



Биоинформационный и протеомный анализ потенциальных прогностических биомаркеров глиобластомы

И.Ф. Гареев^{1,2,*}, О.А. Бейлерли², С.А. Румянцев^{1,3,4}

Гареев Ильгиз Фанилевич — к.м.н., ведущий научный сотрудник

orcid.org/0000-0002-4965-0835

Бейлерли Озал Арзуман оглы — д.м.н., ведущий научный сотрудник

orcid.org/0000-0002-6149-5460

Румянцев Сергей Александрович — д.м.н., профессор, член-корр. РАН

orcid.org/0000-0002-7418-0222

¹ Институт программных систем им. А.К. Айламазяна Российской академии наук, Россия, Веськово

² Харбинский медицинский университет, Китай, Харбин

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Россия, Москва

⁴ Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии им. академика И.И. Дедова Минздрава России, Россия, Москва

* Контакты: Гареев Ильгиз Фанилевич, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Аннотация

Введение. Глиобlastома характеризуется выраженной молекулярной гетерогенностью и агрессивным биологическим поведением, что подчеркивает необходимость надежных молекулярных биомаркеров для прогностической стратификации. Целью данного исследования было выявление потенциальных прогностических биомаркеров для глиобlastомы посредством интегрированного биоинформатического и протеомного анализа. **Материалы и методы.** Транскриптомные и клинические данные были получены из «Базы данных экспрессии генов (GEO)», «Атласа генома рака (TCGA)», «Китайского атласа генома глиом (CGGA)» и «Базы данных экспрессии генов в тканях человека (GTEx)», а данные об экспрессии белков были оценены с использованием «Атласа белков человека (HPA)». Дифференциально экспрессируемые гены (ДЭГ) были идентифицированы в наборе данных GSE147352, после чего был проведен анализ сети белково-белковых взаимодействий (PPI) с использованием STRING и Cytoscape/CytoHubba. Ключевые гены, или хаб-гены, были выбраны на основе «Степени» сети. Их паттерны экспрессии были впоследствии подтверждены с использованием независимых наборов данных и данных иммуногистохимического (ИГХ) анализа HPA. Для оценки прогностической значимости и построения многогенной модели риска использовались анализ выживаемости Каплана — Мейера, регрессия LASSO и регрессия пропорциональных рисков Кокса. **Результаты.** В наборе данных GSE147352 было выявлено в общей сложности 4506 ДЭГ, из которых 200 генов с высокой и низкой экспрессией были отобраны для анализа PPI. Было идентифицировано десять ключевых генов (SNAP25, FN1, H3C12, SYN1, CAMK2A, SYP, SYT1, CD44, CCL2 и SLC17A7). Гены FN1, H3C12, CD44 и CCL2 были последовательно повышены в глиобlastоме, в то время как гены SNAP25, SYN1, CAMK2A, SYP, SYT1 и SLC17A7 были понижены в независимых наборах данных. Данные HPA подтвердили соответствующие различия на белковом уровне. Повышенная экспрессия FN1, H3C12, CD44 и CCL2 была связана с худшей общей выживаемостью (ОВ), в то время как повышенная экспрессия шести генов с пониженной экспрессией была связана с лучшей ОВ. Данная прогностическая модель, основанная на генах FN1, H3C12, CD44 и CCL2, значительно разделила пациентов на группы высокого и низкого риска (критерий лог-ранга $p = 0,0361$; отношение рисков = 1,52, 95 % доверительный интервал (ДИ): 1,05–2,20). Модель продемонстрировала С-индекс 0,675 (95 % ДИ: 0,607–0,744; $p < 0,001$). **Обсуждение.** Интегрированный транскриптомный и протеомный анализ выявил гены FN1, H3C12, CD44 и CCL2 как перспективные прогностические биомаркеры для глиобlastомы. Их совокупный профиль экспрессии может послужить полезной основой для молекулярной стратификации риска и индивидуальной прогностической оценки. **Заключение.** Полученные результаты подтверждают перспективность выявленных молекулярных маркеров для оценки прогноза и стратификации риска при глиобlastоме.

Ключевые слова: биоинформационный анализ, транскриптомика, онкология, онкогены, интеллектуальный анализ изображений, биомаркеры, глиобlastома, белки, прогнозирование

Для цитирования: Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Румянцев С.А. Биоинформационный и протеомный анализ потенциальных прогностических биомаркеров глиобlastомы. *Креативная хирургия и онкология*. 2026;16(3):240–250. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2026-16-3-240-250>

Поступила в редакцию: 28.05.2026

Поступила после рецензирования и доработки: 14.08.2026

Принята к публикации: 17.08.2026

Bioinformatic and Proteomic Analysis of Potential Prognostic Biomarkers of Glioblastoma

Ilgiz F. Gareev^{1,2*}, Ozal A. Beylerli², Sergey A. Roumiantsev^{1,3,4}

¹A.K. Aylamazyan Institute of Software Systems, Russian Academy of Sciences, Ves'kovo, Russian Federation

²Harbin Medical University, Harbin, China

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴Academician I.I. Dedov National Medical Endocrinology Research Centre, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

* Correspondence to: **Ilgiz F. Gareev**, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Ilgiz F. Gareev – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher

orcid.org/0000-0002-4965-0835

Ozal A. Beylerli – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher

orcid.org/0000-0002-6149-5460

Sergey A. Roumiantsev – Dr. Sci. (Med.), Prof., Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences

orcid.org/0000-0002-7418-0222

Abstract

Introduction. Glioblastoma is characterized by marked molecular heterogeneity and aggressive biologic behavior, which requires reliable molecular biomarkers for prognostic stratification. The aim of this study is to identify potential prognostic biomarkers for glioblastoma through integrated bioinformatic and proteomic analysis. **Materials and methods.** Transcriptomic and clinical data were obtained from the Gene Expression Database (GEO), The Cancer Genome Atlas (TCGA), the Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA), and the Human Tissue Gene Expression Database (GTEx). Protein expression data were assessed using the Human Protein Atlas (HPA). Differentially expressed genes (DEGs) were identified in GSE147352. Next, protein-protein interaction (PPI) network analysis was performed using STRING and Cytoscape/cytoHubba. Key genes, or hub genes, were selected based on the Degree method. Their expression patterns were subsequently confirmed using independent datasets and HPA immunohistochemistry (IHC). Kaplan-Meier survival analysis, LASSO regression, and Cox proportional hazards regression were used to assess prognostic significance and construct a multigene risk model. **Results.** A total of 4,506 DEGs were identified in GSE147352, of which 200 genes with high and low expression were selected for PPI analysis. Ten key genes were identified (*SNAP25*, *FN1*, *H3C12*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, *CD44*, *CCL2*, and *SLC17A7*). *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* were consistently upregulated in glioblastoma, while *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, and *SLC17A7* were downregulated in independent datasets. HPA data confirmed the differences at the protein level. Increased expression of *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* was associated with worse overall survival (OS), while increased expression of six downregulated genes was associated with better OS. This prognostic model, based on *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2*, significantly stratified patients into high- and low-risk groups (log-rank test $p = 0.0361$; hazard ratio = 1.52, 95 % confidence interval (CI): 1.05–2.20). The model demonstrated a C-index of 0.675 (95 % CI: 0.607–0.744; $p < 0.001$). **Discussion.** Integrated transcriptomic and proteomic analysis identified the *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* genes as promising prognostic biomarkers for glioblastoma. Their combined expression profile may provide a useful basis for molecular risk stratification and individualized prognostic assessment. **Conclusion.** The obtained results confirm the potential of the identified molecular markers for assessing prognosis and risk stratification in glioblastoma.

Keywords: bioinformatic analysis, transcriptomics, oncology, oncogenes, image mining, biomarkers, glioblastoma, proteins, prognosis

For citation: Gareev I.F., Beylerli O.A., Roumiantsev S.A. Bioinformatic and proteomic analysis of potential prognostic biomarkers of glioblastoma. *Creative Surgery and Oncology*. 2026;16(3):240–250. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2026-16-3-240-250>

Received: 28.05.2026

Revised: 14.08.2026

Accepted: 17.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Глиобластома — это наиболее распространенная злокачественная первичная опухоль головного мозга у взрослых. Стандартное лечение глиобластомы включает хирургическую резекцию с последующей химиолучевой терапией. Несмотря на хирургическое вмешательство и медикаментозную терапию, глиобластома ассоциируется с плохим прогнозом, характеризующимся медианной общей выживаемостью (ОВ) около 12–15 месяцев и 5-летней выживаемостью менее 8 %. Согласно последней классификации ВОЗ 2021 года, глиомы с мутацией IDH и глиобластомы с диким типом IDH рассматриваются как отдельные типы опухолей [1, 2]. Изучение глиобластомы с диким типом IDH имеет преимущества благодаря высокой биологической агрессивности, выраженной молекулярной гетерогенности и высокой клинической значимости. Высокая молекулярная сложность и выраженная внутриопухолевая гетерогенность глиобластомы существенно затрудняют своевременную диагностику и точную оценку прогноза заболевания [3, 4].

Гены, кодирующие белки, представляют особый интерес в качестве потенциальных молекулярных биомаркеров, поскольку их экспрессия непосредственно связана с формированием функционального белкового профиля клетки. Изменения экспрессии таких генов могут отражать нарушения регуляции ключевых сигнальных путей, особенности опухолевого фенотипа и степень биологической агрессивности глиобластомы. Поэтому комплексный анализ экспрессии генов и соответствующих им белков позволяет выявлять молекулярные изменения, ассоциированные с развитием и прогрессированием опухоли, и определять их потенциальную прогностическую значимость [5]. Высокопроизводительное секвенирование и мультиомический анализ тканей человека позволили проводить крупномасштабную количественную оценку, что дает возможность более глубоко изучать белки и гены [6]. Поэтому интеграция биоинформационного и протеомного анализа позволяет комплексно охарактеризовать молекулярный профиль глиобластомы, выявить дифференциально экспрессируемые гены (ДЭГ) и белки, а также определить молекулярные признаки, ассоциированные с прогрессированием заболевания. Такой подход способствует выявлению потенциальных диагностических и прогностических биомаркеров и позволяет оценить их клиническую значимость на основе независимых молекулярных и клинических данных [6, 7]. В данном исследовании мы провели биоинформационный и протеомный анализ, используя «Базу данных экспрессии генов (GEO)», «Атлас генома рака (TCGA)», «Китайский атлас генома глиом (CGGA)», «Базу данных экспрессии генов в тканях человека (GTEx)» и «Атлас белков человека (HPA)» при глиобластоме с IDH-диким типом. Комплексное использование указанных ресурсов позволило провести независимую валидацию выявленных молекулярных изменений на транскриптомном и белковом уровнях и оценить их прогностическую значимость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Загрузка и предварительная обработка данных

В данном исследовании мы использовали наборы данных, полученные из базы данных GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). В частности, для идентификации ДЭГ в образцах глиобластомы был выбран набор данных GSE147352. Набор данных GSE147352 основан на платформе GPL20301 Illumina HiSeq 4000 (Homo sapiens) и включал 57 первичных образцов глиобластом

с IDH-диким типом и 15 образцов нормальной мозговой ткани (контрольная группа). Дополнительно мы загрузили наборы данных, относящиеся к пациентам с глиобластомой, из базы данных TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>), которые включали наборы данных РНК-секвенирования образцов опухолевой ткани головного мозга 154 пациентов и клинико-патологические данные, включая пол, возраст, патологическую стадию и информацию о выживаемости, такую как общая выживаемость и статус выживаемости. Из базы данных TCGA также были получены профили экспрессии ДЭГ. Из базы данных CGGA (<http://www.cgga.org.cn/>) мы получили также прогностическую информацию по 85 образцам глиобластомы. Мы загрузили наборы данных РНК-секвенирования 270 образцов нормальной ткани головного мозга (контрольная группа) из базы данных GTEx (<https://gtexportal.org/>). Эти наборы данных были предварительно обработаны, включая коррекцию фонового набора генов, преобразование названий генов и стандартизацию данных.

Построение сети белковых взаимодействий и скрининг ключевых генов

Для более глубокого понимания взаимодействий между ДЭГ был проведен анализ сети белково-белковых взаимодействий (PPI) с использованием базы данных STRING (<http://string-db.org>). PPI с оценкой $> 0,4$ были извлечены путем ввода всех ДЭГ. Впоследствии была продемонстрирована наглядная иллюстрация сети белковых взаимодействий с использованием программного обеспечения Cytoscape (<https://cytoscape.org/>) с плагином CytoHubba, который использует алгоритм «Степень» для скрининга ключевых генов, т.е. узлов-хабов, где были рассчитаны 10 степеней связи в сети дифференциальной экспрессии.

Прогностическая модель

Метод LASSO (оператор наименьшего абсолютного сжатия и выбора) применяли для отбора наиболее информативных прогностических факторов и построения модели оценки риска. Прогностическая модель риска была построена с использованием модуля генов с наивысшим баллом, идентифицированного алгоритмом PPI, для получения формулы оценки риска.

Анализ экспрессии белков на основе данных базы HPA

Данные иммуногистохимического (ИГХ) анализа экспрессии белков как в опухолевых, так и в нормальных тканях были получены из базы данных HPA (<https://www.proteinatlas.org/>), что позволило в конечном счете определить прогностические белки.

Статистический анализ

Для выявления ДЭГ между опухолевыми образцами и нормальной мозговой тканью использовался пороговый уровень изменения экспрессии (fold change, FC) более 1 ($|\log_2 FC| \geq 1$) и частота ложных срабатываний (FDR) менее 0,05. Тепловая карта и диаграмма «вулканический график» были сгенерированы с помощью инструмента ACBI Bioinformation (<https://www.acbi.com/static/index.html#/geo>) соответственно. Расчет коэффициентов риска проводился на основе модели пропорциональных рисков Кокса (Cox PH) с добавлением 95 % доверительных интервалов (ДИ) пунктирными линиями и единицами измерения по осям в месяцах. Для кривых Каплана — Мейера значения p и коэффициент рисков с 95 % ДИ были получены с помощью лог-рангового теста и одномерной регрессии Кокса. Для оценки экспрессии ключевых генов между пациентами с глиобластомой и образцами нормальной ткани головного мозга

применены непараметрические критерии Краскела – Уоллиса из базы данных GEO и TCGA. Анализ ИГХ данных измерял количественную оценку степени иммунного окрашивания и уровня экспрессии связанных белков. Значения $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***) и $p < 0,0001$ (****) считаются статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Идентификация ДЭГ на основе базы данных GEO

Для анализа ДЭГ были составлены профили экспрессии генов из базы данных GEO. В наборе данных GSE147352 было идентифицировано в общей сложности 4506 ДЭГ (25 с повышенной и 1841 с пониженной экспрессией) (рис. 1 А). Затем мы сузили область поиска и отобрали 200 генов с наиболее выраженной дифференциальной экспрессией (100 с повышенной экспрессией и 100 с пониженной экспрессией) для дальнейшего анализа, которые в конечном итоге были идентифицированы как гены, связанные с глиобластомой (рис. 1 Б).

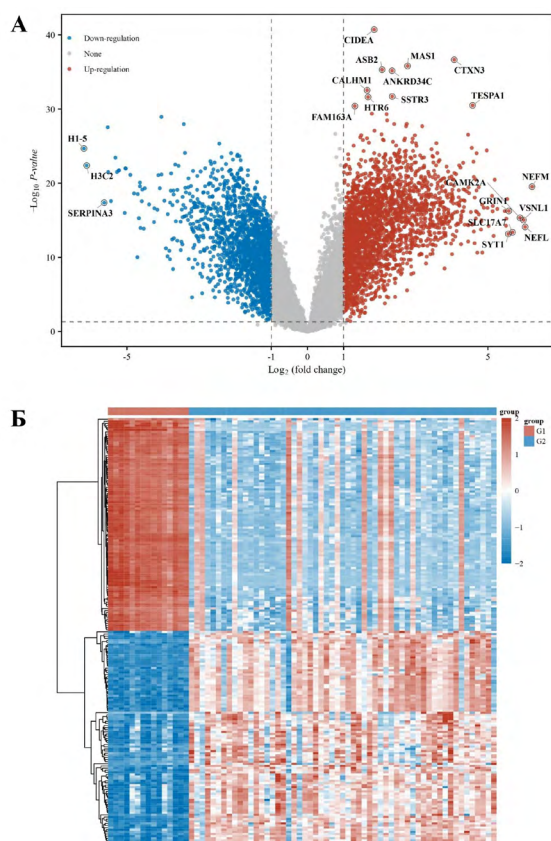


Рисунок 1. Профилирование экспрессии и кластерный анализ дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в образцах глиобластомы и нормальной мозговой ткани из набора данных GSE147352: А – панель «Вулканический график» отображает ДЭГ, где красные точки указывают на повышенную экспрессию, синие точки – на пониженную экспрессию, а серые точки – на отсутствие существенных различий в экспрессии; Б – на панели тепловая карта иллюстрирует значения экспрессии 200 ДЭГ

Figure 1. Expression profiling and cluster analysis of differentially expressed genes (DEGs) in glioblastoma and normal brain tissue samples from GSE147352: А – Volcano plot of DEGs, with red dots indicating increased expression, blue dots indicating decreased expression, gray dots indicating no significant differences in expression; Б – heatmap of 200 DEGs

Построение PPI и анализ ключевых генов

Анализ белковых взаимодействий позволяет выявить важные белковые и биологические модули. Построение сети белковых взаимодействий проводилось с использованием инструмента STRING и программного обеспечения Cytoscape для 200 выбранных ДЭГ. Всего было исследовано 200 узлов и 1174 взаимодействия (рис. 2 А). Средняя степень узла = 11,7, средний локальный коэффициент кластеризации = 0,506, ожидаемое количество ребер = 304 и p -значение обогащения PPI = $<1,0e-16$. После этого мы использовали показатель «Степень», используя плагин CytoHubba, и выбрали 10 ключевых генов из 200 ДЭГ сети PPI по этому показателю. Десять лучших генов были объединены в сеть (рис. 2 Б). В итоге ими оказались белок, ассоциированный с синапсом 25 (SNAP25), фибронектин 1 (FN1), гистон H3 кластера 12 (H3C12), синапсин I (SYN1), альфа-субъединица кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CAMK2A), синаптофизин (SYP), синаптотагмин 1 (SYT1), молекула CD44 (CD44), лиганд хемокина C–C 2 (CCL2), переносчик глутамата 1 (SLC17A7).

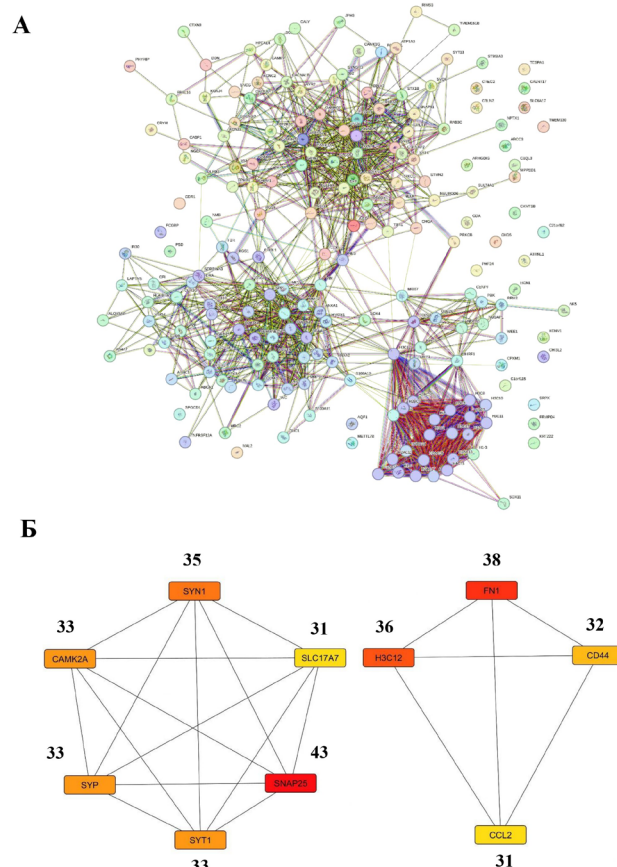


Рисунок 2. Сеть белково-белковых взаимодействий (PPI) дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ): А – взаимодействия между 200 основными ДЭГ и Б – взаимодействия между 10 ключевыми генами, выявленными с помощью плагина cytoHubba и с указанием их «Степени» в PPI

Figure 2. Protein-protein interaction (PPI) networks of differentially expressed genes (DEGs): А – 200 essential DEGs, Б – top 10 hub genes selected by the Degree method using the cytoHubba plugin

Анализ экспрессии ключевых генов

Анализ экспрессии 10 идентифицированных ключевых генов (*SNAP25*, *FN1*, *H3C12*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, *CD44*, *CCL2* и *SLC17A7*) был проведен с использованием образцов глиобластом и здоровой мозговой ткани с использованием баз данных GEO, TCGA и GTEx. В результате анализа было выявлено 4 гена с повышенной экспрессией (*FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2*) (рис. 3 и 4) и 6 генов (*SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7*) с пониженной экспрессией в опухолевой ткани по сравнению с контрольной группой во всех базах данных (рис. 5 и 6).

Анализ данных ИГХ изображений на основе базы данных НРА

Уровень экспрессии всех 10 прогностических биомаркеров был дополнительно оценен с использованием данных базы НРА для валидации полученных результатов на уровне белка. Было выявлено, что в образцах глиобластомы отмечалось выраженное усиление иммунопозитивной реакции для *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* по сравнению со здоровой тканью головного мозга, сопровождавшееся увеличением количества и интенсивности окрашенных клеток (рис. 7).

Наиболее выраженные визуальные различия наблюдались для *FN1* и *CD44*, экспрессия которых в опухолевой ткани носила более распространенный характер (окрашивание — сильное, интенсивность — высокая, количество окрашенных опухолевых клеток — >75 % и локализация белка — цитоплазматическая/мембранная). Для *H3C12* и *CCL2* отмечалось: окрашивание — среднее, интенсивность — умеренная, количество окрашенных опухолевых клеток — 25–75 % и локализация белков — ядерная и цитоплазматическая/мембранная. В здоровой ткани головного мозга реакция на данные белки практически отсутствовала, что характеризовалось отсутствием выраженного специфиче-

ского окрашивания и лишь единичными иммунопозитивными глиальными клетками. С другой стороны, в здоровой ткани наиболее интенсивная иммунореактивность отмечалась только для белка *SNAP25* (окрашивание — среднее, интенсивность — умеренная, количество окрашенных нормальных глиальных клеток — >75 % и локализация белка — цитоплазматическая/мембранная), тогда как *SYN1*, *SYP*, *SYT1*, *SLC17A7* и *CAMK2A* характеризовались практически отсутствием экспрессии. При этом в образцах глиобластомы специфическое окрашивание белков *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* было слабым либо практически отсутствовало (рис. 8). Таким образом, результаты транскриптомного и ИГХ-анализа в целом согласуются между собой, подтверждая выявленные изменения экспрессии исследуемых биомаркеров в образцах глиобластомы.

Анализ клинической значимости

Для оценки прогностической значимости исследуемых генов был проведен анализ ОВ методом Каплана — Мейера на основе базы данных CGGA с разделением пациентов с глиобластомой на группы в зависимости от уровня экспрессии каждого гена. Статистически значимые различия ОВ выявлены для всех исследуемых биомаркеров ($p < 0,05$). Было выявлено, что повышенная экспрессия *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* ассоциировалась с менее благоприятной ОВ пациентов, тогда как для *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* более высокий уровень экспрессии был связан с более благоприятным прогнозом (рис. 9). Более того, полученные результаты анализа ОВ в целом соответствуют выявленным изменениям экспрессии исследуемых генов. Таким образом, характер экспрессии всех 10 исследуемых генов согласуется с их прогностической значимостью и подтверждает их потенциальную ценность в качестве прогностических биомаркеров глиобластомы.

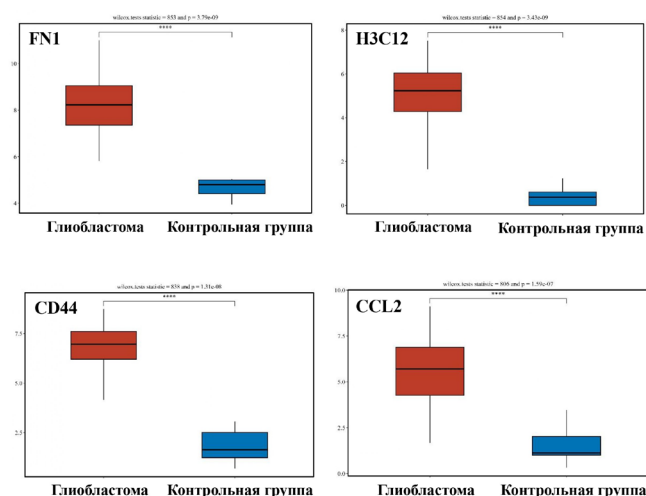


Рисунок 3. Профиль экспрессии генов *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* между образцами глиобластомы и контрольной группой на основе базы данных GEO. Данные для этого графика основаны на данных GSE147352. График наглядно показывает, что гены демонстрируют значительно более высокую экспрессию в образцах глиобластомы, чем в контрольной группе. Различия между группами анализировались с помощью теста Вилкоксона, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$

Figure 3. *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* gene expression profile in glioblastoma samples and controls from GEO (GSE147352). All four genes exhibit significantly higher expression in glioblastoma samples than in controls. Differences between groups were analyzed using the Wilcoxon signed-rank test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

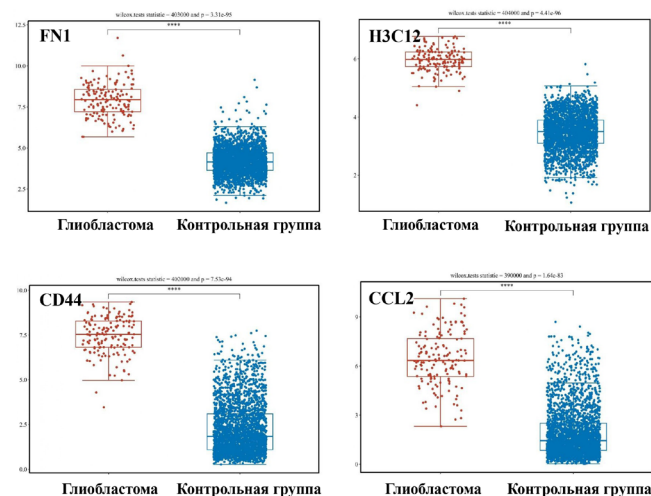


Рисунок 4. Профиль экспрессии генов *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* между образцами глиобластомы и контрольной группой на основе базы данных TCGA. График наглядно показывает, что гены демонстрируют значительно более высокую экспрессию в образцах глиобластомы, чем в контрольной группе. Различия между группами анализировались с помощью теста Вилкоксона, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$

Figure 4. *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* gene expression profile in glioblastoma samples and controls from TCGA. All four genes exhibit significantly higher expression in glioblastoma samples than in controls. Differences between groups were analyzed using the Wilcoxon signed-rank test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, and **** $p < 0.0001$

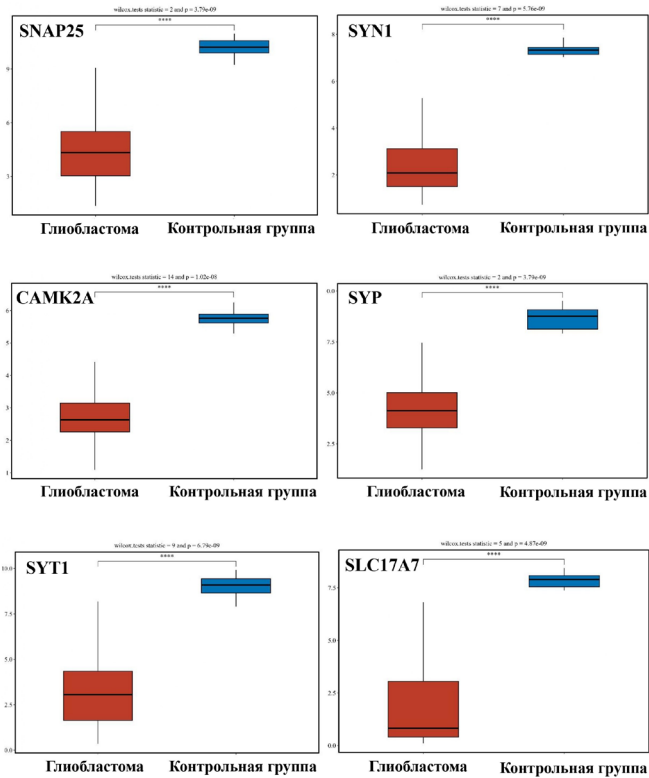


Рисунок 5. Профиль экспрессии генов *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* между образцами глиобластомы и контрольной группой на основе базы данных GEO. Данные для этого графика основаны на данных GSE147352. График наглядно показывает, что гены демонстрируют значительно более низкую экспрессию в образцах глиобластомы, чем в контрольной группе. Различия между группами анализировались с помощью теста Вилкоксона, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$

Figure 5. *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, and *SLC17A7* gene expression profile in glioblastoma samples and controls from GEO (GSE147352). All six genes exhibit significantly lower expression in glioblastoma samples than in controls. Differences between groups were analyzed using the Wilcoxon signed-rank test, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, and **** $p < 0,0001$

В ходе сравнительного анализа было установлено, что *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* характеризовались повышенной экспрессией как на транскрипционном, так и на белковом уровнях в образцах глиобластом. Совокупность полученных данных позволила предположить потенциальную роль данных молекулярных маркеров в опухолевой прогрессии и рассматривать их в качестве потенциальных онкогенных факторов. Для дальнейшего анализа прогностической значимости отобранных генов были последовательно применены регрессия LASSO для отбора наиболее информативных маркеров и регрессия пропорциональных рисков Кокса для оценки их взаимосвязи с ОБ и построения прогностической модели. В результате применения прогностической модели пациенты из базы данных TCGA были разделены на группы высокого и низкого риска в зависимости от значения интегрального показателя «Оценка риска» (рис. 10).

В группе высокого риска отмечалось увеличение частоты неблагоприятных исходов и формирование характерного профиля экспрессии генов *CCL2*, *CD44*, *H3C12* и *FN1*. Анализ Каплана – Мейера выявил статистически значимое различие ОБ между группами (log-rank $p = 0,0361$; коэффициент риска = 1,52; 95 % ДИ: 1,05–2,20), при этом пациенты группы высоко-

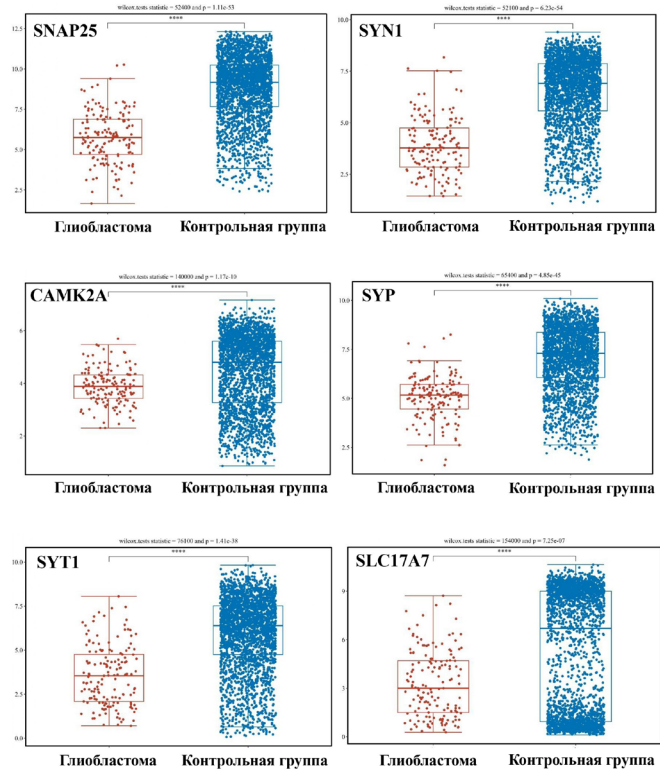


Рисунок 6. Профиль экспрессии генов *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* между образцами глиобластомы и контрольной группой на основе базы данных TCGA. График наглядно показывает, что гены демонстрируют значительно более низкую экспрессию в образцах глиобластомы, чем в контрольной группе. Различия между группами анализировались с помощью теста Вилкоксона, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$

Figure 6. *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, and *SLC17A7* gene expression profile in glioblastoma samples and controls from TCGA. All six genes exhibit significantly lower expression in glioblastoma samples than in controls. Differences between groups were analyzed using the Wilcoxon signed-rank test, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, and **** $p < 0,0001$

го риска имели менее благоприятный прогноз. ROC-анализ продемонстрировал высокую прогностическую эффективность модели при оценке 1-, 3- и 5-летней выживаемости. Для оценки независимой прогностической значимости *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* была построена многофакторная модель пропорциональных рисков Кокса с учетом возраста, расовой принадлежности, типа опухолевого события и вида терапии (рис. 11).

В модели экспрессия *FN1* (коэффициент риска = 1,268; 95 % ДИ: 1,046–1,536; $p < 0,05$), *H3C12* (коэффициент риска = 1,172; 95 % ДИ: 1,022–1,344; $p < 0,05$), *CCL2* (коэффициент риска = 1,132; 95 % ДИ: 1,017–1,260; $p < 0,05$) и *CD44* (коэффициент риска = 1,190; 95 % ДИ: 0,996–1,422; $p < 0,05$) была ассоциирована с повышением риска неблагоприятного исхода. Дискриминационная способность модели была статистически значимой (C-index = 0,675; 95 % ДИ: 0,607–0,744; $p < 0,001$). На основании полученных коэффициентов была разработана номограмма, позволяющая рассчитывать индивидуальную вероятность 1- и 2-летней ОБ пациентов с глиобластомой. Общая сумма по номограмме составила 220 баллов, что означает высокий суммарный прогностический риск. Калибровочный анализ продемонстрировал

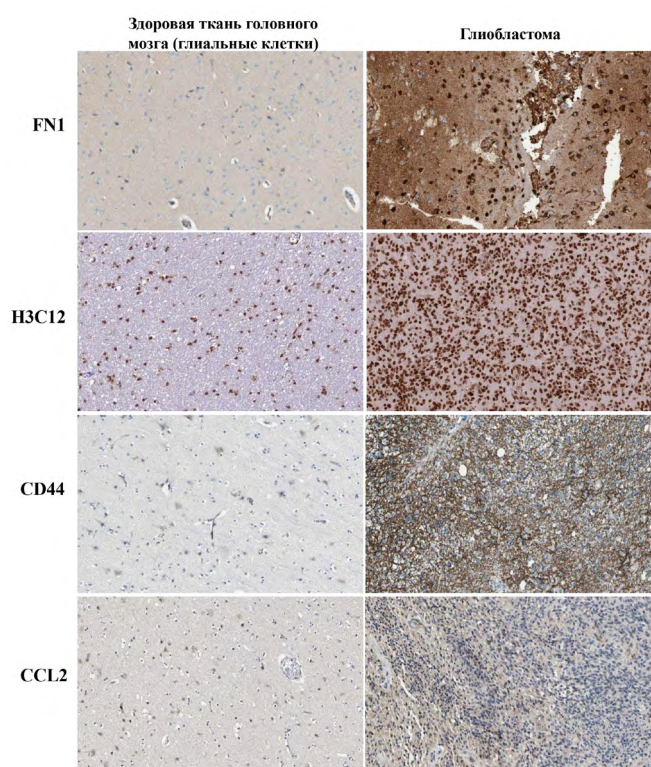


Рисунок 7. Иммуногистохимические (ИГХ) различия в экспрессии белков FN1, H3C12, CD44 и CCL2 между образцами глиобластомы и здоровой тканью головного мозга

Figure 7. Immunohistochemical (IHC) differences in FN1, H3C12, CD44, and CCL2 protein expressions in glioblastoma samples and healthy brain tissue

соответствие между прогнозируемой и фактически наблюдаемой выживаемостью, что подтверждает удовлетворительную прогностическую точность модели. Полученные данные подтверждают прогностическую значимость генов *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* и позволяют рассматривать их совокупный экспрессионный профиль как перспективный инструмент стратификации пациентов с глиобластомой.

ОБСУЖДЕНИЕ

Глиобластома характеризуется выраженной молекулярной гетерогенностью, агрессивным биологическим поведением и ограниченными терапевтическими возможностями, что в совокупности обуславливает неблагоприятный клинический прогноз. Поэтому выявление надежных биомаркеров, отражающих биологию опухоли и прогнозирующих выживаемость пациентов, остается важной задачей в нынешних исследованиях по глиобластоме [8–10]. В этом исследовании мы интегрировали транскриптомную и протеомную информацию из баз данных GEO, TCGA, CGGA, GTEx и HPA для идентификации мишеней, связанных с развитием и прогнозом глиобластомы. Эта интегративная стратегия позволила идентифицировать 10 ключевых генов, включая *FN1*, *H3C12*, *CD44*, *CCL2*, *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7*. Важно отметить, что направление изменений их экспрессии в целом было согласованным в независимых наборах данных, а анализ выживаемости продемонстрировал значимые ассоциации между экспрессией всех десяти генов и ОВ. Полученные результаты подтверждают потенциальную ценность этих генов в качестве молекулярных индикаторов биологии глиобластомы и клинического исхода заболевания.

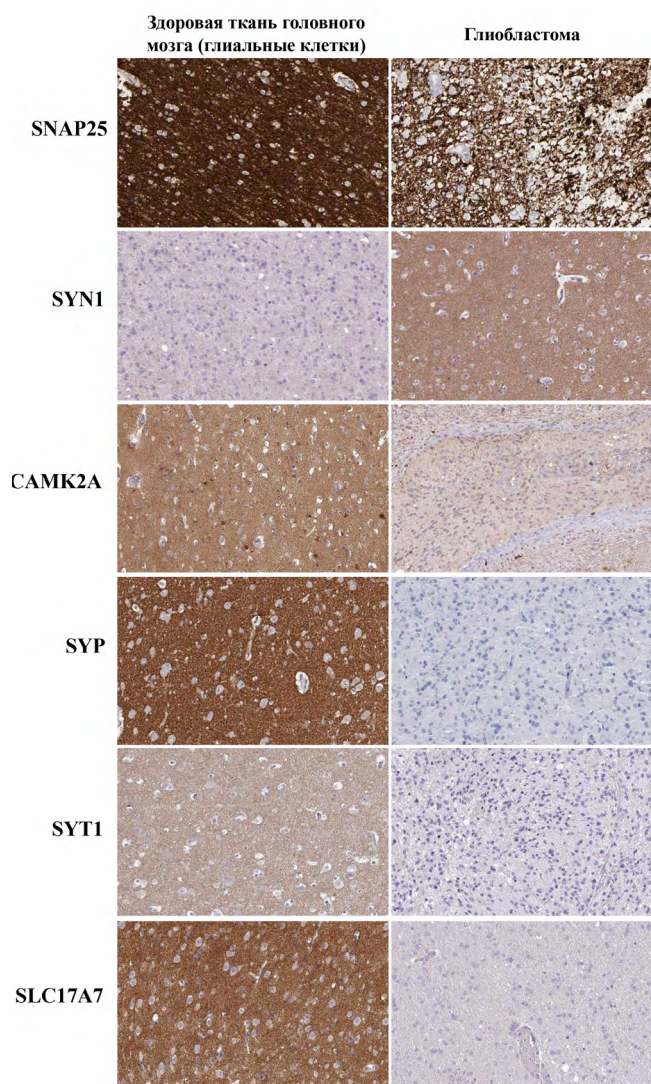


Рисунок 8. Иммуногистохимический (ИГХ) различия в экспрессии белков SNAP25, SYN1, CAMK2A, SYP, SYT1 и SLC17A7 между образцами глиобластомы и здоровой тканью головного мозга

Figure 8. Immunohistochemical (IHC) differences in the SNAP25, SYN1, CAMK2A, SYP, SYT1, and SLC17A7 protein expressions in glioblastoma and healthy brain tissue samples

Было обнаружено, что гены *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* имели высокий уровень экспрессии в образцах глиобластомы по сравнению с нормальной тканью головного мозга. Это открытие было воспроизведено с использованием независимых наборов данных GEO и TCGA и дополнительно подтверждено данными ИГХ из базы данных HPA. Согласованность между экспрессией мРНК гена и белка особенно важна, поскольку изменения в экспрессии транскриптома не обязательно приводят к соответствующим изменениям в экспрессии белка. Более того, белки FN1 и CD44 показали наиболее выраженную иммунопозитивность в опухолевой ткани, в то время как белки H3C12 и CCL2 показали умеренную экспрессию. Эта молекулярная согласованность подтверждает биологическую значимость этих четырех кандидатов.

Известно, что белок FN1 участвует в клеточной адгезии, миграции и ремоделировании микроокружения опухоли [11–14]. Повышенная экспрессия FN1 на уровне как транскриптома, так и белка,

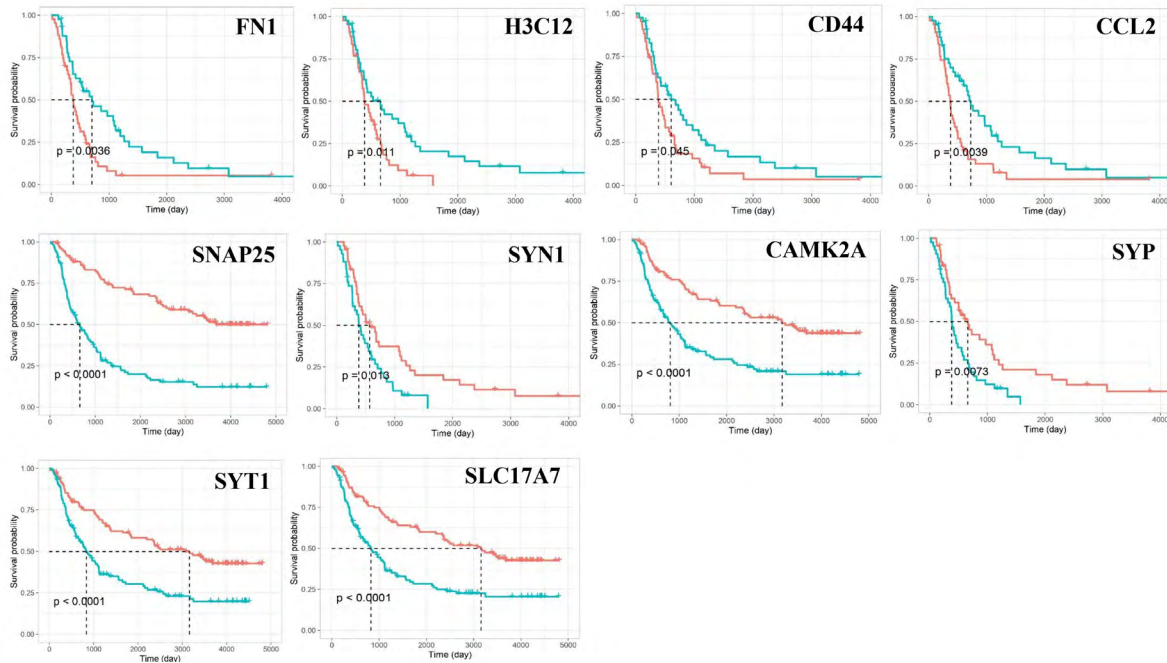


Рисунок 9. Кривые Каплана – Мейера общей выживаемости (ОВ) пациентов с глиобластомой в зависимости от уровня экспрессии исследуемых генов *FN1*, *H3C12*, *CD44*, *CCL2*, *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7*
Figure 9. Kaplan-Meier curves for overall survival (OS) of glioblastoma patients depending on the expression levels of *FN1*, *H3C12*, *CD44*, *CCL2*, *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1*, and *SLC17A7*

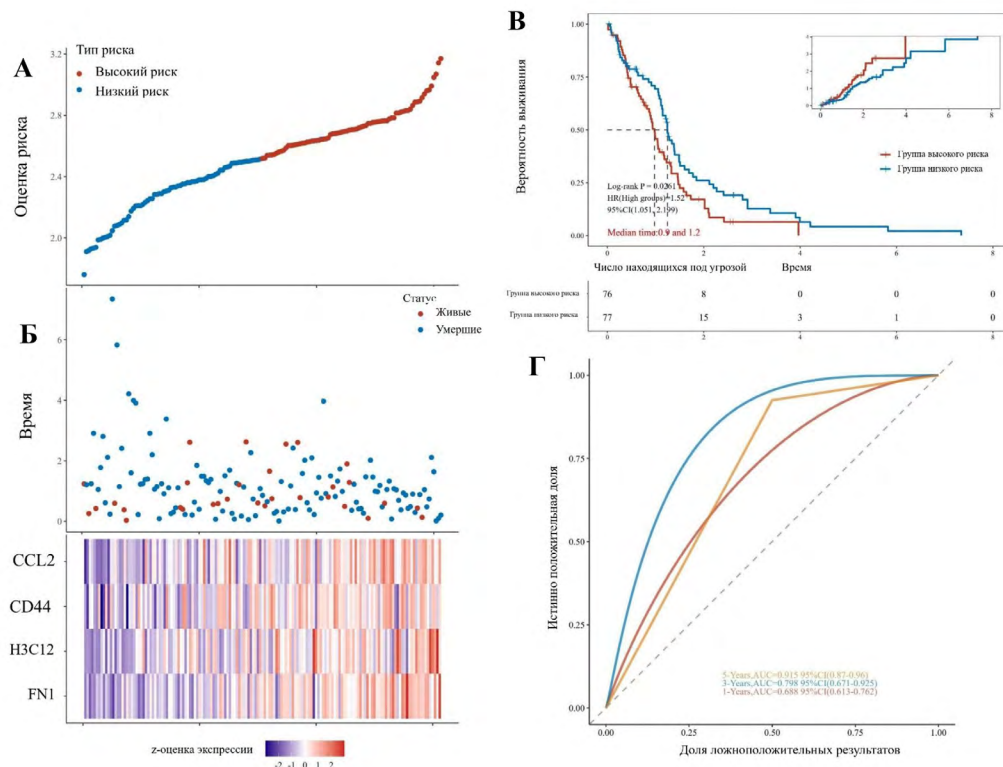


Рисунок 10. Прогностическая модель на основе экспрессии генов *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* для стратификации пациентов с глиобластомой по группам высокого и низкого риска: А – распределение пациентов по значениям «Оценка риска», Б – распределение пациентов по группам высокого и низкого риска и профиль экспрессии генов, В – анализ общей выживаемости (ОВ) методом Каплана – Мейера и Г – ROC-анализ прогностической эффективности модели
Figure 10. Prognostic model based on *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* gene expression for stratifying glioblastoma patients into high- and low-risk groups: А – distribution of patients by risk scores, Б – distribution of patients into high- and low-risk groups and gene expression profile, В – Kaplan–Meier analysis of overall survival (OS), and Г – ROC analysis of the model's prognostic performance

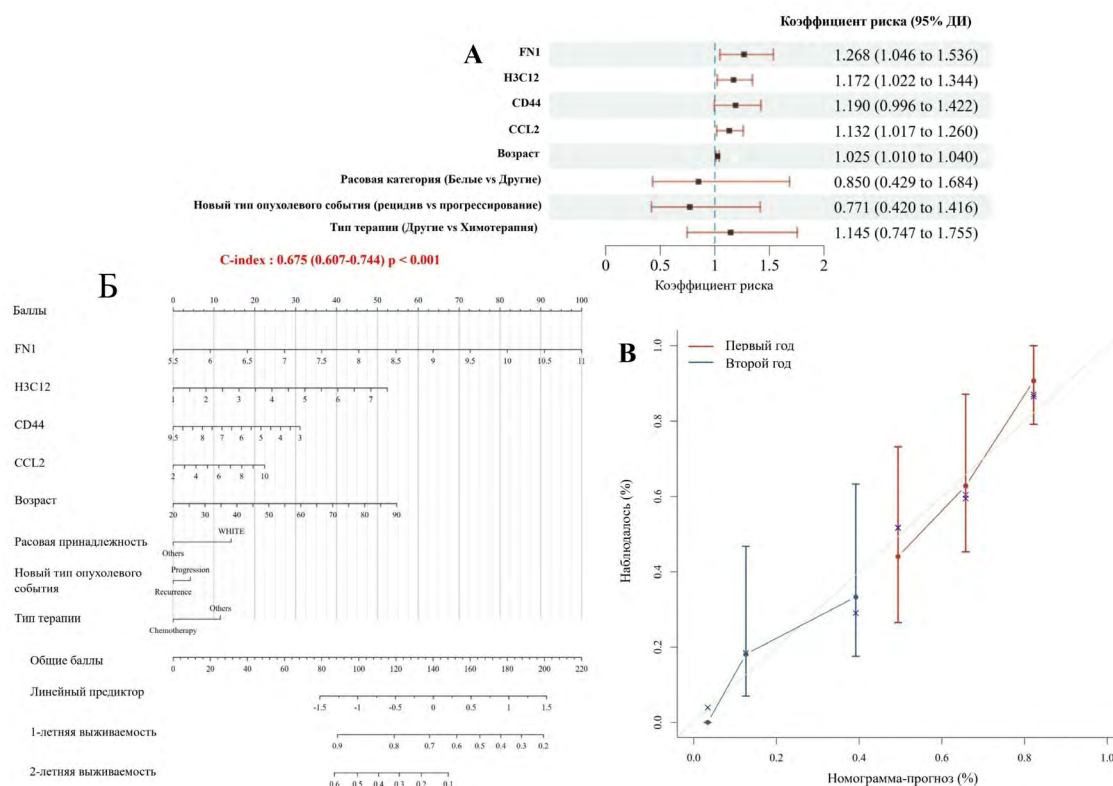


Рисунок 11. Многофакторная прогностическая модель на основе экспрессии *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2*: А — анализ коэффициентов риска, Б — номограмма для прогнозирования 1- и 2-летней выживаемости и В — калибровка модели

Figure 11. Multivariate prognostic model based on *FN1*, *H3C12*, *CD44*, and *CCL2* expression: A — hazard ratio analysis, Б — nomogram for predicting 1-and 2-year survival, and В — model calibration

таким образом, может отражать изменения во внеклеточном матриксе, которые способствуют инвазии и прогрессированию клеток глиобластомы. Наблюдаемая связь между повышенной экспрессией гена *FN1* и плохой ОВ согласуется с его потенциальной ролью в качестве биомаркера агрессивного поведения глиобластомы. Аналогично, белок *CD44* — это мембранно-ассоциированная молекула, участвующая в клеточной адгезии и межклеточных взаимодействиях с внеклеточным матриксом [15–18]. Повышенная экспрессия гена *CD44* при глиобластоме и ее связь с худшей выживаемостью могут указывать на связь с инвазивными или стволоподобными фенотипами опухоли. Одновременное увеличение уровня экспрессии генов *FN1* и *CD44* предполагает, что ремоделирование внеклеточного матрикса и измененные взаимодействия клеток с матриксом могут быть важными компонентами молекулярного фенотипа, выявленного в этом исследовании.

CCL2 представляет собой еще один биологически значимый компонент молекулярного профиля высокого риска. Как хемотаксис *CCL2* может участвовать в привлечении и регуляции иммунных и стромальных клеток в микроокружении опухоли [19–22]. Повышенная экспрессия гена *CCL2* в глиобластоме, наряду с ее связью со снижением ОВ, предполагает, что изменение воспалительной сигнализации может способствовать неблагоприятному фенотипу опухоли. Ген *H3C12* кодирует канонический гистон H3.1, основной компонент нуклеосом, играющий критическую роль в организации хроматина, репликации ДНК и регуляции доступности генома [23–25]. В этом исследовании мы продемонстрировали, что экспрессия *H3C12* значительно повышена в глиобластоме по сравнению с нормальной тканью головного мозга на транскриптомном уровне, а также наблюда-

ется повышенная экспрессия белка в образцах опухоли. Связь между повышенной экспрессией гена *H3C12* и плохой ОВ предполагает, что повышенная экспрессия данного гена может отражать высокую пролиферативную активность и измененную динамику хроматина, характерные для глиобластомы. Таким образом, интеграция *CCL2* с *FN1*, *CD44* и *H3C12* в прогностической модели может отражать взаимодополняющие аспекты биологии глиобластомы, включая ремоделирование внеклеточного матрикса, клеточную адгезию, воспалительную сигнализацию и измененные клеточные состояния.

В отличие от вышесказанного, экспрессия генов *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* была последовательно снижена в глиобластоме в наборах данных GEO и TCGA. Известно, что эти гены тесно связаны с функцией нейронов, синаптической передачей, везикулярным транспортом и глутаматергической сигнализацией [26–31]. Сниженная экспрессия этих генов может отражать глубокое нарушение нейронных и синаптических характеристик в ткани глиобластомы. Примечательно, что более высокая экспрессия этих генов была связана с более благоприятной ОВ. Это наблюдение позволяет предположить, что сохранение связанных с нейронами молекулярных программ может быть связано с менее агрессивным фенотипом опухоли. Однако эти ассоциации следует интерпретировать с осторожностью, поскольку профили экспрессии, полученные из цельной опухолевой ткани, могут отражать не только опухолевые клетки, но и состав окружающих нормальных нейронных и глиальных популяций.

Анализ прогностической значимости генов предоставил дополнительные доказательства клинической значимости выявленных молекулярных биомаркеров. Анализ Каплана — Мей-

ера с использованием базы данных CGGA продемонстрировал значительные различия в ОБ для всех десяти генов. Кроме того, отбор на основе LASSO и регрессия Кокса выявили, что гены *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* имеют наиболее информативные компоненты многогенной прогностической модели. Пациенты, отнесенные к группе высокого риска, продемонстрировали более высокую частоту неблагоприятных исходов и характерный паттерн экспрессии, включающий все четыре гена. Анализ Каплана – Мейера продемонстрировал значительную разницу в ОБ между группами высокого и низкого риска (критерий лог-ранга $p = 0,0361$; отношение рисков = 1,52, 95 % ДИ: 1,05–2,20). Важно отметить, что многофакторная модель Кокса показала, что гены *FN1*, *H3C12* и *CCL2* были значительно связаны с повышенным риском, в то время как ген *CD44* показал пограничный, но статистически значимый вклад согласно представленной модели. Общая дискриминационная способность модели оказалась статистически значимой, с индексом С, и равным 0,675 (95 % ДИ: 0,607–0,744; $p < 0,001$). Полученная номограмма позволила оценить выживаемость отдельных пациентов через 1 и 2 года, а анализ калибровки продемон-

стрировал удовлетворительное соответствие между прогнозируемой и наблюдаемой выживаемостью. Эти результаты указывают на то, что комбинированная молекулярная сигнатура может иметь большую прогностическую ценность, чем оценка отдельных генов по отдельности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование демонстрирует, что интеграция данных транскриптома, белков и клинической выживаемости позволяет идентифицировать биологически значимые молекулярные сигнатуры при глиобластоме. *FN1*, *H3C12*, *CD44* и *CCL2* оказались особенно перспективными компонентами прогностического профиля высокого риска, в то время как *SNAP25*, *SYN1*, *CAMK2A*, *SYP*, *SYT1* и *SLC17A7* были связаны с более благоприятным клиническим фенотипом. Данная модель продемонстрировала значительную прогностическую дискриминацию и может служить основой для дальнейшего исследования молекулярных механизмов, лежащих в основе прогрессирования глиобластомы, и для разработки индивидуализированных прогностических стратегий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Villa G.R., Patel A.D., Reardon D.A., Chiocca E.A. Glioblastoma: Overcoming fundamental biological and delivery barriers to therapy. *Sci Transl Med.* 2026;18(860):eaeg8772. DOI: 10.1126/scitranslmed.aeg8772
- Fortunato J.T., Scharf A., Shuman A.G., Diamond E.L. Staging prognostic discussions about glioblastoma. *J Neurooncol.* 2026;176(2):162. DOI: 10.1007/s11060-025-05356-8
- Beylerli O., Gareev I., Musaev E., Ilyasova T., Roumiantsev S., Chekhonin V.. Angiogenesis and resistance mechanisms in glioblastoma: targeting alternative vascularization pathways to overcome therapy resistance. *Curr Pharm Des.* 2026;32(11):811–23. DOI: 10.2174/0113816128367551250703122830
- Lu E., Gareev I., Yuan C., Liang Y., Sun J., Chen X., et al. the mechanisms of current platinum anticancer drug resistance in the glioma. *Curr Pharm Des.* 2022;28(23):1863–9. DOI: 10.2174/138161282866220607105746
- Singh S., Dey D., Barik D., Mohapatra I., Kim S., Sharma M., et al. Glioblastoma at the crossroads: current understanding and future therapeutic horizons. *Signal Transduct Target Ther.* 2025;10(1):213. DOI: 10.1038/s41392-025-02299-4
- Wang C., Beylerli O., Gu Y., Xu S., Ji Z., Ilyasova T., et al. Bioinformatics analysis screening and identification of key biomarkers and drug targets in human glioblastoma. *Curr Med Chem.* 2025;32(25):5260–78. DOI: 10.2174/0109298673316883240829073901
- Kim K.H., Migliozi S., Koo H., Hong J.H., Park S.M., Kim S., et al. Integrated proteogenomic characterization of glioblastoma evolution. *Cancer Cell.* 2024;42(3):358–77.e8. DOI: 10.1016/j.ccell.2023.12.015
- Sareen H., Ma Y., Becker T.M., Roberts T.L., de Souza P., Powter B. Molecular biomarkers in glioblastoma: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):8835. DOI: 10.3390/ijms23168835
- Senhaji N., Squalli Houssaini A., Lamrabet S., Louati S., Bennis S. Molecular and circulating biomarkers in patients with glioblastoma. *Int J Mol Sci.* 2022;23(13):7474. DOI: 10.3390/ijms23137474
- Wang L., Li X., Xu C., Wang D., Ma C., Wang Z., et al. Unveiling novel cell clusters and biomarkers in glioblastoma and its peritumoral microenvironment at the single-cell perspective. *J Transl Med.* 2024;22(1):551. DOI: 10.1186/s12967-024-05313-5
- Zhou J., Cheng A., Guo J., Liu Y., Li X., Chen M., et al. Targeting PRDX2 to inhibit tumor growth and metastasis in triple-negative breast cancer: the role of FN1 and the PI3K/AKT/SP1 pathway. *J Transl Med.* 2025;23(1):434. DOI: 10.1186/s12967-025-06441-2
- Zhu X., Li Y., Liu H., Xiao Z. FN1 from cancer-associated fibroblasts orchestrates pancreatic cancer metastasis via integrin-PI3K/AKT signaling. *Front Oncol.* 2025;15:1595523. DOI: 10.3389/fonc.2025.1595523.14
- Li J., Chen C., Chen B., Guo T. High FN1 expression correlates with gastric cancer progression. *Pathol Res Pract.* 2022;239:154179. DOI: 10.1016/j.prp.2022.154179
- Ashok G., Miryala S.K., Saju M.T., Anbarasu A., Ramaiah S. FN1 encoding fibronectin as a pivotal signaling gene for therapeutic intervention against pancreatic cancer. *Mol Genet Genomics.* 2022;297(6):1565–80. DOI: 10.1007/s00438-022-01943-w
- Hassn Mesrati M., Syafruddin S.E., Mohtar M.A., Syahir A. CD44: A multifunctional mediator of cancer progression. *Biomolecules.* 2021;11(12):1850. DOI: 10.3390/biom11121850
- Gama J.M., Oliveira R.C. CD44 and its role in solid cancers - a review: from tumor progression to prognosis and targeted therapy. *Front Biosci (Landmark).* 2025;30(3):24821. DOI: 10.31083/FBL24821
- Cirillo N. The Hyaluronan/CD44 Axis: a double-edged sword in cancer. *Int J Mol Sci.* 2023;24(21):15812. DOI: 10.3390/ijms242115812
- Beylerli O., Gareev I., Musaev E., Roumiantsev S., Chekhonin V., Ahmad A., et al. New approaches to targeted drug therapy of intracranial tumors. *Cell Death Discov.* 2025;11(1):111. DOI: 10.1038/s41420-025-02358-3
- Xu M., Wang Y., Xia R., Wei Y., Wei X. Role of the CCL2-CCR2 signalling axis in cancer: Mechanisms and therapeutic targeting. *Cell Prolif.* 2021;54(10):e13115. DOI: 10.1111/cpr.13115
- Zhao L., Wang G., Qi H., Yu L., Yin H., Sun R., et al. LINC00330/CCL2 axis-mediated ESCC TAM reprogramming affects tumor progression. *Cell Mol Biol Lett.* 2024;29(1):77. DOI: 10.1186/s11658-024-00592-8
- Xu J., Ding L., Mei J., Hu Y., Kong X., Dai S., et al. Dual roles and therapeutic targeting of tumor-associated macrophages in tumor microenvironments. *Signal Transduct Target Ther.* 2025;10(1):268. DOI: 10.1038/s41392-025-02325-5
- Zabransky D.J., Kartalia E., Lee J.W., Leatherman J.M., Charmsaz S., Young S.E., et al. Tumor-derived CCL2 drives tumor growth and immunosuppression in IDH1- mutant cholangiocarcinoma. *Hepatology.* 2025;82(3):599–611. DOI: 10.1097/HEP.0000000000001185

23. Kuk S.K., Lee J.I., Lee J.H., Kwon I.J., Pang K.M. Genomic analysis identifies TJP3 as a prognostic marker for radiotherapy and chemoradiotherapy in oral squamous cell carcinoma. *Sci Rep.* 2025;15(1):30778. DOI: 10.1038/s41598-025-05025-w
24. Priyamvada P., Ashok G., Joshi T., Anbarasu S., Anbarasu A., Ramaiah S. Unravelling the molecular mechanistic pathway underlying the anticancer effects of kaempferol in colorectal cancer: a reverse pharmacology network approach. *Mol Divers.* 2025;29(2):1049–67. DOI: 10.1007/s11030-024-10890-0
25. Dhahri H., Saintilnord W.N., Chandler D., Fondufe-Mittendorf Y.N. Beyond the usual suspects: examining the role of understudied histone variants in breast cancer. *Int J Mol Sci.* 2024;25(12):6788. DOI: 10.3390/ijms25126788
26. Arias A.G., Tovar-Martinez L., Ascitutto E.K., Mann A., Pöšnograjeva K., Gracia L.S., et al. Cyclic peptide targets glioblastoma by binding to aberrantly exposed SNAP25. *Mol Pharm.* 2025;22(1):363–76. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c00958
27. Jiang X., Gui Y., Yang Y., Li J., Liang A. Integrative bulk and single-cell transcriptomic profiling identifies core gene networks and potential therapeutic targets in glioma. *BMC Cancer.* 2025;26(1):84. DOI: 10.1186/s12885-025-15454-5
28. Wang H., Zeng Z., Yi R., Luo J., Chen J., Lou J. MicroRNA-3200-3p targeting CAMK2A modulates the proliferation and metastasis of glioma *in vitro*. *Bioengineered.* 2022;13(3):7785–97. DOI: 10.1080/21655979.2022.2048995
29. Liu L., Yao X., Wang Y., Hu R., Fan C., Gong H., et al. Physins in digestive system neoplasms. *Adv Clin Chem.* 2022;111:157–76. DOI: 10.1016/bs.acc.2022.08.002
30. Zhu H., Liang C., Liu Y., Luo Q., Jiang H. The expression profile of the SYT1 gene in laryngeal cancer and its influences on the biological behavior of laryngeal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2026;796:153092. DOI: 10.1016/j.bbrc.2025.153092
31. Catapano F., Alkharji R., Chambers D., Singh S., Aghaeipour A., Malhotra J., et al. A comprehensive spatiotemporal map of dystrophin isoform expression in the developing and adult human brain. *Acta Neuropathol Commun.* 2025;13(1):110. DOI: 10.1186/s40478-025-01996-z

Информация о конфликте интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Информация о спонсорстве. Исследование выполнено в рамках государственного задания № 126082524295-6.

Sponsorship data. The study was conducted as part of State Assignment No. 126082524295-6.

Вклад авторов:

Гареев И.Ф. — концепция и дизайн исследования, написание текста статьи;

Бейлерли О.А. — статистическая обработка, редактирование;

Румянцев С.А. — сбор и обработка материала.

Author contributions:

Gareev I.F. — study concept and design, text writing;

Beylerli O.A. — statistical processing, editing;

Roumiantsev S.A. — data collection and processing.