

Д.С. Воронін
<https://orcid.org/0009-0008-3278-4045>

Інститут експериментальної
 патології, онкології і радіобіології
 ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
 Київ, Україна

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.03.182>

БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ КЛЮЧОВИХ ФАКТОРІВ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ЕЛАСТИНУ В УМОВНО НОРМАЛЬНІЙ ТА ЗЛОЯКІСНО ТРАНСФОРМОВАНІЙ ТКАНИНІ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найпоширеніших онкологічних захворювань у жінок в усьому світі. Злоякісні новоутворення молочної залози належать до великої гетерогенної групи пухлин, що характеризуються спектром морфологічних ознак, молекулярних підтипів та ступенем агресивності перебігу пухлинного процесу. Сучасні дослідження акцентують увагу на епітеліальному компоненті пухлини та її мікрооточенні, зокрема на фібробластах, які формують позаклітинний матрикс і синтезують структурні волокна, серед яких еластин. Зміни в позаклітинному матриксі, такі як ремоделювання та деградація, що залежать від активності матриксних металопротеїназ (ММР), відіграють ключову роль у прогресуванні РМЗ. **Мета:** систематичний *in silico* аналіз показників експресії та ролі еластину (ELN) при РМЗ різних молекулярних підтипів, з акцентом на пов'язані з активністю ММР-14 регуляторні механізми. **Об'єкт і методи:** дослідження залежності рівнів експресії ELN та ММР-14 в умовно нормальній тканині молочної залози та тканині РМЗ від клінічних характеристик та виживаності хворих проводили за допомогою онлайн-ресурсів UALCAN та KM-plotter. **Результати:** характерною ознакою РМЗ усіх молекулярних підтипів є зниження експресії ELN на рівні білка у пухлині порівняно з нормальною тканиною молочної залози. Достовірно менші показники експресії мРНК цього гену спостерігали у зразках РМЗ HER2-позитивного та тричі негативного молекулярних підтипів. Встановлено, що високий рівень експресії мРНК ELN асоціюється зі сприятливим клінічним перебігом РМЗ та вищими показниками безрецидивної виживаності пацієнток. Найбільш виражений ефект спостерігали у хворих із люмінальним А підтипом новоутворень, де рівень виживаності перевищував на 20% аналогічний показник у групі з низькою експресією ELN. **Висновок:** показники експресії ELN на рівні мРНК та білка можуть бути використані в якості прогностичних молекулярних маркерів у пацієнток з РМЗ різних молекулярних підтипів.

Ключові слова: рак молочної залози, екстрацелюлярний матрикс, еластин, ММР-14, прогресія злоякісних новоутворень, біоінформатичний аналіз.

Рак молочної залози (РМЗ) є одним із найпоширеніших онкологічних захворювань у жінок різного віку в більшості країн світу, в тому числі й в Україні [1]. Ця група пухлин є гетерогенною, має різні морфологічні та молекулярні підтипи

і клінічні прояви. РМЗ у молодих жінок часто характеризується більш агресивним перебігом і має гірший прогноз [2]. Прогноз перебігу РМЗ обумовлений, в першу чергу, молекулярним підтипом новоутворення, визначення якого базується на

Ц и т у в а н н я: Воронін Д.С. Біоінформатичний аналіз ключових факторів регуляції експресії еластину в умовно нормальній та злоякісно трансформованій тканині молочної залози. Онкологія. 2025. 27, № 3. С. 182–189. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.03.182>

© РН “Akademperiodyka” of the NAS of Ukraine, 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

досліджені рівнів експресії рецепторів естрогенів (ER) та прогестерону (PR), рецептора епідермального фактора росту 2-го типу (HER2), маркера проліферації Ki67, що підкреслює необхідність персоналізованих підходів до лікування пацієнток з цією нозологічною формою раку [3].

Епітеліальний компонент злоякісних новоутворень, в тому числі і РМЗ, зазвичай розглядається як один із основних факторів, що зумовлює характер і динаміку прогресування хвороби. На сьогодні велика увага науковців прикута до вивчення ролі позаклітинного матриксу (*extracellular matrix*, ECM) та його компонентів в розвитку і прогресії злоякісних новоутворень [4]. ECM включає клітини, структурні волокна і спеціалізовані білки, які складають його механічну основу. Одним із типів клітин, які є визначальними у контексті ECM, є фібробласти. Їх функція полягає у синтезі позаклітинних волокон та речовин, які виконують, в першу чергу, структурну функцію [5]. Колаген та еластин (*elastin*, ELN) відіграють важливу роль у формуванні каркасу пухлини, обумовлюючи її жорсткість [6]. Зокрема, зміна експресії та деградація ELN є важливими процесами у ремоделюванні стромы, що сприяє прогресуванню РМЗ [7]. Наукова школа академіка В.Ф. Чехуна, сформована в ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України, зосереджує свої дослідження на біохімічних та молекулярних механізмах пухлинного мікрооточення, розглядаючи їх як фундамент для розуміння перебігу злоякісних новоутворень та визначення потенційної відповіді на терапію [8].

Процеси ремоделювання та деградації ECM значною мірою залежать від активності матриксних металопротеїназ (ММР), які здатні розщеплювати компоненти ECM [9]. Серед різноманіття ММР, в контексті взаємодії з еластином особливу увагу привертає ММР-14. Гіперекспресія ММР-14 часто корелює з агресивним та несприятливим перебігом РМЗ [10]. Враховуючи сказане вище, особливого значення набуває аналіз взаємодій між пухлинними клітинами та компонентами ECM, зокрема еластином та регуляторними ферментами, такими як ММР-14.

Метою цього дослідження є систематичний *in silico* аналіз показників експресії та ролі еластину при РМЗ різних молекулярних підтипів, з акцентом на пов'язані з активністю ММР-14 регуляторні механізми.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Рівні експресії генів *ELN* та *MMP-14* в умовно нормальній (немалігнізованій) тканині молочної залози та тканині РМЗ досліджували за допомогою онлайн ресурсів The University of Alabama at Birmingham CANcer data analysis Portal — UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>), KM-plotter (<https://kmplot.com/analysis/index.php?p=service>

/) та ENCORI/starBase з використанням TCGA (The Cancer Genome Atlas) (<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga/>) через портал Genomic Data Commons (<https://portal.gdc.cancer.gov/>).

UALCAN — онлайн-платформа, яка надає дані щодо експресії генів, мікроРНК, довгих некодуючих РНК, метилювання промоторних ділянок генів у тканинах 33 типів пухлин [11]. KM-plotter — інструмент для оцінки зв'язку між експресією окремих генів (мРНК, мікроРНК, білків) та показниками виживаності пацієнтів із різними типами раку. Цей сервіс використовує публічні бази даних, зокрема TCGA (The Cancer Genome Atlas), яка містить інформацію більш ніж про 35000 зразків пухлин 21 типу [12].

ENCORI (starBase) — біоінформатичний ресурс, що функціонує як масштабний атлас транскриптомних взаємодій, виявлених за допомогою інноваційних алгоритмів rbsSeeker та rriScan, призначений для вивчення РНК-інтерактомів [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Під час фрагментації ELN похідні від нього пептиди здатні впливати на цитоархітектоніку та функціональну активність цілого ряду сигнальних каскадів. Даний процес сприяє підвищенню рівня MMP-14, яку можна вважати ключовим регулятором інвазивного фенотипу пухлинних клітин завдяки її здатності не тільки безпосередньо розщеплювати ELN, але й активувати інші MMP (рис. 1).

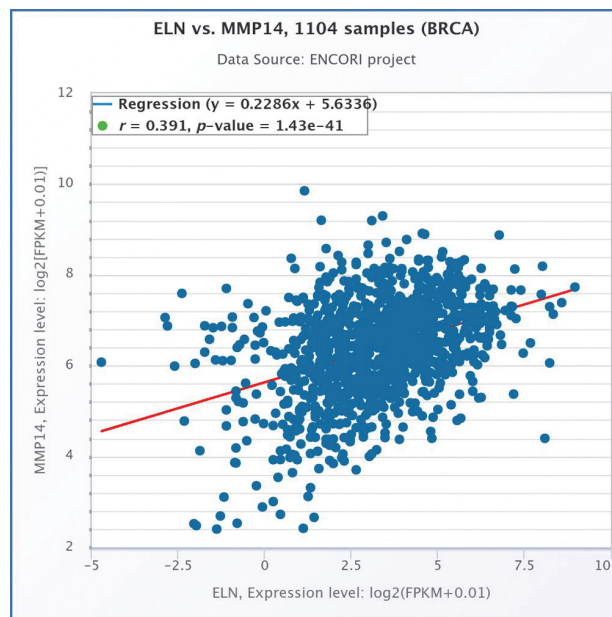


Рис. 1. Кореляційні зв'язки між показниками експресії мРНК генів *ELN* та *MMP14* у тканині РМЗ за даними проєкту TCGA (The Cancer Genome Atlas), доступними через портал Genomic Data Commons

Нами були проведені дослідження *in silico* щодо рівнів експресії гену *ELN* в умовно нормальній та пухлинній тканині молочної залози. Аналіз даних, проведений за допомогою онлайн-платформи ULCAN, не виявив статистично значущих змін ($p=0,3$) в експресії *ELN* на рівні мРНК в пухлині порівняно із умовно нормальною тканиною молочної залози (рис. 2, А). При аналізі показників експресії *ELN* на рівні білка було зафіксовано його значне зниження в зразках первинної пухлини (в 47,9 раза, $p=7,87 \times 10^{-10}$) порівняно зі зразками умовно нормальної тканини молочної залози, що вказує на доцільність дослідження цього показника в якості маркера для діагностики та прогнозування перебігу пухлинного процесу (рис. 2, Б).

Надалі нами була досліджена залежність експресії *ELN* від молекулярного підтипу РМЗ. Найнижчі рівні мРНК цього гену спостерігали при

HER2-позитивному та тричі негативному підтипах РМЗ. Зниження експресії мРНК *ELN* у HER2-позитивних пухлинах було статистично значущим порівняно як з умовно нормальною тканиною молочної залози ($p=1,17 \times 10^{-4}$), так і по відношенню до новоутворень люмінальних підтипів ($p=2,02 \times 10^{-6}$). Поряд з цим, відмічено достовірне зниження експресії *ELN* на рівні мРНК в HER2-позитивних пухлинах відносно тканини тричі негативного РМЗ ($p=3,86 \times 10^{-3}$) (рис. 2, В).

Встановлено, що незалежно від молекулярного підтипу РМЗ експресія *ELN* на рівні білка в пухлинній тканині знижувалася порівняно з умовно нормальною тканиною. Найбільш значуще зниження виявлене при порівнянні експресії білка гену *ELN* в умовно нормальній тканині молочної залози та зразках РМЗ люмінальних підтипів ($p=2,04 \times 10^{-6}$); дещо менше — при порівнянні з тричі негатив-

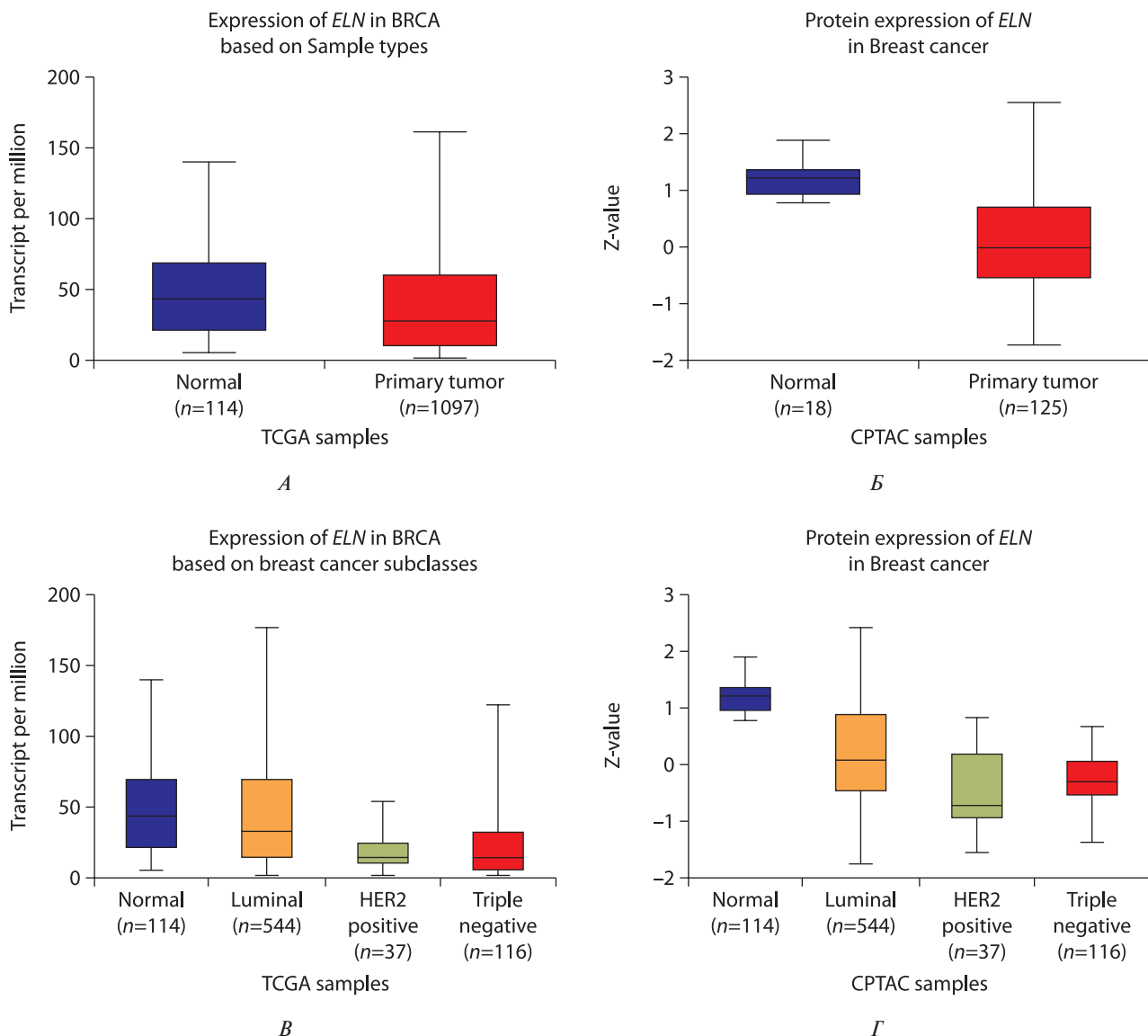


Рис. 2. Експресія гену *ELN* на рівні мРНК (А) та білка (Б) в умовно нормальній та пухлинній тканині молочної залози; показники експресії мРНК (В) та білка (Г) гену *ELN* в тканині РМЗ різних молекулярних підтипів

ним ($p = 2,37 \times 10^{-6}$) та HER2-позитивним підтипом новоутворень ($p = 5,65 \times 10^{-5}$) (рис. 2, Г).

В процесі аналізу рівня експресії мРНК *MMP14* відмічали статистично значуще її зростання у тканині РМЗ порівняно з умовно нормальною тканиною ($p = 1,0 \times 10^{-12}$) (рис. 3, А). Однак різниця в експресії *MMP14* на рівні білка виявилась не достовірною ($p = 1,22 \times 10^{-1}$) (рис. 3, Б).

Результати аналізу особливостей експресії *MMP14* в зразках РМЗ різних молекулярних підтипів наведені на рис. 3, В, Г. Збільшення експресії цього маркера було зафіксовано в тканині РМЗ всіх молекулярних підтипів: люмінальні ($p < 1,00 \times 10^{-12}$), тричі негативний ($p = 3,15 \times 10^{-12}$) та HER2-позитивний підтипи ($p = 5,51 \times 10^{-5}$) характеризувалися достовірно вищими (відповідно у 2,16; 1,75 та 1,89 раза) рівнями мРНК *MMP14* по-

рівняно із умовно нормальною тканиною молочної залози. Достовірної різниці між рівнями мРНК цієї металопротеїнази у тканині РМЗ залежно від молекулярного підтипу новоутворень не виявлено (рис. 3, В).

Тричі негативний підтип РМЗ характеризується достовірним збільшенням експресії *MMP-14* на рівні білка в пухлинній тканині порівняно як з умовно нормальною тканиною молочної залози (в 8,68 раза, $p = 7,45 \times 10^{-5}$), так і зразками люмінального (в 2,6 раза, $p = 6,24 \times 10^{-5}$) і HER2-позитивного (в 1,98 раза, $p = 2,10 \times 10^{-2}$) молекулярного підтипів. Статистично значущої різниці між рівнями експресії *MMP-14* в умовно нормальній тканині та зразках РМЗ люмінального ($p = 0,681$) та HER2-позитивного ($p = 0,208$) підтипів не виявлено (рис. 3, Г).

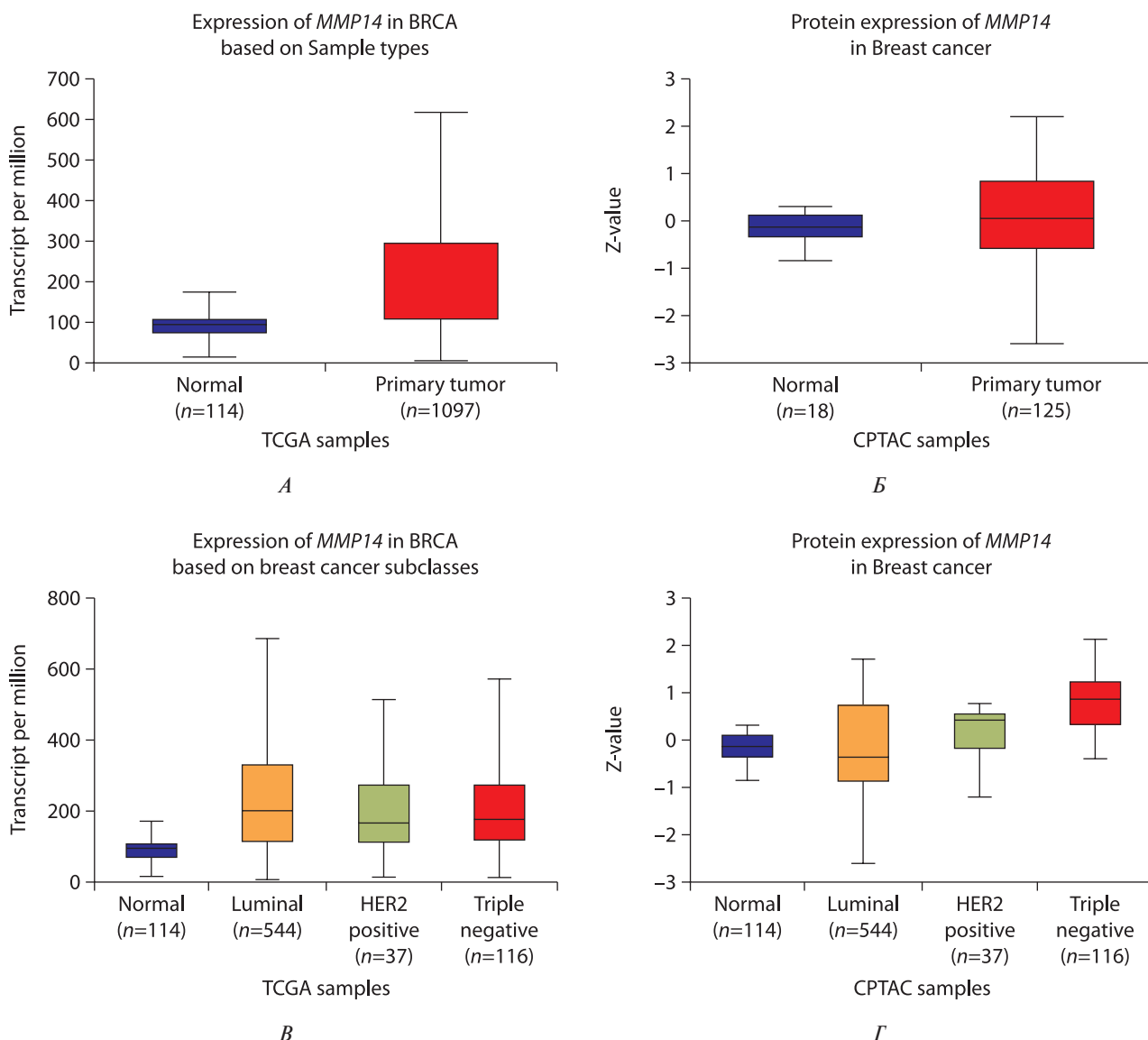


Рис. 3. Експресія гену *MMP14* на рівні мРНК (А) та білка (Б) в умовно нормальній та пухлинній тканині молочної залози; залежність рівнів експресії мРНК (В) та білка (Г) гену *MMP14* в тканині РМЗ різних молекулярних підтипів

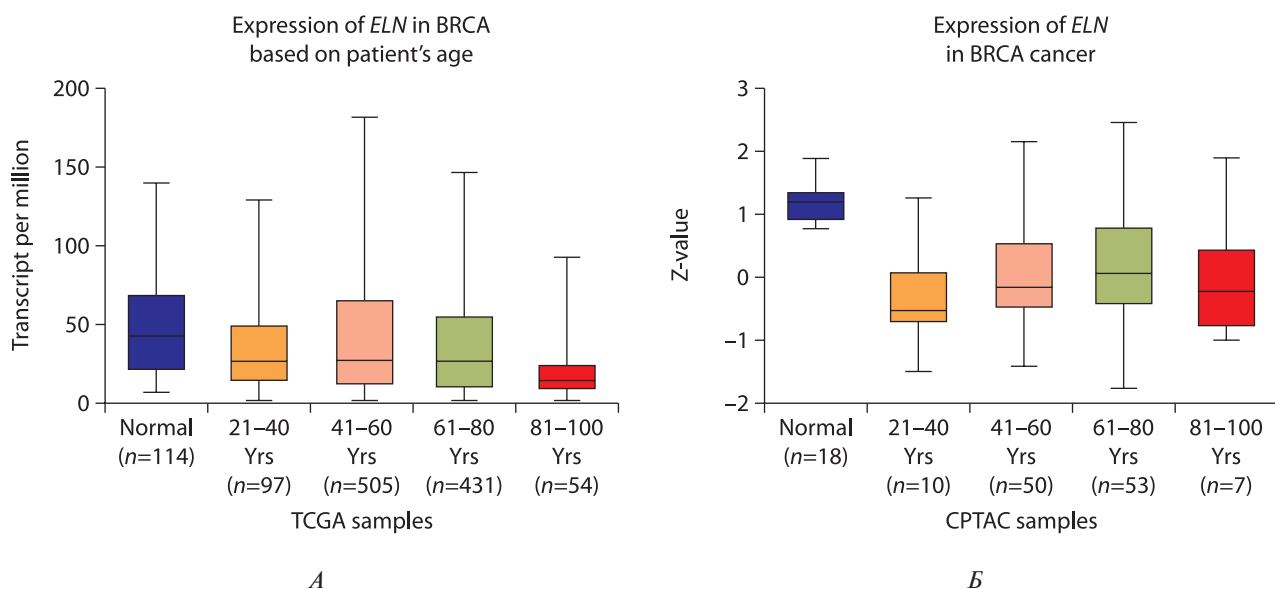


Рис. 4. Експресія *ELN* на рівні мРНК (А) та білка (Б) в зразках умовно нормальної та пухлинної тканини молочної залози у хворих різних вікових категорій

З'ясовано, що рівень експресії гену *ELN* на рівні мРНК асоціюється з віковими особливостями хворих на РМЗ. Зокрема, експресія мРНК *ELN* у пацієнток віком 21–40 років була достовірно нижчою, ніж у пацієнток віком 41–60 років ($p = 8,48 \times 10^{-3}$). Статистично достовірні відмінності в рівнях експресії мРНК *ELN* зафіксовані між пацієнтками вікових груп 41–60 та 81–100 років ($p = 8,24 \times 10^{-3}$), в останній експресія *ELN* достовірно знижується (рис. 4, А).

При аналізі зв'язку експресії гену *ELN* на рівні білка у тканині РМЗ різних молекулярних підтипів не виявлено залежності від віку пацієнток. Проте, у зразках РМЗ пацієнток усіх вікових груп спостерігається статистично достовірне зниження цього показника порівняно з таким в умовно нормальної тканині молочної залози (рис. 4, Б).

Застосування онлайн-сервісу KM-plotter дозволило встановити, що високий рівень експресії мРНК гену *ELN* у тканині РМЗ асоціюється зі

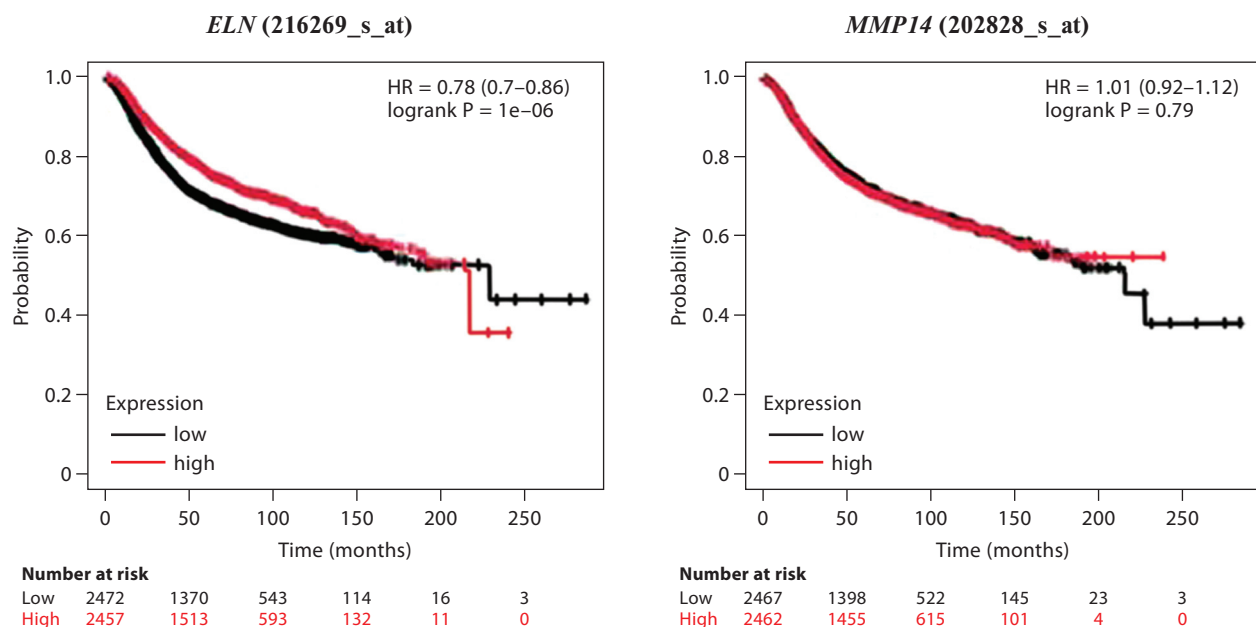


Рис. 5. Зв'язок показників безрецидивної виживаності хворих на РМЗ з рівнем експресії генів *ELN* та *MMP14* у пухлинній тканині

збільшенням безрецидивної виживаності хворих на 10% ($p < 0,05$) (рис. 5).

Продемонстрований статистично значущий зв'язок експресії мРНК *ELN* з виживаністю лише для пацієток з люмінальним-А підтипом РМЗ, де цей показник асоціюється з достовірним збільшенням безрецидивної виживаності на 20% ($p = 4,9 \times 10^{-7}$). Для люмінального-В, HER2-позитивного, тричі негативного підтипів РМЗ статистично значущого зв'язку між показниками виживаності хворих та рівнем експресії мРНК

ELN у пухлинній тканині не виявлено ($p > 0,05$) (рис. 6).

В результаті проведеного аналізу не було виявлено статистично значущих змін у показниках безрецидивної виживаності хворих на РМЗ залежно від експресії мРНК гену *MMP14* (див. рис. 5). Дані стосовно взаємозв'язку між показниками виживаності хворих на РМЗ різних молекулярних підтипів та рівнями експресії мРНК *MMP14* в зразках пухлинної тканини в базі взагалі відсутні.

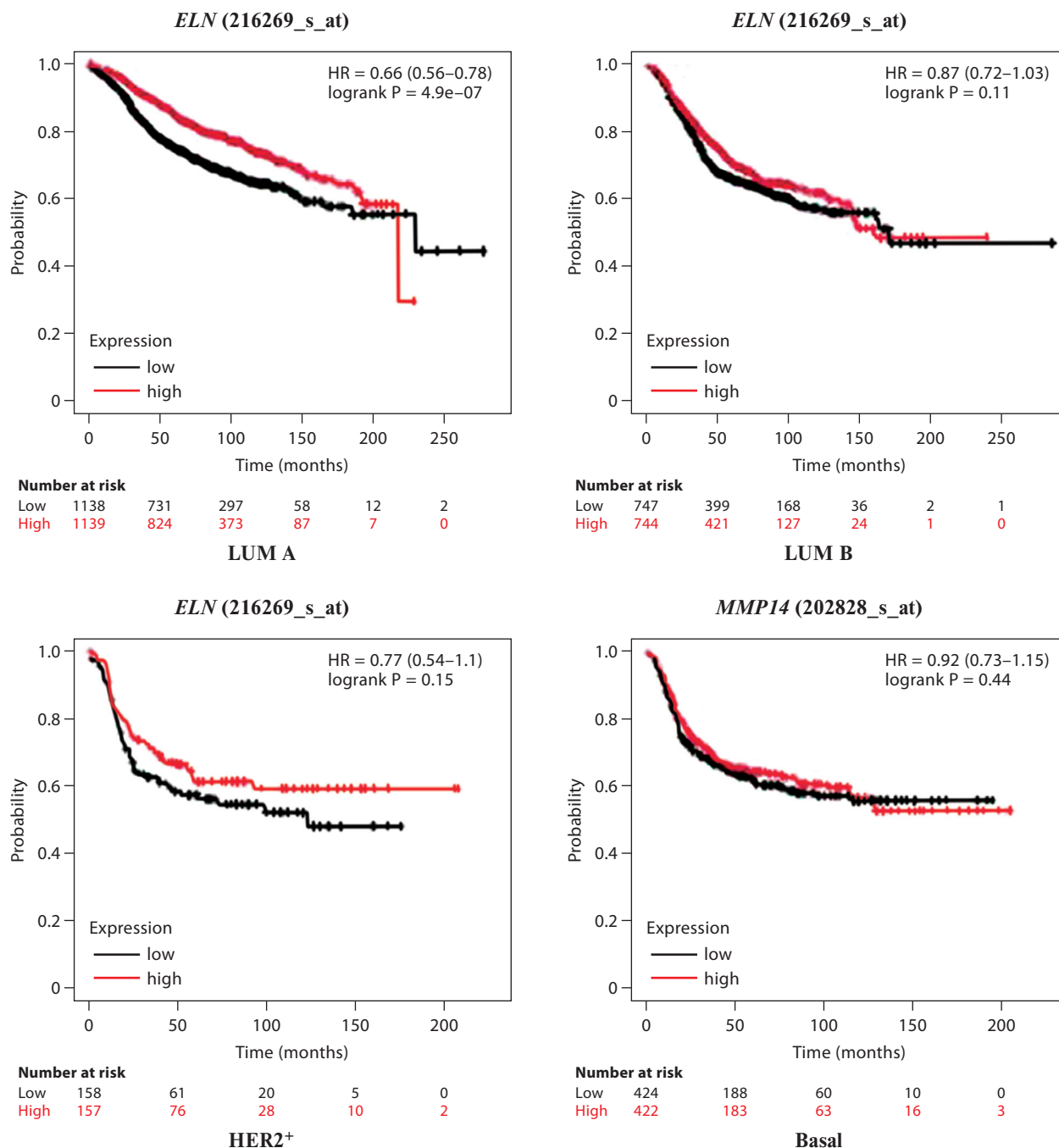


Рис. 6. Зв'язок експресії *ELN* у тканині РМЗ різних молекулярних підтипів з показниками безрецидивної виживаності хворих

Таким чином, аналіз отриманих даних дозволив встановити, що порівняно з умовно нормальною тканиною молочною залози, для РМЗ усіх молекулярних підтипів характерним є зниження експресії *ELN* на рівні білка. Достовірно найнижчі показники експресії *ELN* на рівні мРНК виявлені в тканині РМЗ HER2-позитивного та тричі негативно-го підтипів. Виявлено, що висока експресія *ELN* у тканині РМЗ асоціюється зі сприятливим перебігом пухлинного процесу та вищими показниками безрецидивної виживаності, особливо у пацієнток із люмінальним-А підтипом новоутворень.

ВИСНОВОК

Результати *in silico* дослідження дозволяють припустити, що показники експресії *ELN* можуть бути використані в якості прогностичних молекулярних маркерів РМЗ. Подальші дослідження необхідно спрямувати на з'ясування ролі *ELN* та *MMP-14* у молекулярному канцерогенезі та механізмах прогресування новоутворень молочної залози різного ступеня злоякісності.

Робота виконана в рамках НДР “Стрес-індуковані фактори пухлинного мікрооточення як драйвери ризику прогресії раку молочної залози” (№ держреєстрації 0124U000078) та “Розробка технології ідентифікації стрес-індукованих факторів ініціації метастатичного ураження кісткової тканини” (№ держреєстрації 0125U000655).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians 2021; **71** (3): 209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
2. Assi H A, Khoury K E, Dbouk H, *et al.* Epidemiology and prognosis of breast cancer in young women. Journal of thoracic disease 2013; **5** (1): S2–8. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.05.24>.
3. Bertos NR, Park M. Breast cancer — one term, many entities? The Journal of clinical investigation 2011; **121** (10): 3789–96. <https://doi.org/10.1172/JCI57100>.
4. Berezhnaya NM, Chekhun VF. Physiological system of connective tissue and oncogenesis. I. The role of cellular components of the stroma in tumor development. Oncology 2016; **18** (1): 4–12.
5. Nissen N I, Karsdal M, Willumsen N. Collagens and cancer associated fibroblasts in the reactive stroma and its relation to cancer biology. J Exp Clin Cancer Res 2019; **38** (1): 115. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1110-6>.
6. Lukianova N, Zadvornyi T, Mushii O, *et al.* Evaluation of diagnostic algorithm based on collagen organization parameters for breast tumors. Exp Oncol 2022; **44** (4): 281–286. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-4.19137>.
7. Toprak N, Aras I, Toktaş O, *et al.* Assessment of stromal elastin fibers in breast cancer and fibroadenomas: is there a correlation with ultrasound elastography findings? Eur J Breast Health 2022; **18** (2): 134–40. <https://doi.org/10.4274/ejbh.galenos.2022.2021-8-3>.
8. Naleskina L A, Kunska L M, Chekhun VF. Modern views on the role of main components of stroma and tumor microenvironment in invasion, migration and metastasis. Exp Oncol 2020; **42** (4): 252–62. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-4.15401>.
9. Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. J Clin Oncol 2009; **27** (31): 5287–97. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.5556>.
10. Salesse S, Odoul L, Chazée L, *et al.* Elastin molecular aging promotes MDA-MB-231 breast cancer cell invasiveness. FEBS Open Bio 2018; **8** (9): 1395–404. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12455>.
11. Chandrashekar D S, Bashel B, Balasubramanya S, *et al.* UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses. Neoplasia (New York) 2017; **19** (8): 649–58. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2017.05.002>.
12. Györfly B, Lanczky A, Eklund AC, *et al.* An online survival analysis tool to rapidly assess the effect of 22,277 genes on breast cancer prognosis using microarray data of 1,809 patients. Breast Cancer Res Treat 2010; **123** (3): 725–31. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0674-9>.
13. Li J H, Liu S, Zhou H, *et al.* starBase v2.0: decoding miRNA-ceRNA, miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data. Nucleic Acids Res 2014; **42** (Database issue): D92–7. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1248>.

BIOINFORMATIC ANALYSIS OF KEY FACTORS REGULATING ELASTIN EXPRESSION IN CONDITIONALLY NORMAL AND MALIGNANTLY TRANSFORMED MAMMARY TISSUE

D.S. Voronin

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Aim: breast cancer (BC) is one of the most common oncological diseases in women worldwide. Malignant neoplasms of the breast are classified into one

large heterogeneous group, each differing in morphological manifestations, molecular subtypes, and the aggressiveness of the tumor process. Modern research pays significant attention not only to the epithelial component of the tumor but also to the extracellular matrix (ECM) and its components, such as fibroblasts, which synthesize structural fibers, particularly elastin. Changes in the extracellular matrix, such as remodeling and degradation, dependent on the activity of matrix metalloproteinases (MMPs), play a key role in BC progression. **Aim:** to systematically analyze the *in silico* expression levels and role of elastin (*ELN*) in BC of different molecular subtypes, with an emphasis on regulatory mechanisms

associated with MMP-14 activity. **Object and methods:** the dependence of ELN and MMP-14 expression levels in conditionally normal breast tissue and BC tissue on clinical characteristics and patient survival was studied using the UALCAN and KM-plotter online resources, respectively. **Results:** it is shown that a characteristic feature of BC is the reduced expression of ELN at the protein level in the tissue of all molecular subtypes compared to normal tissue. Significantly lower mRNA expression levels of this gene were found in samples of HER2-positive and triple-negative molecular subtypes of BC. High ELN mRNA expression was found to be associated with a favorable course and prognosis of BC and higher survival rates, especially in patients with the Luminal-A subtype of neoplasms, where survival increases by 20% compared to the group with low expression of this marker in the tumor

tissue. **Conclusions:** ELN expression levels at the mRNA and protein levels can be used as prognostic molecular markers in patients with breast cancer of different molecular subtypes.

Keywords: breast cancer, extracellular matrix, elastin, MMP-14, malignant neoplasm progression, bioinformatic analysis.

Адреса для листування:

Воронін Д. С.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології
і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: dmytrovoronin322@gmail.com

Одержано: 24.09.2025

Прийнято до друку: 07.11.2025

Опубліковано: 27.11.2025