

ГЛИКОЭРРЕЙ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Шилова Н.В.^{1,2}, Бовин Н.В.², Нокель А.Ю.^{1,2}, Зиганшина М.М.¹,
Хасбиуллина Н.Р.¹, Вускович М.³, Хуфлейт М.Э.⁴

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова», Москва, Россия

² ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

³ Государственный университет Сан-Диего, Сан-Диего, США

⁴ Медицинский колледж, Университет Вармия и Мазури, Ольштын, Польша

Резюме. Разработка эффективных способов предикции, диагностики и терапии органов женской репродуктивной системы является актуальной задачей. Большой интерес как в диагностическом, так и терапевтическом аспектах представляют естественные антигликановые антитела (АГАТ), т.к. АГАТ очень разнообразны, а их специфичность отобрана в ходе эволюции. В данной работе исследована возможность использования метода гликоэррея, а также сигнатурного подхода для предсказания эффективности проводимой терапии при раке молочной железы (РМЖ), а также целенаправленному поиску естественных антител с терапевтическим потенциалом.

Объектом исследования явилась сыворотка периферической крови условно здоровых доноров — женщин (n = 27) и пациентов с установленным диагнозом метастатический РМЖ перед началом проведения терапии (n = 29). Медианный возраст пациентов составил 48 лет. Медианный возраст здоровых составил 50 лет. Пациентки получали лечение сочетанной терапией доксирубицином и герцептином с разным исходом: 11 пациенток не ответили на лечение и 18 пациенток ответили (опухоль не диагностировалась). Для исследования АГАТ использовали гликоэррей, на котором напечатано более 200 различных гликанов. Связавшиеся с лигандами антитела детектировали с помощью Ig(G+M+A)-biot. Для поиска комбинации диагностически значимых АГАТ (сигнатуры) использовали разработанный ранее математический аппарат «Иммунорелер».

Исследована возможность использования гликоэррея для предсказания эффективности терапии на примере РМЖ. В исследование вошли пациентки, получавшие сочетанную терапию доксирубицином и герцептином, результат которой отслеживали по прошествии 18-24 недель. Оказалось, что сигнатура, состоящая из 10 АГАТ, с высокой чувствительностью и специфичностью (90 и 91% соответственно), позволяет предсказать эффективность назначенной терапии.

Подтверждена возможность диагностики РМЖ с использованием АГАТ. В уточненную сигнатуру вошло 5 антител: уровень двух АГАТ был значимо выше у пациентов, чем у доноров, и это, по-видимому, адаптивные антитела, появившиеся в ответ на возникшую патологию. Для трех других

Адрес для переписки:

Шилова Надежда Владимировна
ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.
Тел.: 8 (495) 336-02-55.
E-mail: pumatnv@gmail.com

Address for correspondence:

Shilova Nadezhda V.
Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
117997, Russian Federation, Moscow,
Miklukho-Maklay str., 16/10.
Phone: 7 (495) 336-02-55.
E-mail: pumatnv@gmail.com

Образец цитирования:

Н.В. Шилова, Н.В. Бовин, А.Ю. Нокель, М.М. Зиганшина, Н.Р. Хасбиуллина, М. Вускович, М.Э. Хуфлейт «Гликоэррей в диагностике и терапии заболеваний органов женской репродуктивной системы» // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 3. С. 419-424.
doi: 10.46235/1028-7221-1039-GFD

© Шилова Н.В. и соавт., 2021

For citation:

N.V. Shilova, N.V. Bovin, A.Yu. Nokel, M.M. Ziganshina, N.R. Khasbiullina, M. Vuskovic, M.E. Huflejt "Glycoarrays for diagnosis and therapy of the disorders of the female reproductive system", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 3, pp. 419-424.
doi: 10.46235/1028-7221-1039-GFD

DOI: 10.46235/1028-7221-1039-GFD

антител сигналы у пациентов ниже, чем у здоровых индивидуумов, что может свидетельствовать об истощении гуморального звена иммунитета при развитии РМЖ. Т.е. такие АГАТ могут обладать терапевтическим потенциалом, и, благодаря использованию скрининговой технологии гликоэрея, их можно искать целенаправленно.

Ключевые слова: органы женской репродуктивной системы, онкология, рак молочной железы, естественные антигликановые антитела, гликоэрей, сигнатура

GLYCOARRAYS FOR DIAGNOSIS AND THERAPY OF THE DISORDERS OF THE FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM

Shilova N.V.^{a,b}, Bovin N.V.^b, Nokel A.Yu.^{a,b}, Ziganshina M.M.^a, Khasbiullina N.R.^a, Vuskovic M.^c, Huflejt M.E.^d

^a V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

^b Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

^c San Diego State University, San Diego, USA

^d Collegium Medicum, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland

Abstract. The development of effective methods for prediction, diagnostics and treatment of female reproductive disorders is an urgent task. Natural antiglycan antibodies (AGAT) are of great interest in both diagnostic and therapeutic aspects, since AGATs are very diverse, and their specificities were selected in the course of natural evolution. In this work, we investigated the possibility of using glycoarray technique, as well as the signature approach to predict effectiveness of therapy in breast cancer (BC), as well as a targeted search for natural antibodies with therapeutic potential.

We studied blood serum samples of apparently healthy female donors ($n = 27$), and patients with established diagnosis of metastatic breast cancer prior to starting therapy ($n = 29$). The median age of the patients was 48 years, 41% had “ER/PR+”-status, 59% – “ER/PR-”-status. The median age of healthy subjects was 50 years. The patients received combined therapy with doxorubicin and herceptin with different outcomes: 11 patients did not respond to treatment and 18 patients showed clinical response (the tumor was not revealed). For the study with AGAT, glycoarray was used, on which more than 200 different glycans were printed. The antibodies bound to the ligands were detected using biotinylated goat antibodies against human Ig (G+M+A). To search for a combination of diagnostically significant AGATs (signatures), the previously developed calculation tool “Immunoruler” was used.

An opportunity of using glycoarray to predict efficiency of therapy was studied in breast cancer patients. The study included patients receiving combination therapy with doxorubicin and herceptin, with clinical response monitored at 18-24 weeks. A signature consisting of 10 AGATs with high sensitivity and specificity (90 and 91%, respectively) proved to predict efficiency of the administered therapy.

The possibility of breast cancer diagnosis using AGAT has been further confirmed. The specified signature included five antibodies: the level of two AGATs was significantly higher in patients than in donors, which could be adaptive antibodies developed in response to emerging malignancy. For three other antibodies, the registered signals in patients were lower than in healthy controls, thus, probably, indicating depletion of humoral immunity during the development of breast cancer. Hence, such AGATs may have some therapeutic potential, and, by usage of glycoarray screening technology, they could be searched in purposeful manner.

Keywords: female reproductive system, oncology, breast cancer, natural anti-glycan antibodies, glycoarray, signature

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-00749.

Введение

Для органов женской репродуктивной системы (ОЖРС) характерен широкий спектр заболева-

ний, включающий инфекционные и онкологические. Некоторые из них протекают бессимптомно, что часто приводит к трудно коррегируемым или необратимым последствиям – бесплодию, потере органа, но могут иметь и фатальный исход. Поэтому разработка эффективных способов

продикции, диагностики и терапии заболеваний ОЖРС является актуальной задачей. Особое внимание заслуживает появившийся в последние годы тренд к увеличению частоты встречаемости больших акушерских синдромов (в первую очередь преэклампсии) и онкологических заболеваний ОЖРС. Имеющиеся на сегодняшний день молекулярные маркеры не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для этих заболеваний, а терапевтические препараты обладают высокой токсичностью как для матери, так и для плода, что требует развития совершенно новых подходов как в диагностике, так и в терапии.

Большой интерес в этом аспекте представляют естественные антигликановые антитела (АГАТ). Это часть пула иммуноглобулинов, которые секретируются особой субпопуляцией В1-лимфоцитов (CD5⁺) без предварительной внешней стимуляции. Они участвуют в выведении патогенов через активацию системы комплемента, а также играют важную роль в надзоре за постоянно появляющимися трансформированными клетками. АГАТ очень разнообразны [2, 7]. Поскольку их специфичность отобрана в ходе эволюции, они представляют собой широчайший резервуар потенциальных маркеров для диагностики и прогноза различных заболеваний, в первую очередь для многофакторных патологий, к которым можно отнести аутоиммунные заболевания и большие акушерские синдромы, а также для онкологии, поскольку опухоли имеют неустойчивый геном и быстро меняющийся фенотип. АГАТ также имеют большой потенциал для использования в терапии, т.к. лечение препаратами иммуноглобулинов для внутривенного введения, которые содержат огромный набор естественных антител, уже давно применяется в медицинской практике, однако из всего пула специфичностей, которые присутствуют в этом препарате [15], лишь ограниченная часть оказывает реальный терапевтический эффект. Разработка подхода по целенаправленному поиску естественных антител с терапевтическим потенциалом позволила бы задействовать естественную защиту организма и использовать внутривенные иммуноглобулины более эффективно.

Материалы и методы

Объектом исследования явилась сыворотка периферической крови условно здоровых доноров — женщин (n = 27) и пациентов с установленным диагнозом метастатический рак молочной железы (РМЖ) перед началом проведения терапии (n = 29). Медианный возраст пациентов составил 48 лет (диапазон 28-78), 41% имели статус ER/PR+, а 59% — ER/PR-. Медианный возраст здоровых составил 50 лет (диапазон 35-60). Далее эти пациентки получили лечение сочетанной

терапией доксирубицином и герцептином с разным исходом — 11 пациенток, у которых по прошествии 18-24 недель улучшений либо не было, либо опухоль по-прежнему диагностировалась, и 18 пациенток, у которых через 18-24 недели после начала терапии опухоль не диагностировалась.

Для исследования АГАТ использовали гликановый эррей (гликоэррей), представляющий собой подложку, на которой иммобилизовано от 200 до 400 гликанов — компонентов гликопротеинов, гликолипидов, фрагментов бактериальных полисахаридов и др. Связавшиеся с лигандами антитела детектировали с помощью биотинилированных вторичных антител козы, узнающих иммуноглобулины G, M и A, как описано в [16]. Гликоэррей позволяет фиксировать изменения в уровнях антител с высокой точностью, при этом сотни активностей могут быть протестированы с помощью одного чипа.

Для поиска комбинации диагностически значимых АГАТ (сигнатуры) по данным гликоэррея использовали разработанные ранее методологии и математический аппарат, названный «Иммунорулер» [16], с помощью которых можно дискриминировать «случаи» и «контроли», определять степень риска возникновения заболевания, а также прогнозировать его исход.

Результаты и обсуждение

Диагностика

В литературе описано множество заболеваний, при которых возникает аберрантное гликозилирование, что сопровождается изменениями в профилях АГАТ. Это характерно для онкологических [9, 11, 13], аутоиммунных заболеваний [5, 10, 17], а также осложненной беременности [13, 18]. Использование гликанового эррея и сигнатурного подхода уже позволило найти сигнатуры для таких видов рака ОЖРС, как рак молочной железы [3] и рак яичника [8]; при этом чувствительность и специфичность такого мультифакторного подхода заметно превышает показатели стандартных тестов [4, 8].

Нами была исследована возможность использования гликоэррея для предсказания эффективности терапии на примере РМЖ. В исследование вошли пациентки, получавшие сочетанную терапию химиотерапевтиком доксирубицином и герцептином, и результат которой отслеживали по прошествии 18-24 недель. Оказалось, что сигнатура, состоящая из 10 антигликановых антител, с высокой чувствительностью и специфичностью (90 и 91%, соответственно), позволяет предсказать эффективность назначенной терапии (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки).

Эффективность сигнатурного подхода в диагностике была показана и для больших акушерских синдромов, таких как преэклампсия (ПЭ) и

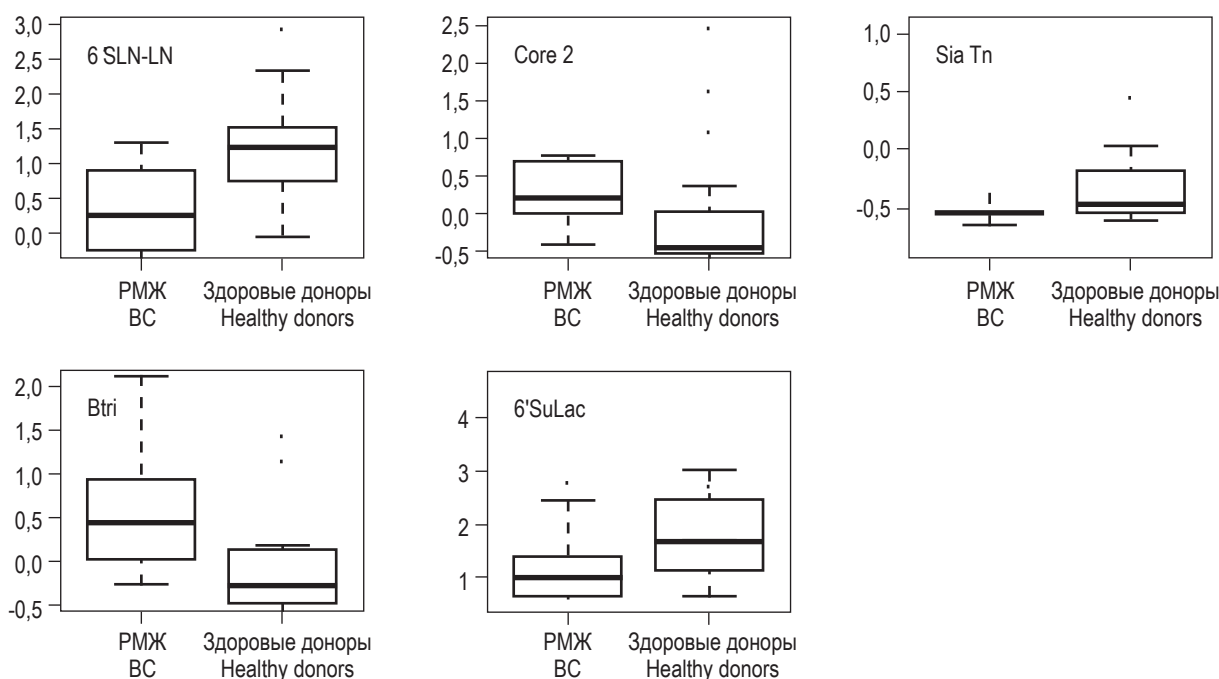


Рисунок 3. Боксплоты распределения сигналов в группах здоровых доноров и пациенток (PMЖ) для антител, вошедших в сигнатуру для рака молочной железы

Примечание. Специфичность АГАТ указана на боксплотах.

Figure 3. Boxplots of signal distribution in groups of healthy donors and patients (BC) for antibodies included to signature for breast cancer

Note. Specificity of AGA is indicated on boxplots.

задержка роста плода (ЗРП), что позволяет дифференцировать пациенток с ПЭ и пациенток с ЗРП, а также пациенток с другими гипертензивными расстройствами во время беременности [1]. Особенностью этой работы является то, что для диагностики ПЭ и ЗРП проводили отдельное определение IgM и IgG (а не суммарно, как в других исследованиях), что позволило получить сигнатуры, содержащие иммуноглобулины обоих классов, что свидетельствует о вовлеченности антител обоих классов в патологический процесс.

Терапия

АГАТ, благодаря своим свойствам удалять трансформированные клетки, могут обладать и терапевтическим потенциалом, если их уровень понижен у пациентов с патологией по сравнению со здоровыми донорами. Однако поиск таких антител затруднен из-за большого разнообразия специфичностей. На сегодняшний день известно о нескольких АГАТ, которые снижены при патологии [6, 9, 11, 12], однако их специфичность в отношении антигенов опухоли была показана только для антител, направленных к дисахариду Gal β 1-3GlcNAc β (LeC) на клетках линии рака молочной железы ZR-75-1 [14] и к углеводной

компоненте рецептора CD55 клеток рака желудка (точная мишень не установлена) [6]. Кроме того, недавние исследования, проведенные нашей группой, показали, что анти-LeC-антитела могут вызывать апоптоз клеток линии ZR-75-1 (клетки рака молочной железы человека), предположительно активируя внутренний путь (данные пока не опубликованы). Исследование, проведенное Turpitsyn и соавт. [14], выявило, что у 36% взятых в исследование пациенток антиген LeC экспрессировался клетками опухоли, а уровень анти-LeC в периферической крови был понижен, т.е. для более, чем трети женщин с PMЖ возможна разработка подхода, основанного на применении антителой терапии с использованием специфических анти-LeC-иммуноглобулинов. Однако описанные выше антитела были найдены больше по воле случая, чем целенаправленно.

Совместно с коллегами из компании Целлексикон (Ла Хойя, США) была получена уточненная сигнатура для рака молочной железы (анализировались данные по 56 индивидуумам), состоящая из пяти антигликановых антител (рис. 2, см. 3-ю стр. обложки).

Анализ антител, вошедших в эту сигнатуру, показал, что составляющие их АГАТ имеют разное содержание у пациенток по сравнению со здоровыми донорами (рис. 3).

Из рисунка 3 видно, что уровень двух АГАТ, вошедших в сигнатуру, значимо выше у пациентов, чем у доноров, и это, по-видимому, адаптивные антитела, появившиеся в ответ на возникшую патологию. Для трех антител сигналы у пациентов ниже, чем у здоровых индивидуумов, что может свидетельствовать об истощении гуморального звена иммунитета при развитии рака молочной железы. Т.е. такие АГАТ могут обладать терапев-

тическим потенциалом, и, благодаря использованию скрининговой технологии гликоэреы, их можно искать целенаправленно.

Заключение

Гликоэреы становятся инструментом, открывающим новые возможности в молекулярной диагностике сложных системных заболеваний, к которым, безусловно, относятся патологии ОЖРС, но также и инструментом поиска естественных антител, обладающих терапевтическим потенциалом.

Список литературы / References

1. Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Ракитко А.С., Тютюнник Н.В., Мантрова Д.А., Тютюнник В.Л., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. Спектр и диагностическое значение антигликановых антител, выявляемых при развитии больших акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации // Российский аллергологический журнал, 2018. Т. 15. № 1. С. 37-39. [Ziganshina M.M., Shilova N.V., Khsbiullina N.R., Rakitko A.S., Tyutyunnik N.V., Mantrova D.A., Tyutyunnik V.L., Bovin N.V., Sukhikh G.T. Spectrum and diagnostic value of anti-glycan antibodies detected at big obstetrical syndrome development connected with defects of placentation. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergology Journal*, 2018, Vol. 15, no. 1, pp. 37-39. (In Russ.)]
2. Bovin N.V. Natural antibodies to glycans. *Biochemistry (Mosc.)*, 2013, Vol. 78, no. 7, pp. 786-797.
3. Bovin N.V., Huflejt M.E. Unlimited Glycochip. *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, 2008, Vol. 20, no. 115, pp. 245-258.
4. Butvilovskaya V.I., Popletaeva S.B., Chechetkin V.R., Zubtsova Z.I., Tsybul'skaya M.V., Samokhina L.O., Vinnitskii L.I., Ragimov A.A., Pozharitskaya E. I., Grigor'eva G.A., Meshalkina N.Y., Golysheva S.V., Shilova N.V., Bovin N.V., Zasedatelev A.S., Rubina A.Y. Multiplex determination of serological signatures in the sera of colorectal cancer patients using hydrogel biochips. *Cancer Med.*, 2016, Vol. 5, no. 7, pp. 1361-1372.
5. D'Alessandro M., Mariani P., Lomanto D., Bachetoni A., Speranza V. Alterations in serum anti- α -galactosyl antibodies in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Clin. Immunol.*, 2002, Vol. 103, no. 1, pp. 63-68.
6. Hensel F., Timmermann W., von Rahden B.H.A., Rosenwald A., Brandlein S., Illert B. Ten-year follow-up of a prospective trial for the targeted therapy of gastric cancer with the human monoclonal antibody PAT-SC1. *Oncol. Rep.*, 2014, Vol. 31, no. 3, pp. 1059-1066.
7. Huflejt M.E., Vuskovic M., Vasiliu D., Xu H., Obukhova P., Shilova N., Tuzikov A., Galanina O., Arun B., Lu K., Bovin N. Anti-carbohydrate antibodies of normal sera: findings, surprises and challenges. *Mol. Immunol.*, 2009, Vol. 46, no. 15, pp. 3037-3049.
8. Jacob F., Goldstein D.R., Bovin N.V., Pochechueva T., Spengler M., Caduff R., Fink D., Vuskovic M.I., Huflejt M.E., Heinzelmann-Schwarz V. Serum antiglycan antibody detection of nonmucinous ovarian cancers by using a printed glycan array. *Int. J. Cancer*, 2012, Vol. 130, no. 1, pp. 138-146.
9. Kurtenkov O. Profiling of naturally occurring antibodies to the thomsen-friedenreich antigen in health and cancer: the diversity and clinical potential. *Biomed Res. Int.*, 2020, Vol. 2020, pp. 1-12.
10. Maverakis E., Kim K., Shimoda M., Gershwin M.E., Patel F., Wilken R., Raychaudhuri S., Ruhaak L.R., Lebrilla C.B. Glycans in the immune system and the altered glycan theory of autoimmunity: a critical review. *J. Autoimmun.*, 2015, Vol. 57, pp. 1-13.
11. Smorodin E.P., Sergeyev B.L., Kurtenkov O.A. The Characterization of IgG Antibodies to GalNAc beta-terminated glycans of gastric cancer survivors. *Exp. Oncol.*, 2014, Vol. 36, no. 1, pp. 38-43.
12. Smorodin E., Sergeyev B., Klaamas K., Chuzmarov V., Kurtenkov O. The relation of the level of serum Anti-TF β , -Tn and -Alpha-Gal IgG to survival in gastrointestinal cancer patients. *Int. J. Med. Sci.*, 2013, Vol. 10, no. 12, pp. 1674-1682.
13. Sukhikh G.T., Ziganshina M.M., Nizyaeva N.V., Kulikova G.V., Volkova J.S., Yarotskaya E.L., Kan N.E., Shchyogolev A.I., Tyutyunnik V.L. Differences of glycocalyx composition in the structural elements of placenta in preeclampsia. *Placenta*, 2016, Vol. 43, pp. 69-76.
14. Tupitsyn N.N., Udalova Y.A., Galanina O.E., Kadagidze Z.G., Borovkova N.B., Podolsky V.V., Shinkarev S.A., Gadetskaya N.A., Letyagin V.P., Obukhova P.S., Shilova N.V., Subbotina A.A., Bovin N.V. Tumor-associated glycan lewis c in breast cancer. *Immunol. Hemopoiesis*, 2009, Vol. 2, pp. 45-54.

15. von Gunten S., Smith D.F., Cummings R.D., Riedel S., Miescher S., Schaub A., Hamilton R.G., Bochner B.S. Intravenous immunoglobulin contains a broad repertoire of anticarbohydrate antibodies that is not restricted to the IgG2 subclass. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, Vol. 123, no. 6, pp. 1268-1276.
16. Vuskovic M.I., Xu H., Bovin N.V., Pass H.I., Huflejt M.E. Processing and analysis of serum antibody binding signals from printed glycan arrays for diagnostic and prognostic applications. *Int. J. Bioinform. Res. Appl.*, 2011, Vol. 7, no. 4, pp. 402-426.
17. Willison H.J. Glycoconjugates and neuroimmunological diseases. *Adv. Neurobiol.*, 2014, Vol. 9, pp. 543-566.
18. Ziganshina M.M., Pavlovich S.V., Bovin N.V., Sukhikh G.T. Hyaluronic acid in vascular and immune homeostasis during normal pregnancy and preeclampsia. *Acta Naturae*, 2016, Vol. 8, no. 3, pp. 59-71.

Авторы:

Шилова Н.В. — к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»; старший научный сотрудник лаборатории химии углеводов ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Бовин Н.В. — д.х.н., профессор, руководитель лаборатории химии углеводов ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Нокель А.Ю. — к.х.н., научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»; научный сотрудник ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Москва, Россия

Зиганшина М.М. — к.б.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова», Москва, Россия

Хасбиуллина Н.Р. — к.б.н., научный сотрудник ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова», Москва, Россия

Вускович Марко — профессор, ведущий сотрудник департамента компьютерных наук, Государственный университет Сан-Диего, Сан-Диего, США

Хуфлейт Маргарет Элизабет — к.б.н., научный сотрудник департамента общественного здоровья, факультет наук о здоровье, Медицинский колледж, Университет Вармия и Мазури, Ольштын, Польша

Authors:

Shilova N.V., PhD (Chemistry), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunology, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology; Senior Research Associate, Laboratory of Carbohydrate Chemistry, Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Bovin N.V., PhD, MD (Chemistry), Professor, Head, Laboratory of Carbohydrate Chemistry, Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Biochemistry, Moscow, Russian Federation

Nokel A.Yu., PhD (Chemistry), Research Associate, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology; Research Associate, Shemyakin—Ovchinnikov Institute of Bioorganic Biochemistry, Moscow, Russian Federation

Ziganshina M.M., PhD (Biology), Leading Research Associate, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Khasbiullina N.R., PhD (Biology), Research Associate, V. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russian Federation

Vuskovic Marko, Professor, Leading Research Associate, Department of Computer Science, San Diego State University, San Diego, USA

Huflejt Margaret Elisabeth, PhD (Biology), Research Associate, Department of Public Health, Faculty of Health Sciences, Collegium Medicum, University of Warmia and Mazury, Olsztyn, Poland