



Оригинальная статья

Прогностическая роль aberrантной копийности генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных раком яичников

Вереникина Е.В.¹ • Петрусенко Н.А.¹ • Кечерюкова М.М.¹

Вереникина Екатерина Владимировна – канд. мед. наук, заведующая отделением онкогинекологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>.
E-mail: ekaterina.veren@yandex.ru

Петрусенко Наталья Александровна – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярной онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>
✉ 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, Российская Федерация.
Тел.: +7 (863) 200 10 00, доб. 472.
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Кечерюкова Мадина Мажитовна – врач-онколог отделения онкогинекологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6131-8560>.
E-mail: adele09161@mail.ru

Актуальность. Рак яичников – ведущая причина смерти при гинекологических злокачественных новообразованиях. Более чем у 70% пациенток диагностируется прогрессирующее заболевание, распространяющееся за пределы малого таза. Пятилетняя выживаемость больных раком яичников остается низкой (около 47%) из-за частых рецидивов и лекарственной устойчивости. Выявление маркеров для ранней диагностики и прогнозирования рецидивов улучшит прогноз при этом заболевании.

Цель – оценить относительную копийность онкоассоциированных генетических локусов *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* в опухолевых клетках тканей яичников для поиска потенциальных прогностических онкомаркеров у больных раком яичников.

Материал и методы. В исследование вошли 50 женщин в возрасте от 27 до 70 лет с диагнозом рака яичников T1-3cN0-1M0-1, гр. 2 (стадии I–IV), проходивших плановое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2019 гг. Материалом служили образцы геномной ДНК из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани. Методом RT-qPCR проводили оценку относительной копийности 8 генетических локусов: *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3*. Относительную копийность (англ. relative copy quantitation, RCQ) генетического локуса рассчитывали по формуле $2^{-\Delta Ct}$. Дозу исследованного локуса считали равной диплоидному набору (2n) при отношении $RCQ_{опухоль/норма} \sim 1$. Если отношение $RCQ_{опухоль/норма}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$, дозу локуса считали увеличенной ($\geq 3n$) или уменьшенной ($\leq 1n$) соответственно.

Результаты. Для всех генетических локусов наблюдали увеличение относительной копийности в опухолевых клетках яичников по сравнению с условно здоровой тканью. Выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) aberrантная копийность четырех генов: *c-Myc* ($p = 0,001$), *DDB1* ($p = 0,002$), *PRPF19* ($p = 0,0001$), *CDKN1B* ($p = 0,001$). Установлены дифференциально разделительные уровни этих генов, которые позволили прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у пациенток ($p < 0,05$). Наиболее тесная связь с риском неблагоприятных событий была характерна для повышения уровня копийности *PRPF19* (отношение шансов (ОШ) 7,3; $p = 0,0001$) и *c-Myc* (ОШ 6,8; $p = 0,001$).

Заключение. В нашем исследовании мы определили прогностическую ценность четырех онкогенных драйверов, а именно *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B* и *c-Myc*, увеличение копийности которых ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом заболевания у больных раком яичников.

Ключевые слова: рак яичников, вариация числа копий, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc*

Для цитирования: Вереникина ЕВ, Петрусенко НА, Кечерюкова ММ. Прогностическая роль aberrантной копийности генов *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc* у больных раком яичников. Альманах клинической медицины. 2021;49(3):191–196. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-020.

Поступила 22.10.2020; доработана 12.04.2021; принята к публикации 14.04.2021; опубликована онлайн 23.04.2021

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, Российская Федерация

Рак яичников – ведущая причина смерти при гинекологических злокачественных новообразованиях. Из-за отсутствия репрезентативных симптомов и чувствительных методов диагностики более чем у 70% пациенток заболевание диагностируется на стадии распространения за пределы малого таза. По причине частых рецидивов

и лекарственной устойчивости пятилетняя выживаемость больных раком яичников остается низкой – около 47% [1]. Именно поэтому крайне важно понять механизм, лежащий в основе опухолевого генеза, и разработать новые стратегии ранней диагностики, мониторинга заболевания и оценки прогноза. Выявление маркеров для ранней диагностики и прогнозирования



рецидивов улучшит долгосрочный прогноз при раке яичников.

Вариацию числа копий (англ. copy number variation, CNV) в геноме все чаще связывают с генетической и фенотипической гетерогенностью раковых опухолей, что часто ассоциировано с транскрипционной активацией онкогенных драйверов или удалением опухолевых супрессоров [2, 3]. Индукция соматических CNV – обычное явление при раке и один из основных факторов развития опухоли и формирования лекарственной устойчивости [4]. Таким образом, выявление соматических CNV может играть важную роль в диагностике и прогнозировании течения рака, что должно положительно сказаться на результатах лечения. В базе данных TCGA (The Cancer Genome Atlas – Атлас ракового генома) отражены результаты внедрения геномных технологий высокого разрешения, которые показывают значительную геномную нестабильность с высокой частотой CNV, что характерно для рака яичников. Изменение копийности генов используют для молекулярной стратификации рака яичников, а также связывают с прогнозированием общей выживаемости и вероятностью рецидива [5, 6].

Целью нашего исследования было изучение в опухолевых клетках тканей яичников относительной копийности онкоассоциированных генетических локусов *c-Мус*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* как потенциально прогностических маркеров.

Материал и методы

Исследование включало 50 женщин в возрасте от 27 до 70 лет с первичным диагнозом рака яичников T1-3cN0-1M0-1, гр. 2 (стадии I–IV), проходивших плановое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2019 гг. (табл. 1). Все пациентки добровольно подписали информированное согласие на обработку персональных данных и передачу сведений, составляющих врачебную тайну, а также на передачу биологического материала. Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, отраженными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Для выделения ДНК из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани (тканевые образцы, фиксированные в 10% забуференном формалине) получали 5–8 слайсов толщиной 3 мкм с помощью микротомы, депарафинизировали о-ксилолом и 95% этиловым спиртом, лизировали в 200 мкл лизирующего буфера (10 мМ

Таблица 1. Характеристика пациенток по стадиям рака яичников

Классификация TNM	Классификация FIGO	Количество, абс. (%)
T1-T1c3-N0-M0	I–IC	4 (8)
T2-T2b-N0-M0	II–IIB	14 (28)
T3-T3c-N1-M0	III–IIIC	27 (54)
T3-T3c-N0-1-M1	IV–IVB	5 (10)

Таблица 2. Последовательности прямого (F) и обратного (R) праймеров для определения относительной копийности генов и размеры получаемых ампликонов

Ген	Праймер	Последовательность	Размеры ампликонов, bp
<i>GAPDH</i>	F	GCTGAACGGGAAGCTCACT	90
	R	GCAGGTTTTTCTAGACGGCAG	
<i>B2M</i>	F	TGCTGTCTCCATGTTTGATGT	86
	R	TCTCTGCTCCCCACCTCTA	
<i>c-Мус</i>	F	GACCAGCTGGAGATGGTGAC	125
	R	AAGCCGCTCCACATACAGTC	
<i>CDK12</i>	F	GGGTAAGAGTGGGCACGATG	89
	R	CTGCTCTCTGGTCTCCCAT	
<i>CDKN1B</i>	F	TGCCTCTAAAAGCGTTGGATGT	150
	R	TCCACGTCAGTTCCTCAGCC	
<i>PRPF19</i>	F	TCTCTAACGAAGTGCCGGAG	114
	R	GGTTGTTGATGGGGTCGGTA	
<i>ERBB2</i>	F	TGGTGGGTGGGGGTGATTAT	72
	R	GGTCTGACCTCCATACAAGTCC	
<i>DDB1</i>	F	CTCCTCTCCACCATCGTCTTCTT	121
	R	TCAGCTCATCCCAAGTCTCT	
<i>GAB2</i>	F	TCCAGGTTCTCCACCCTGT	189
	R	GGTTTGAGGTTGCGGTTGAC	
<i>COL6A3</i>	F	GGATGCAGATGAAGGAGCGTT	144
	R	GCCCTTTCTGGACTCACGG	

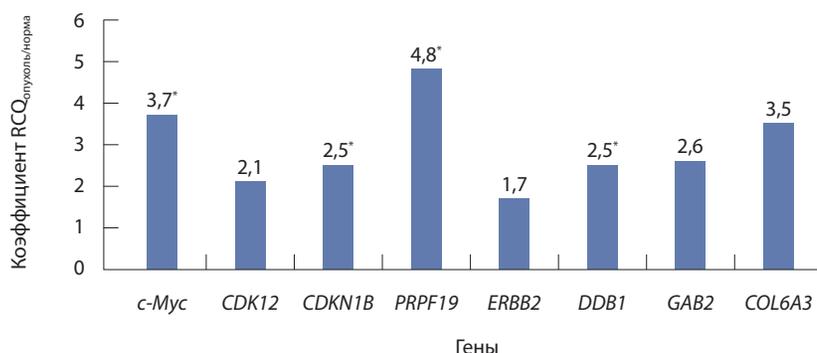
Трис-НСL, рН 7,5; 1 мМ ЭДТА; 2% SDS) с добавлением 20 мкл протеиназы К (10 мг/мл) при 58 °С в течение ночи, затем прогревали при 90 °С в течение 1 часа для устранения ДНК-белковых сшивок, далее экстрагировали тотальную ДНК набором «ДНК-сорб-В» (AmpliSens) согласно инструкции



Таблица 3. Результаты ROC-анализа в отношении определения в опухолевых образцах у больных раком яичников дифференциально разделительных уровней копийности генов, статистически значимых для оценки риска неблагоприятных событий

Ген	Пороговое значение $RCQ_{\text{опухоль/норма}}$ значение p	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность	95% ДИ
<i>c-Мус</i>	$\geq 3,7$; 0,001	77,9 (71,4–85,2)	81,2 (74,5–86,7)	0,125–0,861
<i>DDB1</i>	$\geq 2,5$; 0,002	67,9 (61,3–74,6)	70,4 (62,3–78,5)	0,215–0,793
<i>PRPF19</i>	$\geq 4,8$; 0,0001	81,3 (73,1–86,3)	84,7 (74,6–88,9)	0,105–0,918
<i>CDKN1B</i>	$\geq 2,5$; 0,001	70,5 (66,7–76,4)	72,1 (66,3–79,8)	0,265–0,853

ДИ – доверительный интервал (нижняя – верхняя границы)



Значения коэффициента относительной копийности генов ($RCQ_{\text{опухоль/норма}}$) у больных раком яичников; * статистически значимые различия ($p < 0,05$)

производителя. Опухолевые образцы тканей яичников гистологически верифицировали, содержание опухолевых клеток в исследуемом срезе было не менее 60%.

Оценку относительной копийности 8 генетических локусов – *c-Мус*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* – проводили методом RT-qPCR. Каждые 25 мкл ПЦР-смеси содержали 10 нг геномной ДНК, 0,2 мМ dNTP's, по 600 нМ прямого и обратного праймеров, 2,5 мМ $MgCl_2$, 1х-ПЦР-буфер, 0,05 ед/мкл ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* («Синтол», Россия). В качестве красителя использовали EvaGreen (Biotium, США). Амплификацию каждой из проб осуществляли в трех повторностях с применением термоциклера CFX96 (Bio-Rad, США) по следующей программе: 95 °C в течение 3 мин, 40 циклов при 95 °C в течение 10 с, 60 °C в течение 30 с (чтение оптического сигнала FAM для красителя EvaGreen) и 72 °C в течение 15 с. Анализ первичных данных RT-qPCR проводили с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager (v2.1) [7].

В качестве референсных использовали генетические локусы *GAPDH*, *B2M* [8, 9]. Прямые и обратные праймеры для всех генетических локусов были разработаны с помощью базы NCBI GenBank, их последовательности приведены в табл. 2.

Относительную копийность (англ. relative copy quantitation, RCQ) генетического локуса рассчитывали по формуле $2^{-\Delta Ct}$. Дозу исследованного локуса считали равной диплоидному набору (2n) при отношении $RCQ_{\text{опухоль/норма}} \sim 1$. Если отношение $RCQ_{\text{опухоль/норма}}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$, дозу локуса считали увеличенной ($\geq 3n$) или уменьшенной ($\leq 1n$) соответственно [10].

Статистический анализ результатов, включающий непараметрический критерий Манна – Уитни, ROC-анализ и отношение шансов (ОШ), выполняли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США) и Statistica v.10 (StatSoft Inc., США) [9]. При проведении ROC-анализа указывали 95% доверительный интервал (95% ДИ) с верхней и нижней границами. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В нашем исследовании наблюдали увеличение относительной копийности для всех генетических локусов в опухолевых клетках яичников по сравнению с условно здоровой тканью (рисунок). Статистически значимое изменение копийности ($p < 0,05$) выявлено для генов *c-Мус* ($p = 0,001$), *DDB1* ($p = 0,002$), *PRPF19* ($p = 0,0001$), *CDKN1B* ($p = 0,001$).

Установлены дифференциально разделительные уровни четырех генов – *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B*, которые со статистической значимостью позволили прогнозировать неблагоприятное течение заболевания у пациенток (табл. 3). Наиболее тесная связь с риском неблагоприятных событий была характерна для повышения уровня копийности *PRPF19* (ОШ 7,3; $p = 0,0001$) и *c-Мус* (ОШ 6,8; $p = 0,001$). Соответствующие результаты однофакторного и многофакторного анализа приведены в табл. 4.

Исходя из полученных ОШ для многофакторного анализа, уравнение логистической регрессии приобрело следующий вид:

$$kp = 1,16 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(c-Мус) + 0,47 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(DDB1) + 1,31 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(PRPF19) + 0,59 \times RCQ_{\text{опухоль/норма}}(CDKN1B),$$

где kp – прогностический коэффициент для определения риска рецидива в течение заболевания.

**Таблица 4.** Результаты однофакторного и многофакторного анализа поиска ассоциаций между копийностью генов *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B* и риском рецидива у больных раком яичников

Ген	ОШ при однофакторном анализе (95% ДИ)	ОШ при многофакторном анализе (95% ДИ)
<i>c-Мус</i>	6,8 (3,531–27,637)	3,2 (1,243–4,751)
<i>DDB1</i>	4,2 (2,823–8,974)	1,6 (1,327–2,867)
<i>PRPF19</i>	7,3 (2,546–32,122)	3,7 (1,344–4,789)
<i>CDKN1B</i>	4,7 (1,834–7,556)	1,8 (1,335–2,898)

ДИ – доверительный интервал (нижняя – верхняя границы), ОШ – отношение шансов

Мы рассчитали с помощью ROC-анализа пороговое значение *кр*, которое составило 13,7. В случае если данный показатель у больной превысит 13,7, можно прогнозировать развитие неблагоприятных событий в течение заболевания (рецидив и летальный исход). При значении ниже порогового риск летального исхода и рецидивов невысокий. Чувствительность теста, в основу которого легла предложенная модель, составила 79,3%, специфичность – 82,8%.

Обсуждение

В итоге выявлена aberrантная копийность четырех генов: *c-Мус*, *DDB1*, *PRPF19* и *CDKN1B*. В нашем исследовании статистически значимое увеличение амплификации гена репарации повреждений ДНК *DDB1* было связано с плохим прогнозом, что согласуется с данными анализа CNV в работе L. Li и соавт., где увеличение числа копий коррелировало с усилением экспрессии генов при раке яичников [6]. *DDB1*, кодируемый геном *DDB1*, расположенным в хромосоме 11q12.2, считается важным регулятором эксцизионной репарации нуклеотидов и отвечает за устойчивость к препаратам платины [11]. Эти результаты показывают, что *DDB1* может быть использован в качестве предиктора химиорезистентности.

Помимо генов репарации повреждений ДНК, гены *PRPF19* и *CDKN1B*, кодирующие белки, участвующие в клеточной пролиферации и переходе G1/S, также ассоциировались с плохим прогнозом при раке яичников. В исследовании L. Li и соавт. усиление *PRPF19* не было статистически значимо связано с общей выживаемостью ($p=0,0856$), однако ген *CDKN1B* выступал независимым прогностическим фактором для общей выживаемости [6]. *PRPF19* (pre-mRNA-processing factor 19) представляет собой U-box-содержащую

убиквитинлигазу E3, участвует в восстановлении ДНК [12]. Повышенная экспрессия *PRPF19* обнаружена в тканях рака желудка и/или метастатических лимфатических узлах по сравнению с нормальными тканями [13]. Высокий уровень экспрессии *PRPF19* отмечали в большинстве тканей гепатоцеллюлярной карциномы и клеточных линий, где сверхэкспрессия *PRPF19* положительно коррелировала с сосудистой инвазией и прорывом капсулы опухоли [14]. Указанные выше исследования позволяют предположить, что увеличение транскрипционной активности *PRPF19* становится критическим событием во время прогрессирования злокачественных опухолей.

Белок p27 кодируется геном циклинзависимого ингибитора киназы 1B (*CDKN1B*). Некоторые полиморфизмы *CDKN1B* могут быть связаны со сниженным риском онкозаболеваний, особенно рака яичников [15]. Кроме того, экспрессия *CDKN1B* ассоциирована с выживаемостью [6, 16]. В нашем исследовании мы наблюдали статистически значимое повышение копийности генов *PRPF19* и *CDKN1B*, что сопровождалось плохим прогнозом при раке яичников.

Протоонкоген *c-Мус* – основной регулятор транскрипции helix-loop-helix/leucine zipper (bHLH-Zip). Он контролирует множество биологических процессов, включая рост и дифференцировку клеток, а также инициацию и прогрессирование опухоли [17]. *c-Мус* обсуждается как наиболее часто амплифицируемый онкоген, и дисрегуляция его экспрессии коррелирует с агрессивностью опухоли и плохим клиническим исходом при большинстве злокачественных новообразований. В нашей работе отмечено статистически значимое повышение копийности гена *c-Мус*, ассоциированное с плохим прогнозом заболевания.

Заключение

Рак яичников имеет худший прогноз из всех гинекологических злокачественных новообразований ввиду выявления на поздних стадиях и частого рецидивирования. В настоящем исследовании мы определили прогностическую ценность четырех онкогенных драйверов, а именно *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B* и *c-Мус*, увеличение копийности которых ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом заболевания. Наибольший относительный риск прогрессирования и рецидива рака яичников отмечался при амплификации генов *PRPF19* (ОШ 7,3; $p=0,0001$) и *c-Мус* (ОШ 6,8; $p=0,001$). ©



Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Исследование аберрантного регулирования транскрипционной активности паттерна генов при развитии малигнизации тканей различных нозологий».

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Е.В. Вереникина – концепция и дизайн исследования, анализ клинико-экспериментальных результатов исследования, написание и редактирование текста; Н.А. Петрусенко – проведение

молекулярно-генетического исследования, анализ и интерпретация результатов исследования, написание текста; М.М. Кечерюкова – сбор и обработка образцов, анализ полученных данных, статистическая обработка данных. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Благодарности

Авторы выражают благодарность научному сотруднику лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России Д.Ю. Гвалдину за помощь в проведении статистической обработки данных.

Литература / References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(1):7–34. doi: 10.3322/caac.21551.
2. Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem*. 2018;62(5):643–723. doi: 10.1042/EBC20170053. Erratum in: *Essays Biochem*. 2020;64(4):681.
3. Zeng M, Kwiatkowski NP, Zhang T, Nabet B, Xu M, Liang Y, Quan C, Wang J, Hao M, Palakurthi S, Zhou S, Zeng Q, Kirschmeier PT, Meghani K, Leggett AL, Qi J, Shapiro GI, Liu JF, Matulonis UA, Lin CY, Konstantinopoulos PA, Gray NS. Targeting MYC dependency in ovarian cancer through inhibition of CDK7 and CDK12/13. *Elife*. 2018;7:e39030. doi: 10.7554/eLife.39030.
4. Despierre E, Moisse M, Yesilyurt B, Sehouli J, Braicu I, Mahner S, Castillo-Tong DC, Zeilinger R, Lambrechts S, Leunen K, Amant F, Moerman P, Lambrechts D, Vergote I. Somatic copy number alterations predict response to platinum therapy in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2014;135(3):415–422. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.09.014.
5. Macintyre G, Goranova TE, De Silva D, Ennis D, Piskorz AM, Eldridge M, Sie D, Lewsley LA, Hanif A, Wilson C, Dowson S, Glasspool RM, Lockley M, Brockbank E, Montes A, Walther A, Sundar S, Edmondson R, Hall GD, Clamp A, Gourley C, Hall M, Fotopoulou C, Gabra H, Paul J, Supernat A, Millan D, Hoyle A, Bryson G, Nurse C, Mincarelli L, Sanchez LN, Ylstra B, Jimenez-Linan M, Moore L, Hofmann O, Markowitz F, McNeish IA, Brenton JD. Copy number signatures and mutational processes in ovarian carcinoma. *Nat Genet*. 2018;50(9):1262–1270. doi: 10.1038/s41588-018-0179-8.
6. Li L, Bai H, Yang J, Cao D, Shen K. Genome-wide DNA copy number analysis in clonally expanded human ovarian cancer cells with distinct invasive/migratory capacities. *Oncotarget*. 2017;8(9):15136–15148. doi: 10.18632/oncotarget.14767.
7. Петрусенко НА, Никитина ВП, Спиридонова ДА, Кечерюкова ММ. Изменение копийности генов в злокачественных опухолях шейки матки с эндофитной и экзофитной формами роста. *Современные проблемы науки и образования*. 2019;(3):173. [Petrusenko NA, Nikitina VP, Spiridonova DA, Kecheryukova MM. [The change in the copy number of genes in malignant cervical tumors with endophytic and exophytic forms of growth]. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;(3):173. Russian.]
8. Колесников ЕН, Максимов АЮ, Кит ОИ, Кутилин ДС. Зависимость общей и безрецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода. *Вопросы онкологии*. 2019;65(5):691–700. [Kolesnikov EN, Maksimov AYU, Kit OI, Kutilin DS. [Dependence of overall and relapse-free patients survival from molecular genetic subtype of esophageal squamous cell cancer]. *Problems in Oncology*. 2019;65(5):691–700. Russian.]
9. Кит ОИ, Водолажский ДИ, Кутилин ДС, Гудуева ЕН. Изменение копийности генетических локусов при раке желудка. *Молекулярная биология*. 2015;49(4):658. doi: 10.7868/S0026898415040096. [Kit OI, Vodolazhskiy DI, Kutilin DS, Gudueva EN. [Changes in genetic loci copy number in stomach cancer]. *Molecular Biology*. 2015;49(4):658. Russian. doi: 10.7868/S0026898415040096.]
10. Водолажский ДИ, Тимошкина НН, Маслов АА, Колесников ЕН, Татимов МЗ. Копийность 17-ти генетических локусов у пациентов с диагнозом аденокарцинома желудка. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;(3):12. [Vodolazhskiy DI, Timoshkina NN, Maslov AA, Kolesnikov EN, Tatimov MZ. [Copynumber variation of 17 gene in the gastric adenocarcinoma]. *Modern Problems of Science and Education*. 2017;(3):12. Russian.]
11. Galluzzi L, Vitale I, Michels J, Brenner C, Szabadkai G, Harel-Bellan A, Castedo M, Kroemer G. Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. *Cell Death Dis*. 2014;5(5):e1257. doi: 10.1038/cddis.2013.428.
12. Maréchal A, Li JM, Ji XY, Wu CS, Yazinski SA, Nguyen HD, Liu S, Jiménez AE, Jin J, Zou L. PRP19 transforms into a sensor of RPA-ssDNA after DNA damage and drives ATR activation via a ubiquitin-mediated circuitry. *Mol Cell*. 2014;53(2):235–246. doi: 10.1016/j.molcel.2013.11.002.
13. Zhou J, Wang W, Xie Y, Zhao Y, Chen X, Xu W, Wang Y, Guan Z. Proteomics-Based Identification and Analysis of Proteins Associated with *Helicobacter pylori* in Gastric Cancer. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146521. doi: 10.1371/journal.pone.0146521.
14. Yin J, Wang L, Zhu JM, Yu Q, Xue RY, Fang Y, Zhang YA, Chen YJ, Liu TT, Dong L, Shen XZ. Prp19 facilitates invasion of hepatocellular carcinoma via p38 mitogen-activated protein kinase/twist1 pathway. *Oncotarget*. 2016;7(16):21939–21951. doi: 10.18632/oncotarget.7877.
15. Lu Y, Gao K, Zhang M, Zhou A, Zhou X, Guan Z, Shi X, Ge S. Genetic Association Between CDKN1B rs2066827 Polymorphism and Susceptibility to Cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(46):e1217. doi: 10.1097/MD.0000000000001217.
16. Gyorffy B, Lánckzy A, Szállási Z. Implementing an online tool for genome-wide validation of survival-associated biomarkers in ovarian-cancer using microarray data from 1287 patients. *Endocr Relat Cancer*. 2012;19(2):197–208. doi: 10.1530/ERC-11-0329.
17. Li H, Liu J, Cao W, Xiao X, Liang L, Liu-Smith F, Wang W, Liu H, Zhou P, Ouyang R, Yuan Z, Liu J, Ye M, Zhang B. C-myc/miR-150/EPG5 axis mediated dysfunction of autophagy promotes development of non-small cell lung cancer. *Theranostics*. 2019;9(18):5134–5148. doi: 10.7150/thno.34887.



The prognostic role of aberrant copy number of *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc* genes in ovarian cancer patients

E.V. Verenikina¹ • N.A. Petrusenko¹ • M.M. Kecheryukova¹

Rationale: Ovarian cancer is the leading death cause in gynecological malignancies. More than 70% of the patients are diagnosed with progressing disease extending to outside the true pelvis. The 5-year survival of ovarian cancer patients remains low (about 47%) due to frequent relapses and drug resistance. Identification of markers for early diagnosis and relapse prediction could improve the outcomes of the disease.

Aim: To assess relative copy number of cancer-associated genetic loci *c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3* in the tumor cells of ovarian cancer, in order to identify potential prognostic oncomarkers in ovarian cancer patients.

Materials and methods: The study included 50 women aged 27 to 70 years with ovarian cancer T1-3cN0-1M0-1, Gr. 2 (stages I–IV), who received their elective treatment in the National Medical Research Centre for Oncology in 2015 to 2019. The study was based on samples of genomic DNA from paraffinized blocks of tumor and “healthy” tissues. Relative copy numbers of 8 genetic loci (*c-Myc*, *CDK12*, *CDKN1B*, *PRPF19*, *ERBB2*, *DDB1*, *GAB2*, *COL6A3*) was assessed by RT-qPCR technique. Relative copy quantitation of a genetic locus was calculated as $2^{-\Delta C_t}$. The dose of the locus studied was considered equal to diploid set (2n) if $RCQ_{\text{tumor/healthy}}$ was about 1. If $RCQ_{\text{tumor/healthy}}$ was > 1.5 or < 0.5 , then the locus dose was considered increased ($\geq 3n$) or decreased ($\leq 1n$), respectively.

Results: For all genetic loci, an increase of relative copy quantitation in the ovarian tumor cells was observed compared to that in “healthy” tissues. There was a significant ($p < 0.05$) aberrant copy quantitation of 4 genes: *c-Myc* ($p = 0.001$), *DDB1* ($p = 0.002$), *PRPF19* ($p = 0.0001$), and *CDKN1B* ($p = 0.001$). We identified differential thresholds for these genes that made it possible to predict an unfavorable disease course in the patients ($p < 0.05$). The strongest association with the risk of adverse outcomes was found for increased copy number of *PRPF19* (odds ratio (OR) 7.3; $p = 0.0001$) and *c-Myc* (OR 6.8; $p = 0.001$).

Conclusion: In this study, we determined the prognostic value of 4 oncogenic drivers, namely, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc*, whose increased copy number was associated with an adverse disease prognosis in ovarian cancer patients.

Key words: ovarian cancer, copy number variation, *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, *c-Myc*

For citation: Verenikina EV, Petrusenko NA, Kecheryukova MM. The prognostic role of aberrant copy number of *DDB1*, *PRPF19*, *CDKN1B*, and *c-Myc* genes in ovarian cancer patients. Almanac of Clinical Medicine. 2021;49(3):191–196. doi: 10.18786/2072-0505-2021-49-020.

Received 22 October 2020; revised 12 April 2021; accepted 14 April 2021; published online 23 April 2021

Ekaterina V. Verenikina – MD, PhD, Head of Department of Oncogynecology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>.
E-mail: ekat.veren@yandex.ru

Natalia A. Petrusenko – Junior Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology¹
✉ 63 14-ya liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation. Tel.: +7 (863) 200 10 00, ext. 472.
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru

Madina M. Kecheryukova – Oncologist, Department of Oncogynecology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6131-8560>.
E-mail: adele09161@mail.ru

Funding

The study was performed as a part of the State Project of the Ministry of Health of the Russian Federation “Study on aberrant regulation of the gene pattern transcriptional activity during tissue malignization of tissues from various disorders”.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Authors' contributions

E.V. Verenikina, the study concept and design, analysis of the clinical and experimental study results, text writing and editing; N.A. Petrusenko, molecular genetic testing, analysis and interpretation of the study results, text writing; M.M. Kecheryukova, sample collection and management, data analysis, statistical analysis. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

Acknowledgements

The authors would like to acknowledge D.Yu. Gvaldin, Research Fellow, Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology, for his assistance in the statistical analysis.

¹National Medical Research Centre for Oncology; 63 14-ya liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation