показателей для обеих групп не сильно отличаются друг от друга. Этот факт объясняет, почему алгоритм СОКК не выявил явной структуры в данных. Отсюда следует вывод: распознавание состояния здоровья от состояния болезни НХЛ по одиночным признакам векторов крови практически невозможно.

В таблице 2 для групп пациентов с НХЛ и здоровых людей приведены статистические оценки (среднее и ошибка средних для 97,5% уровня доверительной вероятности) сравниваемых признаков показателей крови.

Таблица 2 совместно с рисунком 7 показывает ошибочность попыток распознавания состояний здоровья и НХЛ по сравнению выборочных средних; практически по всем признакам, при сравнении средних значений, две выборки значимо различаются (за исключением процентов лимфоцитов). Но при этом все гистограммы признаков здоровых людей располагаются внутри интервалов значений гистограмм группы пациентов с НХЛ. Поэтому становится необходимым изучение многомерных образов показателей крови больных и здоровых людей и их сравнение в многомерном

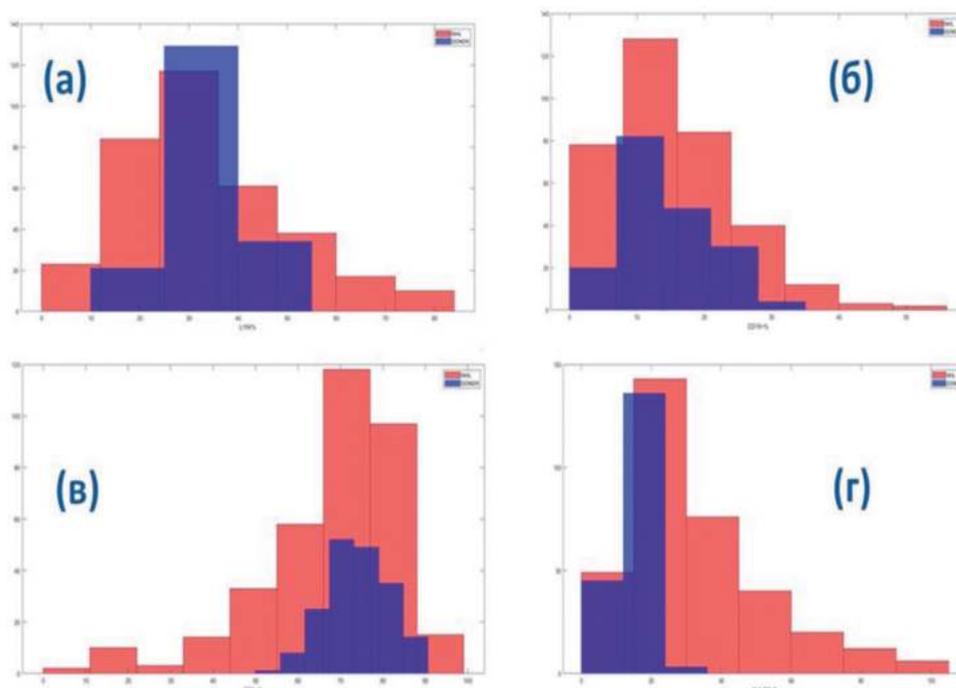


Рис. 7. Гистограммы, иллюстрирующие распределение значений четырех признаков для группы пациентов с НХЛ (красный цвет) и здоровых людей (синий цвет).

Приведены гистограммы распределений 4х признаков: содержание лимфоцитов (а), проценты CD16 (б), CD3 (в) и HLA-DR (г) клеток.

Fig. 7. Histograms illustrating the distribution of four feature values for a group of NHL patients (red) and healthy controls (blue).

Histograms of distributions of 4 characteristics are presented: the content of lymphocytes (a), percentages of CD16 (b), CD3 (c) and HLA-DR (d) cells.

Таблица 2/ Table 2

Статистические оценки показателей крови для групп НХЛ и контроля (доноры)

Statistical estimates of blood parameters for the NHL and control (donor) groups

НХЛ										
	Лейкоциты	LYM%	CD3+%	CD4+%	CD8+%	CD4/8	CD16+%	CD3+DR+%	HLA-DR+%	CD19%
Среднее	7,7	33,3	67,5	36,0	32,5	1,4	14,7	16,1	32,2	11,8
Ошибка среднего (97,5%)	0,54	0,87	0,87	0,73	0,72	0,06	0,49	0,70	1,05	0,84
Контроль (доноры)										
Среднее	6,1	33,3	74,1	46,1	26,8	1,8	13,6	5,4	14,2	7,9
Ошибка среднего (97,5%)	0,09	0,53	0,53	0,57	0,43	0,04	0,45	0,21	0,30	0,20

Примечание. Девять показателей из десяти в сравниваемых группах статистически значимо различаются ($p < 0,025$). Статистически не значимы различия для показателя Лф%.

Note. Nine out of ten indicators in the compared groups are statistically significantly different ($p < 0.025$). The differences for the Lf% indicator are not statistically significant.

пространстве для выявления структуры и оценки возможности построения автоматических диагностических процедур. То есть, распознавание двух анализируемых состояний (НХЛ и норма) возможно только при использовании подхода многомерного анализа.

Обсуждение

В качестве первого шага на пути создания автоматизированного алгоритма диагностики ХЛЛ и НХЛ по данным периферической крови методом СОКК был проведен многомерный анализ состояния противоопухолевого иммунитета и признаков В-клеточной лимфо-пролиферации для двух типов патологии – НХЛ и ХЛЛ – по сравнению со здоровыми людьми.

Выяснено, что этот метод выявил хорошую кластеризацию материала, создавая структурные паттерны НХЛ и ХЛЛ, отличающие каждую патологию от статуса здоровых людей. Эти находки в принципе, дают возможность по образам болезни, отраженным в состоянии периферической крови, отличать патологии ХЛЛ и НХЛ от состояния условной нормы. Диагностика ХЛЛ по крови без многомерного анализа достаточно успешна, и по алгоритму многомерного анализа представляется более простой в выполнении, чем НХЛ, так как большинство признаков, характеризующих иммунитет (CD3, CD4, CD8, CD16) и опухолевый рост (проценты лимфоцитов, CD19, CD20, CD22 и HLA-DR) контрастны для ХЛЛ и нормы. Как известно, нарушение баланса в противостоянии «иммунитет-опухоль» в первую очередь обусловлено факторами врожденного (CD16+NK-клеток) и специфического иммунитета (CD4 и CD8T-клеток), а также темпами прироста опухолевых клеток. От числа и качества функционирования клеток иммунной системы, наряду с особенностями злокачественного роста, за-

висит течение и прогноз болезни. Отмечено, что снижение показателей состояния иммунитета оппозитно возрастанию признаков лимфо-пролиферации, повышение которых отражает процесс постепенного накопления, а затем и явного доминирования опухолевых В-клеток в общей популяции лимфоцитов периферической крови. Кластерная структура данных, выявленная методами ИНС при ХЛЛ, наглядно отражает эти проявления конфронтации и этапов капитуляции противоопухолевого иммунитета при развитии опухолевого роста [18–20], что может быть использовано для построения автоматизированного алгоритма диагностики состояния здоровья (условная норма) и патологии – ХЛЛ.

Прежде было показано [5, 21–23], что при ХЛЛ и НХЛ в разной степени активирован иммунитет за счет повышения уровня CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ и регуляторных супрессорных T-reg клеток. При ХЛЛ рост их числа намного ниже темпов прироста опухолевых клеток. Нарастающая диспропорция NK- и T-клеток с уровнем опухолевых В-лимфоцитов в крови отражает этапы развития недостаточности и истощения T- и NK-клеточного иммунитета, в том числе за счет его гиперактивации. Механизмы отрицательной негативной регуляции снижают и останавливают развитие иммунного ответа. Факторами, снижающими эффективность активации T-лимфоцитов при ХЛЛ, считают структурные мутационные изменения В-клеток, плохо представляющие антиген T-клеткам при индукции иммунного ответа. В таком случае, генерация и передача сигнала активации слаба или отсутствует вовсе вследствие недостаточного стереосближения взаимодействующих клеток при формировании иммунного синапса. Причиной, тормозящими развитие иммунного ответа, могут быть нарушения внутри-

клеточного транспорта везикул и функционирования цитоскелета цитотоксических Т-клеток [24–26] и других опухолевых воздействий, редактирующих иммунный ответ [18–20].

Таким образом, СОКК анализ по данным периферической крови легко различает состояние здоровья и ХЛЛ по ключевым признакам, отражающим взаимоотношения «иммунитет – зрелоклеточная лимфопротиферация», что может быть использовано для создания автоматизированного алгоритма отличия нормы от ХЛЛ.

Структура же многомерного образа иммунитета здоровых людей включена в состав структуры НХЛ, частично ее перекрывает. Эта ее особенность может быть объяснена меньшей частотой и степенью выхода опухолевых клеток в кровь при НХЛ, когда первичный лимфопротиферативный процесс изначально локализован в лимфатических узлах (нодальные формы НХЛ) или тканях, богатых лимфоцитами (тканевые экстранодальные формы НХЛ типа MALT-лимфом). При этом реже поражается костный мозг и опухолевые клетки в значительно меньшем количестве выходят в циркуляцию крови. Выраженность лейкемизации крови при НХЛ, по-видимому, связана с особенностями транслокаций в геноме В-клеток, местонахождением опухолевых клеток относительно герминального центра лимфоузла (прегерминальные, центрофолликулярные и постгерминальные НХЛ), а также эпигеномными нарушениями регуляции роста клеток [4, 6, 7]. Клетки разных нозологических форм НХЛ обладают разной пролиферативной активностью и с разной частотой обнаруживаются в циркулирующей крови [27].

Многомерные структуры НХЛ и нормы различаются в большей степени по уровню CD4+Т-хелперов, активации Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) и уровню клеток, экспрессирующих HLA-DR+ (нормальные и опухолевые В-клетки, активированные Т-лимфоциты). Структурирование многомерных данных создает возможность построения алгоритма диагностики НХЛ, например, определенным образом стратифицируя сочетания разной степени CD4+Т-хелперов и активационного статуса Т-клеток с разным уровнем опухолевой пролиферации и нарушениями других иммунологических параметров. При этом многомерный анализ указывает, что построение алгоритма диагностики НХЛ окажется сложнее и будет включать большее число шагов по сравнению с алгоритмом диагностики ХЛЛ.

Таким образом, в настоящем исследовании изучена возможность и определены перспективы применения методов ИНС для создания алгоритма автоматической диагностики ХЛЛ и НХЛ, за счет оптимизации анализа иммунограмм крови без необходимости

использования клеток лимфатических узлов, костного мозга, других органов и тканей. Следует специально отметить, что диагностика локализованной (без проявления лейкемизации) НХЛ по иммунограмме крови до сих пор не могла быть достигнута; необходимо проведение иммуногистохимического и других исследований лимфатических узлов, лимфоидных органов и тканей первичной локализации опухолевого процесса.

Выводы

1. Подтверждена гипотеза о высокой эффективности применения технологии самоорганизующихся карт Кохонена (СОКК) для выявления структур в многомерных массивах экспериментальных данных больных (НХЛ и ХЛЛ) и здоровых людей.

2. Применение данной технологии выявило четкую кластерную структуру как при сопоставлении многомерных данных «ХЛЛ – норма», так и при анализе данных «НХЛ – норма».

3. Доказано, что кластерная структура обусловлена групповой принадлежностью анализируемых данных, т.е. выявленные кластеры соответствуют данным двух исследуемых патологий: ХЛЛ – норма и НХЛ – норма.

4. Многомерный анализ интерпретирует выявленные кластеры за счет уровней значений используемых признаков иммунитета и опухолевых клеток, что логично и не противоречит патофизиологии анализируемых заболеваний.

5. Полученные результаты формируют основу для создания автоматической стратификации процедуры диагностики ХЛЛ и НХЛ.

Литература

(п.п. 1; 6-10; 12-14; 16; 18-24; 26; 27 см. References)

2. Казанский Д.Б. Т-лимфоциты в развитии хронического лимфолейкоза. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. *Клиническая онкогематология*. 2012; 5(2): 84-95.
3. Свириновский А. И. Хронический лимфоцитарный лейкоз: парадигмы и парадоксы. *Медицинские новости*. 2008; 13: 7-19.
4. Луговская С.А., Почтарь М.Е. *Гематологический атлас*. М.: 2016.
5. Кузьмина Е.Г., Мушкарина Т.Ю., Константинова Т.В., Зацаренко С.В. и др. Субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток периферической крови при В-клеточном хроническом лимфолейкозе/лимфоме из малых лимфоцитов. *Клиническая онкогематология*. 2020; 13(4): 395-405.
11. *Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопротиферативных заболеваний*. Под ред. Поддубной И.В., Савченко В.Г. М.: 2018.
15. Зиновьев А. *Визуализация многомерных данных*. Красноярск: 2000.
17. Тант Зин Пью и др. Методика системы распознавания образов с помощью самоорганизующихся карт Кохонена нейронных сетей на основе Matlab. *Интернет-журнал «Науковедение»*. 2013; 5.

25. Бадмажапова Д.С., Гальцева И.В., Звонков Е.Е. и др. Особенности экспрессии антигенов, участвующих в формировании иммунологического синапса при хроническом лимфолейкозе. *Онкогематология*. 2018; 1(13): 103-14. DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-103-114
28. Неприна Г.С., Кузьмина Е.Г., Павлов В.В., и др. Иммунофенотипический анализ лимфоцитов костного мозга и периферической крови у больных В-клеточными злокачественными лимфомами. *Медицинская иммунология*. 2006; 8(2-3): 347-8.

References

- Hallek M, Al-Sawaf O. Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. *Am J Hematol*. 2021; 96(12): 1679-705. <https://doi.org/10.1002/ajh.26367>
- Kazansky D.B. T-lymphocytes in the development of chronic lymphocytic leukemia. *Clinical Oncohematology. Basic research and clinical practice. Klinicheskaya onkogematologiya*. 2012; 5(2): 84-95. (in Russian)
- Svirnovsky A.I. Chronic lymphocytic leukemia: paradigms and paradoxes. *Meditsinskie novosti*. 2008; 13: 7-19. (in Russian)
- Lugovskaya C.A., Pochtar M.E. *The Hematological Atlas. [Gematologicheskii atlas]*. Moscow: 2016. (in Russian)
- Kuzmina E.G., Mushkarina T.U., Konstantinova T.V., Zacarenco S.B., et al. Subpopulation composition of immunocompetent peripheral blood cells at B-cell chronic lymphocytic leukemia/lymphoma from small lymphocytes. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2020; 13(4): 395-405. (in Russian)
- Zhang X., Wang H., Zhang Y., Wang X. Advances in epigenetic alterations of chronic lymphocytic leukemia: from pathogenesis to treatment. *Clin Exp Med*. 2024; 24(1): 54. <https://doi.org/10.1007/s10238-023-01268-x>
- Hacken E., Burger J.A. Microenvironment interactions and B cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia: implications for disease pathogenesis and treatment. In: *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, Amsterdam: Elsevier B.V. 2016; 1863: 01–13.
- Campo E., Jaffe E.S., Cook J.R., Quintanilla-Martinez L., Swerdlow S.H., et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022; 140(11): 1229-53. doi: 10.1182/blood.2022015851. *Erratum in: Blood*. 2023; 141(4): 437. PMID: 35653592; PMCID: PMC9479027
- Swerdlow S.H., Campo E., Pileri S.A., et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016; 127(20): 2375–90. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569
- Rawstron A.C., Kreuzer K.A., Soosapilla A., et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: an European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018; 94: 121-8.
- Russian clinical recommendations for the diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases. [Rossiyskie klinicheskie rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu limfoproliferativnykh zabolevaniy]*. Ed., Poddubny I.V., Savchenko B.G. Moscow: 2018. (in Russian)
- Cree I.A. The WHO Classification of Haematolymphoid Tumours. *Leukemia*. 2022; 36(7): 1701–2. DOI: 10.1038/s41375-022-01625-x
- Kohonen, Essentials of the self-organizing map, *Neural Networks*. 2013; 37: 52–65.
- Dubravko Miljković, Brief Review of Self-Organizing Maps, *MI-PRO. May Opatija, Croatia*. 2017; 22- 6.
- Zinoviev A. *Visualization of multidimensional data. [Vizualizatsiya mnogomernykh dannyykh]*. Krasnoyarsk, 2000. (in Russian)
- Zhang Ji, Hai Fang, Using Self-Organizing Maps to Visualize, Filter and Cluster, in: *Applications of Self-Organizing Maps*, chapter 9, Edited by Magnus Johnsson. 2012.
- Tant Zin Piot, et al. Methodology of pattern recognition system using self-organizing maps of Kohonen neural networks based on Matlab. *Journal of Science*. 2013; 5 (in Russian)
- Mathworks Inc., Self Organising Maps Toolbox, <https://www.mathworks.com>.
- Dunn G.P., Bruce A.T., Ikeda H., et al. Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002; 3(11): 991–8. DOI: 10.1038/ni1102–991. PMID: 12407406
- Mitta I.D., Gubin M.M., Schreiber R.D., Smyth M.J. New insights into cancer immunoeediting and its three component phases – elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin. Immunol*. 2014; 27: 16–25. doi: 10.1016/j.coi.2014.01.004
- Chen D.S., Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity*. 2013; 39: 1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>
- Dianzani U., Omedè P., Marmont F., et al. Expansion of T cells expressing low CD4 or CD8 levels in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease status and neoplastic phenotype. *Blood*. 1994; 8 (83): 2198-205.
- Jadidi-Niaragh F., Yousefi M., Memarian A., et al. Increased Frequency of CD8+ and CD4+ Regulatory T Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia: Association with Disease Progression. *Cancer Investigation*. 2013; 2(31): 121–31. DOI: 10.3109/07357907.2012.756110
- Mackus W.J., Frakking F.N., Grummels A., et al. Expansion of CMV-specific CD8+CD45RA+CD27- T cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2003; 3(102): 1057-63. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0182
- Badmazhapov D.C., Galtseva I.V., Zvonkov E.E., et al. Features of antigen expression, involved in the formation of an immunological synapse, with chronic lymphocytic leukemia. *Oncohematology*. 2018; (13): 103-14. (in Russian) DOI: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-103-114
- Ramsay A.G., Johnson A.J., Lee A.M., et al. Chronic lymphocytic leukemia T cells show impaired immunological synapse formation that can be reversed with an immunomodulating drug. *Journal of Clinical Investigation*. 2008; 7(118): 2427–37. DOI: 10.1172/JCI35017
- Daniel D. Billadeau, Janis K. Burkhardt. Regulation of Cytoskeletal Dynamics at the Immune Synapse: New Stars Join the Actin Troupe. *Traffic*. 2006; 7(11): 1451–60. doi: 10.1111/j.1600-0854.2006.00491
- Neprina G.S., Kuzmina E.G., Pavlov V.V., et al. Immunophenotypic analysis of bone marrow lymphocytes and peripheral blood in patients B-cell malignant lymphomas. *Meditsinskaya immunologiya*. 2006; 8(2-3): 347-8. (in Russian)

Сведения об авторах:

Кузьмина Евгения Геннадьевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отд-ния клинической иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

Черкашенко Владимир Николаевич, науч. сотр. лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП;

Павлов Вячеслав Владимирович, канд. мед. наук, врач-гематолог отд-ния лучевой и лекарственной терапии гемобластозов МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

Мушкарин Татьяна Юрьевна, науч. сотр. клинической иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

Антонов Кирилл Николаевич, студент факультета вычислительной математики и кибернетики ВМК ФГБОУ ВО «МГУ им. Ломоносова»;

Устинова Екатерина Евгеньевна, мл. науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП;

Богданенко Елена Валентиновна, ст. науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП;

Сабурин Ирина Николаевна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр., лаб. клеточной биологии и патологии развития ФГБНУ НИИОПП.