

## ИЗМЕНЕНИЯ В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В ХИМИЧЕСКИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЯХ *IN VIVO*

М. М. Цыганов<sup>1,2</sup>✉, И. А. Цыденова<sup>1</sup>, Д. М. Лоос<sup>1</sup>, М. К. Ибрагимова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный научно-исследовательский медицинский центр, Томск, Россия

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Изучение молекулярных механизмов канцерогенеза, включая нарушение в системе гомологичной рекомбинации (ГР), является важной задачей при изучении процесса малигнизации. Дисфункция генов ГР, таких как *BRCA1/2*, способствует геномной нестабильности и развитию более агрессивных опухолевых клонов. Использование химических канцерогенов, таких как диметилбенз(а)антрацен (ДМБА), позволяет моделировать процессы опухолеобразования и анализировать изменения экспрессии генов репарации. Изучение этих изменений важно для понимания механизмов адаптации опухолевых клеток к генотоксическому стрессу и разработки персонализированных подходов к терапии рака. Целью работы было оценить экспрессию основных генов ГР при химиоиндуцированном канцерогенезе у мышей. Исследование проводили на самках аутбредных лабораторных мышей ICR (CD-1;  $n = 20$ ). Сформировано две группы животных: контрольная и группа исследования с введением ДМБА. Для идентификации опухолей аутопсийный материал подвергали гистологическому анализу. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи ОТ-ПЦР, наличие хромосомных aberrаций — посредством цифровой ПЦР. Наличие опухолей установлено у четырех животных. В трех образцах опухоли наблюдали нулевую экспрессию *Brca1*, *Brca2*, *Cdk12*, *Chek2*, *Palb2*, *Bard1*, *Brip1* и паралогов *Rad*. У одного образца зафиксированы высокие уровни генов *Cdk12* (14.3), *Chek1* (27.6), *Rad51d* (38.5). В большинстве случаев зафиксировано преобладание делеций в исследуемых генах. Таким образом, при опухолеобразовании происходит снижение экспрессии основных генов репарации, формирование хромосомных aberrаций, что может способствовать появлению более агрессивных клонов, а также увеличивать чувствительность к химиопрепаратам.

**Ключевые слова:** химиоиндуцированный канцерогенез, гены гомологичной рекомбинации, *Brca1*, экспрессия, диметилбензантрацен

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00169-П).

**Благодарности:** работнику по уходу за животными Д. Ж. Булатовой (НИИ онкологии, г. Томск) и лаборанту-исследователю П. Е. Никифорову (НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е. Д. Гольдберга, г. Томск) за помощь в планировании и проведении эксперимента на модельных животных.

**Вклад авторов:** М. М. Цыганов — написание текста статьи; И. А. Цыденова — получение данных для анализа; Д. М. Лоос — получение данных для анализа, визуализация; М. К. Ибрагимова — редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского национального научно-исследовательского медицинского центра Российской академии наук (протокол № 21, от 14 октября 2022 г.). Содержание, уход и все манипуляции с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS № 123).

✉ **Для корреспонденции:** Матвей Михайлович Цыганов  
ул. Кооперативная, д. 5, г. Томск, 634050, Россия; tsyganovMM@yandex.ru

**Статья получена:** 17.03.2026 **Статья принята к печати:** 08.04.2026 **Опубликована онлайн:** 19.04.2026

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2026.014

**Авторские права:** © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## CHANGES IN EXPRESSION OF HOMOLOGOUS RECOMBINATION GENES IN CHEMOTHERAPY-INDUCED TUMORS *IN VIVO*

Tsyganov MM<sup>1,2</sup>✉, Tsydenova IA<sup>1</sup>, Loos DM<sup>1</sup>, Ibragimova MK<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

<sup>2</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Studying molecular mechanisms of carcinogenesis, including abnormalities of the homologous recombination (HR) system, is an important objective when studying malignization. Dysfunction of HR genes, such as *BRCA1/2*, contributes to genomic instability and the development of more aggressive tumor clones. The use of chemical carcinogens, such as dimethylbenz(a)anthracene (DMBA), allows one to simulate tumorigenesis processes and assess changes in expression of repair genes. It is important to study such changes to understand the mechanisms underlying adaptation of tumor cells to genotoxic stress and develop personalized approaches to cancer treatment. The study aimed to assess the expression of major HR genes in chemotherapy-induced carcinogenesis in mice. The study involved female outbred ICR laboratory mice (CD-1;  $n = 20$ ). Two groups of animals were formed: the control group and the treatment group that was administered DMBA. Histological analysis of autopsy specimens was conducted to identify tumors. Gene expression levels were assessed using RT-PCR, and testing for chromosomal aberrations was performed using digital PCR. Tumors were found in four animals. Zero expression of the genes *Brca1*, *Brca2*, *Cdk12*, *Chek2*, *Palb2*, *Bard1*, *Brip1* and *Rad* paralogues was observed in three tumor samples. One sample showed high expression of the genes *Cdk12* (14.3), *Chek1* (27.6), *Rad51d* (38.5). Predominance of deletions in the test genes was reported in the majority of cases. Thus, tumorigenesis is associated with the decrease in expression of major repair genes, chromosomal aberration formation, which can contribute to the emergence of more aggressive clones and increase sensitivity to chemotherapy drugs.

**Keywords:** chemotherapy-induced carcinogenesis; homologous recombination genes, *Brca1*; expression; dimethylbenzanthracene

**Funding:** the study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-15-00169-П).

**Acknowledgements:** to D.Zh. Bulatova, animal care specialist (Cancer Research Institute, Tomsk), and P.E. Nikiforov, laboratory research assistant (Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk) for assistance in planning and conducting experiments involving model animals.

**Author contribution:** Tsyganov MM — manuscript writing; Tsydenova IA — acquisition of the data for analysis; Loos DM — acquisition of the data for analysis, imaging; Ibragimova MK — editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 21 dated 14 October 2022). Animals were handled in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (ETS No. 123).

✉ **Correspondence should be addressed:** Matvey M. Tsyganov  
Kooperativnaya 5, Tomsk, 634050, Russia; tsyganovMM@yandex.ru

**Received:** 17.03.2026 **Accepted:** 08.04.2026 **Published online:** 19.04.2026

**DOI:** 10.24075/brsmu.2026.014

**Copyright:** © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Изучение механизмов, лежащих в основе происхождения и прогрессирования солидных опухолей, остается одной из самых актуальных задач современной биомедицины [1]. Одним из ключевых событий, лежащих в основе канцерогенеза, могут быть изменения в генах системы гомологичной рекомбинации (ГР), участвующих в репарации двуцепочечных разрывов ДНК, регуляции клеточного цикла и т. д. [2]. Такие изменения могут проявляться как дисфункция (накопление мутаций, крупные хромосомные перестройки, изменения экспрессии и т. д.) в ключевых генах гомологичной рекомбинации, в частности *BRCA1* и *BRCA2*. Дисфункция приводит к формированию дефицита репарации двуцепочечных разрывов ДНК, или дефицита гомологичной рекомбинации (ДГР) [3]. При этом уровень экспрессии *BRCA1/2* и других генов системы ГР является одним из основных и конечных факторов, определяющих не только степень генетической и функциональной дисфункции, но и чувствительность опухолевых клеток к различным химиотерапевтическим агентам.

Согласно рабочей гипотезе исследования, в процессе трансформации, роста и прогрессии опухоли механизмы формирования дефицита гомологичной рекомбинации увеличиваются, усиливая генетическую нестабильность. С эволюционной точки зрения, опухоли «выгодно» формирование мутаторного фенотипа и, прежде всего, за счет дисрегуляции процессов гомологичной рекомбинации. При этом механизмы формирования ДГР в опухолевых клетках должны увеличиваться за счет расширения частоты и спектра нарушений. Начальные мутации генов ГР могут сопровождаться делециями, метилированием, репрессией генов и т. д., что должно приводить к формированию более агрессивных клонов. Но этот процесс остается практически не изученным, и его исследование поможет спрогнозировать риски малигнизации предопухолевых патологий и агрессивность опухолей ранних стадий.

Химические вещества, вызывающие мутации и другие генотоксические изменения, особенно ценны для моделирования канцерогенеза, поскольку они непосредственно инициируют развитие опухоли. Одним из наиболее распространенных полициклических ароматических углеводородов в нашей окружающей среде является 7,12-диметилбенз(а)антрацен (ДМБА), обладающий выраженными канцерогенными свойствами, широко используемый в доклинических исследованиях для имитации процессов образования опухолей *in vivo* и *in vitro* [4, 5]. На сегодняшний день данные о профилях экспрессии генов опухолей, индуцированных специфическими химическими канцерогенами, остаются скудными. Имеющиеся данные свидетельствуют о связи между воздействием химических веществ и нарушением гомологичной рекомбинации (ГР). Например, было показано, что воздействие ПАУ в дозах, соответствующих условиям окружающей среды, дозозависимо снижает экспрессию *BRCA1* в клетках рака молочной железы [6]. Более ранние исследования показали, что ПАУ также подавляют *BRCA1 in vitro* и *in vivo* [7]. В этом контексте использование мышинных моделей стало мощным инструментом для изучения этиологии и прогрессирования рака *in vivo*. Однако исследование эффектов подавления гомологичной рекомбинации *in vivo* остается сложной задачей, особенно в контексте канцерогенеза, вызванного химиотерапией. Например, было показано, что мутации в гене *Rad51* сильно предрасполагают мышей к лимфомам, в то время как мутации *Brca1* способствуют развитию

других типов опухолей [8]. Мышиные модели с частичной потерей функции *Brca2* также показывают повышенный уровень канцерогенеза с предрасположенностью к лимфомам [9]. Помимо ключевых генов ГР *BRCA1* и *BRCA2*, другие компоненты пути играют важную роль как в репарации ДНК, так и в канцерогенезе. Исследования на мышинных моделях показали, что снижение активности того же гена *Rad51 in vivo* не способствует развитию опухоли, а скорее обеспечивает защиту от нее. Эти данные предполагают, что опосредованная *Rad51* репарация может способствовать прогрессированию опухоли, а не функционировать как супрессор опухоли [10, 11]. Другие гены ГР с низкой пенетрантностью, включая *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1* и *BARD1*, были широко изучены в контексте канцерогенеза молочной железы человека [12]. Однако их функция и вклад в развитие опухоли в мышинных моделях остаются недостаточно изученными. В настоящее время данные о регуляции этих генов в моделях мышей ограничены, что препятствует всестороннему пониманию их участия в репарации ДНК и канцерогенезе [12]. Поэтому анализ изменений в экспрессии генов ГР во время канцерогенеза может позволить определить, как клетки реагируют на генотоксический стресс и как эти процессы могут быть нарушены в опухолевых тканях [13]. Понимание этой динамики может определить чувствительность опухолевых клеток к агентам, повреждающим ДНК, что важно для персонализированного лечения рака. Таким образом, целью данной работы было оценить экспрессию ключевых генов в системе гомологичной рекомбинации при химически индуцированном канцерогенезе у мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Животные

Изучение химиоиндуцированного канцерогенеза проводили на 20 самках аутбредных лабораторных мышей ICR (CD-1). Содержание, уход и все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123). Животных содержали в стандартных условиях при температуре  $22 \pm 2$  °C, относительной влажности 50–60%, с 12-часовым световым циклом (с 8:00 до 20:00). Корма и воду предоставляли в свободном доступе. Все процедуры с животными выполняли в утренние часы (с 9:00 до 11:00 местного времени) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментальных и иных научных целей. Мониторинг здоровья и поведенческих аспектов осуществляли ежедневно, а любые признаки дискомфорта или болезни незамедлительно устраняли специалисты.

### Дизайн эксперимента

Дизайн разрабатывали с соблюдением принципов 3R, снижая количество животных до необходимого минимума и минимизируя дискомфорт. Для проведения эксперимента были сформированы две группы животных. Путем взвешивания и рандомизации (согласно среднему весу,  $mean \pm 10\%$ ) животные сформировали в контрольную ( $n = 10$ ) и опытную группы ( $n = 10$ ). Среднее значение веса для контрольной группы составило:  $27,2 \pm 0,62$  г; для группы исследования —  $26,4 \pm 0,56$  г. В качестве

химического агента, обладающего прямой или опосредованной генотоксичностью, для индукции онкогенеза использовали диметилбензантрацен (ДМБА) (100 мг, 1,3-Dimethylbutylamine, 98%, Sigma-Aldrich #108-09-8).

### Выбор дозы

Поскольку ДМБА не растворяется в воде, но хорошо растворяется в органических растворителях, то при приготовлении рабочего раствора 100 мг вещества растворяли в 10 мл толуола до полного растворения, тем самым получая матричный раствор с содержанием 1 мг вещества в 0,1 мл (100 мкл) растворителя. На курсовое введение брали 0,07 мг (70 мкг) вещества. В пересчете на раствор: 70 мкл раствора вещества в толуоле доводили до 30 мл растительного масла. При таком разведении дозировка вещества составляла 23 мкг/кг, при условии что на 25 г живой массы будет введено 0,25 мл раствора. Полученный раствор вводили внутрижелудочно еженедельно в течение 3 месяцев. Стоит отметить, что согласно опубликованным данным, толуол может оказывать токсическое воздействие на поведенческие характеристики лабораторных животных и некоторые молекулярные параметры в организме [14]. Тем не менее, при минимальных дозах толуола цитохром P4502A13 способен эффективно метаболизировать данное вещество в организме [15] без негативного воздействия.

### Эвтаназия

Процедуру гуманной эвтаназии животных осуществляли при помощи CO<sub>2</sub>-камеры при постепенном увеличении концентрации газа. Вскрытие животных для идентификации опухоли осуществляли согласно методике вскрытия и извлечения органов лабораторных животных [16]. После изъятия ткань помещали в раствор RNAlater (Thermo Fisher Scientific, США). После 24-часовой инкубации при +4 °C образцы опухоли сохраняли при температуре -80 °C для дальнейшего выделения ДНК и РНК.

### Морфологическое исследование

Для изучения характера морфологических изменений и подтверждения наличия опухолевой ткани в образцах исследовали фрагменты ткани, удаленные из предполагаемого участка опухоли, а также метастазы. Фрагменты ткани 5 мм<sup>3</sup> помещали в 10% рН-нейтральный формалин (6,5–7,5). Продолжительность фиксации составляла 18–24 ч. Далее материал проводили по стандартной методике, с заливкой в парафин. С парафиновых блоков готовились серийные срезы толщиной 4–5 мкм [17]. Микропрепараты окрашивали растворами гематоксилина и эозина, приготовленными по общепринятым протоколам. Морфологическое исследование было проведено с помощью светового микроскопа «Axio Scope. A1» (Karl Zeiss, Германия). Микроскопическую оценку проводили по общепринятым критериям [18].

### Выделение РНК и ДНК

РНК и ДНК выделяли из опухолевой ткани с помощью набора RNeasy Plus mini Kit и QIAamp DNA mini Kit (Qiagen, Германия), соответственно, согласно инструкции производителя.

### Количественная Real-time qPCR

Уровень экспрессии генов гомологичной рекомбинации: *Brc1*, *Brc2*, *Atm*, *Bard1*, *Brip1*, *Cdk12*, *Chek1*, *Chek2*, *Fancl*, *Palb2*, *Ppp2r2a*, *Rad51b*, *Rad51c*, *Rad51d*, *Rad54l*, *Parp1* оценивали при помощи обратнo-транскриптазной количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan на амплификаторе Rotor-Gene-6000 (Qiagen, Германия), как описано ранее [19]. В качестве гена-рефери использовали два гена: *Gapdh* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) и *Actb* (бета-актин), уровень экспрессии генов нормализовали по отношению к экспрессии данных генов в норме и измеряли в условных единицах. Относительная экспрессия генов была оценена с помощью метода Pfaffl [5]. В качестве калибратора использовали РНК, выделенную из нормальной ткани.

### Цифровая ПЦР

В качестве метода анализа копийности генов *Brc1*, *Brc2*, *Cdk12*, *Chek1*, *Parp1* и *Rad51c* использовали цифровую ПЦР — систему QIAcuity Digital PCR System (Qiagen, Германия). Анализ вариации числа копий включал определение количества мишеней и референсных локусов дуплекс-методом. В качестве гена-рефери был выбран ген *Ap3b1* (adaptor related protein complex 3 subunit beta 1), рекомендованный производителем.

### Статистическая обработка результатов

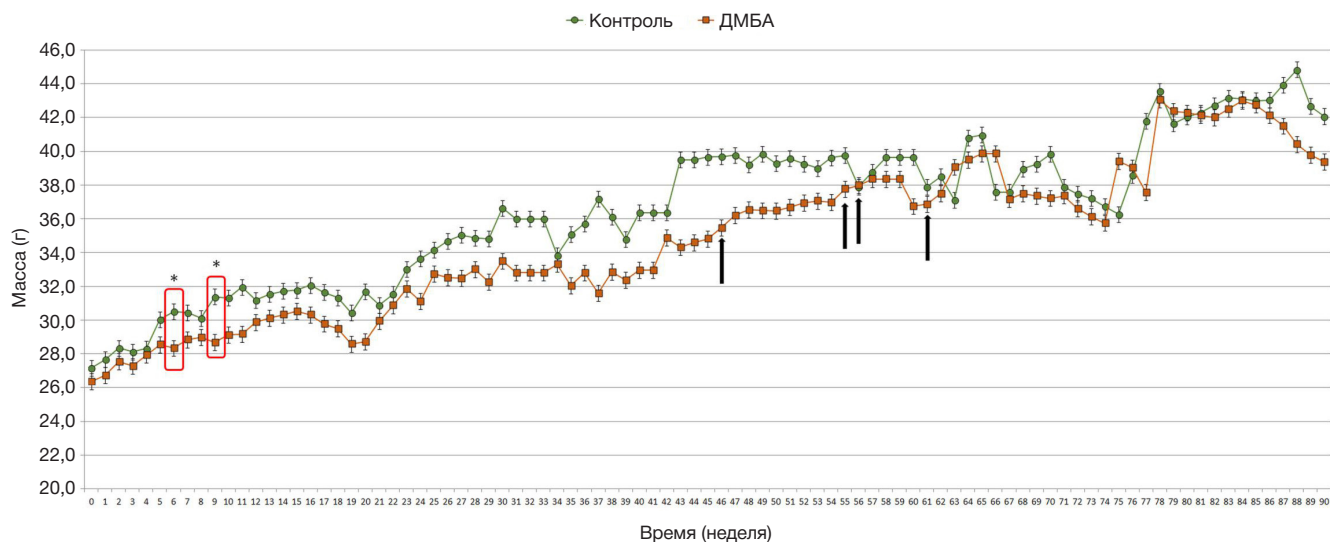
Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0» (StatSoft Inc., США).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования была оценена динамика изменения веса исследуемых групп животных с 30.12.2023 по 16.11.2025 (рис. 1). Животные в контрольной группе не имели снижения массы в течение этого периода наблюдения. Введение ДМБА уже через шесть недель вызвало статистически значимое изменение массы животных (рис. 1). В частности, средняя масса животных в контрольной группе в данный срок составила  $30,5 \pm 0,84$  по сравнению с группой ДМБА ( $28,3 \pm 0,54$ ;  $p = 0,05$ ). Через три недели различия становятся сильнее ( $p = 0,02$ ), соответственно для группы с ДМБА ( $28,7 \pm 0,69$ ) и массе контрольной группы ( $31,4 \pm 1,07$ ). В дальнейшем наблюдается тенденция увеличения массы тела животных как в контрольной, так и в опытной группе. Но статистически значимых различий не установлено на протяжении всего эксперимента.

При пальпировании (как и при визуальном осмотре) опухолевые образования были идентифицированы у четырех животных: на 46, 55, 56 и 61 неделях эксперимента (рис. 1).

После эвтаназии проводили вскрытие животных и анализ наличия опухолевого узла и метастазов в отдаленные органы (при наличии). Из 10 исследуемых животных опухоли образовались у четырех. В контрольной группе опухоли обнаружены не были. В результате анализа образца, полученного от лабораторного животного № 7, локализованного подкожно на шейном отделе, в пределах препаратов обнаружена морфологическая картина плеоморфно-клеточной опухоли

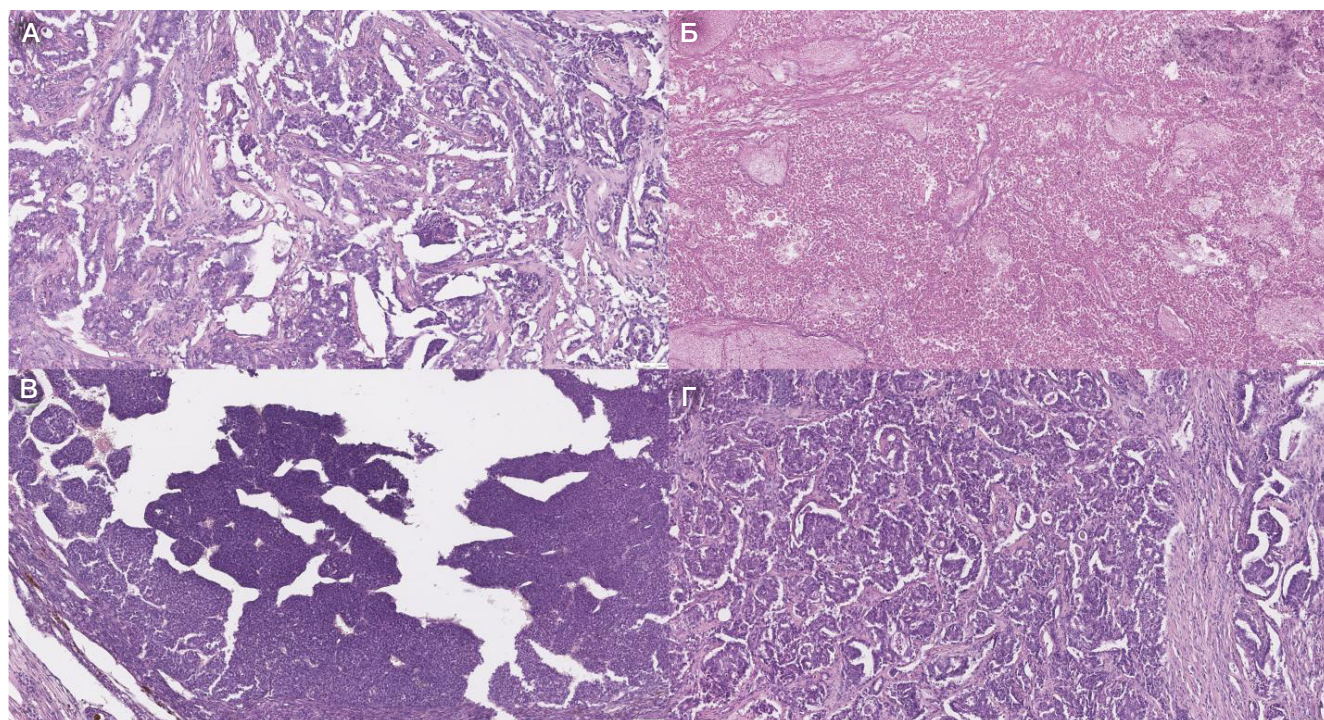


**Рис. 1.** Динамическое изменение массы исследуемых групп животных в период наблюдения. ДМБА — группа животных, которым вводили диметилбензантрацен; \* и \* — статистически значимые различия; стрелками обозначено время появления опухолей в исследуемой группе животных

с инвазивной структурой, формирующей солидные поля, разноразмерными гнездами и тяжами, а также трабекулярные и железистые структуры, сложенные умеренно полиморфными клетками среднего размера с умеренно выраженной эозинофильной цитоплазмой и округлыми, гиперхромными ядрами. В центральных отделах железистых структур обнаруживаются множественные мелкие очаги некроза опухоли. Строма выражена умеренно. Представлена разноразмерными тяжами зрелой волокнистой соединительной ткани с гиалинозом и неравномерной лимфо-плазмочитарной инфильтрацией. По краю фрагмента обнаружен крайне мелкий фрагмент кожи с подкожной жировой клетчаткой (рис. 2А). Еще у двух лабораторных мышей (образцы № 8 и № 9) были обнаружены опухоли схожей морфологической структуры, но локализованные в районе желудка на брюшине.

Фрагменты субтотальной ткани были представлены некрозом с признаками активного воспаления. В части полей зрения по периферии фрагмента ткани обнаружены структуры инвазивной опухоли, описанной выше (образец № 7). На всем протяжении фрагмента определяются признаки неравномерной, умеренной воспалительной инфильтрации с наличием нейтрофилов и гнойных телец. В толще полей некроза — небольшие единичные кальцинаты (рис. 2Б и В).

Еще у одного лабораторного животного (№ 6) опухоль была локализована в ткани легкого (рис. 2Г). Морфологическое исследование показало, что в пределах препарата — фрагменты ткани легкого, субтотально замещенные опухолью полиморфного строения. На большем протяжении опухоль представлена сливающимися солидными полями умеренно полиморфных клеток



**Рис. 2.** Микрофотография среза опухолевых образцов, полученных от лабораторных животных № 7 (А), № 8 (Б), № 9 (В) и № 6 (Г), при увеличении 10×. Срезы окрашены гематоксилином и эозином

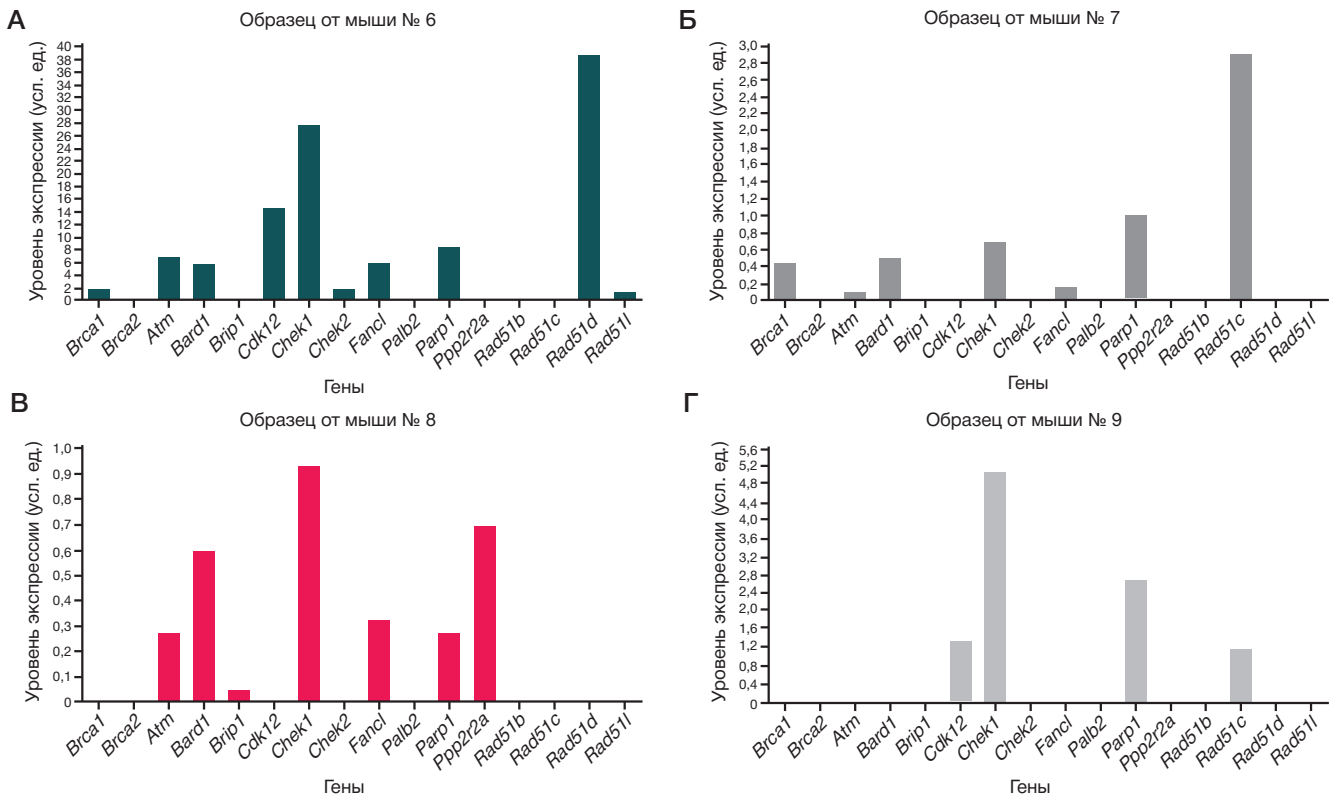


Рис. 3. Уровень экспрессии генов гомологичной рекомбинации в группе мышей с введением канцерогена ДМБА

среднего размера с умеренно выраженной эозинофильной цитоплазмой и округлыми, гиперхромными ядрами. В части полей зрения опухоль сформирована ацинарными структурами, сложенными относительно мономорфными клетками среднего и малого размера. В части фокусов опухоль формирует псевдосудистые щели, встречаются немногочисленные небольшие очаги некроза. Строма опухоли выражена умеренно, представлена тяжами зрелой волокнистой соединительной ткани со слабой лимфоидной инфильтрацией.

Следующим этапом исследования было изучение экспрессии генов гомологичной рекомбинации в полученных образцах опухолевой ткани (рис. 3).

В частности, в образце опухолевой ткани, полученной от лабораторного животного № 6, были выявлены высокие уровни экспрессии генов *Brca1* (2,06 усл. ед.); *Atm* (6,81 усл. ед.), *Bard1* (5,62 усл. ед.), *Cdk12* (14,36 усл. ед.), *Chek1* (27,68 усл. ед.), *Fancl* (5,82 усл. ед.), *Rad51d* (38,57 усл. ед.) (рис. 3А), что может свидетельствовать о сохранности системы гомологичной рекомбинации в данной опухоли и ее потенциальной активности по восстановлению поврежденных ДНК. Стоит также отметить, что при проведении анализа наличия хромосомных aberrаций с использованием цифровой ПЦР в гене *Brca1* в данном образце установлено наличие амплификации гена (табл. 1). Для остальных образцов опухолевой ткани установлен выраженно низкий уровень экспрессии исследуемых генов. В частности, у лабораторной мыши № 7 нормальное значение экспрессии характерно только для гена *Parp1* (1,001 усл. ед.), гиперэкспрессия наблюдается только в гене *Rad51c* (2,9 усл. ед.). Все остальные гены, в том числе и *Brca1/2*, имеют нулевой или очень низкий уровень экспрессии (рис. 3Б). Подобные результаты характерны и для остальных двух образцов. В образце опухоли мыши № 8 нулевое значение экспрессии характерно для 8 из 16 исследуемых генов (*Brca1*, *Brca2*, *Cdk12*, *Chek2*, *Palb2*,

*Rad51b*, *Rad51c*, *Rad51d*). В опухоли от мыши № 9 нулевое значение установлено для 12/16 генов (*Brca1*, *Brca2*, *Atm*, *Bard1*, *Brip1*, *Chek2*, *Fancl*, *Palb2*, *Ppp2r2a*, *Rad51b*, *Rad51d*, *Rad51l1*) (рис. 3В и Г). Для всех данных образцов показано наличие делеции в гене *Brca1*. Кроме этого, в таблице представлены данные анализа хромосомных перестроек некоторых исследуемых генов в опухолевых образцах. Результаты анализа демонстрируют высокую гетерогенность геномных перестроек. В частности, в образце № 6, кроме *Brca1*, амплификация наблюдается в генах *Cdk12*, *Chek1*, *Parp1* и только две делеции в генах *Brca2* и *Rad51c*. Для остальных образцов зафиксировано доминирование делеций в исследуемых генах или нормальное состояние копийности. В целом, это может указывать на то, что одним из первичных событий в процессе онкогенеза является появление крупных хромосомных перестроек и снижение активности генов репарации ДНК. При этом наличие амплификации и/или нормальной копийности генов соотносится с высоким уровнем экспрессии этого гена, что согласуется с литературными данными [20].

Таким образом, с учетом данных эксперимента было выявлено, что нарушения в механизмах гомологичной рекомбинации ведут к накоплению геномных нарушений и снижению репаративной активности, что повышает риск развития опухоли, но при этом при существующей опухоли делает ее более чувствительной к ДНК-повреждающим агентам. Это было показано на клиническом материале, где наличие делеции и низкого уровня экспрессии гена *BRCA1* влияло на эффективность химиотерапии больных раком молочной железы платино-содержащими препаратами [21], а также на безметастатическую выживаемость больных немелкоклеточным раком легкого [22]. Исследования на модельных животных показывают, что такие изменения (в генах ГР) могут способствовать не только увеличению числа опухолевых случаев, но и

Таблица. Наличие аберраций числа копий ДНК генов гомологичной рекомбинации в опухолевых образцах

Гены/образцы	Образец опухоли от животного № 6	Образец опухоли от животного № 7	Образец опухоли от животного № 8	Образец опухоли от животного № 9
<i>Brca1</i>	Gain	Loss	Loss	Loss
<i>Brca2</i>	Loss	Loss	Loss	Loss
<i>Cdk12</i>	Gain	Loss	Loss	Loss
<i>Chek1</i>	Gain	n	n	n
<i>Parp1</i>	Gain	n	n	Gain
<i>Rad51c</i>	Loss	Gain	Loss	n

**Примечание:** в таблице представлены данные о наличии крупных хромосомных перестроек некоторых генов гомологичной рекомбинации, где gain — амплификация; n — нормальная копия гена; loss — делеция

появлению разнообразных опухолевых клонов, несущих различные молекулярно-генетические характеристики.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гомологичная рекомбинация, ответственная за восстановление двухцепочечных разрывов ДНК, играет важную роль в поддержании геномной стабильности и предотвращении канцерогенеза [8]. Однако при воздействии канцерогенов, таких как ДМБА, система ГР может испытывать дефицит активности, что приводит к накоплению мутаций и, как следствие, к образованию опухолей [23]. В нашей работе показана гиперэкспрессия генов *Cdk12*, *Brca1*, *Atm*, *Bard1*, *Fanci*, *Chek1* и *Parp1*. При этом, согласно литературным данным, нарушение функциональной активности *Cdk12* приводит к дефектам в репарации ДНК, что вызывает геномную нестабильность и снижение экспрессии некоторых генов гомологичной рекомбинации, таких как *Brca1*, *Fanci* и *Fancd2* [21, 22]. Кроме этого, для одного образца установлена гиперэкспрессия исследуемых генов, что не совсем согласуется с представленной гипотезой. К сожалению, так как экспрессия на уровне мРНК не всегда напрямую коррелирует с количеством и активностью соответствующих белков, фактическая функциональная активность системы ГР в опухолевых клетках может отличаться от полученных данных. Это явление можно объяснить влиянием посттранскрипционных механизмов регуляции, таких как деградация мРНК, альтернативный сплайсинг, влияние микроРНК, посттрансляционные модификации белком и т. д., которые могут существенно модифицировать конечную активность генов в опухолевых клетках [24], что подчеркивает необходимость дальнейших исследований, включающих изучение активности системы ГР на уровне посттранскрипционных факторов.

Особое внимание было уделено гену *Brca1*, экспрессия которого была значительно снижена в опухолевых тканях. Описаны случаи, когда у мутантных мышей с дефектами *Brca1* (*Brca1<sup>tr/tr</sup>*) развивались различные типы опухолей, включая рак молочной железы и лимфомы, без дополнительных генетических изменений, таких как инактивация гена *Trp53*. Наши данные подтверждают эти результаты и указывают на важность нарушений функции *Brca1* в механизме канцерогенеза [10]. Кроме того, при оценке количества копий гена *Brca1* с использованием цифровой ПЦР у трех животных обнаружена делеция гена *Brca1* и у одного — амплификация при уровне экспрессии гена 2,06. Тогда как при наличии делеции в гене *Brca1* наблюдается низкая экспрессия этого гена в опухолевых тканях. Была также выявлена гиперэкспрессия генов *Rad51d* и *Rad51c* в трех образцах опухолей (рис. 3). Можно предположить, что их повышенная экспрессия в опухолях может представлять собой компенсаторный

механизм в контексте дисфункции *Brca1/2* [25]. Ряд исследований подтверждает эту гипотезу [10, 11]. Что касается *Bard1*, то было продемонстрировано, что инактивация *Bard1* индуцирует базальноподобные карциномы молочной железы с частотой, латентностью и гистопатологическими характеристиками, не отличимыми от тех, которые наблюдаются у мышей с мутацией *Brca1* или двойной мутацией *Bard1/Brca1* [13]. Эти результаты указывают на то, что *Bard1* функционирует как ключевой ген-супрессор опухолей, наряду с *Brca1*, и что подавление опухолей, опосредованное *Brca1*, в значительной степени зависит от гетеродимера *Bard1/Brca1*. Однако остается вопрос, почему наблюдается высокая экспрессия *Bard1*, несмотря на снижение экспрессии *Brca1*. В нашем предыдущем исследовании *in vitro* было обнаружено, что при непрерывном воздействии цитостатических агентов клеточные линии с дисфункцией *BRCA1* приобретали генетические изменения, характеризующиеся амплификацией генов ГР (включая *BARD1*) и повышенным уровнем экспрессии [14].

Среди исследованных генов стоит также обратить внимание на паралога гена *Rad51*, которые участвуют в привлечении *Rad51* к местам повреждения ДНК [26] и способствуют формированию и стабилизации нуклеопротеинового филамента *Rad51*. Однако точная роль каждого паралога еще не полностью определена. Тем не менее ни одна мутация *RAD51* не связана с предрасположенностью к раку, что составляет «парадокс *RAD51*» [25]. Одно из потенциальных объяснений «парадокса *RAD51*» заключается в том, что мутации, затрагивающие гены-медиаторы/вспомогательные гены (такие как *BRCA1* или *BRCA2*) при раке, приводят к отсутствию *RAD51* на поврежденной ДНК, оставляя доступ к альтернативным исключительно мутагенным процессам репарации [25]. Так на мышиной модели показано, что снижение активности *Rad51 in vivo* не только не способствует развитию опухолей, но и защищает от них. Эти данные свидетельствуют о том, что контролируемая *Rad51* репарация не является супрессором опухолей, а скорее способствует их прогрессированию [10, 11].

## Выводы

Таким образом, при онкогенезе происходит формирование дефицита гомологичной рекомбинации и связанные с ним нарушения в генах репарации усиливаются на ранних этапах трансформации и прогрессии опухоли. Были обнаружены значительные изменения в копиях и профилях экспрессии генов, участвующих в биотрансформации ксенобиотиков, апоптозе и пролиферации клеток. Полученные данные подчеркивают важность всестороннего анализа аберрантных состояний генов гомологичной рекомбинации для понимания механизмов канцерогенеза

и указывают на потенциальные пути разработки новых диагностических и терапевтических стратегий в онкологии. Понимание того, какие нарушения в исследуемых генах имеются, их однородности или гетерогенности, в перспективе может способствовать разработке

алгоритмов определения химиочувствительности опухоли к ДНК-повреждающим агентам. Такой подход позволит получить более полное представление о роли генетической нестабильности в онкогенезе и открывает новые возможности для методов лечения.

## Литература

- Smith MT, Guyton KZ, Kleinstreuer N, Borrel A, Cardenas A, Chiu WA, et al. The key characteristics of carcinogens: relationship to the hallmarks of cancer, relevant biomarkers, and assays to measure them. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2020; 29 (10): 1887–903.
- Barnes JL, Zubair M, John K, Poirier MC, and Martin FL. Carcinogens and DNA damage. *Biochemical Society Transactions*. 2018; 46 (5): p. 1213–24.
- Turner N, Reis-Filho J, Russell A, Springall R, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene*. 2007; 26 (14): p. 2126–32.
- Morales-Herrero M and Ortega-Medina I. Experimental carcinogenesis with 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA) and its inhibition with isothi-cyanates. *J oral res (Impresa)*. 2022: p. 1–13.
- Allam AM, Abubakr HO, Yassin AM, Abdel-Razek AS, Khattab MS Gouda EM, et al. Potential chemopreventive effects of Broccoli extract supplementation against 7, 12 dimethyl Benz (a) anthracene (DMBA)-induced toxicity in female rats. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): p. 1–19.
- Davidson CJ, Svenson D, Hannigan JH, Perrine SA, and Bowen SE. A novel preclinical model of environment-like combined benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) exposure: Behavioral and neurochemical findings. *Neurotoxicology and teratology*. 2022; 91: 1–11.
- Sahay D, Lloyd SE, Rivera JA, Jezioro J, McDonald JD, Pitiranggon M, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons, altered ER $\alpha$  pathway-related methylation and expression, and mammary epithelial cell proliferation in offspring and grandoffspring adult mice. *Environmental research*. 2021; 196: 1–15.
- Xu X, Qiao W, Linke SP, Cao L, Li W-M, Furth PA, et al. Genetic interactions between tumor suppressors Brca1 and p53 in apoptosis, cell cycle and tumorigenesis. *Nature genetics*. 2001; 28 (3): 266–71.
- Yossepowitch O, Olvera N, Satagopan JM, Huang H, Jhanwar S, Rapaport B, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in lymphoma patients. *Leukemia & lymphoma*. 2003; 44 (1): 127–31.
- Matos-Rodrigues G, Barroca V, Muhammad AA, Dardillac E, Allouch A, Koundrioukoff S, et al. In vivo reduction of RAD51-mediated homologous recombination triggers aging but impairs oncogenesis. *The EMBO journal*. 2023; 42 (20): 1–21.
- Kuznetsov SG, Haines DC, Martin BK, and Sharan SK. Loss of Rad51c leads to embryonic lethality and modulation of Trp53-dependent tumorigenesis in mice. *Cancer research*. 2009; 69 (3): 863–72.
- Yamamoto H and Hirasawa A. Homologous recombination deficiencies and hereditary tumors. *International journal of molecular sciences*. 2021; 23 (1): 1–18.
- Coates PJ, Lorimore SA, and Wright EG. Cell and tissue responses to genotoxic stress. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2005; 205 (2): 221–35.
- Cruz SL, Rivera-García MT, and Woodward JJ. Review of toluene action: clinical evidence, animal studies and molecular targets. *Journal of drug and alcohol research*. 2014; 3: 1–15.
- Fukami T, Katoh M, Yamazaki H, Yokoi T, and Nakajima M. Human cytochrome P450 2A13 efficiently metabolizes chemicals in air pollutants: naphthalene, styrene, and toluene. *Chemical research in toxicology*. 2008; 21 (3): 720–5.
- Rathnamali K. Dissection of laboratory animal and sample collection for histology. *International Journal of Scientific and Applied Research (IJSAR)*, eISSN: 2583–0279. 2022; 2 (3): 1–12.
- Sadeghipour A and Babaheidarian P. Making formalin-fixed, paraffin embedded blocks. *Biobanking: Methods and Protocols*. 2018: 253–68.
- Greenberg AK, Yee H, and Rom WN. Preneoplastic lesions of the lung. *Respiratory research*. 2002; 3: 1–10.
- Tsyganov MM, Bulatova DZ, Fedorenko AA, Loos DM, Nikiforov PE, Tsydenova IA, et al. Assessment of Homologous Recombination System Gene Expression in Chemologically Induced Carcinogenesis In Vivo Models. *Current Issues in Molecular Biology*. 2026; 48 (3): 1–17.
- Myhre S, Lingjærde O-C, Hennessy BT, Aure MR, Carey MS, Alsner J, et al. Influence of DNA copy number and mRNA levels on the expression of breast cancer related proteins. *Molecular oncology*. 2013; 7 (3): 704–18.
- Tsyganov MM, Ibragimova MK, Garbukov EY, Bragina OD, Karchevskaya AA, Usynin EA, et al. Determination of BRCAness Phenotype in Breast Tumors for the Appointment of Neoadjuvant Chemotherapy Based on Platinum and Taxanes. *International journal of molecular sciences*. 2022; 24 (1): 1–13.
- Цыганов М., Ибрагимова М., Цыденова И., Кравцова Е., Баянбаева А., Шарипханова Ж., и др. Влияние наличия аберраций числа копий ДНК и изменений в уровне экспрессии генов гомологичной рекомбинации на выживаемость больных первично-операбельным немелкоклеточным раком легкого. *Acta Biomedica Scientifica*. 2026; 10 (6): 112–22.
- Hollander MC, Kovalsky O, Salvador JM, Kim KE, Patterson AD, Haines DC, et al. Dimethylbenzanthracene carcinogenesis in Gadd45a-null mice is associated with decreased DNA repair and increased mutation frequency. *Cancer research*. 2001; 61 (6): 2487–91.
- Verta J-P and Jacobs A. The evolutionary significance of post-transcriptional gene regulation. *Heredity*. 2024; 132 (3): 117–9.
- Lopez BS. RAD51-mediated homologous recombination is a pro-tumour driver pathway. *Oncogene*. 2025; 44 (42): 4006–16.
- Garcin EB, Gon S, Sullivan MR, Brunette GJ, Cian AD, Concordet J-P, et al. Differential requirements for the RAD51 paralogs in genome repair and maintenance in human cells. *PLoS Genetics*. 2019; 15 (10): 1–29.

## References

- Smith MT, Guyton KZ, Kleinstreuer N, Borrel A, Cardenas A, Chiu WA, et al. The key characteristics of carcinogens: relationship to the hallmarks of cancer, relevant biomarkers, and assays to measure them. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2020; 29 (10): 1887–903.
- Barnes JL, Zubair M, John K, Poirier MC, and Martin FL. Carcinogens and DNA damage. *Biochemical Society Transactions*. 2018; 46 (5): p. 1213–24.
- Turner N, Reis-Filho J, Russell A, Springall R, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene*. 2007; 26 (14): p. 2126–32.
- Morales-Herrero M and Ortega-Medina I. Experimental carcinogenesis with 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA) and its inhibition with isothi-cyanates. *J oral res (Impresa)*. 2022: p. 1–13.
- Allam AM, Abubakr HO, Yassin AM, Abdel-Razek AS, Khattab MS Gouda EM, et al. Potential chemopreventive effects of Broccoli

- extract supplementation against 7, 12 dimethyl Benz (a) anthracene (DMBA)-induced toxicity in female rats. *Scientific reports*. 2023; 13 (1): p. 1–19.
6. Davidson CJ, Svenson D, Hannigan JH, Perrine SA, and Bowen SE. A novel preclinical model of environment-like combined benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX) exposure: Behavioral and neurochemical findings. *Neurotoxicology and teratology*. 2022; 91: 1–11.
  7. Sahay D, Lloyd SE, Rivera JA, Jezioro J, McDonald JD, Pitiranggon M, et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbons, altered ER $\alpha$  pathway-related methylation and expression, and mammary epithelial cell proliferation in offspring and grandoffspring adult mice. *Environmental research*. 2021; 196: 1–15.
  8. Xu X, Qiao W, Linke SP, Cao L, Li W-M, Furth PA, et al. Genetic interactions between tumor suppressors Brca1 and p53 in apoptosis, cell cycle and tumorigenesis. *Nature genetics*. 2001; 28 (3): 266–71.
  9. Yossepowitch O, Olvera N, Satagopan JM, Huang H, Jhanwar S, Rapaport B, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in lymphoma patients. *Leukemia & lymphoma*. 2003; 44 (1): 127–31.
  10. Matos-Rodrigues G, Barroca V, Muhammad AA, Dardillac E, Allouch A, Koundrioukoff S, et al. In vivo reduction of RAD51-mediated homologous recombination triggers aging but impairs oncogenesis. *The EMBO journal*. 2023; 42 (20): 1–21.
  11. Kuznetsov SG, Haines DC, Martin BK, and Sharan SK. Loss of Rad51c leads to embryonic lethality and modulation of Trp53-dependent tumorigenesis in mice. *Cancer research*. 2009; 69 (3): 863–72.
  12. Yamamoto H and Hirasawa A. Homologous recombination deficiencies and hereditary tumors. *International journal of molecular sciences*. 2021; 23 (1): 1–18.
  13. Coates PJ, Lorimore SA, and Wright EG. Cell and tissue responses to genotoxic stress. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2005; 205 (2): 221–35.
  14. Cruz SL, Rivera-García MT, and Woodward JJ. Review of toluene action: clinical evidence, animal studies and molecular targets. *Journal of drug and alcohol research*. 2014; 3: 1–15.
  15. Fukami T, Katoh M, Yamazaki H, Yokoi T, and Nakajima M. Human cytochrome P450 2A13 efficiently metabolizes chemicals in air pollutants: naphthalene, styrene, and toluene. *Chemical research in toxicology*. 2008; 21 (3): 720–5.
  16. Rathnamali K. Dissection of laboratory animal and sample collection for histology. *International Journal of Scientific and Applied Research (IJSAR)*, eISSN: 2583–0279. 2022; 2 (3): 1–12.
  17. Sadeghipour A and Babaheidarian P. Making formalin-fixed, paraffin embedded blocks. *Biobanking: Methods and Protocols*. 2018: 253–68.
  18. Greenberg AK, Yee H, and Rom WN. Preneoplastic lesions of the lung. *Respiratory research*. 2002; 3: 1–10.
  19. Tsyganov MM, Bulatova DZ, Fedorenko AA, Loos DM, Nikiforov PE, Tsydenova IA, et al. Assessment of Homologous Recombination System Gene Expression in Chemologically Induced Carcinogenesis In Vivo Models. *Current Issues in Molecular Biology*. 2026; 48 (3): 1–17.
  20. Myhre S, Lingjærde O-C, Hennessy BT, Aure MR, Carey MS, Alsner J, et al. Influence of DNA copy number and mRNA levels on the expression of breast cancer related proteins. *Molecular oncology*. 2013; 7 (3): 704–18.
  21. Tsyganov MM, Ibragimova MK, Garbukov EY, Bragina OD, Karchevskaya AA, Usynin EA, et al. Determination of BRCAness Phenotype in Breast Tumors for the Appointment of Neoadjuvant Chemotherapy Based on Platinum and Taxanes. *International journal of molecular sciences*. 2022; 24 (1): 1–13.
  22. Tsyganov MM, Ibragimova MK, Tsydenova IA, Kravtsova EA, Bayanbaeva AA, Sharipkhanova Zh, Rodionov EO, Bragina OD, Mokh AA, Miller SV. Influence of DNA copy number aberrations and changes in the expression level of homologous recombination genes on the survival of primary operable non-small cell lung cancer patients. *Acta Biomedica Scientifica*. 2026; 10 (6): 112–22.
  23. Hollander MC, Kovalsky O, Salvador JM, Kim KE, Patterson AD, Haines DC, et al. Dimethylbenzanthracene carcinogenesis in Gadd45a-null mice is associated with decreased DNA repair and increased mutation frequency. *Cancer research*. 2001; 61 (6): 2487–91.
  24. Verta J-P and Jacobs A. The evolutionary significance of post-transcriptional gene regulation. *Heredity*. 2024; 132 (3): 117–9.
  25. Lopez BS. RAD51-mediated homologous recombination is a protumour driver pathway. *Oncogene*. 2025; 44 (42): 4006–16.
  26. Garcin EB, Gon S, Sullivan MR, Brunette GJ, Cian AD, Concordet J-P, et al. Differential requirements for the RAD51 paralogs in genome repair and maintenance in human cells. *PLoS Genetics*. 2019; 15 (10): 1–29.