



ГЕНЫ *CCND1* И *PTEN* КАК МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ПРИ РАКЕ ВУЛЬВЫ

А. В. Бусарова¹, Н. А. Петрусенко^{2✉}, П. А. Крузе², Н. В. Порханова¹

¹ Клинический онкологический диспансер №1 Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация

² Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ petrusenko-natulya@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Изучение относительной копийности 12 генов: *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*, *CDKN2A*, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C* для поиска потенциальных прогностических онкомаркеров при раке вульвы (РВ).

Пациенты и методы. Исследование включало 50 пациентов в возрасте 29–80 лет с диагнозом плоскоклеточный РВ без метастазов – 1-я группа пациентов ($n = 25$) и с метастазами в лимфоузлы – 2-я группа пациентов ($n = 25$). Материалом для исследования служила тотальная ДНК из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани вульвы. Методом RT-qPCR оценивали относительную копийность генов (RCQ): *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*, *CDKN2A*, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C* и референсных генов: *GAPDH* и *B2M*. Первичные данные RT-qPCR анализировали с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager (ver. 2.1). RCQ генетического локуса рассчитывали по формуле $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Анализ достоверности различий включал определение ОШ (ДИ 95 %), Хи-квадрат, U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Амплификацию наблюдали для 9 генов: *MYC* (48 % случаев), *MCL1* (39 %), *NFKBIA* (46 %), *CCND1* (52 %), *PIK3CA* (48 %), *TP53* (62 %), *MDM2* (40 %), *BIRC2* (54 %), *KMT2C* (42 %); потери зафиксированы для 3 генов *PTEN* (44 % случаев), *MTAP* (32 %), *CDKN2A* (36 %). Во 2-й группе пациентов обнаружено статистически значимое увеличение RCQ гена *CCND1* ($p < 0,05$) в 1,7 раз и снижение RCQ гена *PTEN* ($p < 0,05$) в 1,9 раз.

Заключение. В исследовании события амплификации *CCND1* и/или потери *PTEN* были ассоциированы с метастазированием в лимфоузлы у больных РВ. Таким образом, уровни копийности этих генов могут служить прогностическими маркерами заболевания.

Ключевые слова:

рак вульвы, плоскоклеточный рак вульвы, CNV, онкомаркеры, *CCND1*, *PTEN*

Для цитирования: Бусарова А. В., Петрусенко Н. А., Крузе П. А., Порханова Н. В. Гены *CCND1* и *PTEN* как маркеры прогрессирования при раке вульвы. Research and Practical Medicine Journal (Исследования и практика в медицине). 2023; 10(4): 22-30. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-2> EDN: KNONXZ

Для корреспонденции: Петрусенко Наталья Александровна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Информированное согласие на обработку персональных данных и передачу сведений, составляющих врачебную тайну, а также на передачу биологического материала получено от всех участников исследования.

Финансирование: финансирование данной работы проводилось в рамках диссертационного исследования Бусаровой Ангелины Владимировны «Молекулярно-генетические аспекты течения рака вульвы».

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарности: авторы выражают благодарность заведующей лабораторией молекулярной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ Тимошкиной Наталье Николаевне за рекомендации по оформлению статьи.

Статья поступила в редакцию 25.10.2023; одобрена после рецензирования 24.11.2023; принята к публикации 01.12.2023.

© Бусарова А. В., Петрусенко Н. А., Крузе П. А., Порханова Н. В., 2023

CCND1 AND PTEN GENES AS MARKERS OF PROGRESSION IN VULVAR CANCER

A. V. Busarova¹, N. A. Petrusenko^{2✉}, P. A. Kruze², N. V. Porhanova¹

¹ Clinical Oncology Dispensary No.1 of the Ministry of Health of Krasnodar region, Krasnodar, Russian Federation

² National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ petrusenko-natulya@mail.ru

Abstract

Purpose of the study. Studying the relative copy number of 12 genes: *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*, *CDKN2A*, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C*, to search for potential prognostic cancer markers in vulvar cancer (VR).

Patients and methods. The study included 50 patients aged 29–80 years with the diagnosis of squamous cell carcinoma of the vulva without metastases – group 1 ($n = 25$) and with metastases to the lymph nodes – group 2 ($n = 25$). Total DNA from paraffin blocks of tumor and conditionally healthy vulvar tissue served as the material for the study. The relative copy number of genes (RCQ) was assessed using the RT-qPCR method: *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*, *CDKN2A*, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C* and reference genes: *GAPDH* and *B2M*. Raw RT-qPCR data were analyzed using Bio-Rad CFX Manager software (ver. 2.1). RCQ of the genetic locus was calculated using the formula $2^{-\Delta Ct}$. Analysis of the significance of differences included determination of the OR (CI 95 %), Chi-square, Mann-Whitney U-test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. Amplification was observed for 9 genes: *MYC* (48 % of cases), *MCL1* (39 %), *NFKBIA* (46 %), *CCND1* (52 %), *PIK3CA* (48 %), *TP53* (62 %), *MDM2* (40 %), *BIRC2* (54 %), *KMT2C* (42 %); losses were recorded for 3 genes *PTEN* (44 % of cases), *MTAP* (32 %), *CDKN2A* (36 %). In the 2nd group of patients, a statistically significant 1.7-fold increase in RCQ of the *CCND1* gene ($p < 0.05$) and a 1.9-fold decrease in RCQ of the *PTEN* gene ($p < 0.05$) were found.

Conclusion. In the study, *CCND1* amplification events and/or *PTEN* loss were associated with lymph node metastasis in RV patients. Thus, the copy numbers of these genes may serve as prognostic markers of the disease.

Keywords:

vulvar cancer, squamous cell carcinoma of the vulva, CNV, cancer markers, *CCND1*, *PTEN*

For citation: Busarova A. V., Petrusenko N. A., Kruze P. A., Porhanova N. V. *CCND1* and *PTEN* genes as markers of progression in vulvar cancer. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2023; 10(4): 22-30. (In Russ.). <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-2> EDN: KNONXZ

For correspondence: Natalia A. Petrusenko – Junior Research Associate at the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
Address: 63, 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation
E-mail: petrusenko-natulya@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Compliance with ethical standards: ethical principles of the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, ed. 2013) were adhered to. Informed consent for the processing of personal data and the transfer of information constituting medical confidentiality and for the transfer of biological material was obtained from all study participants.

Funding: this work was funded as part of the dissertation research of Angelina V. Busarova «Molecular and genetic aspects of the course of vulvar cancer».

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Acknowledgement: the authors wish to thank Natalia N. Timoshkina, Head of the Laboratory of Molecular Oncology at National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia for her valuable recommendations on the article's design.

The article was submitted 25.10.2023; approved after reviewing 24.11.2023; accepted for publication 01.12.2023.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак вульвы (РВ) – редкое злокачественное новообразование, составляющее 4 % гинекологических злокачественных новообразований и 0,3 % всех вновь диагностированных новообразований [1]. Плоскоклеточный РВ, наиболее распространенный тип (90 %), традиционно считался заболеванием женщин в постменопаузе, хотя в последние годы средний возраст заболеваемости снизился из-за увеличения числа случаев заражения вирусом папилломы человека (ВПЧ) во всем мире [2]. Плоскоклеточный РВ можно разделить на два клинико-патологических подтипа в зависимости от этиологии. Первый подтип связан с персистирующей инфекцией, вызванной ВПЧ, и обычно диагностируется у молодых женщин и составляет примерно 30 % всех РВ [3–5]. Второй подтип связан со склерозирующим лишаем и в большинстве случаев диагностируется у женщин в постменопаузе [3, 6]. РВ, не связанный с ВПЧ, имеет менее благоприятный прогноз [7, 8]. Однако клиническое ведение и прогнозирование у больных РВ, как правило, основывается не на их отличительной этиопатогенетической основе, а скорее на клинико-патологических параметрах, например, таких, как стадия опухоли и состояние лимфатических узлов, которые считаются наиболее важными независимыми факторами, определяющими исход лечения [9, 10]. Соответственно, существует потребность в новых подходах к пониманию и лечению этой опухоли, и необходима идентификация новых молекулярных маркеров для прогностических целей.

Вариация числа копий (CNV) – это тип структурной изменчивости, при которой наблюдается увеличение или уменьшение числа копий определенного гена с последующей высокой или низкой экспрессией соответствующего белка или некодирующей РНК [11]. CNV может влиять на сигнальные пути, которые контролируют такие процессы как, клеточная пролиферация, апоптоз, и окислительное фосфорилирование. Генетический маркер CNV может быть использован в качестве биомаркеров-кандидатов, например, для диагностики и стратификации риска рака легкого [12].

Известно, что при плоскоклеточном РВ и его предшественниках определяются мутации в генах-супрессорах опухолей *TP53*, *PTEN*, *CDKN2A* и др., а также наблюдаются аллельные дисбалансы или изменения количества копий на хромосомах 3, 8, 11, 13 и 17 [13]. Поэтому, для нашего исследования мы отобрали группу онкоассоциированных генов, лежащих в областях этих хромосом и чаще всего мутировавших при РВ.

Цель исследования – изучение относительной копийности 12 генов: *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*,

CDKN2A, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C* для поиска потенциальных прогностических онкомаркеров при РВ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование включало 50 пациентов в возрасте 29–80 лет с диагнозом РВ без метастазов – 1-я группа пациентов ($n = 25$) и с метастазами в лимфоузлы – 2-я группа пациентов ($n = 25$), проходивших плановое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России в 2015–2020 г. Гистологически пациентам был подтвержден диагноз плоскоклеточный РВ ($n = 50$).

Материалом для исследования служила тотальная ДНК, выделенная из парафиновых блоков опухолевой и условно здоровой ткани вульвы (тканевые образцы, фиксированные в 10 %-м забуференном формалине) с помощью набора «ДНК-сорб-В» (AmpliSens) [14].

Методом RT-qPCR оценивали относительную копийность генов: *MYC*, *PTEN*, *CCND1*, *PIK3CA*, *TP53*, *CDKN2A*, *MDM2*, *MCL1*, *NFKBIA*, *MTAP*, *BIRC2*, *KMT2C*. Каждые 25 мкл ПЦР-смеси содержали 10 нг геномной ДНК, 0,2 mM dNTP's, по 600 нМ прямого и обратного праймеров, 2,5 mM MgCl₂, ПЦР-буфер, 0,05 u/μl ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* («Синтол», Россия). В качестве красителя использовали EvaGreen (Biotium, США). Амплификацию каждой из проб осуществляли в трех повторностях с использованием термоциклера CFX96 (Bio-Rad, США) по следующей программе: 95 °C 3 мин., и 40 циклов при 95 °C 10 с, 60 °C 30 с (чтение оптического сигнала FAM для красителя EvaGreen) и 72 °C 15 с. Первичные данные RT-qPCR анализировали с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager (ver. 2.1) [15].

В качестве референсного использовали генетические локусы *GAPDH*, *B2M*. Прямые и обратные праймеры были разработаны с использованием базы NCBI GenBank (табл. 1).

Относительную копийность генетического локуса (RCQ) рассчитывали по формуле $2^{-\Delta Ct}$. Дозу исследованного локуса считали равной диплоидному набору (2n), если отношение $RCQ_{\text{опухоль/норма}} \sim 1$. Если отношение $RCQ_{\text{опухоль/норма}}$ было $> 1,5$ или $< 0,5$, дозу локуса считали увеличенной ($\geq 3n$) или уменьшенной ($\leq 1n$), соответственно [16]. Сравнительный анализ достоверности различий проводили с использованием отношения шансов (ОШ) (доверительный интервал (ДИ) 95 %), Хи-квадрат, U-критерия Манна-Уитни, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение относительной копийности генов у больных РВ в двух группах показало изменение копийно-

сти в опухолевых клетках относительно нормальных для всех генов. Так, наблюдали амплификацию генов: *MYC* (48 % случаев), *MCL1* (39 %), *NFKBIA* (46 %), *CCND1* (52 %), *PIK3CA* (48 %), *TP53* (62 %), *MDM2* (40 %), *BIRC2* (54 %), *KMT2C* (42 %) и потери генов *PTEN* (44 % случаев), *MTAP* (32 %), *CDKN2A* (36 %). Анализ межгрупповых различий показал статистически значимые изменения в генах *CCND1* и *PTEN* (табл. 2).

Результаты CNV при раке вульвы в двух исследуемых группах представлены на рисунке.

На фоне значимого увеличения относительной копийности гена *CCND1* и снижения этого показателя для гена *PTEN* при плоскоклеточном РВ выявлены достоверные различия между группами 1 и 2 по уровню RCQ этих локусов, соответственно в 1,7 раз ($p < 0,05$) и в 1,9 раз. Статистически значимого межгруппового изменения копийности других генов не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Вариация числа копий является основной категорией генетической изменчивости человека. Большинство CNV представляют собой нормальные изменения и являются функционально доброкачественными, в то время как другие имеют ассоциации с заболеваниями, например, со злокачественными неоплазиями [17]. Считается, что CNV возникают как результат различных мутационных механизмов, таких как ошиб-

ки в репликации, рекомбинации и репарации двухцепочечных разрывов ДНК. CNV охватывают 4,8–9,5 % генома и могут быть вовлечены как в эволюционную адаптацию, так и в прогрессирование заболевания [18]. Также, показана роль CNV при малигнизации различных тканей, ответе на терапию, в том числе лучевую, прогнозировании течения заболевания и выживаемости больных раком [19]. Таким образом, выявление CNV важно, как для биомедицинских исследований, так и для клинической диагностики.

В настоящем исследовании было отмечено статистически значимое увеличение относительной копийности гена *CCND1* ($p < 0,05$) в 1,7 раз в группе больных с плоскоклеточным РВ с метастазами в лимфоузлы, по сравнению с группой больных раком вульвы без метастазов.

Ген *CCND1* расположен на длинном плече хромосомы 11 (11q13.3) и кодирует белок циклин D1 [20]. Циклин D1 участвует в клеточном цикле, индуцируя переход G1-S посредством активации циклинзависимых киназ, Cdk4 и Cdk6. Было обнаружено, что циклин D1 усиливается или подавляется при различных видах рака. Так при раке молочной железы (РМЖ), амплификация *CCND1* была связана с повышенным риском рецидива и снижением химиочувствительности [21, 22]. Также обнаружена связь между амплификацией *CCND1* и уровнем пролиферации, гистопатологической стадией и люминальным подтипом В при РМЖ [20].

Таблица 1. Последовательности праймеров для определения копийности генов
Table 1. Primer sequences for gene copy number determination

№	Ген / Gene	Последовательность прямого праймера / Direct primer sequence	Последовательность обратного праймера / Reverse primer sequence
1	<i>MYC</i>	GACCAGCTGGAGATGGTGAC	AAGCCGCTCCACATACAGTC
2	<i>PTEN</i>	GTCCAGAGCCATTTCCATCCT	TGTCATGTCTGGGAGCCTGT
3	<i>CCND1</i>	GGTGAACAAGCTCAAGTGGAAC	CCGGCCAGGGTCACCTAA
4	<i>PIK3CA</i>	GCTTGGGAGGATGCCCAAT	GCTGTGGAAATGCGTCTGGA
5	<i>TP53</i>	GGTCGGTGGGTTGGTAGTTT	GTGTGGGATGGGGTGAGATT
6	<i>CDKN2A</i>	GCCACATTGCTAAGTGCTC	CAAATCCTCTGGAGGGACCG
7	<i>MDM2</i>	TCTTTGGGACCCATCTACCT	AGAATGCTTTAGTCCACCTAACCTT
8	<i>MCL1</i>	TGGTCTAAGTGCTGACTGGC	GTCCTAACCTTCTCTGGCAC
9	<i>NFKBIA</i>	CTACACCTTGCTGTGAGCA	AGTTGGTAGCCTTCAGGATGGA
10	<i>MTAP</i>	GCTGCCAGGAGAAAAGAAGA	ACTCTTTGATAGGCAAGGGCAT
11	<i>BIRC2</i>	TCTGCCTTGAAATGGGCTT	AGCATTAAGAAGTGCTGACACA
12	<i>KMT2C</i>	TGTCTCTGCACAGTCATTCC	GAGGGTGGCTGAGAAGTCTG
13	<i>GAPDH</i>	GCTGAACGGGAAGCTCACT	GCAGGTTTTTCTAGACGGCAG
14	<i>B2M</i>	TGAGTGCTGTCTCCATGTTTGA	ATTCTCTGCTCCACCTCT

Таблица 2. Результаты статистического анализа поиска ассоциаций между относительной копийностью генов при раке вульвы в двух группах
Table 2. Results of statistical analysis of the search for associations between relative gene copy number in RV in two groups

	RCQ > 1,5			RCQ < 0,5		
	ОШ / OR	ДИ 95 % (нижняя – верхняя граница) / CI 95 % (lower - upper limit)	Хи-квадрат, <i>p</i> / Chi-square, <i>p</i>	ОШ / OR	ДИ 95 % (нижняя – верхняя граница) / CI 95 % (lower - upper limit)	Хи-квадрат, <i>p</i> / Chi-square, <i>p</i>
<i>MYC</i>	0,725	0,238–2,208	0,321, <i>P</i> = 0,572	1,568	0,239–10,301	0,222, <i>P</i> = 0,638
<i>PTEN</i>	0,638	0,097–4,189	0,222, <i>P</i> = 0,638	0,178	0,052–0,607	8,117 , <i>P</i> = 0,005
<i>CCND1</i>	0,123	0,035–0,436	11,538 , <i>P</i> < 0,001	1,000	0,130–7,717	0,000, <i>P</i> = 1,000
<i>PIK3CA</i>	0,375	0,120–1,176	2,885, <i>P</i> = 0,090	0,638	0,097–4,189	0,222, <i>P</i> = 0,638
<i>TP53</i>	0,599	0,189–1,898	0,764, <i>P</i> = 0,383	1,568	0,239–10,301	0,222, <i>P</i> = 0,638
<i>CDKN2A</i>	0,716	0,143–3,589	0,166, <i>P</i> = 0,684	0,706	0,221–2,253	0,139, <i>P</i> = 0,710
<i>MDM2</i>	0,716	0,230–2,230	0,333, <i>P</i> = 0,564	0,219	0,023–2,114	2,000, <i>P</i> = 0,158
<i>MCL1</i>	0,342	0,102–1,144	3,125, <i>P</i> = 0,078	1,568	0,239–10,301	0,222, <i>P</i> = 0,638
<i>NFKBIA</i>	0,844	0,269–2,647	0,085, <i>P</i> = 0,771	2,087	0,177–24,616	0,355, <i>P</i> = 0,552
<i>MTAP</i>	1,568	0,239–10,301	0,222, <i>P</i> = 0,638	1,446	0,438–4,781	0,368, <i>P</i> = 0,545
<i>BIRC2</i>	0,615	0,201–1,887	0,725, <i>P</i> = 0,395	1,397	0,279–7,002	0,166, <i>P</i> = 0,684
<i>KMT2C</i>	0,609	0,196–1,891	0,739, <i>P</i> = 0,391	2,316	0,509–10,544	1,220, <i>P</i> = 0,270

Примечание: жирным выделены статистически значимые различия.
 Note: statistically significant differences are highlighted in bold.

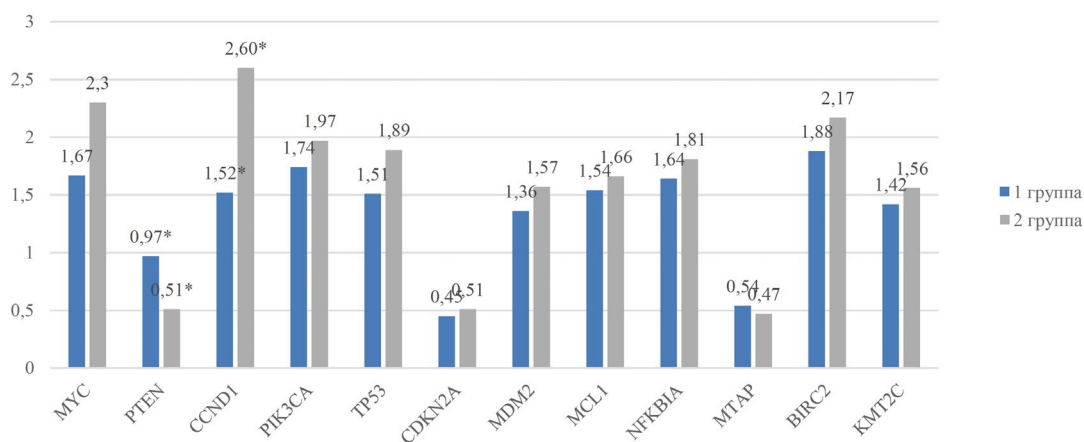


Рисунок. Показатели относительной копийности генов (медиана RCQ) при раке вульвы в двух группах больных.
 * – статистически значимые различия при использовании критерия Манна-Уитни (*p* < 0,05).

Figure. Relative gene copy numbers (median RCQ) for vulvar cancer in two groups of patients.
 * – statistically significant differences using the Mann-Whitney criterion are marked (*p* < 0.05).

Choschzick M. и соавт. в своей работе обнаружили амплификацию гена *CCND1* у 32 (22,4 %) из 143 больных РВ, тогда как экспрессия *CCND1* была обнаружена в 83,2 % опухолей. Повышенные уровни экспрессии *CCND1* коррелировали с амплификацией гена и были связаны с более старшим возрастом, метастазированием в лимфатические узлы и отрицательным статусом ВПЧ [23].

В нашем исследовании выявлено статистически значимое снижение относительной копийности гена *PTEN* ($p < 0,05$) в 1,9 раз в группе больных с плоскоклеточным РВ с метастазами в лимфоузлы. Ген *PTEN* был идентифицирован на 10 хромосоме (10q23.31) и давно известен как супрессор опухоли, который часто мутирует при различных видах рака, уступая в этом только p53. Белок, кодируемый этим геном, представляет собой фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат-3-фосфатазу [24]. *PTEN* регулирует широкий спектр клеточных функций, таких как индуцирование апоптоза и остановка клеточного цикла в фазе G1, ингибирование выживания, подвижности, адгезии и миграции клеток, а также поддержание целостности генома. *PTEN* индуцирует апоптоз посредством блокирования пути PI3K/AKT. Дисфункция *PTEN* в результате генетической мутации или эпигенетического сайленсинга, способствует развитию и прогрессированию рака [25], это также связано

с высокой степенью и потенциальной метастатической лекарственной устойчивостью и плохим прогнозом для пациентов [26, 27]. Инактивация *PTEN* вызвана различными механизмами, включая потери, точечные мутации, эпигенетическую регуляцию и посттрансляционные модификации. Большинство изменений приводят к потере или уменьшению экспрессии белка *PTEN*. При раке путь *PI3K/PTEN / Akt* был идентифицирован как одна из критических молекулярных осей, определяющих онкогенез [28].

В итоге отмеченные нами изменения в случаях РВ, метастазирующего в лимфоузлы, затрагивают ось *PSMC2/CCND1*, которая способствует развитию рака путем регулирования роста клеток, апоптоза и миграции, и путь *PTEN/PI3K/AKT/mTOR*, регулирующий клеточную пролиферацию, дифференцировку, состояние покоя, апоптоз, продолжительность жизни и онкогенез [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании значимое увеличение RCQ онкогена *CCND1* и, напротив, уменьшение RCQ онкосупрессора *PTEN*, были связаны с метастазированием в лимфатические узлы у больных плоскоклеточным РВ. Таким образом, уровни копийности генов *CCND1* и *PTEN* могут служить прогностическими маркерами для больных РВ.

Список источников

1. Cancer Stat Facts: Vulvar Cancer. Доступно по: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/vulva.html>. Дата обращения: 21.03.2022.
2. Kang YJ, Smith M, Barlow E, Coffey K, Hacker N, Canfell K. Vulvar cancer in high-income countries: Increasing burden of disease. *Int J Cancer*. 2017 Dec 1;141(11):2174–2186. <https://doi.org/10.1002/ijc.30900>
3. Singh N, Gilks CB. Vulval squamous cell carcinoma and its precursors. *Histopathology*. 2020 Jan;76(1):128–138. <https://doi.org/10.1111/his.13989>
4. Eva LJ, Sadler L, Fong KL, Sahota S, Jones RW, Bigby SM. Trends in HPV-dependent and HPV-independent vulvar cancers: The changing face of vulvar squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2020 May;157(2):450–455. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.01.029>
5. Zhang J, Zhang Y, Zhang Z. Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2018 Sep 26;13(9):e0204162. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204162>
6. Zięba S, Pouwer AW, Kowalik A, Zalewski K, Rusetska N, Bakula-Zalewska E, et al. Somatic Mutation Profiling in Premalignant Lesions of Vulvar Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 10;21(14):4880. <https://doi.org/10.3390/ijms21144880>
7. Hinten F, Molijn A, Eckhardt L, Massuger LFAG, Quint W, Bult P, et al. Vulvar cancer: Two pathways with different localization and prognosis. *Gynecol Oncol*. 2018 May;149(2):310–317. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.03.003>
8. Sand FL, Nielsen DMB, Frederiksen MH, Rasmussen CL, Kjaer SK. Response: Letter regarding “The prognostic value of p16 and p53 expression for survival after vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis”. *Gynecol Oncol Rep*. 2019 Sep 3;30:100494. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2019.100494>
9. Woelber L, Eulenburg C, Choschzick M, Kruehl A, Petersen C, Giesecke F, et al. Prognostic role of lymph node metastases in vulvar cancer and implications for adjuvant treatment. *Int J Gynecol Cancer*. 2012 Mar;22(3):503–508. <https://doi.org/10.1097/igc.0b013e31823eed4c>
10. Polteraue S, Schwameis R, Grimm C, Hillemanns P, Jückstock J, Hilpert F, et al. Lymph node ratio in inguinal lymphadenectomy for squamous cell vulvar cancer: Results from the AGO-CaRE-1 study. *Gynecol Oncol*. 2019 May;153(2):286–291. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.02.007>

11. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet.* 2015;16(3):172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>
12. Xu W, Lu J, Zhao Q, Wu J, Sun J, Han B, et al. Genome-Wide Plasma Cell-Free DNA Methylation Profiling Identifies Potential Biomarkers for Lung Cancer. *Dis Markers.* 2019 Feb 5;2019:4108474. <https://doi.org/10.1155/2019/4108474>
13. Соболев В. В., Невозинская З. А., Соболева А. Г., Корсунская И. М. Рак вульвы: генетические аспекты патогенеза. *Гинекология.* 2018;20(4):9–11. https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.4.9-11
14. Петрусенко Н. А., Вереникина Е. В., Якубова Д. Ю., Тимошкина Н. Н. Мутации в генах BRCA1/2 у пациенток юга России с злокачественными новообразованиями яичников. *Якутский медицинский журнал.* 2020;4(72):87–89. <https://doi.org/10.25789/ymj.2020.72.21>
15. Петрусенко Н. А., Никитина В. П., Спиридонова Д. А., Кечерюкова М. М. Изменение копийности генов в злокачественных опухолях шейки матки с эндофитной и экзофитной формами роста. *Современные проблемы науки и образования.* 2019;3. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28981>
16. Водолажский Д. И., Тимошкина Н. Н., Маслов А. А., Колесников Е. Н., Татимов М. З. Копийность 17 генетических локусов у пациентов с диагнозом аденокарцинома желудка. *Современные проблемы науки и образования.* 2017;3. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26405>
17. Macintyre G, Goranova TE, De Silva D, Ennis D, Piskorz AM, Eldridge M, et al. Copy number signatures and mutational processes in ovarian carcinoma. *Nat Genet.* 2018;50(9):1262–1270. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0179-8>
18. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet.* 2015;16:172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>
19. Маслов А. А., Чалхадян Л. Х., Малинин С. А., Каминский Г. В., Мирзоян Э. А. Показатель копийности генов у больных колоректальным раком как маркер клинического исхода заболевания и ответа на терапию. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2022;3(2):52–64. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-2-6>
20. Genecards. The Human Gene Database. 2016. Доступно по: www.genecards.org
21. Ortiz AB, Garcia D, Vicente Y, Palka M, Bellas C, Martin P. Prognostic significance of cyclin D1 protein expression and gene amplification in invasive breast carcinoma. *PLoS ONE.* 2017;12(11):e0188068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188068>
22. Yang L, Ye F, Bao L, Zhou X, Wang Z, Hu P, et al. Somatic alterations of TP53, ERBB2, PIK3CA and CCND1 are associated with chemosensitivity for breast cancers. *Cancer Sci.* 2019;110(4):1389–1400. <https://doi.org/10.1111/cas.13976>
23. Choschick M, Hess S, Tennstedt P, Holst F, Bohlken H, Gieseke F, et al. Role of cyclin D1 amplification and expression in vulvar carcinomas. *Hum Pathol.* 2012 Sep;43(9):1386–1393. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.11.014>
24. Shen WH, Balajee AS, Wang J, Wu H, Eng C, Pandolfi PP, et al. Essential Role for Nuclear PTEN in Maintaining Chromosomal Integrity. *Cell.* 2007;128:157–170. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.042>
25. Cancer Genome Atlas Network Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell.* 2015;161:1681–1696. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>
26. Zuo Q, Liu J, Huang L, Qin Y, Hawley T, Seo C, et al. AXL/AKT axis mediated-resistance to BRAF in-hibitor depends on PTEN status in melanoma. *Oncogene.* 2018;37:3275–3289. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0205-4>
27. Qin Y, Zuo Q, Huang L, Huang L, Merlino G, Yu Y. PERK mediates resistance to BRAF inhibition in melanoma with impaired PTEN. *NPJ Precis. Oncol.* 2021;5:68. <https://doi.org/10.1038/s41698-021-00207-x>
28. Liu A, Zhu Y, Chen W, Merlino G, Yu Y. PTEN Dual Lipid- and Protein-Phosphatase Function in Tumor Progression. *Cancers (Basel).* 2022 Jul 28;14(15):3666. <https://doi.org/10.3390/cancers14153666>
29. Dibble CC, Cantley LC. Regulation of mTORC1 by PI3K signaling. *Trends Cell Biol.* 2015 Sep;25(9):545–555. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.06.002>

References

1. Cancer Stat Facts: Vulvar Cancer. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/vulva.html>. Accessed: 21.03.2022.
2. Kang YJ, Smith M, Barlow E, Coffey K, Hacker N, Canfell K. Vulvar cancer in high-income countries: Increasing burden of disease. *Int J Cancer.* 2017 Dec 1;141(11):2174–2186. <https://doi.org/10.1002/ijc.30900>
3. Singh N, Gilks CB. Vulval squamous cell carcinoma and its precursors. *Histopathology.* 2020 Jan;76(1):128–138. <https://doi.org/10.1111/his.13989>
4. Eva LJ, Sadler L, Fong KL, Sahota S, Jones RW, Bigby SM. Trends in HPV-dependent and HPV-independent vulvar cancers: The changing face of vulvar squamous cell carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2020 May;157(2):450–455. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.01.029>
5. Zhang J, Zhang Y, Zhang Z. Prevalence of human papillomavirus and its prognostic value in vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2018 Sep 26;13(9):e0204162. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204162>

6. Zięba S, Pouwer AW, Kowalik A, Zalewski K, Rusetska N, Bakula-Zalewska E, et al. Somatic Mutation Profiling in Premalignant Lesions of Vulvar Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 10;21(14):4880. <https://doi.org/10.3390/ijms21144880>
7. Hinten F, Molijn A, Eckhardt L, Massuger LFAG, Quint W, Bult P, et al. Vulvar cancer: Two pathways with different localization and prognosis. *Gynecol Oncol*. 2018 May;149(2):310–317. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.03.003>
8. Sand FL, Nielsen DMB, Frederiksen MH, Rasmussen CL, Kjaer SK. Response: Letter regarding “The prognostic value of p16 and p53 expression for survival after vulvar cancer: A systematic review and meta-analysis”. *Gynecol Oncol Rep*. 2019 Sep 3;30:100494. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2019.100494>
9. Woelber L, Eulenburg C, Choschzick M, Kruehl A, Petersen C, Gieseck F, et al. Prognostic role of lymph node metastases in vulvar cancer and implications for adjuvant treatment. *Int J Gynecol Cancer*. 2012 Mar;22(3):503–508. <https://doi.org/10.1097/igc.0b013e31823eed4c>
10. Polterauer S, Schwameis R, Grimm C, Hillemanns P, Jückstock J, Hilpert F, et al. Lymph node ratio in inguinal lymphadenectomy for squamous cell vulvar cancer: Results from the AGO-CaRE-1 study. *Gynecol Oncol*. 2019 May;153(2):286–291. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.02.007>
11. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet*. 2015;16(3):172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>
12. Xu W, Lu J, Zhao Q, Wu J, Sun J, Han B, et al. Genome-Wide Plasma Cell-Free DNA Methylation Profiling Identifies Potential Biomarkers for Lung Cancer. *Dis Markers*. 2019 Feb 5;2019:4108474. <https://doi.org/10.1155/2019/4108474>
13. Sobolev VV, Nevozhinskaya ZA, Soboleva AG, Korsunskaya IM. Cancer of the vulva: genetic aspects of pathogenesis. *Gynecology*. 2018;20(4):9–11. (In Russ.). https://doi.org/10.26442/2079-5696_2018.4.9-11
14. Petrusenko NA, Verenikina EV, Yakubova DY, Timoshkina NN. Mutations in BRCA1/2 genes in female patients of southern Russia with ovarian malignant tumors. *Yakut Medical Journal*. 2020;4(72):87–89. (In Russ.). <https://doi.org/10.25789/ymj.2020.72.21>
15. Petrusenko NA, Nikitina VP, Spiridonova DA, Kecheryukova MM. Changes in the copy number of genes in malignant tumors of the cervix with endophytic and exophytic forms of growth. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;3. (In Russ.). <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28981>
16. Vodolazhsky DI, Timoshkina NN, Maslov AA, Kolesnikov EN, Tatimov MZ. CNV of 17 genetic loci in patients diagnosed with gastric adenocarcinoma. *Modern Problems of Science and Education*. 2017;3. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26405>
17. Macintyre G, Goranova TE, De Silva D, Ennis D, Piskorz AM, Eldridge M, et al. Copy number signatures and mutational processes in ovarian carcinoma. *Nat Genet*. 2018;50(9):1262–1270. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0179-8>
18. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet*. 2015;16:172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>
19. Maslov AA, Chalkhakhyan LK, Malinin SA, Kaminsky GV, Mirzoyan EA. Genes copy number variation in colorectal cancer patients as a marker of the disease clinical outcome and response to therapy. *South Russian Journal of Cancer*. 2022;3(2):52–64. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-2-6>
20. Genecards. The Human Gene Database. 2016. Available at: www.genecards.org
21. Ortiz AB, Garcia D, Vicente Y, Palka M, Bellas C, Martin P. Prognostic significance of cyclin D1 protein expression and gene amplification in invasive breast carcinoma. *PLoS ONE*. 2017;12(11):e0188068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188068>
22. Yang L, Ye F, Bao L, Zhou X, Wang Z, Hu P, et al. Somatic alterations of TP53, ERBB2, PIK3CA and CCND1 are associated with chemosensitivity for breast cancers. *Cancer Sci*. 2019;110(4):1389–1400. <https://doi.org/10.1111/cas.13976>
23. Choschzick M, Hess S, Tennstedt P, Holst F, Bohlken H, Gieseck F, et al. Role of cyclin D1 amplification and expression in vulvar carcinomas. *Hum Pathol*. 2012 Sep;43(9):1386–1393. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.11.014>
24. Shen WH, Balajee AS, Wang J, Wu H, Eng C, Pandolfi PP, et al. Essential Role for Nuclear PTEN in Maintaining Chromosomal Integrity. *Cell*. 2007;128:157–170. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.042>
25. Cancer Genome Atlas Network Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015;161:1681–1696. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>
26. Zuo Q, Liu J, Huang L, Qin Y, Hawley T, Seo C, et al. AXL/AKT axis mediated-resistance to BRAF in-hibitor depends on PTEN status in melanoma. *Oncogene*. 2018;37:3275–3289. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0205-4>
27. Qin Y, Zuo Q, Huang L, Huang L, Merlino G, Yu Y. PERK mediates resistance to BRAF inhibition in melanoma with impaired PTEN. *NPJ Precis. Oncol*. 2021;5:68. <https://doi.org/10.1038/s41698-021-00207-x>
28. Liu A, Zhu Y, Chen W, Merlino G, Yu Y. PTEN Dual Lipid- and Protein-Phosphatase Function in Tumor Progression. *Cancers (Basel)*. 2022 Jul 28;14(15):3666. <https://doi.org/10.3390/cancers14153666>
29. Dibble CC, Cantley LC. Regulation of mTORC1 by PI3K signaling. *Trends Cell Biol*. 2015 Sep;25(9):545–555. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2015.06.002>

Информация об авторах:

Бусарова Ангелина Владимировна – врач-онколог отделения онкогинекологии ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6799-8682>, SPIN: 7693-9236, AuthorID: 1216392

Петрусенко Наталья Александровна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Крузе Полина Александровна – к.м.н., врач-онколог отделения онкогинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0442-122X>, SPIN: 9460-2235, AuthorID: 357294

Порханова Наталья Владимировна – д.м.н., доцент, заведующая отделением онкогинекологии ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Российская Федерация
SPIN: 2611-4840, AuthorID: 589928, Scopus Author ID: 22836545700

Information about authors:

Angelina V. Busarova – Oncologist at the Department of Gynecologic Oncology, Clinical Oncology Dispensary No.1 of the Ministry of Health of Krasnodar region, Krasnodar, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-6799-8682>, SPIN: 7693-9236, AuthorID: 1216392

Natalia A. Petrusenko – Junior Research Associate at the Laboratory of Molecular Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7919-6111>, SPIN: 5577-3805, AuthorID: 960639, Scopus Author ID: 57216917933, ResearcherID: AGE-9461-2022

Polina A. Kruze – Cand. Sci. (Medicine), Oncologist at the Department of Gynecologic Oncology, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0442-122X>, SPIN: 9460-2235, AuthorID: 357294

Nathalia V. Porhanova – Dr. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of Gynecologic Oncology Department, Clinical Oncology Dispensary No.1 of the Ministry of Health of Krasnodar region, Krasnodar, Russian Federation
SPIN: 2611-4840, AuthorID: 589928, Scopus Author ID: 22836545700

Вклад авторов:

Бусарова А. В. – сбор и анализ данных, написание текста, обработка материалов;
Петрусенко Н. А. – проведение генетического исследования, статистическая обработка данных, написание текста;
Крузе П. А. – научное редактирование;
Порханова Н. В. – концепция и дизайн исследования.
Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.

Contribution of the authors:

Busarova A. V. – data collection and analysis, text writing, materials processing;
Petrusenko N. A. – conducting genetic research, statistical data processing;
Kruze P. A. – scientific editing;
Porhanova N. V. – study concept and design.
All authors made equivalent contributions to the preparation of the article and approved the final version for publication.