



## Опыт использования генетических исследований слюны для ранней диагностики рака молочной железы

А.С. Шатохина, И.М. Быков, д.м.н., К.А. Попов, М.Г. Леонов, д.м.н.

Адрес для переписки: Михаил Генрихович Леонов, novonko@yandex.ru

Для цитирования: Шатохина А.С., Быков И.М., Попов К.А., Леонов М.Г. Опыт использования генетических исследований слюны для ранней диагностики рака молочной железы. Эффективная фармакотерапия. 2024; 20 (36): 6–11.

DOI 10.33978/2307-3586-2024-20-36-6-11

*Результаты исследований, проведенных авторами статьи, свидетельствуют, что скрининг слюны может предоставить информацию о наличии мутаций в генах, ассоциированных с предрасположенностью к раку молочной железы (РМЖ), у близких родственников пациентов с диагностированным РМЖ. Это позволяет выявить заболевание на ранней стадии и провести оценку молекулярной гетерогенности. Сочетание генетических тестирований слюны и крови может стать основой разработки эффективной тактики скрининга и диагностики.*

**Ключевые слова:** скрининг рака молочной железы, мутации в генах *BRCA1/2*, ДНК слюны

**Р**ак молочной железы (РМЖ) – самое распространенное злокачественное новообразование у женщин. Ежегодно в мире регистрируется более двух миллионов новых случаев РМЖ, и уровень заболеваемости постоянно увеличивается [1]. В России в 2023 г. зарегистрировано более 81 тысячи случаев [2]. В результате внедрения скрининговых мероприятий, современных методов диагностики и лечения РМЖ в последние годы уровень смертности от этой патологии снижается, особенно среди тех женщин, у которых рак был выявлен на ранних стадиях. В России показатель ранней диагностики РМЖ в 2023 г. составил 75,2% [2–4].

На протяжении многих лет существующие программы профилактики РМЖ включали традиционные методы, при которых женщины проходили стандартные мероприятия скрининга. Маммография включена в эти программы исследования как в развитых странах Европы, так и в нашей стране. Но традиционный подход в ряде случаев может оказаться небезвредным [5]. Национальные программы скрининга не принимают во внимание индивидуальные риски. Однако высокая маммографическая плотность и определенные структурные особенности молочной железы, отягощенный семейный анамнез и генетические варианты предрасположенности к РМЖ известны как одни из главных факторов риска. Поэтому в последнее время

все больше внимания начинают уделять новым методам персонализированного скрининга РМЖ для каждого пациента в зависимости от уровня риска. До четверти всех случаев РМЖ относятся к наследственным, при этом около 20% случаев связаны с высокопенетрантными мутациями в генах *BRCA1/2* [6]. Потеря функции *BRCA1* приводит к дефектам репарации ДНК и увеличению количества активных форм кислорода (АФК), что представляет угрозу стабильности генома. Белок *BRCA1* участвует в поддержании целостности генома за счет процессов репарации ДНК, а также в ответе на окислительный стресс. Роль этого белка в защите клеток от оксидативного стресса обеспечивается посредством множественной активации экспрессии генов, ответственных за цитопротекторный антиоксидантный ответ. Имеющиеся данные говорят о том, что гиперэкспрессия гена/белка *BRCA1* повышает устойчивость клеток к действию агентов-окислителей, а его дефицит, наоборот, усиливает чувствительность к воздействию оксидативных факторов.

Можно согласиться с мнением зарубежных авторов, что ген *BRCA1* важен для поддержания адекватного для организма состояния оксидативного гомеостаза [7]. Любой дефект в гене *BRCA1* может увеличивать продукцию АФК и нарушать клеточный окислительно-восстановительный статус. Потеря функции *BRCA1*



приводит к серьезным дефектам репарации двухцепочечных разрывов ДНК и увеличению количества АФК, которые представляют угрозу стабильности генома. *BRCA1* как сенсор и регулятор АФК потенциально важен для профилактики и/или лечения *BRCA1*-ассоциированных опухолей. *BRCA1* контролирует АФК и выживаемость клеток молочной железы посредством антиоксидантной сигнализации, управляемой фактором транскрипции NRF2, который индуцирует экспрессию большого набора генов, модулирующих восстановление окислительно-восстановительного баланса и смягчающих повреждение от АФК. Этот сигнальный путь является центральным в поддержании оксидативного гомеостаза во многих типах клеток.

Приведенная в данном обзоре информация позволяет лучше понять роль гена *BRCA1* и кодируемого им белка *BRCA1* в реакции на окислительный стресс и в модуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, а также уяснить существующие представления о биохимических и патофизиологических аспектах участия *BRCA1* в этих процессах.

Открытие клинически значимых мутаций, способствующих развитию РМЖ, является важным шагом в развитии молекулярной онкологии, так как они приводят к возникновению гетерогенных опухолей, различающихся по своему происхождению. Эти мутации играют значительную роль в прогрессировании заболевания и в настоящее время подлежат генетическому тестированию и лечению препаратами группы PARP-ингибиторов. Обнаружение мутаций *BRCA1/2* у больных РМЖ определяет необходимость обследования их родственников для выявления здоровых носителей мутаций *BRCA1/2* и обеспечения диагностики злокачественных новообразований на ранних стадиях, когда лечение наиболее эффективно. Актуальной проблемой клинической онкологии является разработка информативных, эффективных и неинвазивных методов диагностики опухолей. В этой связи любой новый диагностический подход, который потенциально может улучшить раннюю диагностику рака и мониторинг заболеваний, предполагает повышение общей выживаемости пациентов и заслуживает рассмотрения [8].

В последние годы в качестве надежной биожидкости для обнаружения системных патологических состояний, таких как злокачественные новообразования, стали рассматривать смешанную слюну (ротовую жидкость), молекулярные компоненты которой могут отражать системный статус организма [9]. Одна из современных тенденций в раннем выявлении РМЖ указывает на возможное решение – использование биомаркеров цельной слюны.

В настоящее время имеется ограниченное количество данных, подтверждающих использование биомаркеров слюны в качестве диагностического инструмента для выявления РМЖ. Наиболее исследованными биомаркерами в составе смешанной слюны при РМЖ являются эпидермальный фактор роста, раковый антиген 15-3 и рецептор эпидермального фактора роста *HER2/neu*. По данным литературы, целесообразно

использование слюны в качестве альтернативы крови для обнаружения мутаций в генах *BRCA1/2* при выявлении наследственных форм РМЖ.

Показано, что определение слюнной пероксидазы, конечных продуктов позднего гликирования, общего антиоксидантного статуса и малонового диальдегида может иметь существенное значение в неинвазивной диагностике РМЖ. Также для ранней диагностики РМЖ рассматривается возможность использования исследования профиля свободных аминокислот в слюне, транскриптомных биомаркеров – мРНК *CSTA*, *TPT1*, *IGF2BP1*, *GRM1*, *GRIK1*, *H6PD*, *MDM4* и *S100A8* и протеомного биомаркера – карбоангидразы VI, полиаминов, а также ряда метаболических белков.

Исследования слюны могут оказаться такими же эффективными, как и исследования биомаркеров крови в лабораторной диагностике РМЖ. Кроме этого, изучение и описание связей биохимических и генетических показателей крови и слюны при РМЖ представляет не только научную, но и практическую ценность для совершенствования лабораторных методов диагностики этого заболевания. Взаимосвязь биохимических и генетических факторов слюны и крови, а также перспективы использования их наиболее информативных взаимосвязей для ранней диагностики РМЖ в настоящее время становятся предметом детальных научных исследований.

Первым исследованным биомаркером в составе смешанной слюны при РМЖ был эпидермальный фактор роста (*EGF*) [10]. В слюне у пациентов с РМЖ были обнаружены повышенные концентрации *EGF* в сравнении со слюной у здоровых женщин, тогда как исследование плазмы дало противоположные результаты и не было корреляции между значениями *EGF* в плазме и слюне. Самые высокие значения *EGF* в слюне обнаружены в подгруппе пациентов с местными рецидивами. В то же время к систематическому изучению возможностей саливадиагностики РМЖ приступили исследователи отдела диагностических и биомедицинских наук Научного центра здоровья Техасского университета в Хьюстоне (США) под руководством профессора Чарльза Ф. Стрекфуса (C.F. Streckfus). Уже в 1999 г. исследователи обнаружили наличие ракового антигена 15-3 (CA 15-3) и рецепторов эпидермального фактора роста (c-erbB-2) в слюне, взятой у 135 здоровых женщин [11].

Раковый антиген CA 15-3 сверхэкспрессируется при различных эпителиальных раках и играет главную роль в прогрессировании заболевания. CA 15-3 и CA 27-29 являются антигенами гликопротеина MUC-1. Это биомаркеры, одобренные в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для мониторинга и оценки эффективности лечения запущенного или рецидивирующего РМЖ [12]. Сывороточный CA 15-3 в основном используется для определения прогноза РМЖ и эффективности терапии, поскольку сывороточный уровень CA 15-3 пропорционален стадии и размеру опухоли. CA 27-29 обладает более высокой чувствительностью и меньшей специфично-



стью, чем СА 15-3 [13]. *HER2/neu* (с-erbB-2) является важным биомаркером для диагностики разных типов РМЖ, предиктором прогрессирования *HER2*-положительных клеточных линий РМЖ, прогностическим индикатором снижения выживаемости пациенток с метастатическим РМЖ [14].

Кроме вышеперечисленных факторов, в 2000 г. были опубликованы первые результаты исследований содержания в слюне у пациенток с РМЖ рецептора эпидермального фактора роста (*EGFR*), p53, катепсина D, с-erbB-2 (*HER2/neu*) и ракового антигена СА 15-3 [15]. В ходе исследований впервые обнаружены в слюне у женщин с РМЖ довольно значимые в диагностическом плане уровни опухолевых маркеров: СА 15-3, с-erbB-2 и белка-супрессора онкогена 53 (p53). Уровни erb и СА 15-3 в слюне у исследуемых пациенток были значительно выше (на 50%), чем в слюне у здоровых контрольных субъектов и пациентов с доброкачественными опухолями. Результаты этого исследования предполагают, что эти маркеры потенциально могут использоваться при первоначальном выявлении РМЖ и/или последующем скрининге. Анализ экспрессии белка с-erbB-2 в слюне может быть очень полезным диагностическим инструментом для измерения реакции больной на химиотерапию и/или хирургическое лечение РМЖ. Было предложено определение *HER2* в слюне для обнаружения *HER2*-типов РМЖ [16].

В этот же период другие исследователи проанализировали коррелятивную взаимосвязь между уровнем СА 15-3 в сыворотке и слюне. В группе пациенток с ранними стадиями РМЖ измерялись концентрации СА 15-3 в слюне и сыворотке по сравнению с контрольной группой [17]. Показатели концентрации СА 15-3 в слюне и сыворотке были выше на стадии II по сравнению со стадией I РМЖ. Несмотря на более низкую скорость слюноотделения у онкологических больных, наблюдалась значительная положительная корреляция между концентрациями СА 15-3 в сыворотке и слюне, а также между концентрациями СА 15-3 в сыворотке и дебитом СА 15-3 в слюне. Результаты этого исследования позволили предположить, что СА 15-3 слюны может потенциально использоваться для раннего выявления РМЖ у женщин. Было проанализировано содержание СА 15-3 в слюне и сыворотке у пациенток с РМЖ и в контрольной группе здоровых добровольцев [18]. Результат сравнения концентраций СА 15-3 в слюне и в сыворотке ни в группе пациенток с РМЖ, ни в контрольной группе не был статистически значимым, однако корреляция между концентрациями СА 15-3 в слюне и сыворотке в каждой группе была положительной и статистически значимой. Это позволило авторам работы предположить, что слюна может быть альтернативой крови для лабораторного мониторинга РМЖ.

Одно из преимуществ слюны как источника геномной ДНК – ее стабильность при хранении и транспортировке. Сравнительные исследования, проведенные на образцах слюны и крови от доноров, констатировали более чем 97% совпадений в результатах генотипирования [19, 20].

Слюна больных РМЖ с мутацией *BRCA1* характеризуется повышенной антиоксидантной способностью и более высокой степенью окислительного повреждения белков и липидов. Такие изменения не наблюдались у больных без мутации *BRCA1*. Авторы показали, что слюнная пероксидаза, конечные продукты позднего гликирования, общий антиоксидантный статус и малоновый диальдегид могут иметь особое клиническое значение в неинвазивной диагностике РМЖ [21].

Значимая проблема саливадиагностики состоит в том, что анализы в слюне находятся в значительно более низких концентрациях, чем в крови. Из-за этого для поиска биомаркеров РМЖ целесообразно тестирование в слюне РНК, поскольку системы обнаружения РНК, такие как ПЦР, могут амплифицировать очень небольшие количества РНК [22].

Наиболее перспективным направлением поиска эффективных возможностей ранней диагностики РМЖ является использование панели биомаркеров. В исследовании, объединяющем транскриптомный и протеомный подходы, ученые определили профили транскриптома и протеома слюны у больных РМЖ. Показано, что комбинация восьми транскриптомных биомаркеров – мРНК (*CSTA*, *TPT1*, *IGF2BP1*, *GRM1*, *GRIK1*, *H6PD*, *MDM4* и *S100A8*) и одного протеомного СА6 может быть использована для обнаружения и идентификации РМЖ с точностью 92%, чувствительностью 83% и специфичностью 97% [23].

**Цель исследования:** изучить возможности генетического тестирования слюны (ротовой жидкости) для скрининга РМЖ.

## Материал и методы

Исследование проведено на базе ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края и ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России. В исследовании участвовали 30 человек. Средний возраст составил  $51,9 \pm 10,2$  года. У 15 разных женщин с известными мутациями в локусах *BRCA1* было проведено сравнение ДНК, выделенной из образцов крови, и ДНК из слюны с точки зрения обнаружения мутаций зародышевой линии. Еще у 15 обследованных с семейным анамнезом РМЖ проведено скрининговое исследование слюны для выявления ассоциированных с опухолью мутаций в гене *BRCA1*. Близкие родственники без клинических признаков РМЖ были из семей, в которых одна женщина имела в анамнезе РМЖ.

Последующее исследование венозной крови осуществлялось у лиц, у которых по данным генетического тестирования слюны были обнаружены мутации в гене *BRCA1*. Образцы цельной венозной периферической крови, полученные путем венепункции, собирали в пластиковые пробирки объемом 10 мл (Becton Dickinson), содержащие в качестве антикоагулянта К2ЭДТА. Сбор, предобработку и хранение ротовой жидкости и венозной крови для исследований генетических полиморфизмов, ассоциированных с риском развития РМЖ, проводили в соответствии



с инструкцией к комплекту для выделения ДНК из биологического материала.

Образец слюны помещали в стерильный пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой. За два часа до сбора слюны исследуемые женщины не принимали никакой пищи или напитков (за исключением чистой воды). За пять минут до сбора ротовой жидкости обследуемые женщины прополаскивали рот водой. Затем нестимулированную слюну собирали пассивным слюноотделением в отсутствие жевательных движений в стерильные пластиковые контейнеры емкостью 10 мл.

От каждого участника получено от 4 до 6 мл ротовой жидкости. Для соответствия критериям исследования образец не должен был иметь признаков присутствия крови. Сразу после сбора образцы слюны центрифугировали (скорость – 8000 оборотов в минуту, время – 15 минут) для удаления нежелательных частиц, затем супернатант собирали и разделяли на аликвоты. Часть аликвот каждого образца хранили при температуре 2–8 °С в течение двух – четырех часов для последующего выполнения биохимических и генетических исследований *ex tempore*.

Для генетического тестирования образцов биоматериала применяли набор реагентов «ОнкоГенетика» производства ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия) для выделения ДНК из периферической крови и выявления наследственных мутаций 185delAG, 2080delA, 4153delA, 5382insC, с.3700 \_ 3704delGTAAA, с.3756 \_ 3759delGTCT, 300T > G (Cys61Gly) в гене человека *BRCA1* и 6174delT в гене человека *BRCA2* методом ПЦР в режиме реального времени.

Подготовку к ПЦР проводили с использованием ПЦР-боксов. Применяли амплификатор детектирующий «ДТ лайт» производства ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия), совмещающий функции прецизионного программируемого термоциклера и оптической системы, которая позволяет регистрировать флуоресценцию реакционной смеси непосредственно в ходе ПЦР и осуществлять ее автоматически с помощью программного обеспечения Real Time PCR v.7.3, поставляемого с детектирующим амплификатором.

### Результаты исследования и их обсуждение

Действующие программы скрининга РМЖ недостаточны для женщин с высоким генетическим риском, поэтому одним из современных методов обследования при подозрении на РМЖ является генетическое исследование на наличие мутаций, увеличивающих риски развития заболевания. Генетическое тестирование значительно улучшает качество программ профилактики РМЖ, помогает выявить лиц из группы высокого риска, которым требуется частое наблюдение, и женщин из группы низкого риска, которым следует избегать частых скрининговых исследований до последующего контроля [24]. По имеющимся данным, мутации в генах *BRCA1* или *BRCA2* повышают риски развития РМЖ до 60–70% [25].

С помощью специального генетического тестирования можно обнаружить мутирующие гены. Генетиче-

ское тестирование позволяет минимизировать вред, сопряженный со скринингом РМЖ, и индивидуализировать процесс раннего выявления и скрининга. Оценка генетических рисков также требуется здоровым пациенткам, имеющим близких родственников с диагнозом «РМЖ» или «рак яичников», родственников любого пола с обнаруженными изменениями в генах *BRCA1/2* либо с диагнозом «доброкачественная опухоль молочной железы» при признаках усиленного роста.

Важным элементом любой программы генетических исследований является сбор биологических образцов для получения ДНК. На сегодняшний день при генетическом тестировании предпочтение отдается исследованию крови, которая наиболее часто используется как биоматериал для получения ДНК высокого качества, необходимого для анализа генов, ассоциированных с предрасположенностью к РМЖ. Для забора образцов крови требуется квалифицированный специалист. Процедура может вызывать боль, стресс и беспокойство у обследуемого, даже если человек совершенно здоров и тестирование *BRCA* проводится для прогнозирования риска. Необходимость сдачи крови в таких случаях может демотивировать некоторых потенциальных пациентов относительно тестирования. Непросто произвести сбор крови на анализ у новорожденных или людей с отклонениями в развитии или поведении. Поэтому неинвазивные методы получения биоматериала для генетического тестирования на предрасположенность к РМЖ представляют особый интерес [26].

В отличие от сбора крови, для сбора слюны не требуется обученный флеботомист. Слюну считают надежным источником ДНК для самых разных генетических исследований [5, 27]. Установлено, что по качеству геномной ДНК образцы слюны сопоставимы с образцами крови – по показателям чистоты, генотипирования и ПЦР-амплификации [28]. Простой, дешевый и неинвазивный онкологический скрининг РМЖ является ключом к реальному повышению эффективности ранней диагностики онкопатологии [29].

Ряд исследователей показали пригодность ДНК, выделенной из слюны, для высокопроизводительного молекулярного генотипирования путем сравнения ее эффективности с ДНК, выделенной из крови [30]. Слюну можно считать материалом, эквивалентным крови для генетического анализа как для полногеномного секвенирования, так и для секвенирования всего человеческого экзона [31]. Сообщается, что точность генотипирования ДНК, полученной из слюны, сравнима с точностью генотипирования ДНК, полученной из крови. Таким образом, ДНК слюны становится все более важным инструментом для обнаружения геномных вариаций.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что слюна и биомаркеры имеют большой потенциал для клинического применения [32]. ДНК из крови и слюны показала частоту генотипирования и частоту воспроизводимости > 99%, это послужило основанием



для вывода, что слюна является источником ДНК достаточного количества и качества для целей генетических исследований.

Сравнение ДНК, выделенной из образцов крови и слюны для обнаружения мутаций зародышевой линии у десяти разных людей с известными мутациями в локусах *BRCA1*, продемонстрировало наличие идентичных мутаций в 100% наблюдений. По результатам проведенного скринингового исследования слюны у 30% обследованных лиц с семейным анамнезом заболевания, но без клинических признаков РМЖ, выявлены ассоциированные с опухолью мутации в гене *BRCA1*. Последующее исследование венозной крови лиц, у которых по данным генетического тестирования слюны были обнаружены мутации в гене *BRCA1*, подтвердило их наличие.

## Заключение

Использование единственного биомаркера для диагностики, прогноза или лечения РМЖ, несомненно, упрощает процедуру, однако часто бывает недостаточно информативным. Одно из возможных решений – одновременное использование пула биомаркеров для достижения желаемой цели. По нашему мнению, перспективным и актуальным направлением в клинической онкологии представляется поиск новых взаимосвязей биомаркеров РМЖ путем параллельного анализа крови, слюны и разработки на этой основе эффективных тактик скрининговых и диагностических исследований. Следовательно, изучение и описание особенностей взаимосвязи исследуемых биохимических и генетических пока-

зателей крови и слюны при РМЖ представляет не только научную, но и практическую ценность для совершенствования лабораторных методов диагностики заболевания. Полагают, что исследование слюны с целью определения опухолевых маркеров не заменит стандартный скрининговый физикальный осмотр и маммографию. Тем не менее новый подход с использованием саливадиагностики может улучшить выявляемость РМЖ на ранних стадиях, когда он еще излечим, что согласуется с рядом зарубежных исследований [33].

Итоги проведенного нами исследования позволяют заключить, что зафиксированные результаты генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов слюны и крови могут рассматриваться как аргументы, свидетельствующие о целесообразности генетических тестирований для раннего выявления и скрининга РМЖ. Результаты исследования свидетельствуют, что скрининг слюны может предоставить информацию о наличии мутаций в генах, ассоциированных с предрасположенностью к РМЖ, у близких родственников пациентов с диагностированным РМЖ. Это особенно важно для раннего выявления и оценки молекулярной гетерогенности заболевания. Возможно, сочетание генетического тестирования слюны и крови станет основой разработки эффективной тактики скрининга и диагностики.

Необходимы дополнительные, расширенные исследования возможностей тестирования слюны для выявления мутаций в гене *BRCA1* и использования этой методики наряду с другими общепринятыми методами выявления диагностических биомаркеров РМЖ. ☺

## Литература

1. Мерабишвили В.М., Семглазов В.Ф., Комяхов А.В. и др. Состояние онкологической помощи в России: рак молочной железы. Эпидемиология и выживаемость больных. Влияние эпидемии бета-варианта коронавируса SARS-CoV-2 (клинико-популяционное исследование). Опухоли женской репродуктивной системы. 2023; 19 (3): 16–24.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024.
3. Abraham J.E., Maranian M.J., Spiteri I., et al. Saliva samples are a viable alternative to blood samples as a source of DNA for high throughput genotyping. BMC Med. Genomics. 2012; 5: 19.
4. Adámková V., Velemínský M., Zimmelová P., et al. Volunteer's willingness to genetic testing – lack of the understanding of the matter. Physiol Res. 2009; 58 (1): 53–54.
5. Agha-Hosseini F., Mirzaii-Dizgah I., Rahimi A. Correlation of serum and salivary CA15-3 levels in patients with breast cancer. Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal. 2009; 14 (10): 521–524.
6. Bentata M., Morgenstern G., Nevo Y., et al. Splicing factor transcript abundance in saliva as a diagnostic tool for breast cancer. Genes (Basel). 2020; 11 (8): 880.
7. Bruinsma F.J., Joo J.E., Wong E.M., et al. The utility of DNA extracted from saliva for genome-wide molecular research platforms. BMC Res. Notes. 2018; 11 (1): 8.
8. DeSantis C., Ma J., Bryan L., et al. Breast cancer statistics, 2013. CA Cancer J. Clin. 2014; 64 (1): 52–62.
9. Gam L.-H. Breast cancer and protein biomarker. World J. Exp. Med. 2012; 2: 86–91.
10. Garbieri T.F., Brozoski D.T., Dionísio T.J., et al. Human DNA extraction from whole saliva that was fresh or stored for 3, 6 or 12 months using five different protocols. J. Appl. Oral. Sci. 2017; 25 (2):147–158.
11. Giaquinto A.N., Sung H., Miller K.D., et al. Breast Cancer Statistics, 2022. CA Cancer J. Clin. 2022; 72 (6): 524–541.
12. Gudiseva H.V., Hansen M., Gutierrez L., et al. Saliva DNA quality and genotyping efficiency in a predominantly elderly population. BMC Med. Genomics. 2016; 9: 17.
13. Hansen T.V., Simonsen M.K., Nielsen F.C., et al. Collection of blood, saliva, and buccal cell samples in a pilot study on the Danish nurse cohort: comparison of the response rate and quality of genomic DNA. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 2007; 16 (10): 2072–2076.



14. Horsman D., Wilson B.J., Avar D., et al. Clinical management recommendations for surveillance and risk-reduction strategies for hereditary breast and ovarian cancer among individuals carrying a deleterious BRCA1 or BRCA2 mutation. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2007; 29 (1): 45–60.
15. Hu Y., Ehli E.A., Nelson K., et al. Genotyping performance between saliva and blood-derived genomic DNAs on the DMET array: a comparison. *PLoS One.* 2012; 7 (3): e33968.
16. Kabel A.M. Tumor markers of breast cancer: new prospectives. *J. Oncol. Sci.* 2017; 3: 5–11.
17. Kaczor-Urbanowicz K.E., Wei F., Rao S.L., et al. Clinical validity of saliva and novel technology for cancer detection. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* 2019; 1872 (1): 49–59.
18. Kvapilova K., Misenko P., Radvanszky J., et al. WGS and WES protocols proved saliva-derived gDNA as an equivalent to blood-derived gDNA for clinical and population genomic analyses. *BMC Genomics.* 2024. 25 (1): 187.
19. Laidi F., Bouziane A., Lakhdar A., et al. Significant correlation between salivary and serum Ca 15-3 in healthy women and breast cancer patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15 (11): 4659–4662.
20. Ludovini V., Gori S., Colozza M., et al. Evaluation of serum HER2 extracellular domain in early breast cancer patients: correlation with clinicopathological parameters and survival. *Ann. Oncol.* 2008; 19: 883–890.
21. Mehrgou A., Akouchekian M. The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development. *Med. J. Islam. Repub. Iran.* 2016; 30: 369.
22. Navarro M.A., Mesía R., Díez-Gibert O. Epidermal growth factor in plasma and saliva of patients with active breast cancer and breast cancer patients in follow-up compared with healthy women. *Breast Cancer Res. Treat.* 1997; 42 (1): 83–86.
23. Nonaka T., Wong D.T.W. Saliva Diagnostics. *Annu. Rev. Anal. Chem. (Palo Alto Calif.)*. 2022; 15 (1): 107–121.
24. Poehls U.G., Hack C.C., Ekici A.B., et al. Saliva samples as a source of DNA for high throughput genotyping: an acceptable and sufficient means in improvement of risk estimation throughout mammographic diagnostics. *Eur. J. Med. Res.* 2018; 23 (1): 20.
25. Rapado-González Ó., Majem B., Muínelo-Romay L., et al. Cancer salivary biomarkers for tumours distant to the oral cavity. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): 1531.
26. Sarhangi N., Hajjari S., Heydari S.F., et al. Breast cancer in the era of precision medicine. *Mol. Biol. Rep.* 2022; 49 (10): 10023–10037.
27. Sawczuk B., Maciejczyk M., Sawczuk-Siemieniuk M. Salivary gland function, antioxidant defence and oxidative damage in the saliva of patients with breast cancer: does the BRCA1 mutation disturb the salivary redox profile? *Cancers.* 2019; 11: 1501.
28. Streckfus C., Bigler L., Dellinger T., et al. CA 15-3 and c-erbB-2 presence in the saliva of women. *Clin. Oral Investig.* 1999; 3 (3): 138–43.
29. Streckfus C., Bigler L., Tucci M., et al. A preliminary study of CA 15-3, c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, cathepsin-D, and p53 in saliva among women with breast carcinoma. *Cancer Invest.* 2000; 18 (2): 101–109.
30. Streckfus C.F., Arreola D., Edwards C., et al. Salivary protein profiles among HER2/neu-receptor-positive and -negative breast cancer patients: support for using salivary protein profiles for modeling breast cancer progression. *J. Oncol.* 2012; 413256.
31. Streckfus C.F. Salivary biomarkers to assess breast cancer diagnosis and progression: are we there yet? *Saliva and Salivary Diagnostics.* Intech Open, 2019.
32. Zhang L., Xiao H., Karlan S., et al. Discovery and preclinical validation of salivary transcriptomic and proteomic biomarkers for the non-invasive detection of breast cancer. *PLoS One.* 2010; 5 (12): e15573.
33. Zwyea S. Understanding the role of BRCA1 in redox homeostasis regulation. *RUcore: Rutgers University Community Repository*, 2017. 106 p.

### The Experience of Using Genetic Saliva Studies for Early Diagnosis of Breast Cancer

A.S. Shatokhina, I.M. Bykov, PhD, K.A. Popov, M.G. Leonov, PhD

*Kuban State Medical University*

Contact person: Mikhail G. Leonov, novonko@yandex.ru

*The results of the research conducted by the authors of the article indicate that saliva screening can provide information about the presence of mutations in genes associated with predisposition to breast cancer in close relatives of patients with diagnosed breast cancer. This makes it possible to identify the disease at an early stage and assess the molecular heterogeneity. The combination of genetic testing of saliva and blood can become the basis for the development of effective screening and diagnostic tactics.*

**Keywords:** breast cancer screening, mutations in BRCA1/2 genes, saliva DNA