

Многофункциональный белок нуклеобиндин 1 как маркер поражения сосудов при системной красной волчанке

Михайлина А.О.¹, Костарева О.С.¹, Асеева Е.А.², Глухова С.И.², Ли́ла А.М.^{2,3}, Тищенко С.В.¹

¹ФГБУН «Институт белка» Российской академии наук, Пушкино; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва; ³кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

¹Россия, 142290 Московская область, Пушкино, ул. Институтская, 4; ²Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ³Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Поиск новых биомаркеров для ранней диагностики системной красной волчанки (СКВ) является актуальной задачей.

Цель исследования — сравнительное изучение концентрации консервативного белка нуклеобиндина 1 (NUCB1) в сыворотке крови пациентов с СКВ и здоровых доноров и оценка корреляции уровня NUCB1 с клиническими и серологическими проявлениями заболевания.

Материал и методы. В исследование включены 21 пациент с СКВ, соответствовавший критериям SLICC, и 23 здоровых донора. Для оценки активности СКВ использовался индекс SLEDAI-2K. Оценка повреждения органов проводили по индексу повреждения SLICC. У всех пациентов исследовали стандартные лабораторные маркеры СКВ. Концентрацию NUCB1 определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа.

Результаты и обсуждение. В группе СКВ было 20 женщин и 1 мужчина (медиана возраста — 33 [27; 40] года, длительности болезни — 5 [3; 10] лет), преимущественно с высокой активностью заболевания (медиана SLEDAI-2K — 8,5 [6,0; 14,0]). Поражение почек выявлено в 52% случаев (нефрит), суставов — в 67% (артрит), сосудов — в 33%, кожи — в 67%, перикардит — в 29%, гематологические нарушения — в 71%, антинуклеарный фактор — в 76% и антитела к двуспиральной ДНК — в 71%.

В сыворотке крови пациентов с СКВ определялось увеличение среднего уровня NUCB1 до 3881 нг/мл по сравнению таковым в группе контроля (2766 нг/мл; $p=0,048$). Выявлены корреляции концентрации NUCB1 с поражением сосудов ($r=0,653$; $p<0,05$) и перикардитом ($r=-0,490$; $p<0,05$).

Заключение. Повышенный уровень NUCB1 в сыворотке крови пациентов с СКВ может свидетельствовать об участии этого белка в аутоиммунных и апоптотических процессах. Выявленная корреляция уровня NUCB1 с поражением сосудов и перикардитом является основой для дальнейших исследований участия этого белка в развитии различных заболеваний, в том числе СКВ.

Ключевые слова: системная красная волчанка; NUCB1; апоптоз эндотелиальных клеток; поражение сосудов; перикардит.

Контакты: Ольга Сергеевна Костарева; kostareva@vega.protres.ru

Для ссылки: Михайлина АО, Костарева ОС, Асеева ЕА, Глухова СИ, Ли́ла АМ, Тищенко СВ. Многофункциональный белок нуклеобиндин 1 как маркер поражения сосудов при системной красной волчанке. Современная ревматология. 2024;18(4):74–79. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-4-74-79

Multifunctional protein nucleobindin 1 as a marker of vascular damage in systemic lupus erythematosus

Mikhailina A.O.¹, Kostareva O.S.¹, Aseeva E.A.², Glukhova S.I.², Lila A.M.^{2,3}, Tishchenko S.V.¹

¹Institute of Protein Research of the Russian Academy of Science, Pushchino; ²V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; ³Department of Rheumatology Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow

¹4, Institutskaya Street, Pushchino 142290, Russia; ²34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia; ³2/1, Barrikadnaya Street, Build. 1, Moscow 125993, Russia

The search for new biomarkers for the early diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE) is a crucial task.

Objective: a comparative study of concentrations of conservative protein nucleobindin 1 (NUCB1) in the blood serum of patients with SLE and healthy donors and assessment of correlation of NUCB1 level with clinical and serological manifestations of the disease.

Material and methods. The study included 21 patients with SLE who fulfilled SLICC criteria and 23 healthy donors. SLEDAI-2K index was used to assess SLE activity. Organ damage was assessed using SLICC damage index. Standard laboratory markers of SLE were analyzed in all patients. Concentration of NUCB1 in blood serum was determined using the enzyme immunoassay method.

Results and discussion. The group of SLE patients included 20 women and 1 man (median age 33 [27; 40] years, disease duration 5 [3; 10] years), mainly with high disease activity (median SLEDAI-2K 8.5 [6.0; 14.0]). Kidney involvement was found in 52% of cases (nephritis), involvement of joints — in 67% (arthritis), vessels — in 33%, skin — in 67%, pericarditis — in 29%, hematological abnormalities — in 71%, anti-nuclear factor — in 76% and antibodies against double-stranded DNA — in 71%.

An increase in the mean NUCB1 level to 3881 ng/ml was found in the blood serum of SLE patients compared to the control group (2766 ng/ml; $p=0.048$). Correlations of NUCB1 levels with vascular damage ($r=0.653$; $p<0.05$) and pericarditis ($r=-0.490$; $p<0.05$) were found.

Conclusion. Elevated NUCB1 levels in the blood serum of SLE patients may indicate involvement of this protein in autoimmune and apoptotic processes. The observed correlation of NUCB1 levels with vascular affection and pericarditis is the basis for further studies on the involvement of this protein in the development of various diseases, including SLE.

Keywords: systemic lupus erythematosus; NUCB1; endothelial cell apoptosis; vascular damage; pericarditis

Contact: Olga Sergeevna Kostareva; kostareva@vega.protres.ru

For reference: Mikhailina AO, Kostareva OS, Aseeva EA, Glukhova SI, Lila AM, Tishchenko SV. Multifunctional protein nucleobindin 1 as a marker of vascular damage in systemic lupus erythematosus. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2024;18(4): 74–79. DOI: 10.14412/1996-7012-2024-4-74-79

Системная красная волчанка (СКВ) — системное ауто-иммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся гиперпродукцией органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и развитием иммуновоспалительного повреждения внутренних органов [1]. Этиология СКВ до сих пор неясна, и лечение направлено на снижение активности заболевания. В настоящее время достигнут значительный прогресс в увеличении выживаемости пациентов с СКВ [2]. Тем не менее существует потребность в более эффективной ранней диагностике СКВ и ведется активный поиск ее новых биомаркеров [3, 4].

Нуклеобиндин 1 (NUCB1) — консервативный Ca^{2+} -связывающий эукариотический белок, вовлеченный во множество процессов в организме, таких как ответ на стресс, иммунный ответ, гомеостаз кальция [5, 6]. NUCB1 образует функциональный димер и состоит из нескольких доменов: сигнального пептида, ДНК-связывающего домена, Са-связывающего домена и «лейциновой застежки» [7]. Этот белок был впервые обнаружен как фактор роста и дифференцировки В-клеток в культуре клеток KLM1-7 (клетки селезенки мышей линии MRL/l, у которых развивается СКВ-подобное заболевание). Было показано, что NUCB1 способен взаимодействовать с общей ДНК, выделенной из этой культуры клеток [8]. Систематические инъекции NUCB1 приводят к развитию у модельных линий мышей (MRL/lpr и MRL/n) СКВ-подобного заболевания (появление аутоантител к одно- и двцепочечной ДНК) [9]. Мутантная форма NUCB1, лишенная предположительных участков взаимодействия с ДНК (ДНК-связывающий домен, или «лейциновая застежка»), не стимулирует появления антител к ДНК [10]. Также показано, что уровень NUCB1 в сыворотке крови мышей линии MRL/lpr, используемой в качестве модели для изучения СКВ, гораздо выше, чем в сыворотке крови нормальных мышей (MRL/n) [11]. Эти данные позволяют предположить, что ДНК-связывающая активность NUCB1 играет роль индуктора аутоиммунных реакций. Кроме того, известно, что белок является фактором транскрипции и участвует в эпителиально-мезенхимальном переходе [12].

Недавно нами установлено, что данный белок проявляет РНК-связывающую и РНК-плавящую активность [13]. По-

скольку NUCB1 обладает высоким сродством к микроРНК (это — малые некодирующие молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов, в среднем — 22, участвующие в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов путем РНК-интерференции), которые ассоциированы с развитием СКВ, можно предположить его участие в сети регуляторных процессов, приводящих к развитию этого тяжелого аутоиммунного заболевания.

Работ, посвященных изучению уровня NUCB1 при разных заболеваниях, крайне мало. В основном проводилось сравнение изменения уровня антител к этому белку при различных опухолевых образованиях и в неизмененных клетках и тканях [5, 14–16]. Изменения уровня NUCB1 при аутоиммунных заболеваниях человека не изучались.

Цель исследования — сравнительный анализ концентрации NUCB1 в сыворотке крови пациентов с СКВ и здоровых доноров и оценка корреляции уровня NUCB1 с клиническими и серологическими проявлениями заболевания.

Материал и методы. В исследование включен 21 пациент с СКВ, соответствовавший критериям SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) 2012 г. [17]: 20 женщин и 1 мужчина, медиана возраста — 33 [27; 40] года, длительности болезни — 5 [3; 10] лет, с высокой активностью болезни (медиана Systemic Lupus Erythromatosus Disease Activity Index в модификации 2К — SLEDAI-2K — 8,5 [6,0; 14,0]). Больные наблюдались в клинике ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (НИИР им. В.А. Насоновой) и подписали информированное согласие на участие в исследовании.

У всех пациентов оценивали активность заболевания по индексу SLEDAI-2K [18], необратимые повреждения органов с помощью индекса повреждения (ИП) SLICC/ACR (American College of Rheumatology) [19]. До включения в исследование и в процессе наблюдения оценивали сопутствующую терапию, выполняли стандартные лабораторные исследования, в том числе общий анализ крови и мочи, определение иммунологических маркеров СКВ: антител к двуспиральной ДНК (анти-дсДНК), антинуклеарного фактора на клетках Hep2 (АНФ-Hep2), С3- и С4-компонентов комплемента, антител к Sm (анти-Sm) — к U1-, U2-, U4-рибонуклеопротеинам.

Уровень NUCB1 изучали с помощью метода вестерн-блоттинга с использованием поликлональных антител, специфичных к NUCB1 человека, которые очищали и наносили на смолу Protein A Sepharose. Полученную смолу инкубировали с сывороткой крови. Связавшийся с носителем (антителами) образец смывали и разделяли с помощью электрофореза в денатурирующих условиях (полиакриламидный гель с добавлением додецилсульфата натрия). Далее белки переносили на мембрану PVDF (PolyVinylidene DiFluoride) и определяли присутствие NUCB1 с помощью специфичных антител к NUCB1 и вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой.

За отсутствие активности СКВ принимали значение SLEDAI-2K, равное 0, за низкую степень активности — 1–5, среднюю — 6–10, высокую — 11–19 и очень высокую — >20 [18].

Критерии включения: пациенты мужского и женского пола в возрасте от 18 до 65 лет включительно, с достоверным диагнозом СКВ.

Критерии исключения: наличие тяжелой сопутствующей патологии (инфекции, злокачественные новообразования) или беременности, участие в других клинических исследованиях.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИР им. В.А. Насоновой и проводилось на основании договора о сотрудничестве между ФГБУН «Институт белка» Российской академии наук и НИИР им. В.А. Насоновой от 26.01.2018.

Характеристика пациентов представлена в таблице.

Контрольная группа была представлена 23 здоровыми добровольцами, сопоставимыми по возрасту и полу (медиана возраста — 32 [26; 39] года, 96,0% женщин; $p > 0,05$ в обоих случаях), не имевшими ревматических, онкологических и инфекционных заболеваний.

Статистическая обработка данных проведена на персональном компьютере с использованием методов параметрической и непараметрической статистики прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Переменные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала (Ме [25-й; 75-й перцентили]). Значимость различий между двумя несвязанными группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни. Взаимосвязь признаков определяли с использованием критерия ранговой корреляции Спирмена (r). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [20].

Результаты. Концентрация NUCB1 у пациентов с СКВ была выше, чем в группе контроля ($p = 0,048$): медиана уровня NUCB1 — 3881 [2182; 6218] и 2766 [1074; 3973] нг/мл соответственно. Значение, соответствующее 25-му перцентилю, в группе пациентов с СКВ (2182 нг/мл) оказалось чуть ниже, чем медиана уровня NUCB1 в контрольной группе (2766 нг/мл). Медиана уровня NUCB1 в группе пациентов с СКВ

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование (n=21) Clinical characteristics of patients included in the study (n=21)

Показатель	Значение
Пол, мужчины/женщины, n	20/1
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	33 [27; 40]
Длительность болезни, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	5 [3; 10]
Степень активности СКВ, n (%):	
I — средняя (SLEDAI 2K 6–10)	3 (14)
II — высокая (SLEDAI 2K 11–19)	11 (53)
III — очень высокая (SLEDAI 2K >20)	7 (33)
SLEDAI-2K, Ме [25-й; 75-й перцентили]	8,5 [6,0; 14,0]
Проявления СКВ, n (%):	
нефрит	11 (52)
артрит	14 (67)
перикардит	6 (29)
поражение кожи	14 (67)
поражение сосудов	7 (33)
гематологические нарушения	15 (71)
Иммунологические нарушения, n (%):	
АНФ+	16 (76)
анти-дсДНК+	15 (71)
анти-Sm+	5 (24)
гипокомплементия	15 (71)
Терапия на момент включения, n (%):	
ГК	19 (90)
ГКХ	13 (62)
цитотоксические препараты,	9 (43)
<i>в том числе:</i>	
азатиоприн	1
циклофосфан	1
микофенолата мофетил	7 (33)
ГИБП (ритуксимаб)	12 (57)

Примечание. АНФ — антинуклеарный фактор; ГК — глюкокортикоиды; ГКХ — гидроксихлорохин; ГИБП — генно-инженерные биологические препараты.

(3881 нг/мл) практически соответствовала 75-му перцентилю в контрольной группе (3973 нг/мл; рис. 1).

За верхнюю границу нормы сывороточной концентрации NUCB1 принимали значение, соответствовавшее 95-му перцентилю концентрации NUCB1 в контрольной группе, — 4879 нг/мл. Повышенный уровень NUCB1 (>4879 нг/мл) выявлен у 38% пациентов с СКВ и у 4,3% здоровых доноров.

У пациентов с СКВ обнаружена положительная корреляция концентрации NUCB1 с поражением сосудов ($r = 0,653$; $p < 0,05$) и отрицательная корреляция с перикардитом ($r = -0,490$; $p < 0,05$). С учетом выявленной связи уровня NUCB1 с поражением сосудов и перикардитом проведено сравнение концентрации NUCB1 у пациентов, имевших и не имевших эти нарушения. В группе больных СКВ уровень NUCB1 оказался выше при поражении сосудов (медиана — 6218 [4225; 13048] нг/мл; $n = 7$), чем при отсутствии сосудистой патологии (2188 [1597; 3881] нг/мл; $n = 14$), $p = 0,020$ (рис. 2).

У пациентов с СКВ при наличии перикардита ($n = 6$) уровень NUCB1 был ниже, чем при его отсутствии ($n = 15$), и его медиана составила соответственно 2182 [1703; 2188] и 4795 [3048; 8994] нг/мл ($p = 0,049$; рис. 3).

Обсуждение. Исходя из результатов анализа ранее полученных данных о взаимодействии NUCB1 с ДНК [10], а также способности NUCB1 вызывать появление аутоантител к ДНК [8, 9], мы полагали, что повышенный уровень NUCB1

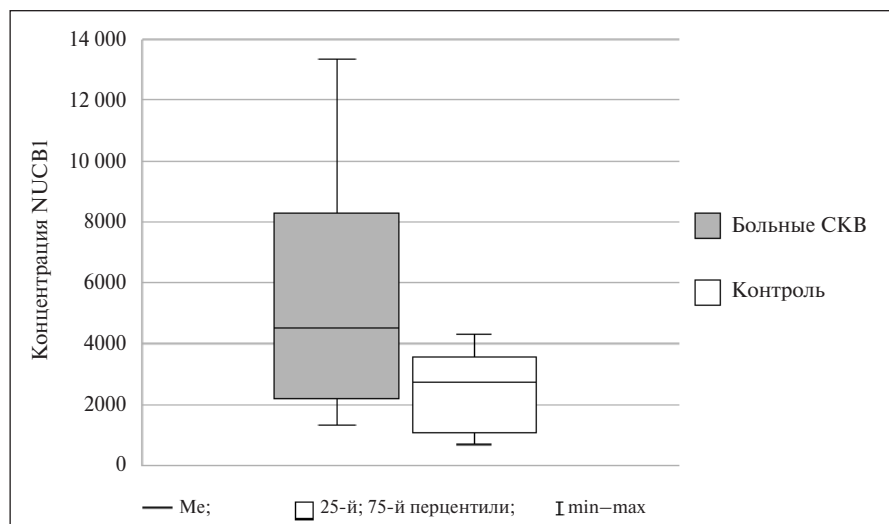


Рис. 1. Концентрация NUCB1 в сыворотке крови больных СКВ (n=21) и здоровых доноров (n=23), нг/мл

Fig. 1. NUCB1 concentrations in the blood serum of SLE patients (n=21) and healthy donors (n=23), ng/ml

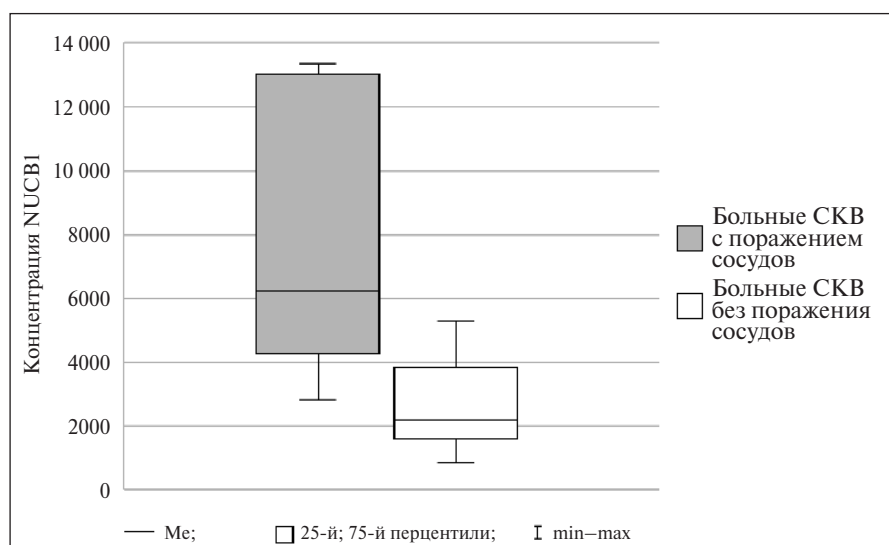


Рис. 2. Концентрация NUCB1 в сыворотке крови больных СКВ с поражением (n=7) и без поражения (n=14) сосудов, нг/мл

Fig. 2. NUCB1 concentrations in the blood serum of SLE patients with vascular involvement (n=7) and without vascular involvement (n=14), ng/ml

в сыворотке крови пациентов с СКВ будет ассоциирован с активностью заболевания или уровнем анти-дсДНК. Однако корреляции концентрации NUCB1 с этими параметрами не обнаружено.

Сопоставив наши результаты с данными литературы о процессах, в которых участвует NUCB1, мы предположили, что повышение его уровня у пациентов с СКВ связано с участием этого белка в апоптозе.

Согласно базе данных Human Protein Atlas, в тканях, обладающих пониженной способностью к пролиферации (мышцы, глаза) и, соответственно, к апоптозу, уровень NUCB1 невысок. Эпителий кожи, слизистых оболочек дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, гемопоэтическая ткань характеризуются макси-

мальной регенерационной способностью. Таким образом, NUCB1 определяется главным образом в печени, почках, пищеварительной и респираторной системах (Human Protein Atlas). Стоит отметить, что в базе данных Human Protein Atlas имеются сведения о распределении белка в тканях здоровых людей, но не в тканях пациентов с аутоиммунными заболеваниями.

У наших пациентов с СКВ повышенный уровень NUCB1 был ассоциирован в основном с поражением эндотелия сосудов (*синдром Рейно*, васкулит, интерстициальное поражение легких), а пониженный — с перикардитом.

Эндотелий сосудов — наиболее метаболически активная ткань, имеющая высокую способность к апоптозу и пролиферации клеток в нефизиологических условиях [21–23]. Согласно данным RNA-Seq (Human Protein Atlas), уровень матричной РНК (мРНК) NUCB1 в тканях сосудов и легких довольно высок (в клетках сосудов уровень NUCB1 — 1.143.849 nTNP/10 тыс. клеток, в клетках легких — 1.974.975 nTNP/10 тыс. клеток). Перикард относится к тканям со слабой способностью к сопряженным процессам пролиферации и апоптоза. В тканях сердца, в том числе в перикарде, наблюдается очень низкий уровень мРНК NUCB1 по сравнению с клетками сосудов и легких — 200.918 nTNP/10 тыс. клеток (Human Protein Atlas).

Мы предполагаем, что именно участие NUCB1 в процессе апоптоза объясняет положительную корреляцию уровня данного белка с поражением сосудов и отрицательную его корреляцию с перикардитом.

На разных модельных линиях клеток показано, что NUCB1 участвует в процессах апоптоза, пролиферации, миграции и эпителиально-мезинхимального перехода [8, 10, 12, 24]. Известно также, что при стрессе эндоплазматического ретикулаума, вызванном накоплением неправильно свернутых или поврежденных белков, синтез NUCB1 активируется. В результате NUCB1 может взаимодействовать с трансмембранным белком ATF6 [25] и негативно влиять на путь отклика неправильно свернутых белков. Сигнальные пути могут переключаться на апоптоз, который, в свою очередь, является важным фактором в патогенезе СКВ. Апоптоз в норме — «иммунологически тихий» процесс, так как не сопровождается нарушением целостности клеточной мембраны и выходом внутриклеточных антигенов в окружающие ткани. Известно, что нарушение регуляции процессов апоптоза — одно из ключевых звеньев патогенеза СКВ [26]. Дефекты апоптоза (как подавление, так и неадекватное усиление) вызывают образование иммунных комплексов и вы-

работку медиаторов воспаления.

Детальное исследование роли NUCB1 в процессе апоптоза не проводилось. Однако, предположительно, регуляция может осуществляться несколькими путями. *Во-первых*, при взаимодействии NUCB1 с находящимися в просветах эндоплазматического ретикулама циклооксигеназами 1 и 2 [27]. В результате возможна взаимная регуляция этих белков и влияние не только на процессы воспаления, но и на апоптоз [28]. *Во-вторых*, посредством взаимодействия NUCB1 с микроРНК, регулируемыми синтез мРНК белков, участвующих в апоптозе и в развитии аутоиммунных заболеваний [29, 30]. Мы показали, что NUCB1 *in vitro* взаимодействует с высоким сродством с ассоциированными с СКВ микроРНК и обладает РНК-шаперонной активностью, что может способствовать взаимодействию микроРНК с целевыми мРНК [13]. *В-третьих*, в ходе участия NUCB1 в процессе апоптоза. Известно, что в апоптотических клетках происходит переориентация фосфолипидов фосфатидилсерина, и он локализуется на поверхности клеточной мембраны (eat-сигнал) начиная с ранней стадии апоптоза и до полной деградации клетки. Факторы eat-ме узнаются фагоцитами, в результате чего и запускается процесс поглощения клетки фагоцитами. Недавно показано, что NUCB1 связывается с фосфатидилсерином на поверхности раковых клеток [24]. Мы предполагаем, что NUCB1, взаимодействуя с фосфатидилсерином, может либо экранировать эту «черную метку» на мембране апоптотических клеток (подобно структурно схожему с ним белку аннексину 5 [31–33]) и препятствовать апоптозу, либо, наоборот, способствовать узнаванию клеток фагоцитами и усиливать апоптоз.

Если допустить, что участие NUCB1 в развитии аутоиммунных и онкологических заболеваний связано с апоптозом клеток, то можно объяснить разный уровень экспрессии этого белка в разных тканях. В дальнейшем требуется де-

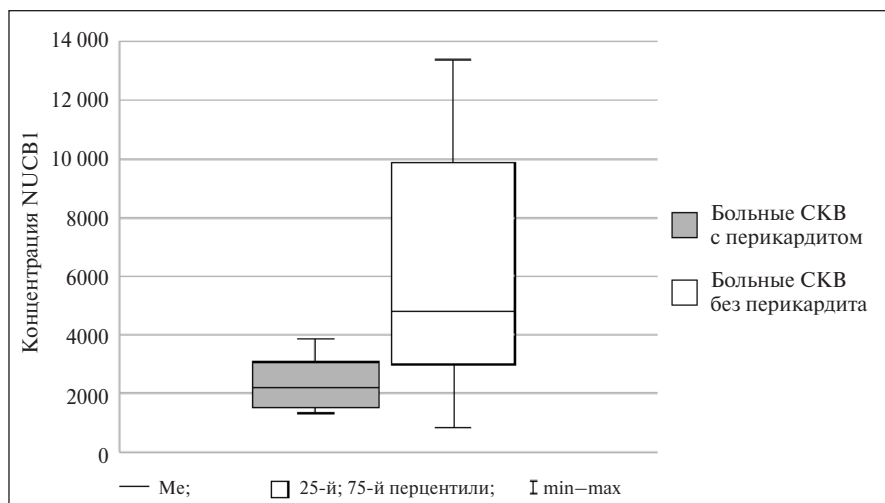


Рис. 3. Концентрация NUCB1 в сыворотке крови больных СКВ с перикардитом (n=6) и без перикардита (n=15), нг/мл

Fig. 3. NUCB1 concentrations in the blood serum of SLE patients with pericarditis (n=6) and without pericarditis (n=15), ng/ml

тальный анализ роли NUCB1 в процессе апоптоза клеток при аутоиммунных заболеваниях. Полученные данные могут привести к разработке нового параметра диагностики СКВ, который в сочетании с существующими методами повысит точность диагностики.

Заключение. Повышенный уровень NUCB1 в сыворотке крови у пациентов с СКВ по сравнению с его содержанием у здоровых доноров может свидетельствовать о неизвестном ранее участии этого белка в аутоиммунных процессах. Положительную корреляцию уровня NUCB1 с симптомами поражения сосудов у пациентов с СКВ мы объясняем его активным участием в процессе апоптоза клеток эндотелиальной ткани.

Данное пилотное исследование представляет собой основу для дальнейшего полноценного изучения корреляции уровня NUCB1 при поражении сосудов и серозных оболочек у пациентов с СКВ и оценки возможности использования этого белка в качестве биомаркера для ранней диагностики СКВ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Насонов ЕЛ, Соловьев СК, Аршинов АВ. Системная красная волчанка: история и современность. Научно-практическая ревматология. 2022;60(4):397-412. [Nasonov EL, Soloviev SK, Arshinov AV. Systemic lupus erythematosus: history and modernity. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2022;60(4):397-412. (In Russ.).]
2. Tektonidou MG, Lewandowski LB, Hu J, et al. Survival in adults and children with systemic lupus erythematosus: a systematic review and Bayesian meta-analysis of studies from 1950 to 2016. *Ann Rheum Dis*. 2017 Dec;76(12):2009-2016. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211663.
3. Ferreira TAR, Andrade HM, Padua PM, et al. Identification of potential biomarkers of systemic lupus erythematosus diagnostic using two-dimensional differential gel electrophoresis (2D-DIGE) and mass spectrometry. *Autoimmunity*. 2017 Jun;50(4):247-256. doi: 10.1080/08916934.2017.1344975.
4. Perl A, Agmon-Levin N, Crispin JC, Jorgensen TN. Editorial: new biomarkers for the diagnosis and treatment of systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*. 2022 Oct 12;13:1009038. doi: 10.3389/fimmu.2022.1009038.
5. Aradhyam GK, Balivada LM, Kanuru M, et al. Calnuc: emerging roles in calcium signaling and human diseases. *IUBMB Life*. 2010 Jun;62(6):436-46. doi: 10.1002/iub.341.
6. Pacheco-Fernandez N, Pakdel M, Blank B, et al. Nucleobindin-1 regulates ECM degradation by promoting intra-Golgi trafficking of MMPs. *J Cell Biol*. 2020 Aug 3;219(8):e201907058. doi: 10.1083/jcb.201907058.
7. Barnikol-Watanabe S, Gross NA, Gotz H, et al. Human protein NEFA, a novel DNA-binding/EF-hand/leucine zipper protein. Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA, isolation and characterization of the protein. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1994 Aug;375(8):497-512. doi: 10.1515/bchm3.1994.375.8.497.
8. Kanai Y, Katagiri T, Mori S, Kubota T. An established MRL/Mp-lpr/lpr cell line with null cell properties produces a B cell differentiation factor(s) that promotes anti-single-stranded DNA antibody production in MRL spleen cell culture. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1986;81(1):92-4. doi: 10.1159/000234114.
9. Kanai Y, Kyuwa S, Miura K, Kurosawa Y. Induction and natural occurrence of serum nucleo-

- somal DNA in autoimmune MRL/lpr/lpr mice: its relation to apoptosis in the thymus. *Immunol Lett.* 1995 May;46(1-2):207-14. doi: 10.1016/0165-2478(95)00042-4.
10. Miura K, Titani K, Kurosawa Y, Kanai Y. Molecular cloning of nucleobindin, a novel DNA-binding protein that contains both a signal peptide and a leucine zipper structure. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992 Aug 31;187(1):375-80. doi: 10.1016/s0006-291x(95)81503-7.
11. Kanai Y, Miura K, Uehara T, et al. Natural occurrence of Nuc in the sera of autoimmune-prone MRL/lpr mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993 Oct 29;196(2):729-36. doi: 10.1006/bbrc.1993.2310.
12. Sinha S, Pattanaik S, Aradhyam KM. Molecular evolution guided functional analyses reveals Nucleobindin-1 as a canonical E-box binding protein promoting Epithelial-to-Mesenchymal transition (EMT). *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* 2019 Sep;1867(9):765-775. doi: 10.1016/j.bbapap.2019.05.009.
13. Mikhaylina A, Svoeglazova A, Stolboushina E, et al. The RNA-binding and RNA-melting activities of the multifunctional protein nucleobindin 1. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 24;24(7):6193. doi: 10.3390/ijms24076193.
14. Chen Y, Lin P, Qiu S, et al. Autoantibodies to Ca²⁺ binding protein Calnuc is a potential marker in colon cancer detection. *Int J Oncol.* 2007 May;30(5):1137-44. doi:10.3892/ijo.30.5.1137
15. Zhang Y, Zhang G, Zhong J, et al. Expression and correlation of COX-2 and NUCB1 in colorectal adenocarcinoma. *Peer J.* 2023 Jul 31;11:e15774. doi: 10.7717/peerj.15774.
16. Kubota T, Miyauchi M, Miura K, et al. Up-regulation of nucleobindin expression in human-activated lymphocytes and non-Hodgkin's lymphoma. *Pathol Int.* 1998 Jan;48(1):22-8. doi: 10.1111/j.1440-1827.1998.tb03823.x.
17. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012 Aug;64(8):2677-86. doi: 10.1002/art.34473
18. Gladman DD, Ibacez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol.* 2002 Feb;29(2):288-91.
19. Gladman DD, Ginzler E, Goldsmith C, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology (SLICC/ACR) Damage Index for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996 Mar;39(3):363-9. doi:10.1002/art.1780390303
20. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСфера; 2002. 312 с.
- [Rebrova OYu. Statistical analysis of medical data. The application package STATISTICA applications. Moscow: MediaSfera; 2002. 312 p.]
21. Малышев ИЮ, Монастырская ЕА. Апоптоз и его особенности в эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Витебск: ВГМУ; 2000. С. 4-11.
- [Malishev IYu, Monastirskaya EA. Apoptosis and its features in vascular endothelial and smooth muscle cells. Endothelial dysfunction: experimental and clinical studies. Vitebsk: VG MU; 2000. P. 4-11].
22. Задюченко ВС, Холодкова НБ, Нестеренко ОИ, и др. Дисфункция эндотелия и процессы апоптоза у больных хроническим легочным сердцем. Российский кардиологический журнал. 2007;(1):84-88.
- [Zadionchenko VS., Kholodkova NV., Nesterenko OI., et al. Endothelial dysfunction and apoptosis in patients with chronic cor pulmonale. *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal.* 2007;(1):84-88. (In Russ.)].
23. Bergkamp SC, Wahadat MJ, Salah A, et al. Dysregulated endothelial cell markers in systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *J Inflamm (Lond).* 2023 May 16;20(1):18. doi: 10.1186/s12950-023-00342-1.
24. Vignesh R, Aradhyam GK. Calnuc-derived nesfatin-1-like peptide is an activator of tumor cell proliferation and migration. *FEBS Lett.* 2023 Sep;597(18):2288-2300. doi: 10.1002/1873-3468.14712
25. Tsukumo Y, Tomida A, Kitahara O, et al. Nucleobindin 1 Controls the Unfolded Protein Response by Inhibiting ATF6 Activation. *J Bio Chem.* 2007 Oct 5;282(40):29264-72. doi: 10.1074/jbc.M705038200.
26. Pieterse E, Vlag J. Breaking immunological tolerance in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2014 Apr 9;5:164. doi: 10.3389/fimmu.2014.00164.
27. Ballif BA, Mincek NV, Barratt JT, et al. Interaction of cyclooxygenases with an apoptosis- and autoimmunity-associated protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 May 28;93(11):5544-9. doi: 10.1073/pnas.93.11.5544.
28. Ding L, Gu H, Lan Z, et al. Downregulation of cyclooxygenase 1 stimulates mitochondrial apoptosis through the NF- κ B signaling pathway in colorectal cancer cells. *Oncol Rep.* 2019 Jan;41(1):559-569. doi: 10.3892/or.2018.6785.
29. Недосекова ЮВ, Уразова ОИ, Кравец ЕБ, Чайковский АВ. Роль апоптоза в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Бюллетень сибирской медицины. 2009;(1):64-71.
- [Nedosekova YuV, Urazova OI, Kravets EB, Chaikovskii AV. Role of apoptosis in development of autoimmune diseases of cytothyroid gland. *Byulleten' sibirskoi meditsiny.* 2009;(1):64-71. (In Russ.)].
30. Su Z, Yang Z, Xu Y, et al. MicroRNAs in apoptosis, autophagy and necroptosis. *Oncotarget.* 2015 Apr 20;6(11):8474-90. doi: 10.18632/oncotarget.3523.
31. Vignesh R, Sjolander A, Venkatraman G, et al. Aberrant environment and PS-binding to calnuc C-terminal tail drives exosomal packaging and its metastatic ability. *Biochem J.* 2021 Jun 25;478(12):2265-2283. doi: 10.1042/BCJ20210016.
32. Woodward A, Faria GNF, Harrison RG. Annexin A5 as a targeting agent for cancer treatment. *Cancer Lett.* 2022 Oct 28;547:215857. doi: 10.1016/j.canlet.2022.215857.
33. Kanuru M, Samuel JJ, Balivada LM, Aradhyam GK. Ion-binding properties of Calnuc, Ca²⁺ versus Mg²⁺ — Calnuc adopts additional and unusual Ca²⁺-binding sites upon interaction with G-protein. *FEBS J.* 2009 May;276(9):2529-46. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.06977.x.

Поступила/отрецензирована/принята к печати

Received/Reviewed/Accepted

02.04.2024/10.06.2024/15.06.2024

Заявление о конфликте интересов / Conflict of Interest Statement

Статья подготовлена в рамках государственного задания ФГБНУ «Институт белка» Российской академии наук «Структурные и функциональные исследования белков и макромолекулярных комплексов» (FFRN-2024-0009).

Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The article was prepared within the framework of the government task for "Institute of Protein Research" of the Russian Academy of Sciences "Structural and functional studies of proteins and macromolecular complexes" (FFRN-2024-0009).

The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Михайлина А.О. <https://orcid.org/0000-0003-0896-1052>

Костарева О.С. <https://orcid.org/0000-0002-9937-8841>

Асеева Е.А. <https://orcid.org/0000-0002-1663-7810>

Глухова С.И. <https://orcid.org/0000-0002-4285-0869>

Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>

Тищенко С.В. <https://orcid.org/0000-0003-4056-310X>