ГЕНЕТИКА, 2025, том 61, № 6, с. 82–92

ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

УДК 577.215.3

МИКРОМАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2025 г. В. И. Минина[1, 2], Р. А. Титов[1, 2], В. Ю. Буслаев[1, *], Р. Р. Савченко[3], А. А. Слепцов[3], М. Л. Баканова[1, 4], Н. А. Гавринева[2], М. В. Катанахова[1], А. Н. Глушков[1]

[1]*Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук, Кемерово, 650000 Россия*

[2]*Кемеровский государственный университет, Кемерово, 650000 Россия*

[3]*Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томск, 634050 Россия*

[4]*Кемеровский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, 650000 Россия*

**e-mail: vladislasbus2358@yandex.ru*

Поступила в редакцию 20.12.2024 г.
После доработки 22.01.2025 г.
Принята к публикации 24.01.2025 г.

Рак молочной железы занимает первое место по показателям смертности и заболеваемости у женщин. В постгеномный период было обнаружено, что развитие патологии связано с особенностями экспрессии генов, включая транскрипционную, посттранскрипционную, трансляционную и эпигенетическую регуляцию. В исследование был включен биоматериал 16 человек (8 пациенток с диагнозом люминальный А-тип рака молочной железы, I/II стадии и 8 здоровых женщин). Функциональный анализ обогащения с использованием ресурса WebGestalt и различных баз данных (GeneOntology, KEGG) указал на изменение экспрессии генов, вовлеченных в процессы иммунологического ответа, метаболизма углеводов, глутатиона и никотинамида, репарации ДНК, ионного транспорта и передачи внутриклеточных сигналов. Полученные результаты расширяют представления об особенностях транскриптома мононуклеаров крови при раке молочной железы ранней стадии.

Ключевые слова: рак молочной железы, люминальный А-тип, транскриптом, микроматричный анализ, лимфоциты периферической крови.

DOI: 10.31857/S0016675825060073 **EDN:** SWDLZI

Рак молочной железы (**РМЖ**) является самым распространенным онкологическим заболеванием у женщин, представляющим большую опасность. За 2022 г. было зарегистрировано около 2.3 млн случаев и 670 000 смертей в мире. РМЖ возникает и развивается в результате действия как внутренних, так и внешних факторов. Было показано, что от 5 до 10% случаев данной патологии связаны с семейной историей и генетической предрасположенностью (такие как мутации BRCA), а остальные случаи связаны с репродуктивными факторами (такими как раннее менархе, поздняя менопауза), женскими гормонами, образом жизни (например, постменопаузальное ожирение и употребление алкоголя, физическая инертность), с наличием гистологических поражений (таких как атипичная гиперплазия), с факторами окружающей среды и профессиональной деятельности [1, 2].

Классификация РМЖ основана на экспрессии молекулярных маркеров-рецепторов к гормонам или определенных генов. Таким образом, выделяют ER-эстрогеновый или люминальный, ассоциированный с экспрессией гена *HER*, и PR-прогестероновый (позитивные и негативные формы). В случае отсутствия экспрессии всех трех маркеров РМЖ классифицируется как тройной негативный. Учитывая литературные данные, самыми распространенными являются люминальные формы РМЖ [3]. Более ранние исследования молекулярного портрета рака молочной железы человека дополнительно разделили люминальные эпителиальные/ER+ опухоли на две подгруппы

(люминальные A и B) на основе профилей экспрессии генов, которые показали различные клинические результаты [4].

Люминальные опухоли A демонстрируют высокую экспрессию генов, связанных с ER, и низкую пролиферацию, в то время как люминальные опухоли B характеризуются обратными эффектами. Сложность дальнейшей классификации связана с существованием внутриопухолевой гетерогенности, которая обусловлена вариациями популяций клеток с различными генетическими, эпигенетическими, транскриптомными или фенотипическими профилями в пределах опухолевого поражения [5].

Развитие методов высокопроизводительного секвенирования позволило внедрить новые подходы по изучению молекулярной структуры РМЖ. Для скрининга рака решающее значение имеет выявление очень ранних системных изменений в организме. В данном случае существенную пользу может принести простой (по сравнению с биопсией тканей), экономически эффективный и минимально инвазивный анализ периферической крови, где можно обнаружить множество биомаркеров с клинически полезной информацией, таких как циркулирующие опухолевые клетки, циркулирующая опухолевая ДНК, внеклеточные везикулы, бесклеточные микроРНК (cfmiRNA), маркеры метилирования и другие [6, 7].

В настоящее время как ценный источник малоинвазивных биомаркеров РМЖ рассматривают транскриптом циркулирующих клеток крови. Учитывая, что мононуклеары крови включают иммунные клетки крови, которые опосредуют иммунный ответ хозяина на опухолевые клетки, профилирование периферической крови может быть полезным для оценки реакции организма хозяина на опухолеобразование и дает возможность для минимально инвазивного раннего обнаружения рака (даже до развития клинических симптомов). Например, сообщалось, что периферические ядросодержащие клетки крови пациентов с РМЖ сверхэкспрессируют ряд провоспалительных факторов, таких как CXCL1, CXCL2, CXCR4, CCL3, CCL4, IL-8 и другие [8].

Показатели экспрессии генов могут быть клинически полезны для обнаружения и характеристики первичных опухолей тканей, для прогнозирования рака и для мониторинга или предсказания эффективности терапии [9]. Был проведен ряд исследований транскриптома крови пациентов с трижды негативным РМЖ [10, 11], опубликованы отдельные работы, посвященные люминальным формам РМЖ [12, 13]. Однако в большинстве своем они были сфокусированы на обосновании классификации РМЖ в соответствии с профилями экспрессии генов, участвующих в таких процессах, как сигнализация иммунных клеток и цитокинов, процессинг и презентация антигенов, а также сигнализация через основные пути передачи иммунного сигнала. Остается неясной роль других биологических процессов в ходе возникновения и протекания заболевания.

Цель данного исследования – анализ транскриптома крови у больных люминальной A-формой РМЖ и общая характеристика биологических процессов и сигнальных путей, связанных с данной формой РМЖ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Данное исследование проводилось на базе лаборатории цитогенетики Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, лаборатории геномной медицины кафедры генетики и фундаментальной медицины Кемеровского государственного университета (г. Кемерово, Россия) и в центре коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук (г. Томск, Россия). В экспериментальном исследовании были использованы образцы периферической крови восьми женщин с диагнозом РМЖ (люминальная форма A) и восьми контрольных образцов.

Критерии включения: женщины, возраст 50–60 лет (медиана 55 лет), европеоиды, некурящие, менопауза, 1-я или 2-я стадия люминального A-РМЖ, без признаков метастазирования на момент обследования. В качестве контроля использовались образцы крови женщин европейского происхождения близкого возраста (медиана 55 лет), в менопаузе, проживающих в той же местности, некурящих, прошедших полное обследование профильными специалистами, которое не выявило признаков онкологических заболеваний. Все пациенты заполнили информационное согласие об участии в эксперименте.

Выделение РНК

Отбор проб периферической крови проводился квалифицированным медицинским персоналом в стерильных условиях на базе стационара. После помещения крови в пробирки с ЭДТА образцы немедленно доставлялись в лабораторию. Стабилизацию РНК в образцах проводили с помощью RNAlater/RNAStabilizationReagent (Qiagen, Германия). Мононуклеары выделяли в градиенте плотности раствора фиколла (плотность 1.077 г/см^3 ООО НПП «ПанЭко»). Тотальную РНК выделяли, используя реагент «TRIzol» (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Для оценки качества выделенной РНК использовали биоанализатор «Agilent

2100 Bioanalyzer» (AgilentTechnologies, США) и параметр RIN (RNA Integrity Number – показатель целостности РНК). Образцы с показателями RIN ⩾ 7 были использованы для дальнейшего микроматричного анализа.

Микроматричный анализ

Одноцветный микроматричный анализ проводили на базе ЦКП «Медицинская геномика» Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Использовались экспрессионные микрочипы SurePrint G3 HumanUnrestricted 8×60K (Agilent Technologies). Согласно протоколу производителя (версия 6.9.1) были проведены этапы мечения и гибридизации. Программа Feature Extraction ver. 10.3.7.1 (Agilent, США) была использована для обработки сигнала от микрочипов. Расчет показателей дифференциальной экспрессии осуществлялся в программах «limma» и «tydiverse» с помощью статистической среды R (ver. 4.4.1). Значения p-value были скорректированы для множественных тестов с использованием метода Беньямини–Хохберга. $|logFC| > 1$ и $p_{adj} < 0{,}05$ были использованы в качестве пороговых значений.

Анализ функционального обогащения генов

Дальнейший анализ проводился в программе WebGestalt, с использованием методов Overrepresentation analysis (ORA) и Network topology analysis (NTA) для оценки функционального обогащения генов. Gene Ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) и TGCARefSeq (BRCA) были использованы в качестве референсных баз данных. Метод ORA и база данных GeneOntology использовались для установления основных биологических путей, в которых задействованы гены, установленные в ходе микроматричного анализа транскриптома. Ресурсы базы данных KEGG позволили установить основные сигнальные биологические пути с наибольшими показателями функционального обогащения и ассоциированные с ними наборы генов. Метод NTA, а также ресурсы TGCARefSeq (BRCA) применялись для построения белковых сетей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полнотранскриптомный микроматричный анализ позволил установить наличие 4176 уникальных дифференциально-экспрессирующихся генов (**ДЭГ**) с различиями на уровне экспрессии более чем в 1.5 раза (табл. 1). Для дальнейшего анализа использовалась информация, полученная с проб для транскриптов известных белок-кодирующих генов человека (на основе базы данных EntrezGene – https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene) с показателями $LogFC > |1.5$, $p < 0.05$). Среди них было идентифицировано 193 гена с повышенной экспрессией и 192 – со сниженной экспрессией.

После применения метода ORA на основе GeneOntology (GO) в программе WebGestalt были выявлены основные биологические пути для генов с дифференциальной экспрессией. Для группы генов с повышенной экспрессией: негативная регуляция гуморального иммунного ответа (GO:0002924), отрицательная регуляция активации факторов комплемента (GO:0045916), отрицательная регуляция каскада активации белков (GO:2000258), ионный транспорт и его регуляция (GO:0006811, GO:0043269, GO:0034765), сигнальный путь рецептора к глутамату (GO:0007215), регуляция активности к NMDA-рецептору (GO:2000310).

Для генов с пониженной экспрессией: отрицательная регуляция дифференцировки тучных

Таблица 1. Общие результаты микроматричного анализа транскриптома у больных РМЖ ($p < 0.05$)

LogFC	Показатель	Гены с повышенной экспрессией в опытной группе	Гены со сниженной экспрессией в опытной группе	Все дифференциально-экспрессирующиеся гены
LogFC > |0.6|	Число проб на чипе	2456	1888	4344
	Число уникальных транскриптов	2456	1888	4344
	Число уникальных генов	2333	1843	4176
LogFC > |1.0|	Число проб на чипе	1346	1068	2414
	Число уникальных транскриптов	1346	1068	2414
	Число уникальных генов	1272	1036	2308

Примечание. logFC – log2-трансформированные значения кратности различий экспрессии генов между группами.

клеток (GO:0045599), репарация двойных разрывов посредством гомологичной рекомбинации (GO:0000724, GO:0000725), морфогенез пищеварительного тракта (GO:0048546, GO:0007442, GO:0061525), метаболизм флавин-содержащих соединений (GO:0042726, GO:0006771), сигнальный путь рецептора к тахикинину (GO:0007217), регуляция сплайсинга мРНК через сплайсосому (GO:0048024).

Для выделения сигнальных путей (hsa) с наибольшим уровнем функционального обогащения и ассоциированных с ними наборов генов использовался метод NTA и база данных KEGG. Сигнальные пути с повышенной экспрессией были представлены различными метаболическими процессами, реабсорбцией ионов, а также функционированием системы комплемента (табл. 2). Пониженная экспрессия была характерна для сигнальных путей, ассоциированных с кардиомиопатией, метаболизмом разных биологически активных соединений, а также с проведением внутриклеточных и рецепторных сигналов (табл. 3).

На основе ресурсов базы данных TCGARefSeq (BRCA) были построены белковые сети для генов с разным уровнем экспрессии (рис. 1, 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые с использованием микроматричного анализа транскриптома было проведено изучение дифференциальной экспрессии белок-кодирующих генов в мононуклеарах периферической крови у пациентов с ранней стадией люминального АРМЖ. Большинство современных исследований в данной области сфокусировано на анализе тканей опухолей пациентов. Результаты экспериментальных исследований профилей экспрессии генов при РМЖ весьма разнородны и представлены в таких базах, как Gene Expression Omnibus (GEO), Genotype-Tissue Expression (GTEx) project, the Cancer Genome Atlas (TCGA).

Наряду с высокой информативностью основным ограничением таких работ являются высокая внутриопухолевая гетерогенность и инвазивность забора биоматериала. Более доступно изучение транскриптома клеток периферической крови

Таблица 2. Сигнальные пути с повышенной экспрессией у больных РМЖ, установленные с помощью базы данных KEGG

Сигнальный путь	Описание	Гены	Уровень функционального обогащения	*p*-value
hsa00052	Метаболизм галактозы	*MGAM*, *MGAM 2*	6.4260	0.038330
hsa00512	Биосинтез о-гликанов (муцина)	*GALNT9* *GALNT14*	6.4260	0.038330
hsa00500	Метаболизм крахмала и сахарозы	*MGAM* *MGAM 2*	5.5335	0.050300
hsa05134	Легионелез	*CR1* *EEF1A1* *NLRC4*	5.4329	0.017543
hsa04960	Реабсорбция натрия под действием альдостерона	*NEDD4L* *SCNN1A*	5.3839	0.052837
hsa00480	Метаболизм глутатиона	*CHAC1* *GGT5* *GPX3*	5.3359	0.018405
hsa04610	Каскад системы комплемента и факторов коагуляции	*C4BPA* *C5AR1* *CR1*	3.7824	0.044637
hsa04974	Расщепление и абсорбция белков	*COL18A1* *MME* *SLC8A1*	3.3201	0.061396
hsa04550	Регуляция плюрипотентности стволовых клеток	*FGFR4* *ID1* *INHBB* *PCGF2*	2.8663	0.050581

Таблица 3. Сигнальные пути с пониженной экспрессией у больных РМЖ, установленные с помощью базы данных KEGG

Сигнальный путь	Описание	Гены	Уровень функционального обогащения	*p*-value
hsa00740	Метаболизм рибофлавина	*ENPP1*, *RFK*	26.344	0.0023593
hsa00471	Метаболизм D-глутамина и D-глутамата	*GLS2*	21.075	0.046569
hsa00440	Метаболизм фосфината и фосфинатата	*SELENOI*	17.563	0.055623
hsa00760	Метаболизм никотиновой кислоты и никотинамида	*ENPP1*, *NMNAT3*	7.0251	0.032543
hsa04512	Взаимодействие с ECM-рецептором	*DAG1*, *LAMA2*, *LAMC3*, *THBS4*	5.1403	0.0074540
hsa04623	Сигнальный путь цитозольной ДНК	*POLR2F*, *IFNB1*, *CXCL10*	5.0179	0.021657
hsa05412	Аритмогенная кардиомиопатия	*LAMA2*, *DAG1*, *CACNA1C*	4.3907	0.030630
hsa04742	Проведение сигнала от вкусовых рецепторов	*TAS2R40*, *TAS2R4*, *CACNA1C*	3.8088	0.043865
hsa05414	Дилатационная каридиомиопатия	*LAMA2*, *DAG1*, *CACNA1C*	3.5126	0.053548

онкологических больных, который отражает глобальные перестройки экспрессии генов, происходящие в организме при формировании солидных опухолей. Например, ранее при аналогичном исследовании транскриптома мононуклеаров крови у больных раком легкого нами была установлена значимость генов, вовлеченных в иммунологический ответ, синтез белка и клеточный цикл [14].

Сигнатуры экспрессии генов в периферической крови пациентов с РМЖ были связаны с ранним обнаружением опухолей [15, 16], прогнозированием метастазов [17] или реакцией на терапию [18]. Однако кровь включает в себя большой спектр сигнальных молекул, и оценка их изменений на ранних этапах РМЖ по-прежнему представляет собой большой интерес.

В настоящем исследовании у больных РМЖ было выявлено изменение экспрессии генов, вовлеченных в процессы ионного транспорта и передачи внутриклеточных сигналов, метаболизма рибофлавина, углеводов, глутатиона и никотинамида. Было выявлено снижение экспрессии генов (*LAMA2, DAG1, CACNA1C*), которые вовлечены в сигнальные пути, ассоциированные с разными видами кардиомиопатий (аритмогенных и дилатационных). Также было выявлено обогащение генов иммунного ответа. Например, таких как *C5AR1* и *CXCL10*, изменение экспрессии которых в мононуклеарах крови ранее было описано у больных раком легкого [14].

Установленные в ходе настоящего исследования гены были ранее изучены в других научных работах. Так, было показано, что регуляция метаболизма галактозы позволяет поддерживать жизнеспособность клеток РМЖ [19]. Глюкоамилазы MGAM (7q34) и MGAM 2 через регуляцию иммунологического ответа способствуют лучшей выживаемости пациентов при базальном типе РМЖ [20]. Эффектами метастатического развития обладает трансфераза GALNT9 (12q24.33) [21]. Схожими эффектами также отличается GALNT14 (2p23.1), которая участвует в развитии легочных метастазов [22].

Метаболизм глутатиона может выполнять как негативные, так и терапевтически полезные функции относительно развития многих опухолей. В частности, при РМЖ, связанном с мутированным сигнальным путем PI3K/AKT/mTOR, нарушается биосинтез глутатиона [23]. У пациентов с РМЖ

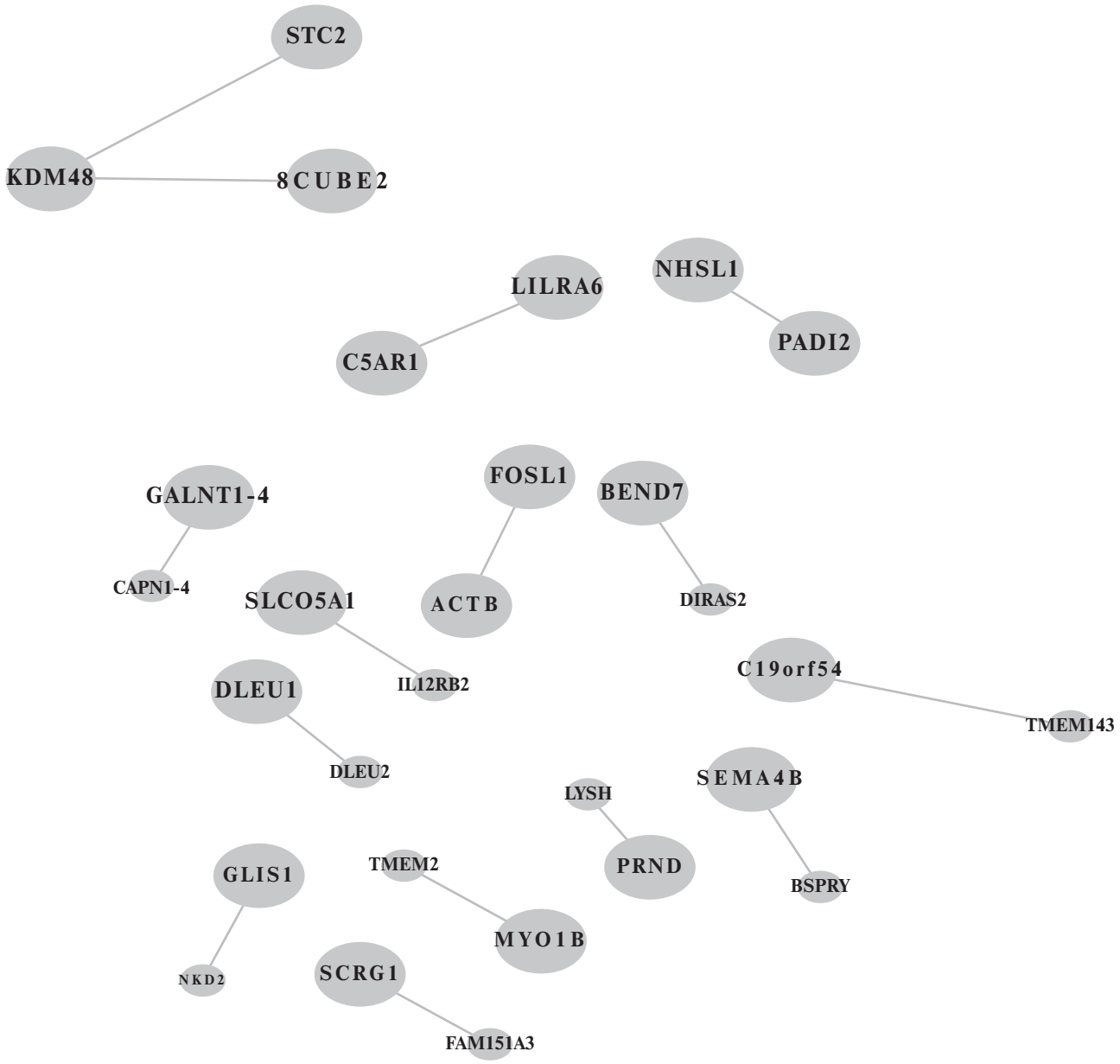

Рис. 1. Белковая сеть для генов с повышенной экспрессией на основе базы данных TCGARefseq (BRCA).

глутатион адипоцитов может способствовать росту и инвазии опухолевых клеток [24]. Повышенная экспрессия компонента катионного транспорта CHAC1 (15q15.1) понижает показатели выживаемости пациентов [25]. Повышенная активность глутатионпероксидазы GPX3 (5q33.1) блокирует прогрессирование клеток опухоли *in vitro* [26].

Рибофлавин рассматривается как потенциальный маркер для оценки резистентности к РМЖ у здоровых пациентов [27]. Активность эктопирофосфатаз/фосфодиэстераз расстраивается на примере многих опухолевых заболеваний. Подавление активности гена *ENPP1* (6q23.2) как в опухолевых, так и в нормальных тканях способствует прогрессированию опухолеобразования и метастазирования при РМЖ [28].

Развитие РМЖ тесно связано с функционированием факторов иммунной системы организма [29]. Для всех видов опухолей наиболее характерна сниженная экспрессия *EEF1A1* (6q13) [30]. В то же время отмечено, что повышенная экспрессия наиболее характерна для пациентов с более поздними стадиями РМЖ и наименьшими показателями выживаемости. Являясь компонентом инфламмасомы, NLRC4 (2p22.3) участвует в инфильтрации факторов иммунитета и прогрессировании опухоли [31].

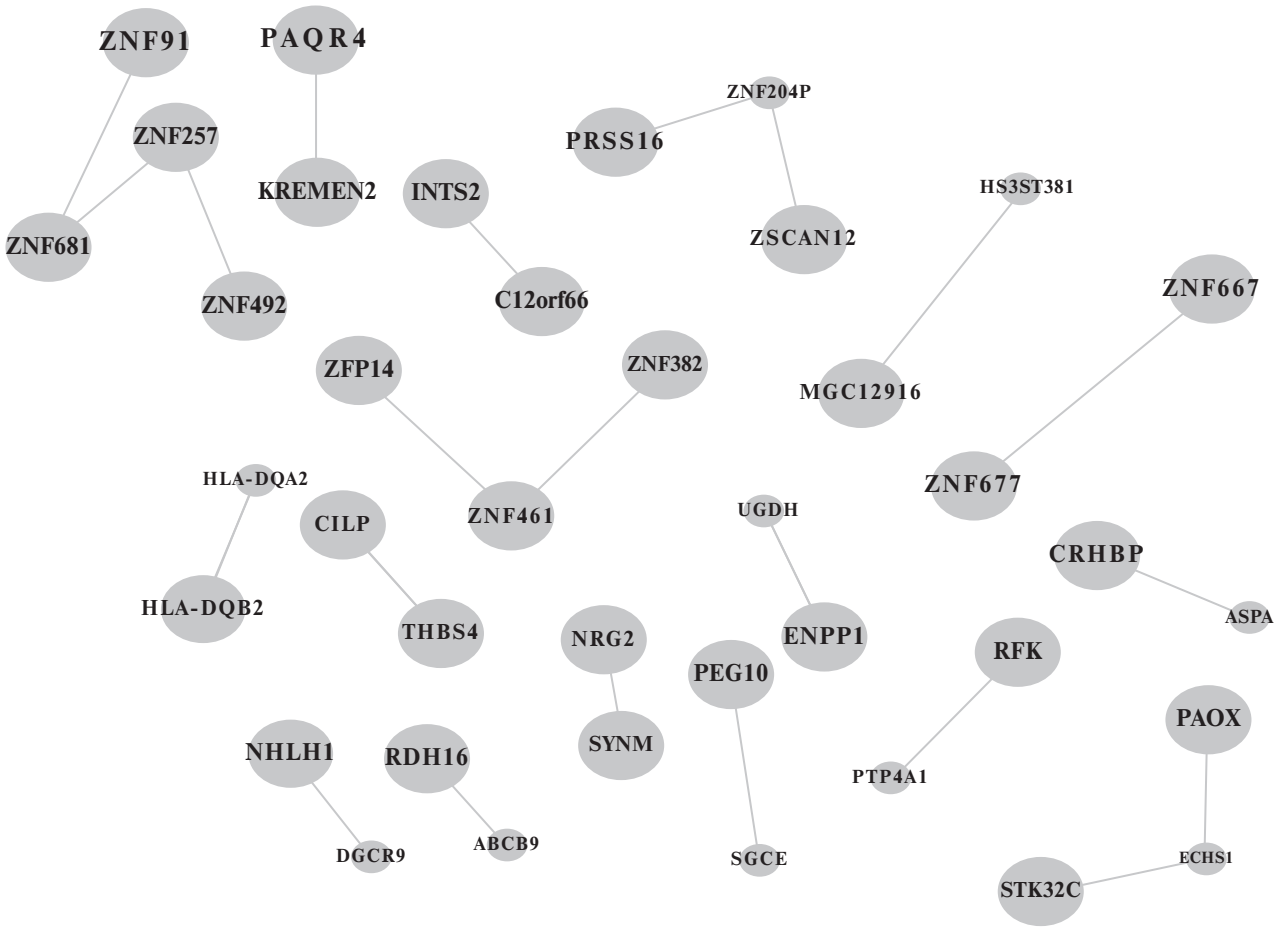

Рис. 2. Белковая сеть для генов с пониженной экспрессией на основе базы данных TCGARefseq (BRCA).

Высокий уровень C5aR1 (19q13.32) ассоциирован с нечувствительностью к иммунотерапии РМЖ [32]. Для фактора C4BPA (1q32.2) было отмечено значительное понижение экспрессии в составе опухолей относительно нормальных тканей [33]. Иммунологическое микроокружение опухоли играет одну из ключевых ролей в прогрессировании РМЖ. Синтез транскриптов CXCL10 (4q21.1) положительно коррелирует с уровнем инфильтрации лимфоцитов в опухоль [34]. Метаболизм никотинамида влияет на особенности иммунотерапии РМЖ, а также на дальнейший прогноз развития болезни [35].

В контексте возможностей развития РМЖ рассматриваются особенности функционирования натриевых каналов. Нарушение гомеостаза ионов натрия и калия в составе клеток опухоли РМЖ модулирует гликолиз [36]. Отмечено влияние употребления пищи с высоким содержанием соли на рост и прогрессирование опухоли [37]. Особенности десорбции ионов натрия находятся под контролем убиквитин-лигаз.

Известно, что E3 убиквитин-лигаза NEDD4L (18q21.31) подавляет развитие метастазов РМЖ [38]. Ввиду наличия биоактивных белков резистентности необходимо учитывать особенности их метаболизма. Ген *COL18A1* (22q22.3) рассматривался как прогностический биомаркер РМЖ при изучении количества его копий [39]. Ранее в составе опухолей РМЖ была отмечена пониженная экспрессия мембранной металлоэндопептидазы MME (3q25.2), что определяло резистентность к химиотерапии [40].

Учитывая особенности опухолевых клеток к регенерации, факторы дифференцировки могут играть значимую роль относительно риска РМЖ. Фактор роста фибробластов FGFR4 (5q35.2) может быть связан с прогрессированием и выживаемостью клеточных линий РМЖ [41]. Повышенная экспрессия ингибитора дифференцировки ID1 (20q11.21) в составе клеточных линий РМЖ способствует усилению агрессивного течения и метастазированию [42].

Актуальным вопросом является изучение связи риска возникновения РМЖ и заболеваний сердечно-сосудистой системы. Была выявлена взаимосвязь между возрастом пациентов с диагнозом РМЖ и риском развития сердечной недостаточности [43].

В подобных патологических процессах может быть задействован ген *LAMA2* (Laminin Subunit Alpha 2), который связан с врожденной мышечной дистрофией, а также способен влиять на сигнальный путь MAPK, влияя на злокачественные характеристики клеток РМЖ [44] и на желудочковую тахикардию, связанную с ишемической болезнью сердца и кардиомиопатией.

Проведение внутриклеточных сигналов может играть ключевую роль в развитии многих опухолевых патологий. На примере тройного негативного РМЖ было отмечено накопление цитозольной ДНК, которая способствовала инфильтрации лимфоцитов в опухоль [45]. Прогрессирование опухолей РМЖ также связано с нарушением передачи сигналов от внутриклеточного матрикса по причине дисрегуляции белков ECM [46]. В частности, к ним относится ген вкусового рецептора *TAS2R4* (7q.34). Была отмечена его пониженная экспрессия в составе клеточных линий РМЖ при сопоставлении с неопухолевыми тканями [47]. В исследованиях также было отмечено, что особенности экспрессии тромбосподина THBS4 (5q14.1) в большей степени ассоциированы с активностью внутриклеточного матрикса [48].

Использование метода NTA в настоящем исследовании позволило охарактеризовать взаимодействия генов на уровне белковых продуктов. Среди факторов с повышенной экспрессией был выявлен кластер, ассоциированный с рецепторами к гормонам (KDM4B, STC2, SCUBE2). Пониженная экспрессия оказалась характерна в основном для белков с цинковыми пальцами (ZNF91, ZNF684, ZNF257, ZNF492); (ZFP14, ZNF461, ZNF482); (ZNF204P, ZSCAN12, PRSS16). В настоящее время исследованию протеома при РМЖ уделяется большое внимание. Например, особенности функционирования белков с наличием цинковых пальцев чрезвычайно важны для развития РМЖ, так как они могут участвовать в развитии апоптоза, регуляции хеморезистентности, пролиферации, миграции и инвазии клеток опухоли [49, 50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительные успехи иммунотерапии, высокая смертность, связанная с РМЖ, обосновывает необходимость поиска новых биомаркеров, терапевтических молекул и молекулярных терапевтических мишеней для разработки методов ранней диагностики и эффективного лечения. Идентификация ведущих генных мишеней, связанных с фенотипами рака ранних стадий, имеет важное значение для разработки успешной терапии.

В настоящем исследовании впервые было показано изменение уровня экспрессии генных кластеров в клетках крови больных РМЖ люминального А-типа ранней стадии. Полученный результат объясним с позиций известной функциональной значимости генов, задействованных во множестве метаболических и регуляторных процессов. В первую очередь это процессы: метаболизм углеводов, глутатиона, никотинамида, ионного транспорта и передачи внутриклеточных сигналов, а также процессы репарации ДНК и иммунологического ответа. Данный результат согласуется с выводами работ, выполненных ранее непосредственно на опухолевых клетках тканей молочной железы и клетках цельной крови пациентов с РМЖ.

Важно верифицировать полученные результаты на большей по объему выборке с помощью других методов (например, оценить экспрессию генов с помощью количественной ПЦР). Представляется целесообразным детально исследовать ДЭГ в субпопуляциях мононуклеаров крови и оценить их роль в развитии РМЖ. Предстоит оценить перспективность применения выявленных молекулярных сигнатур в системе ранней диагностики и профилактики РМЖ.

Работа выполнена в рамках государственного задания АААА-А21-121011590009-9 «Иммуно-гормональные взаимодействия при раке молочной железы».

Исследование одобрено Этическим комитетом ФИЦ УУХ СО РАН от 04.04.2024 г., протокол № 15.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Obeagu E.I., Obeagu G.U.* Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis // Medicine. 2024. V. 103. № 3. P. 1–6. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000036905
2. *Sun Y.S., Zhao Z., Yang Z.N. et al.* Risk factors and preventions of breast cancer // Int. J. Biol. Sci. 2017. V. 13. № 11. P. 1387–1397. https://doi.org/10.7150/ijbs.21635
3. *Ignatiadis M., Sotiriou C.* Luminal breast cancer: From biology to treatment // Nat. Rev. Clin. Oncol. 2013. V. 10. № 9. P. 494–506. https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2013.124
4. *Cancer Genome Atlas Network*. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours // Nature. 2012. V. 490. № 7418. P. 61–70. https://doi.org/10.1038/nature11412

5. *Turner K.M., Yeo S.K., Holm T.M. et al.* Heterogeneity within molecular subtypes of breast cancer // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2021. V. 321. № 2. P. 343–354. https://doi.org/10.1152/ajpcell.00109.2021
6. *Markou A., Tzanikou E., Lianidou E.* The potential of liquid biopsy in the management of cancer patients // Seminars in Cancer Biology. 2022. V. 84. P. 69–79. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.03.013
7. *Li J., Guan X., Fan Z. et al.* Non-invasive biomarkers for early detection of breast cancer // Cancers. 2020. V. 12. № 10. P. 2767–2795. https://doi.org/10.3390/cancers12102767
8. *Balacescu O., Balacescu L., Virtic O. et al.* Blood Genome-wide transcriptional profiles of *HER2* negative breast cancers patients // Mediators Inflamm. V. 2016. № 2016. https://doi.org/10.1155/2016/3239167
9. *Čelešnik H., Potočnik U.* Peripheral blood transcriptome in breast cancer patients as a source of less invasive immune biomarkers for personalized medicine, and implications for triple negative breast cancer // Cancers (Basel). 2022. V. 14. № 3. P. 591–612. https://doi.org/10.3390/cancers14030591
10. *Jiang Y.Z., Ma D., Suo C. et al.* Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: Subtypes and treatment strategies // Cancer Cell. 2019. V. 35. № 3. P. 428–440. https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.02.001
11. *Chen Q., Liu Y., Gao Y. et al.* A comprehensive genomic and transcriptomic dataset of triple-negative breast cancers // Sci. Data. 2022. V. 9. № 1. P. 587–598. https://doi.org/10.1038/s41597-022-01681-z
12. *Mares-Quiñones M.D., Galán-Vásquez E., Pérez-Rueda E. et al.* Identification of modules and key genes associated with breast cancer subtypes through network analysis // Sci. Rep. 2024. V. 14. № 1. P. 12350–12368. https://doi.org/10.1038/s41598-024-61908-4
13. *Wang C., Lv X., Meng N. et al.* Accurate prognosis of patients with luminal type A and HER-2 overexpressing breast cancer via the partitioning calculation method of the Ki-67 index // World Acad. Sci. J. 2023. V. 5. № 4. P. 21–30. https://doi.org/10.3892/wasj.2023.198
14. *Минина В.И., Дружинин В.Г., Ларионов А.В. и др.* Микроматричный анализ транскриптома мононуклеаров периферической крови у больных раком легкого // Генетика. 2022. Т. 58. № 7. С. 798–807. https://doi.org/10.31857/S0016675822070128
15. *Sharma P., Sahni N.S., Tibshirani R. et al.* Early detection of breast cancer based on gene-expression patterns in peripheral blood cells // Breast Cancer Res. 2005. V. 7. № 5. P. 634–644. https://doi.org/10.1186/bcr1203
16. *Aarøe J., Lindahl T., Dumeaux V. et al.* Gene expression profiling of peripheral blood cells for early detection of breast cancer // Breast Cancer Res. 2010. V. 12. № 1. P. 1–11. https://doi.org/10.1186/bcr2472
17. *Zuckerman N.S., Yu H., Simons D.L. et al.* Altered local and systemic immune profiles underlie lymph node metastasis in breast cancer patients // Int. J. of Cancer. 2013. V. 132. № 11. P. 2537–2547. https://doi.org/10.1002/ijc.27933
18. *Whiteside T.L.* Regulatory T cells ubsetsin human cancer: Are the regulating for oragains t tumorp rogression? // Cancer Immunol., Immunotherapy. 2014. V. 63. № 1. P. 67–72. https://doi.org/10.1007/s00262-013-1490-y
19. *Han X., Han B., Luo H. et al.* Integrated multi-omics profiling of young breast cancer patients reveals a correlation between galactose metabolism pathway and poor disease-free survival // Cancers. 2023. V. 15. № 18. P. 4637–4650. https://doi.org/10.3390/cancers15184637
20. *Xu S., Feng Y., Zhao S.* Proteins with evolutionarily hypervariable domains are associated with immune response and better survival of basal-like breast cancer patients // Computational and Struct. Biotechnol. J. 2019. V. 17. P. 430–440. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.03.008
21. *Pangeni R.P., Channathodiyil P., Huen D.S. et al.* The GALNT9, BNC1 and CCDC8 genes are frequently epigenetically dysregulated in breast tumours that metastasise to the brain // Clin. Epigenet. 2015. V. 7. № 1. P. 57–72. https://doi.org/10.1186/s13148-015-0089-x
22. *Song K.H., Park M.S., Nandu T.S. et al.* GALNT14 promotes lung-specific breast cancer metastasis by modulating self-renewal and interaction with the lung microenvironment // Nat. Commun. 2016. V. 7. № 1. P. 13796–13811. https://doi.org/10.1038/ncomms13796
23. *Lien E.C., Lyssiotis C.A., Juvekar A. et al.* Glutathione biosynthesis is a metabolic vulnerability in PI(3)K/Akt-driven breast cancer // Nat. Cell. Biol. 2016. V. 18. № 5. P. 572–578. https://doi.org/10.1038/ncb3341
24. *Zhao C., Zhang T., Xue S. et al.* Adipocyte-derived glutathione promotes obesity-related breast cancer by regulating the SCARB2–ARF1–mTORC1 complex // Cell Metabolism. 2024. V. 1550. № 24. P. 00395–00399. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.09.013
25. *Mehta V., Suman P., Chander H.* High levels of unfolded protein response component CHAC1 associates with cancer progression signatures in malignant breast cancer tissues // Clin. Transl. Oncol. 2022. V. 24. № 12. P. 2351–2365. https://doi.org/10.1007/s12094-022-02889-6
26. *Lou W., Ding B., Wang S., Fu P.* Overexpression of GPX3, a potential biomarker for diagnosis and prognosis of breast cancer, inhibits progression of breast cancer cells *in vitro* //

Cancer Cell Int. 2020. V. 20. № 1. P. 378–393. https://doi.org/10.1186/s12935-020-01466-7

27. *Shen H., Huo R., Zhang Y., et al.* A Pilot Study to assess the suitability of riboflavin as a surrogate marker of breast cancer resistance protein in healthy participants // J. Pharmacol. Exp. Theor. 2024. V. 390. № 2. P. 162–173. https://doi.org/10.1124/jpet.123.002015
28. *Wang S., Böhnert V., Joseph A.J. et al.* ENPP1 is an innate immune checkpoint of the anticancer cGAMP–STING pathway in breast cancer // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2023. V. 120. № 52. P. 1–12. https://doi.org/10.1073/pnas.2313693120
29. *Amens J.N., Bahçecioglu G., Zorlutuna P.* Immune system effects on breast cancer // Cell Mol. Bioeng. 2021. V. 14. № 4. P. 279–292. https://doi.org/10.1007/s12195-021-00679-8
30. *Lin C.Y., Beattie A., Baradaran B. et al.* Contradictory mRNA and protein misexpression of EEF1A1 in ductal breast carcinoma due to cell cycle regulation and cellular stress // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 13904–13916. https://doi.org/10.1038/s41598-018-32272-x
31. *Jin H., Kim H.J.* NLRC4, ASC and caspase-1 are inflammasome components that are mediated by P2Y2R activation in breast cancer cells // IJMS. 2020. V. 21. № 9. P. 3337–3352. https://doi.org/10.3390/ijms21093337
32. *Li X., Poire A., Jeong K.J. et al.* C5aR1 inhibition reprograms tumor associated macrophages and reverses PARP inhibitor resistance in breast cancer // Nat. Commun. 2024. V. 15. № 1. P. 4485–4505. https://doi.org/10.1038/s41467-024-48637-y
33. *Zou J., Chen Y., Ji Z. et al.* Identification of C4BPA as biomarker associated with immune infiltration and prognosis in breast cancer // Transl. Cancer Res. 2024. V. 13. № 1. P. 25–45. https://doi.org/10.21037/tcr-23-1215
34. *Kim M., Choi H.Y., Woo J.W. et al.* Role of CXCL10 in the progression of in situ to invasive carcinoma of the breast // Sci. Rep. 2021. V. 11. № 1. P. 18007–18019. https://doi.org/10.1038/s41598-021-97390-5
35. *Cui H., Ren X., Dai L. et al.* Comprehensive analysis of nicotinamide metabolism-related signature for predicting prognosis and immunotherapy response in breast cancer // Front. Immunol. 2023. V. 14. P. 1145552–1145569. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1145552
36. *Michaels A.M., Zoccarato A., Hoare Z. et al.* Disrupting Na^+ ion homeostasis and Na^+/K^+ ATPase activity in breast cancer cells directly modulates glycolysis *in vitro* and *in vivo* // Cancer Metab. 2024. V. 12. № 1. P. 15–31. https://doi.org/10.1186/s40170-024-00343-5
37. *Chen J., Liu X., Huang H. et al.* High salt diet may promote progression of breast tumor through eliciting immune response // Int. Immunopharmacology. 2020. V. 87. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106816
38. *Zhang M., Zhang Z., Tian X., et al.* NEDD4L in human tumors: Regulatory mechanisms and dual effects on anti-tumor and pro-tumor // Front. Pharmacol. 2023. V. 14. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1291773
39. *Hwang K.T., Chung J.K., Jung I.M., et al.* COL18A1 as the candidate gene for the prognostic marker of breast cancer according to the analysis of the DNA copy number variation by array CGH // J. Breast Cancer. 2010. V. 13. № 1. P. 37–46. https://doi.org/10.4048/jbc.2010.13.1.37
40. *Ding J., Li C., Shu K. et al.* Membrane metalloendopeptidase (MME) is positively correlated with systemic lupus erythematosus and may inhibit the occurrence of breast cancer // PLoS One. 2023. V. 18. № 8. P. 1–15. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289960
41. *Levine K.M., Ding K., Chen L., Oesterreich S.* FGFR4: A promising therapeutic target for breast cancer and other solid tumors // Pharmacology & Therapeutics. 2020. V. 214. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107590
42. *Teo W.S., Nair R., Swarbrick A.* New insights into the role of ID proteins in breast cancer metastasis: A MET affair // Breast Cancer Res. 2014. V. 16. № 2. P. 305–307. https://doi.org/10.1186/bcr3654
43. *Liang J., Pan Y., Zhang W. et al.* Associations of age at diagnosis of breast cancer with incident myocardial infarction and heart failure: A prospective cohort study // eLife. 2024. V. 13. P. 1–13. https://doi.org/10.7554/eLife.95901
44. *Li S., Hu J., Li G. et al.* Epigenetic regulation of LINC01270 in breast cancer progression by mediating LAMA2 promoter methylation and MAPK signaling pathway // Cell Biol. Toxicol. 2023. V. 39. № 4. P. 1359–1375. https://doi.org/10.1007/s10565-022-09763-9
45. *Zhang J., Dai H., Huo L. et al.* Cytosolic DNA accumulation promotes breast cancer immunogenicity via a STING-independent pathway // J. Immunother. Cancer. 2023. V. 11. № 10. P. 1–14. https://doi.org/10.1136/jitc-2023-007560
46. *Oskarsson T.* Extracellular matrix components in breast cancer progression and metastasis // The Breast. 2013. V. 22. P. 66–72. https://doi.org/10.1016/j.breast.2013.07.012
47. *Singh N., Chakraborty R., Bhullar R.P., Chelikani P.* Differential expression of bitter taste receptors in non-cancerous breast epithelial and breast cancer cells // Biochem. Biophys. Res. Communications. 2014. V. 446. № 2. P. 499–503. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.140
48. *McCart Reed A.E., Song S., Kutasovic J.R. et al.* Thrombospondin-4 expression is activated during the

stromal response to invasive breast cancer // Virchows Arch. 2013. V. 463. № 4. P. 535–545. https://doi.org/10.1007/s00428-013-1468-3

49. *Fan J., Zhang Z., Chen H. et al.* Zinc finger protein 831 promotes apoptosis and enhances chemosensitivity in breast cancer by acting as a novel transcriptional repressor targeting the STAT3/Bcl2 signaling pathway // Genes & Diseases. 2024. V. 11. № 1. P. 430–448. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.11.023
50. *Lei T., Zhang W., He Y. et al.* ZNF276 promotes the malignant phenotype of breast carcinoma by activating the CYP1B1-mediated Wnt/β-catenin pathway // Cell Death Dis. 2022. V. 13. № 9. P. 781–796. https://doi.org/10.1038/s41419-022-05223-8

Microarray Analysis of Peripheral Blood Lymphocytes Transcriptome in Breast Cancer Patients

V. I. Minina[a, b], R. A. Titov[a, b], V. Yu. Buslaev[a, *], R. R. Savchenko[c], A. A. Slepcov[c], M. L. Bakanova[a,d], N. A. Gavrineva[b], M. V. Katanakhova[a], A. N. Glushkov[a]

[a]Federal Research Centre of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, 650000 Russia
[b]Kemerovo State University, Kemerovo, 650000 Russia
[c]Tomsk National Research Medical Centre, Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of Medical Genetics, Tomsk, 634050 Russia
[d]Kemerovo State Medical University, Kemerovo, 650000 Russia

**e-mail:vladislasbus2358@yandex.ru*

Breast cancer is number one in terms of indicators of mortality and morbidity in women. In postgenomicera it was revealed that pathology development is linked with specificities of gene expression including transcriptional, posttransctiptional, translational, epigenetical regulation. In research was included biomaterial of 16 patients (8 patients with I/ IIstage luminal A breast cancer and 8 healthy women). Functional enrichment analysis using WebGestalt source and different databases (Gene Ontology, KEGG) showed alterations in expression of genes involved in immunological response, metabolism of carbohydrates, glutathione and nicotinamide, DNA repair, ion transport and intracellular signals transition. Obtained results expand our vision about specificities of blood mononuclears transcriptome during breast cancer on early stage.

Keywords: breast cancer, luminal A type, transcriptome, microarray analysis, lymphocytes of peripheral blood.