

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ678601> EDN: MCWRCO

Метаанализ транскриптомных данных клеток меланомы B16 после воздействия дакарбазином *in vivo*

Е.З. Лапкина¹, И.С. Зинченко¹, Е.И. Бондар^{2,3}, Т.Г. Рукша¹¹Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск, Россия;²Сибирский Федеральный университет, г. Красноярск, Россия;³Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, г. Красноярск, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Фенотипическая пластичность и гетерогенность клеток меланомы, обусловленные эпигенетической регуляцией и активностью транскрипционных факторов, играют ключевую роль в развитии резистентности к химиотерапии, что требует углублённого изучения молекулярных механизмов устойчивости к алкилирующим агентам, таким как дакарбазин.

Цель исследования. Анализ транскриптомных данных клеток меланомы B16 после воздействия дакарбазином *in vivo* для выявления ключевых кластеров дифференциально экспрессирующихся генов и регулирующих транскрипционных факторов, ассоциированных с резистентностью к терапии.

Методы. В исследовании использовали модель меланомы B16 у мышей C57Bl/6, разделённых на контрольную и опытную (дакарбазин в дозе 50 мг/кг) группы по 12 особей. Тотальную РНК экстрагировали из опухолевой ткани, проводили высокопроизводительное секвенирование с последующей биоинформатической обработкой для кластеризации генов и предсказания транскрипционных факторов — с использованием биоинформатических инструментов для анализа мотивов в последовательностях РНК.

Результаты. С помощью NGS-секвенирования и биоинформатического анализа выявлено 670 дифференциально экспрессирующихся генов, объединённых в 12 функциональных кластеров, связанных с репарацией ДНК, апоптозом и клеточным циклом. Идентифицированы ключевые транскрипционные факторы (RELB, IRF5/7/4, NANOG, SOX2, LEF1, NFkB2), регулирующие сигнальные пути поддержания плюрипотентности ($p=0,000001$), Wnt ($p=0,000753$), TGF- β ($p=0,002631$), Toll-подобных рецепторов ($p=0,000776$) и NF- κ B ($p=0,044609$), ассоциированные с развитием устойчивости клеток меланомы B16 к алкилирующему агенту дакарбазину *in vivo*.

Заключение. Выявлены эпигенетические и транскрипционные механизмы устойчивости клеток меланомы к воздействию химиотерапевтических средств, включая поддержание стволового фенотипа, регуляцию иммунного ответа и активацию эпителиально-мезенхимального перехода.

Ключевые слова: меланома B16; дакарбазин; химиорезистентность; транскрипционные факторы; NGS-секвенирование; сигнальные пути.

Как цитировать:

Лапкина Е.З., Зинченко И.С., Бондар Е.И., Рукша Т.Г. Метаанализ транскриптомных данных клеток меланомы B16 после воздействия дакарбазином *in vivo* // Казанский медицинский журнал. 2025. DOI: 10.17816/KMJ678601 EDN: MCWRCO

DOI: <https://doi.org/10.17816/KMJ678601> EDN: MCWRCO

Meta-Analysis of Transcriptome Profiles of B16 Melanoma Cells After *In Vivo* Treatment With Dacarbazine

Ekaterina Z. Lapkina¹, Ivan S. Zinchenko¹, Evgeniya I. Bondar^{2,3}, Tatiana G. Ruksha¹

¹Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

²Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia;

³Krasnoyarsk Science Centre of the Siberian Branch of Russian Academy of Science, Krasnoyarsk, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Phenotypic plasticity and heterogeneity of melanoma cells arising from epigenetic regulation and the activity of transcription factors is pivotal in chemoresistance. Therefore, there it is necessary to explore the molecular mechanisms underlying resistance to alkylating agents, such as dacarbazine.

AIM: This study aimed to analyze transcriptome profiles of B16 melanoma cells after *in vivo* treatment with dacarbazine to identify key clusters of differentially expressed genes and regulatory transcription factors associated with chemoresistance.

METHODS: The study used a C57Bl/6 mouse model of B16 melanoma. The animals were randomly allocated into a control group and an experimental group, each with 12 mice. The experimental group was treated with dacarbazine at 50 mg/kg. Total RNA was extracted from tumor tissue, before high-throughput sequencing was performed. Data were subjected to bioinformatic processing for gene clustering and prediction of transcription factors for analyzing motifs in RNA sequences.

RESULTS: NGS sequencing and bioinformatic analysis yielded 670 differentially expressed genes, which were organized into 12 functional clusters related to DNA repair, apoptosis, and cell cycle. A comprehensive analysis identified key transcription factors (RELB, IRF5/7/4, NANOG, SOX2, LEF1, and NFKB2) that regulate signaling pathways essential for maintaining pluripotency ($p = 0.000001$), Wnt ($p = 0.000753$), TGF- β ($p = 0.002631$), Toll-like receptors ($p = 0.000776$), and NF- κ B ($p = 0.044609$) associated with B16 melanoma cell resistance to the alkylating agent dacarbazine *in vivo*.

CONCLUSION: The findings of this study indicated that the epigenetic and transcription mechanisms of chemoresistance in melanoma cells involves maintenance of the stem cell phenotype, regulation of the immune response, and activation of the epithelial-mesenchymal transition.

Keywords: melanoma B16; dacarbazine; chemoresistance; transcription factors; NGS sequencing; signaling pathways.

To cite this article:

Lapkina EZ, Zinchenko IS, Bondar EI, Ruksha TG. Meta-analysis of transcriptome profiles of b16 melanoma cells after *in vivo* treatment with dacarbazine. *Kazan Medical Journal*. 2025. DOI: 10.17816/KMJ678601 EDN: MCWRCO

ОБОСНОВАНИЕ

Функциональная экспрессия всех генов регулируется белками — факторами транскрипции, которые связываются с определёнными областями ДНК, известными как регуляторные области. У высших эукариот экспрессия генов находится под строгим контролем сложных цис-регуляторных систем, включающих множество энхансеров, влияющих на уровень транскрипции целевого гена. Определение всех активных промоторов и энхансеров в определённом типе клеток позволяет анализировать функциональную сеть регуляции генов и раскрывать цис-регуляторную логику генома, формирующую транскриптом этого типа клеток. Меланома — агрессивная опухоль, развивающаяся из меланоцитов и обладающая уникальными свойствами клеточной пластичности. Как и многие злокачественные новообразования, меланома кожи характеризуется быстрым развитием лекарственной устойчивости; большинство пациентов невосприимчивы к монотерапии [1].

Внутриопухолевая гетерогенность считается ключевым фактором, определяющим появление устойчивых к терапии клеток, что приводит к неэффективности лечения и рецидиву опухоли. Лекарственные препараты обычно нацелены на одну субпопуляцию клеток меланомы, в то время как другие субпопуляции выживают, способствуя диссеминации опухолевых клеток и опухолевой прогрессии [2].

Фенотипическая неоднородность возникает среди клеток меланомы внутри опухоли в результате эпигенетических изменений и взаимодействия с микроокружением. Сигнальные процессы, участвующие в клеточной пластичности меланомы, взаимосвязаны с факторами транскрипции, инициирующими эпителиально-мезенхимальный переход — процесс, при котором клетки приобретают мезенхимальные свойства и становятся подвижными. Факторы транскрипции — это регуляторные белки, активирующие или подавляющие транскрипцию генов посредством связывания с регуляторными последовательностями ДНК и регулирования набора транскрипционных комплексов. Факторы транскрипции SNAIL, SLUG, ZEB1 и ZEB2 были идентифицированы и тщательно изучены как молекулы, регулирующие эпителиально-мезенхимальный переход [3].

Опухоль состоит из популяций клеток в различных состояниях дифференцировки: от активно пролиферирующих до покоящихся стволовых клеток, ответственных за распространение и рост опухоли [4]. Медленно делящиеся опухолевые стволовые клетки могут избегать воздействия химиотерапии, нацеленной на быстро делящиеся клетки. Факторы транскрипции, регулирующие эпителиально-мезенхимальный переход, также формируют характеристики опухолевых стволовых клеток, инициирующих опухоль [5].

Обратимое переключение между дифференцированным и инвазивным фенотипами управляется онкогенными

сигналами и факторами микроокружения и связано с изменением активности факторов транскрипции. Важнейший регулятор — ассоциированный с микрофтальмией фактор транскрипции MITF, специфический для меланоцитов и играющий роль в развитии меланомы, который совместно с MC1R контролирует меланогенез [6, 7]. Клетки с низким уровнем MITF имеют фенотип, более близкий к фенотипу стволовых клеток, повышенную пластичность и сниженную пролиферацию, что в совокупности способствует прогрессированию опухоли, в то время как высокий уровень MITF стимулирует рост и дифференцировку [8].

Клетки меланомы обладают уникальными свойствами обратимой клеточной пластичности, а переключение фенотипа объясняет гетерогенность меланомы. Гетерогенность опухоли является одной из основных причин неоднозначных ответов на лечение. Часто наблюдаемая картина у пациентов с меланомой — временная регрессия опухоли с последующей резистентностью к лечению. Более того, различные опухолевые очаги у одного и того же пациента могут демонстрировать широкий спектр ответов на лечение, несмотря на наличие одних и тех же онкогенных мутаций, что иллюстрирует сложность гетерогенности меланомы [9].

Большинство стратегий лечения, включая химиотерапию и таргетную терапию, нацелено на большую часть опухоли с пролиферативным фенотипом, тогда как покоящиеся стволовые клетки могут оставаться неповреждёнными [10]. Опухолевые клетки с фенотипом медленно пролиферирующих стволовых клеток могут быть метаболически активными и высокоагрессивными, с повышенным потенциалом к образованию новых опухолей и метастазированию [11]. Высокая экспрессия MITF и его меланоцит-специфических мишеневых генов связана с резистентностью к лечению BRAF-ингибиторами и комбинированной терапии BRAF- и MEK-ингибиторами [12]. Таким образом, эктопическая сверхэкспрессия MITF способствует резистентности к ингибиторам BRAF, MEK или ERK [13].

В клеточных линиях меланомы показана устойчивость к лечению к траметинибу, сопровождающаяся экспрессией и активностью рецептора эпидермального фактора роста EGFR [14]. Приобретение меланомой резистентности к BRAF-ингибиторам связано с эпигенетическими изменениями в гене *EGFR* — гипометилированием участков CpG-областей промоторов и энхансеров, что приводит к его сверхэкспрессии и гиперактивации сигнального каскада PI3K–AKT [15]. Сиртуин 2 (SIRT2) напрямую регулирует экспрессию *EGFR*, изменяет нисходящую сигнализацию через белки SRC-ERK1/2 и RAF-ERK1/2 в клетках меланомы и участвует в устойчивости этих клеток к дазатинибу и цисплатину [16].

Было показано, что активация другого транскрипционного фактора — NFκB — играет важную роль в нарастании резистентности к лечению в клетках с низким уровнем MITF. В линиях клеток меланомы без воздействия

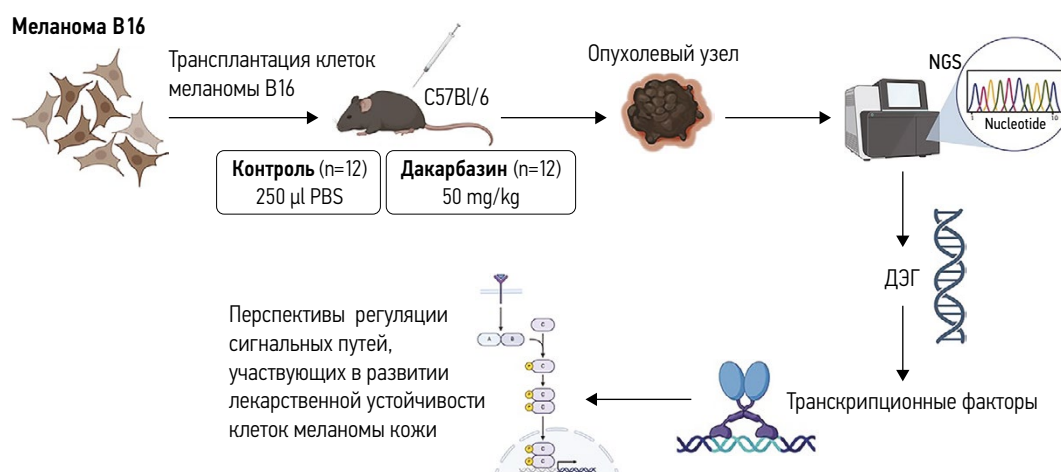


Рис. 1. Дизайн экспериментального исследования транскриптома химиорезистентных клеток меланомы *in vivo*. ДЭГ — дифференциально экспрессирующиеся гены.

Fig. 1. *In vivo* study of the transcriptome of chemoresistant melanoma cells. DEG, differentially expressed genes.

противоопухолевыми агентами клетки с высокой экспрессией NFκB и низкой экспрессией MITF были изначально устойчивы как к ингибированию одним агентом посредством воздействия на несколько мишеней в сигнальном пути MAPK, так и к комбинированному ингибированию сигнального каскада BRAF/MEK [17].

Понимание регуляторных механизмов фенотипического перепрограммирования клеток меланомы имеет актуальное значение и открывает перспективы разработки эффективного терапевтического воздействия на процесс для преодоления резистентности к лечению и в конечном итоге улучшения терапии меланомы.

Цель исследования — проанализировать транскриптомные данные клеток меланомы B16 после воздействия дакарбазином *in vivo* с целью идентификации ключевых кластеров дифференциально экспрессирующихся генов и регулирующих транскрипционных факторов.

МЕТОДЫ

Самок мышей C57BL/6 (6–8 нед) из питомника «Рапполово» (НИЦ «Курчатовский институт») содержали в виварии при стандартных условиях в мае — июне 2023 года. Экспериментальное исследование одобрено этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (№ 116/2022 от 27.12.2022) и проведено в соответствии с руководством по уходу за лабораторными животными и их использованию [18].

Животные (n=24) были разделены на контрольную (фосфатный солевой буфер) и опытную (дакарбазин, 50 мг/кг) группы. Меланому индуцировали подкожным введением клеток B16 ($1,5 \times 10^6$ в 0,5 мл раствора Хенкса). Культура клеток меланомы B16 получена в научно-исследовательском институте фундаментальной и кли-

нической иммунологии (Новосибирск). Лечение осуществляли внутрибрюшинным введением на 8, 10 и 12-й день, а на 14-й день проводили эвтаназию с забором опухолевой ткани (рис. 1).

Тотальную РНК экстрагировали с использованием TRIzol® и RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия), оценивали качество библиотек посредством Qsep400 (BiOptic, Тайвань) и количество РНК с помощью Qubit RNA High Broad Range kit (Thermo Fisher Scientific, США).

Библиотеки готовили с обогащением poly-A-фракции, фрагментацией и синтезом cDNA (с заменой dTTP на dUTP). После лигирования адаптеров и удаления 2-й цепи (UDG) проводили амплификацию ДНК методом полимеразной цепной реакции.

Секвенирование (DNBSeq G-400, парные чтения 100 п.н., ≥ 40 млн ридов/образец) выполняли после контроля качества библиотек (Qsep400). Данные фильтровали (SOAPnuke), оценивали (FastQC), выравнивали на геном GRCm39 (HISAT2) и квантифицировали (htseq-count). DEG-анализ (DESeq2) выявлял гены с $|\log_2 FC| \geq 0,5$ и FDR $< 0,05$.

Для построения кластеризации дифференциально экспрессирующихся генов клеток меланомы B16 при воздействии химиотерапевтическим агентом дакарбазином был использован инструмент STRING, представляющий собой базу данных, предназначенную для оценки и интеграции межгенных взаимодействий, включая как прямые (физические), так и косвенные (функциональные) ассоциации. Для интеграции данных и визуализации сети при анализе баз данных использовали программное обеспечение Cytoscape (Institute of Systems Biology, США) [19, 20].

На следующем этапе производили поиск мотивов транскрипционных факторов дифференциально экспрессирующихся генов химиорезистентных клеток меланомы B16. Мотив — это короткая последовательность ДНК или белка, которая имеет значение в биологической

функции молекулы, в которой она находится. За последние несколько 10-летий было описано много вычислительных методов для идентификации, характеристики и поиска специфичных мотивов. Критически важным для практически любого конвейера анализа последовательностей на основе мотивов является возможность скачивания базы данных последовательностей на предмет вхождения заданного мотива, описанного матрицей частот, специфичной для позиции [21]. Для обнаружения и анализа мотивов, обуславливающих такие особенности, как сайты связывания ДНК и домены взаимодействия белков, в нашем исследовании мы использовали портал MEME Suite¹. Алгоритмы обнаружения мотивов позволяют идентифицировать фрагменты молекул, обладающие биологической функцией, например участки связывания ДНК- и РНК-связывающих белков [22].

Предсказанные мотивы факторов транскрипции сравнивали с мотивами из популярных баз данных с помощью алгоритма Tomtom² [23] — инструмента поиска похожих известных мотивов. Tomtom сравнивает один или несколько мотивов с базой данных, ранжирует мотивы в базе данных и выполняет выравнивание для каждого значимого совпадения. Tomtom ищет один или несколько мотивов запроса в одной или нескольких базах данных целевых мотивов (и их обратных дополнений, когда это применимо). Результатом работы алгоритма является список целевых мотивов, ранжированных по *p*-значению [24].

Предсказанные транскрипционные факторы использовали в дальнейшем для определения сигнальных путей, задействованных в развитии химиорезистентности клеток меланомы B16 *in vivo*, с помощью программного обеспечения Transcriptome Analysis Console (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистический анализ результатов секвенирования генома исследуемых образцов выполнен с использованием теста ANOVA. *P* value рассчитывали с поправкой на множественность по методу Бенджамина–Ходжберга (FDR).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Дифференциально экспрессируемые гены в клетках меланомы *in vivo* после воздействия алкилирующего агента посредством программного обеспечения STRING были разделены на 12 кластеров согласно биологическим функциям генов, среди которых были наиболее значимы четыре кластера в процессах канцерогенеза.

Первый кластер включает 50 дифференциально экспрессирующихся генов, связанных с процессами клеточного цикла, митотической сегрегации хроматид, репарацией ДНК, регуляции организации оргanelл.

Второй кластер содержит 41 ген, участвующий в синтезе белка, негативной и позитивной регуляции апоптоза, внутреннем сигнальном пути апоптоза, а также в формировании меланосом.

Третий кластер включает 26 генов, связанных с регуляцией функций аминокислот, их транспорта, регуляцией цикла Кребса и оксидоредуктазной активности.

Четвёртый кластер включает 23 дифференциально экспрессирующихся гена, ассоциированных с процессами апоптоза и сигнальным путём p53.

В другие кластеры были сгруппированы гены, функции которых связаны с высокодифференцированными тканеспецифичными структурными и регуляторными компонентами.

С целью определения механизмов регуляции дифференциально экспрессирующихся генов далее с помощью биоинформатического программного комплекса Tomtom были определены последовательности мотивов для предсказания транскрипционных факторов, способных связываться и регулировать вышеуказанные гены (табл. 1).

С помощью биоинформатического программного комплекса MEME Suite utility было идентифицировано пять обогащённых мотивов в дифференциально экспрессирующихся генах для связывания с транскрипционными факторами. В табл. 1 представлены логотипы мотивов, количество положительных последовательностей, соответствующих мотиву (процент) и их позиционное распределение. Позиционное распределение отражает график наилучшего соответствия мотиву в положительных обучающих последовательностях. Рассматриваются только соответствия с оценками не ниже порогового значения. График сглажен треугольной функцией, ширина которой составляет 5% от максимальной длины положительной обучающей последовательности. Положение пунктирной вертикальной линии указывает, были ли последовательности выровнены по их левым концам, центрам или правым концам соответственно. Оценка мотива — это нескорректированное *p*-значение, основанное на соответствующем тесте, применённом к последовательностям обучающего набора. Статистический тест, используемый при вычислении оценки, — точный тест Фишера, биномиальный тест или кумулятивное распределение Бейтса.

На следующем этапе исследования идентифицированы последовательности целевых мотивов, использованные для предсказания транскрипционных факторов (табл. 2). Веб-версия Tomtom предоставляет совокупность баз данных целевых мотивов. Для заданной пары мотивов программа учитывает все смещения между мотивами, при этом требуя минимального количества

¹ The MEME Suite [internet]. Available from: <https://meme-suite.org/> Accessed: 20.09.2024.

² The MEME Suite [internet]. Tomtom Motif Comparison Tool. Available from: <https://web.mit.edu/meme/current/share/doc/tomtom.html> Accessed: 20.09.2024.

Таблица 1. Перечень последовательностей в дифференциально экспрессирующихся генах химиорезистентных клеток меланомы B16 *in vivo*, с которыми возможно связывание транскрипционных факторов

Table 1. *In vivo* sequences of differentially expressed genes in chemoresistant B16 melanoma cells on which transcription factors may bind

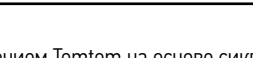
Мотивы связывания транскрипционных факторов	Оценка	Сайты связывания	Позиционное распределение
1-AGCGGACCAAAT	4.5e-014	36 (109,1%)	
2-AWGACATASATTGYCMW	3.5e-009	6 (18,2%)	
3-CATTAWATAAGAMASRRSRG	3.5e-009	6 (18,2%)	
4-GAGAAAGCCAAMASYTSA	3.5e-009	6 (18,2%)	
5-YCGCAAAGGSAAGKAASM	3.5e-009	6 (18,2%)	

Таблица 2. Фрагменты последовательностей транскрипционных факторов, отобранные программным обеспечением Tomtom на основе сиквенов дифференциально экспрессирующихся генов в клетках меланомы B16 *in vivo* после воздействия дакарбазином

Table 2. Fragments of transcription factor sequences selected by the Tomtom software based on sequences of differentially expressed genes in B16 melanoma cells after *in vivo* treatment with dacarbazine

Мотивы связывания транскрипционных факторов	Число сайтов связывания	Предсказанные транскрипционные факторы
2-AWGACATASATTGYCMW	8	CUX1, HXA10, NFAC1, CDX1, RORG, HXA7, PBX2, EVX1
3-CATTAWATAAGAMASRRSRG	36	HXA5, FOXJ3, NANOG, HXB7, SOX2, DBP, HXB8, FOXC1, FUBP1, NFIL3, HNF1B, BRAC, POF1, ELF5, FOXQ1, FOXJ2, MSX3, EVI1, FOXA2, FOXP2, FOXF1, FOXO4, BARX2, HNF1A, PROP1, ATF3, STA5B, HXD9, LEF1, PBX1, NR1D2, TCF7, HXD10, POF1, PBX3
4-GAGAAAGCCAAMASYTSA	17	PTF1A, FOXM1, SIX4, IRF5, IRF7, OLIG2, NFKB2, FOXA1, NR4A1, HAND1, RELB, TF65, PITX2, FOXC2, IRF9, ONEC2, FOXJ2
5-YCGCAAAGGSAAGKAASM	17	PPARG, NR4A3, PPARA, SPI1, ISL1, COT1, GABPA, PRDM1, OTX2, IRF4, SPIB, TAL1, IRF8, EHF, SMCA5, ETV5, ETV2
1-AGCGGACCAAAT1-AGCGGACCAAAT	77	PPARG, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1, FOXI1, PPARA, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1
1-AGCGGACCAAAT2-AWGACATASATTGYCMW	78	PPARG, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1, FOXI1, PPARA, HXA10, NFAC1, CDX1, RORG, HXA7, PBX2, EVX1
1-AGCGGACCAAAT3-CATTAWATAAGAMASRRSRG	736	PPARG, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1, FOXI1, PPARA, FOXJ3, NANOG, HXB7, FOXJ3, SOX2, DBP, HXB8, FOXC1, FUBP1, NFIL3, HNF1B, BRAC, POF1, ELF5, FOXQ1, FOXJ2, MSX3, EVI1, FOXA2, FOXP2, FOXF1, FOXO4, BARX2, HNF1A, PROP1, BATF3, STA5B, HXD9, LEF1, PBX1, NR1D2, TCF7, HXD10, POF1, PBX3
1-AGCGGACCAAAT4-GAGAAAGCCAAMASYTSA	717	PPARG, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1, FOXI1, PPARA, FOXM1, SIX4, IRF5, IRF7, OLIG2, NFKB2, FOXA1, NR4A1, HAND1, RELB, TF65, PITX2, FOXC2, IRF9, ONEC2, FOXJ2
1-AGCGGACCAAAT5-YCGCAAAGGSAAGKAASM	717	PPARG, HNF4A, HNF4G, PBX3, PBX1, FOXI1, PPARA, NR4A3, PPARA, SPI1, ISL1, COT1, GABPA, PRDM1, OTX2, IRF4, SPIB, TAL1, IRF8, EHF, SMCA5, ETV5, ETV2

перекрывающихся позиций. Для заданного смещения каждая перекрывающаяся позиция оценивается с использованием одной из семи функций сходства столбцов, определённых ниже. Столбцам в мотиве запроса, которые не перекрывают целевой мотив, присваивается оценка, равная медианной оценке набора случайных совпадений с этим столбцом.

Для вычисления оценок Tomtom необходимо знать частоты букв алфавита последовательности в просматриваемой базе данных (частоты букв «фона»). По умолчанию используются частоты букв фона, включённые в файл

мотива запроса. Оценки столбцов, которые перекрываются для заданного смещения, суммируются. Затем эта суммированная оценка преобразуется в *p*-значение. Сообщаемое *p*-значение является минимальным *p*-значением по всем возможным смещениям.

На основе биоинформатического ресурса Transcriptome Analysis Console дифференциально экспрессируемые гены, имеющие сайты связывания для идентифицированных последовательностей транскрипционных факторов, были распределены по сигнальным путям, компонентами которых эти гены являются (табл. 3).

Таблица 3. Сигнальные пути, насыщенные дифференциально экспрессирующимися генами с предсказанными транскрипционными факторами в клетках меланомы B16 *in vivo* после воздействия дакарбазином**Table 3.** Signaling pathways and predicted transcription factors in B16 melanoma cells that are saturated with differentially expressed genes after *in vivo* treatment with dacarbazine

Сигнальные пути	№	Транскрипционные факторы	Статистическая значимость	p
Развитие сердца	6	HAND1, ISL1, FOXC2, PITX, FOXA2, FOXC1	9,54	0,000001
Развитие клеточных линий в нейрональной дифференцировке	6	SOX2, OLIG2, NANOG, HNF4A, LEF1, FOXA2	6,79	0,000001
Белок-белковые взаимодействия в подоцитах	11	PITX2, ISL1, OLIG2, HAND1, NR4A3, FOXC2, PPARA, FOXA2, TCF7, PROP1, LEF1	6,52	0,000001
Ядерные рецепторы	4	HNF4A, NR4A1, PPARA, NR1D2	6,15	0,000001
Механизмы, связанные с плюрипотентностью	7	RELB, NANOG, SOX2, ETV5, OTX2, TCF7, LEF1	5,98	0,000001
Дифференцировка нервного гребня	5	MSX3, ISL1, NFKB2, OLIG2, HAND1	5,93	0,000001
BMP-сигнальный путь в развитии век	3	PITX2, FOXC2, FOXC1	5,19	0,000006
Дофаминергический нейрогенез	3	OTX2, SOX2, FOXA2	4,65	0,000023
Передача сигналов интерферона II типа (IFNG)	3	IRF9, IRF4, IRF8	4,48	0,000033
Апоптоз	3	IRF5, IRF7, IRF4	3,37	0,000429
Передача сигналов эктодисплазином A в развитии волосных фолликулов	2	NFKB2, RELB	3,31	0,000492
Модель гипертрофии	2	NR4A3, ATF3	3,22	0,000609
Сигнальные пути Wnt и плюрипотентность	3	SOX2, NANOG, LEF1	3,12	0,000753
Сигнальный путь Toll-подобных рецепторов	3	IRF7, IRF5, NFKB2	3,11	0,000776
Сигнальная ось GDNF/RET	2	FOXC2, FOXC1	3,09	0,000808
Сигнальный путь TGF- β -рецептора	3	ATF3, HNF4A, LEF1	2,58	0,002631
Развитие конечностей	2	HAND1, ETV5	2,44	0,003647
Гены адипогенеза	2	FOXC2, PPARA	1,61	0,024667
Пути расслабления и сокращения миомерия	2	ATF3, GABPA	1,51	0,030792
TNF- α -NF- κ B-сигнальный путь	2	NFKB2, RELB	1,35	0,044609

В перечне идентифицированных процессов и сигнальных путей, насыщенных дифференциально экспрессирующимися генами с предсказанными транскрипционными факторами, ключевое значение для канцерогенеза имеют: механизмы, связанные с плюрипотентностью; апоптоз; сигнальные пути Wnt и плюрипотентности; сигнальный путь Toll-подобных рецепторов; сигнальный путь TGF- β -рецептора; TNF- α -NF- κ B-сигнальный путь.

ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью NGS-секвенирования и последующего биоинформатического анализа, включавшего кластеризацию генов и предсказание транскрипционных факторов, выявлено 670 дифференциально экспрессирующихся генов, объединённых в 12 функциональных кластеров, связанных с репарацией ДНК, апоптозом и клеточным циклом. В перечне идентифицированных транскрипционных факторов особое значение имеют представители семейства белков регуляторного фактора интерферона (IRF), первоначально идентифицированные как регу-

ляторы транскрипции интерфероновой системы I типа. В настоящее время известно, что IRF участвуют в канцерогенезе, определяют восприимчивость организма к злокачественным новообразованиям и влияют на их прогрессирование [25].

В частности, интерферон-регуляторный фактор 5 (IRF5) — ключевой медиатор врождённого и адаптивного иммунитета. Нарушение регуляции экспрессии IRF5 было зарегистрировано при гематологических злокачественных новообразованиях и солидных опухолевых заболеваниях, что подтверждает роль IRF5 в злокачественной трансформации, регуляции иммунной системы опухоли, клиническом прогнозе и ответе на лечение. Отмечено, что IRF5 подавляет метастазирование посредством регуляции внеклеточных везикул, образующихся в опухоли, и образования преметастатической ниши, а полиморфизм гена *IRF5* может изменять иммунную реактивность, влияя на внутреннюю биологию меланомы [26–28]. Кроме того, показано, что к ускользанию от иммунного ответа приводит подавление сигнальных путей IRF7 в клетках рака молочной железы, что способствует метастазированию [29].

Фактор регуляции интерферона 4 (IRF4) активируется при передаче сигналов через рецепторы Т-клеток, Toll-подобные рецепторы и рецепторы фактора некроза опухоли. Его экспрессия в значительной степени ограничена иммунными клетками, и он играет важную роль в дифференцировке и функционировании как эффекторных, так и иммуносупрессивных клеток, особенно во время клональной экспансии и реализации эффекторных функций Т-клеток. Это делает IRF4 важнейшим внутренним фактором функционирования Т-клеток в опухолях и подчёркивает потенциал его инженерии как иммунотерапевтического подхода [30, 31].

Генетические и фармакологические подходы показали, что посредством прямой индукции отрицательно регулятора IRF4-фактор транскрипции SOX10 подавляет транскрипцию IRF1, что регулирует иммуногенность меланомы [32].

Перспективным биомаркером в прогнозировании ответа клеток меланомы на воздействие химиотерапевтическими агентами может быть LEF1 — фактор связывания лимфоидного энхансера 1. Показано, что он является ключевым фактором старения, а его контекстная регуляция наблюдается при развитии признаков клеточного старения у человека и мыши. LEF1 — член семейства факторов транскрипции группы высокой подвижности Т-клеточного фактора, является нижестоящим медиатором сигнального пути Wnt/ β -катенина, но также может независимо модулировать транскрипцию генов. LEF1 необходим для поддержания жизнеспособности стволовых клеток и развития органов, а также имеет значение в эпителиально-мезенхимальном переходе посредством активации транскрипции его отличительных эффекторов — N-кадгерина, виментина, Snail. Аберрантная экспрессия LEF1 имеет значение при опухолеобразовании и пролиферации, миграции и инвазии опухолевых клеток [33–35].

Неканонический путь активации ядерного фактора κ B (NF- κ B) также участвует в качестве регулятора иммунных реакций, и изменения его активности часто определяют при злокачественных новообразованиях человека [36].

RELB, входящий в состав неканонического сигнального NF- κ B, часто обнаруживается в аномально высоких количествах при многих злокачественных опухолях и служит прогностическим маркером при глиобластоме. Кроме того, повышенная активность RELB регистрируется при агрессивных формах трижды негативного рака молочной железы, что указывает на его возможную роль в прогрессировании этого типа злокачественных новообразований [37].

RELB стимулирует пролиферацию клеток за счёт индукции перехода G1/S и/или снижения апоптоза путём повышения экспрессии циклина D1 и Bcl-2. Кроме того, RELB повышает подвижность клеток посредством активации эпителиально-мезенхимального перехода [38].

В неканоническом пути активации NF- κ B участвует фактор транскрипции NF κ B2, что имеет решающее

значение в прогрессировании меланомы [39]. Показано, что снижение экспрессии NF κ B2 приводит к подавлению экспрессии белка SPP1, который, в свою очередь, подавляет пролиферацию, миграцию и инвазию меланомы. NF κ B2 опосредует реакции иммунного ответа и метастазирования колоректального рака [40].

Ключевым фактором транскрипции, оказывающим влияние на лекарственную устойчивость и способствующим уклонению от апоптоза клеток меланомы, является транскрипционный фактор NANOG, низкоэкспрессирующийся в дифференцированных тканях. Этот фактор транскрипции индуцирует экспрессию в опухолевых клетках антигенов стволовых клеток, стимулирует неограниченное самообновление, инвазивность, ангиогенез и лекарственную устойчивость посредством изменения активности транскрипционных факторов WNT, OCT4, SOX2, Hedgehog, BMI-1 и других комплексов. NANOG способствует поддержанию жизнеспособности опухолевых стволовых клеток через несколько процессов, включающих стимуляцию ангиогенеза и снижение уровней экспрессии E-кадгерина [41]. Таким образом, NANOG позволяет опухолевым клеткам приобретать свойства, подобные свойствам стволовых клеток, которые являются источником экспансии опухолевых клеток, поддержания их жизнеспособности, образования метастазов и рецидива опухоли [42]. Высокая экспрессия NANOG при злокачественных новообразованиях часто связана с поздними стадиями онкологического заболевания, низкой дифференцировкой, сниженной общей выживаемостью и устойчивостью к лечению [43].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование позволило выявить ключевые транскрипционные факторы и сигнальные пути, ассоциированные с развитием устойчивости клеток меланомы B16 к дакарбазину *in vivo*. С помощью NGS-секвенирования и биоинформатического анализа установлено, что воздействие алкилирующего агента приводит к значительным изменениям в экспрессии 670 генов, участвующих в процессах репарации ДНК, регуляции апоптоза, клеточного цикла и метаболического переключения. Кластеризация дифференциально экспрессируемых генов выявила 12 функциональных кластеров, связанных с ключевыми проонкогенными процессами, включая изменения выраженности p53-зависимого апоптоза, синтез белка и регуляцию клеточного цикла. Идентифицированы транскрипционные факторы — RELB, IRF5, IRF7, IRF4, NANOG, SOX2, LEF1, NF κ B2, — регулирующие экспрессию генов устойчивости к терапии и участвующие в регуляции поддержания плюрипотентности, сигнальных путей Wnt, TGF- β , Toll-подобных рецепторов и NF- κ B. Факторы транскрипции в контексте опухолевой резистентности IRF5, IRF7, IRF4 модулируют иммунный ответ и метастатический потенциал меланомы. LEF1 может опосредовать влияние

алкилирующих агентов на опухолевые стволовые клетки через регуляцию клеточного старения и изменения активности генов, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом. Транскрипционный фактор NANOG поддерживает фенотип стволовости, способствуя уклонению от терапии, тогда как RELB и NFKB2 активируют неканонический путь NF-κB, усиливая их пролиферацию и инвазивность опухолевых клеток. Полученные данные подчёркивают важность эпигенетических и транскрипционных механизмов в формировании резистентности меланомы к химиотерапии. Выявленные факторы транскрипции и ассоциированные с ними пути представляют собой потенциальные мишени для комбинированной терапии и преодоления лекарственной устойчивости клеток меланомы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Л.Е.З. — проведение исследования, работа с данными, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; З.И.С. — проведение исследования, работа с данными, написание черновика рукописи, пересмотр и редактирование рукописи; Б.Е.И. — работа с данными, пересмотр и редактирование рукописи; Р.Т.Г. — определение концепции, администрирование проекта, разработка методологии, курирование данных, пересмотр и редактирование рукописи. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Этическая экспертиза. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 116/2022 от 27.12.2022).

Источники финансирования. Исследование проведено с использованием денежных средств гранта Российского научного фонда (грант РНФ № 19-15-00110, <https://rscf.ru/project/19-15-00110/>).

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Все данные, полученные в настоящем исследовании, доступны в статье.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена в соответствии с процедурой fast-track. В рецензировании участвовали один внешний рецензент, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: L.E.Z.: investigation, data curation, writing—original draft, writing—review & editing; Z.I.S.: investigation, data curation, writing—original draft, writing—review & editing; B.E.I.: data curation, writing—review & editing; R.T.G.: conceptualization, project administration, methodology, data curation, writing—review & editing. All authors approved the version of the manuscript to be published and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Ethics approval: The study was approved by the Local Ethics Committee of the Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University (Protocol No. 116/2022, December 27, 2022).

Funding sources: The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (Russian Science Foundation Grant No. 19-15-00110, <https://rscf.ru/project/19-15-00110/>).

Disclosure of interests: The authors have no relationships, activities, or interests for the last three years related to for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality: No previously published material (text, images, or data) was used in this work.

Data availability statement: All data generated during this study are available in this article.

Generative AI: No generative artificial intelligence technologies were used to prepare this article.

Provenance and peer review: This paper was submitted unsolicited and reviewed following the fast-track procedure. The peer review process involved one external reviewers, a member of the editorial board, and the in-house scientific editor.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Artyukhov IP, Gavriluk DV, Dyhno YuA, Ruksha TG. Incidence of melanoma of the skin in the adult population of the Krasnoyarsk Territory. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*. 2013;6(84):37–42. EDN: RTJCPR
2. Komina AV, Palkina NV, Aksenenko MB, et al. Semaphorin-5A downregulation is associated with enhanced migration and invasion of BRAF-positive melanoma cells under vemurafenib treatment in melanomas with heterogeneous BRAF status. *Melanoma Res*. 2019;29(5):544–548. doi: 10.1097/CMR.0000000000000621 EDN: JFNRF
3. De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer*. 2013;13:97–110. doi: 10.1038/nrc3447 EDN: RJOJMD
4. Schatton T, Murphy GF, Frank NY, et al. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*. 2008;451:345–349. doi: 10.1038/nature06489
5. Scheel C, Weinberg RA. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol*. 2012;22:396–403. doi: 10.1016/j.semcancer.2012.04.001
6. Hsiao JJ, Fisher DE. The roles of microphthalmia-associated transcription factor and pigmentation in melanoma. *Arch Biochem Biophys*. 2014;563C:28–34. doi: 10.1016/j.abb.2014.07.019
7. Motorina AV, Palkina NV, Komina AV, et al. Genetic analysis of melanocortin 1 receptor red hair color variants in a Russian population of Eastern Siberia. *Eur J Cancer Prev*. 2018;27(2):192–196. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000317 EDN: ATQNER
8. Carreira S, Goodall J, Denat L, et al. Mitf regulation of Dia1 controls melanoma proliferation and invasiveness. *Genes Dev*. 2006;20:3426–3439. doi: 10.1101/gad.406406 EDN: MHRQVB
9. Fu YC, Liang SB, Luo M, et al. Intratumoral heterogeneity and drug resistance in cancer. *Cancer Cell Int*. 2025;25:103. doi: 10.1186/s12935-025-03734-w EDN: MRNQQG
10. Roesch A, Vultur A, Bokesi I, et al. Overcoming intrinsic multidrug resistance in melanoma by blocking the mitochondrial respiratory chain of slow-cycling JARID1B(high) cells. *Cancer Cell*. 2013;23(6):811–825. doi: 10.1016/j.ccr.2013.05.003
11. Hossain SM, Eccles MR. Phenotype Switching and the Melanoma Microenvironment; Impact on Immunotherapy and Drug Resistance. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1601. doi: 10.3390/ijms24021601 EDN: FPUICF
12. Smith MP, Brunton H, Rowling EJ, et al. Inhibiting Drivers of Non-mutational Drug Tolerance Is a Salvage Strategy for Targeted Melanoma Therapy.

Cancer Cell. 2016;29(3):270–284. doi: 10.1016/j.ccell.2016.02.003 EDN: WPI-AOZ

13. Van Allen EM, Wagle N, Sucker A, et al. The genetic landscape of clinical resistance to RAF inhibition in metastatic melanoma. *Cancer Discov*. 2014;4(1):94–109. doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0617 EDN: SQDRZZ
14. Hartman ML, Sztiller-Sikorska M, Gajos-Michniewicz A, Czyz M. Dissecting Mechanisms of Melanoma Resistance to BRAF and MEK Inhibitors Revealed Genetic and Non-Genetic Patient- and Drug-Specific Alterations and Remarkable Phenotypic Plasticity. *Cells*. 2020;9(1):142. doi: 10.3390/cells9010142 EDN: IRVJPE
15. Wang J, Huang SK, Marzese DM, et al. Epigenetic changes of EGFR have an important role in BRAF inhibitor-resistant cutaneous melanomas. *J Invest Dermatol*. 2015;135(2):532–541. doi: 10.1038/jid.2014.418 EDN: UUMQWT
16. Karwaciak I, Salkowska A, Karaś K, et al. Targeting SIRT2 Sensitizes Melanoma Cells to Cisplatin via an EGFR-Dependent Mechanism. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):5034. doi: 10.3390/ijms22095034 EDN: QMAOUP
17. Konieczkowski DJ, Johannessen CM, Abudayyeh O, et al. A melanoma cell state distinction influences sensitivity to MAPK pathway inhibitors. *Cancer Discov*. 2014;4(7):816–827. doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0424
18. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. doi: 10.17226/12910
19. Smoot ME, Ono K, Ruscheinski J, et al. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics*. 2011;27(3):431–432. doi: 10.1093/bioinformatics/btq675 EDN: OAEEBE
20. Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*. 2003;13(11):2498–2504. doi: 10.1101/gr.1239303
21. Grant CE, Bailey TL, Noble WS. FIMO: scanning for occurrences of a given motif. *Bioinformatics*. 2011;27(7):1017–1018. doi: 10.1093/bioinformatics/btr064
22. Timothy LB. STREME: accurate and versatile sequence motif discovery. *Bioinformatics*. 2021;37(18):2834–2840. doi: 10.1093/bioinformatics/btab203 EDN: VKMHST
23. Gupta S, Stamatoyannopoulos JA, Bailey TL, Noble WS. Quantifying similarity between motifs. *Genome Biol*. 2007;8(2):R24. doi: 10.1186/gb-2007-8-2-r24
24. Bailey TL, Boden M, Buske FA, et al. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Res*. 2009;37(Web Server issue):W202–W208. doi: 10.1093/nar/gkp335
25. Yanai H, Negishi H, Taniguchi T. The IRF family of transcription factors: Inception, impact and implications in oncogenesis. *Oncotarget*. 2012;1(8):1376–1386. doi: 10.4161/onc.22475
26. Roberts BK, Collado G, Barnes BJ. Role of interferon regulatory factor 5 (IRF5) in tumor progression: Prognostic and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2024;1879(1):189061. doi: 10.1016/j.bbcan.2023.189061 EDN: QHGDFG
27. Roberts BK, Li DI, Somerville C. IRF5 suppresses metastasis through the regulation of tumor-derived extracellular vesicles and pre-metastatic niche formation. *Sci Rep*. 2024;14(1):15557. doi: 10.1038/s41598-024-66168-w EDN: PWYBCB
28. Uccellini L, De Giorgi V, Zhao Y, et al. IRF5 gene polymorphisms in melanoma. *J Transl Med*. 2012;10:170. doi: 10.1186/1479-5876-10-170 EDN: NLKEML
29. Bidwell BN, Slaney CY, Withana NP, et al. Silencing of Irf7 pathways in breast cancer cells promotes bone metastasis through immune escape. *Nat Med*. 2012;18(8):1224–1231. doi: 10.1038/nm.2830
30. Yan H, Dai Y, Zhang X, et al. The transcription factor IRF4 determines the anti-tumor immunity of CD8+ T cells. *iScience*. 2023;26(11):108087. doi: 10.1016/j.isci.2023.108087 EDN: KFWLUK
31. Lu J, Liang T, Li P, Yin Q. Regulatory effects of IRF4 on immune cells in the tumor microenvironment. *Front Immunol*. 2023;14:1086803. doi: 10.3389/fimmu.2023.1086803 EDN: HAEPDV
32. Yokoyama S, Takahashi A, Kikuchi R, et al. SOX10 Regulates Melanoma Immunogenicity through an IRF4-IRF1 Axis. *Cancer Res*. 2021;81(24):6131–6141. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-21-2078 EDN: YUSQWG
33. Jia M, Sayed K, Kapetanaki MG, et al. LEF1 isoforms regulate cellular senescence and aging. *Aging Cell*. 2023;22(12):e14024. doi: 10.1111/ace1.14024 EDN: CHWKCC
34. Ngai H, Barragan GA, Tian G, et al. LEF1 Drives a Central Memory Program and Supports Antitumor Activity of Natural Killer T Cells. *Cancer Immunol Res*. 2023;11(2):171–183. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-22-0333 EDN: JXBHAW
35. Santiago L, Daniels G, Wang D, et al. Wnt signaling pathway protein LEF1 in cancer, as a biomarker for prognosis and a target for treatment. *Am J Cancer Res*. 2017;7(6):1389–1406. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5489786/>
36. Wu J, Yu X, Zhu H, et al. RelB is a potential molecular biomarker for immunotherapy in human pan-cancer. *Front Mol Biosci*. 2023;10:1178446. doi: 10.3389/fmolb.2023.1178446 EDN: HEKPDY
37. Zeng F, Wang K, Huang R, et al. RELB: A novel prognostic marker for glioblastoma as identified by population-based analysis. *Oncol Lett*. 2019;18(1):386–394. doi: 10.3892/ol.2019.10296
38. Wang M, Zhang Y, Xu Z, et al. RelB sustains endocrine resistant malignancy: an insight of noncanonical NF- κ B pathway into breast Cancer progression. *Cell Commun Signal*. 2020;18(1):128. doi: 10.1186/s12964-020-00613-x EDN: BRQQZM
39. Deng G, Zeng F, Su J, et al. BET inhibitor suppresses melanoma progression via the noncanonical NF- κ B/SPP1 pathway. *Theranostics*. 2020;10(25):11428–11443. doi: 10.7150/thno.47432 EDN: KUMYZZ
40. Zhang J, Ma F, Li Z, et al. NFKB2 mediates colorectal cancer cell immune escape and metastasis in a STAT2/PD-L1-dependent manner. *Med-Comm (2020)*. 2024;5(5):e521. doi: 10.1002/mco2.521 EDN: XBGLJH
41. Najafzadeh B, Asadzadeh Z, Motafakker Azad R, et al. The oncogenic potential of NANOG: An important cancer induction mediator. *J Cell Physiol*. 2021;236(4):2443–2458. doi: 10.1002/jcp.30063 EDN: VZXHTW
42. Vasefifar P, Motafakkerazad R, Maleki LA, et al. Nanog, as a key cancer stem cell marker in tumor progression. *Gene*. 2022;827:146448. doi: 10.1016/j.gene.2022.146448 EDN: KFMVLM
43. Grubelnik G, Boštjančič E, Pavlič A, et al. NANOG expression in human development and cancerogenesis. *Exp Biol Med*. 2020;245(5):456–464. doi: 10.1177/1535370220905560 EDN: HMQAWU

ОБ АВТОРАХ

*** Рукша Татьяна Геннадьевна**, д-р мед. наук, профессор, заведующая, каф. патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова;
адрес: Россия, 660022, Красноярск, ул. П. Железняк, д. 1;
ORCID: 0000-0001-8142-4283;
eLibrary SPIN: 5412-2148;
e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Лапкина Екатерина Зиядхановна, доцент, каф. патологической физиологии имени профессора В.В. Иванова;
ORCID: 0000-0002-7226-9565;
eLibrary SPIN: 7656-8584;
e-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Зинченко Иван Сергеевич, старший лаборант, каф. патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова;
ORCID: 0000-0001-7085-6304;
eLibrary SPIN: 5810-5926;
e-mail: Zinchenko.Ivan.003@gmail.com

Бондар Евгения Ивановна, канд. биол. наук, младший научный сотрудник, лаб. геномных исследований и биотехнологии, старший преподаватель, каф. геномики и биоинформатики;
ORCID: 0000-0003-3762-6974;
eLibrary SPIN: 6452-2085;
e-mail: bondar.zhenya.iv@gmail.com

AUTHORS INFO

*** Tatiana G. Ruksha**, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Head, Depart. of Pathological Physiology named after prof. V.V. Ivanov;
address: 1 P. Zheleznyaka st, Krasnoyarsk, Russia, 660022;
ORCID: 0000-0001-8142-4283;
eLibrary SPIN: 5412-2148;
e-mail: tatyana_ruksha@mail.ru

Ekaterina Z. Lapkina, assistant Professor, Depart. of Pathological Physiology named after prof. V.V. Ivanov;
ORCID: 0000-0002-7226-9565;
eLibrary SPIN: 7656-8584;
e-mail: e.z.lapkina@mail.ru

Ivan S. Zinchenko, Senior Lab Assistant, Depart. of Pathological Physiology named after prof. V.V. Ivanov;
ORCID: 0000-0001-7085-6304;
eLibrary SPIN: 5810-5926;
e-mail: Zinchenko.Ivan.003@gmail.com

Evgeniya I. Bondar, Cand. Sci. (Biology), Junior Research Associate, Lab. of Genomic Research and Biotechnology, Senior Lecturer, Depart. of Genomics and Bioinformatics;
ORCID: 0000-0003-3762-6974;
eLibrary SPIN: 6452-2085;
e-mail: bondar.zhenya.iv@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author