DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19

CC BY 4.0

Особенности копийности генов в плазме крови у больных раком тела матки и прогноз заболевания

Д.С. Кутилин, Е.М. Франциянц, И.В. Нескубина, А.И. Шихлярова, В.А. Бандовкина, П.С. Качесова, Н.Д. Черярина, И.А. Удаленкова, А.П. Меньшенина, Е.А. Озеркова, Ю.С. Шатова, А.А. Овсянникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

Контакты: Денис Сергеевич Кутилин *k.denees@yandex.ru*

Введение. Рак тела матки занимает лидирующие позиции в структуре онкогинекологической заболеваемости. Раннее прогнозирование метастатического поражения имеет критическое значение для выбора тактики лечения, поэтому поиск малоинвазивных молекулярных маркеров данной патологии является актуальной задачей. Перспективными биомаркерами могут служить показатели копийности генов (copy number variation) в циркулирующей внеклеточной ДНК (внДНК) плазмы крови.

Цель исследования – анализ относительной копийности генов, регулирующих функционирование митохондрий, в плазме крови у больных раком тела матки для разработки малоинвазивного метода прогнозирования метастазирования.

Материалы и методы. На биоинформационном этапе исследования выявлены гены, ассоциированные с митохондриальной дисфункцией и аномальной копийностью при раке тела матки. В исследование включены 98 больных с аденокарциномой тела матки G_1 (n = 43), G_2 (n = 35) и G_3 (n = 20), 15 пациенток с миомой матки и 20 условно-здоровых доноров. Относительная копийность 13 генов определялась методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени на образцах внДНК плазмы крови. Для отбора маркеров применяли ROC-анализ и LASSO-пенализованную (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) логистическую регрессию.

Результаты. Выявлено значительное снижение относительной копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MGME1* и *MT-CO1* в плазме крови больных раком тела матки (p <0,005) с метастазированием, при этом степень изменения копийности возрастала от G_1 к G_3. LASSO-регрессионный анализ позволил отобрать 3 гена – *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*, – комбинированная панель которых при прогнозировании метастазов имела следующие показатели: площадь под кривой (AUC) = 0,98 (95 % доверительный интервал 0,96–1,00), чувствительность 95 %, специфичность 92 %.

Заключение. Таким образом, определение копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* в плазме крови можно использовать в малоинвазивном прогнозировании метастатического поражения при раке тела матки.

Ключевые слова: рак тела матки, внеклеточная ДНК, копийность генов, LASSO-регрессия, митохондриальная дисфункция, прогнозирование метастазирования

Для цитирования: Кутилин Д.С., Франциянц Е.М., Нескубина И.В. и др. Особенности копийности генов в плазме крови у больных раком тела матки и прогноз заболевания. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(3):8–19. DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19

The genes copy number variation features in blood plasma of uterine cancer patients and disease prognosis

D.S. Kutilin, E.M. Frantsiyants, I.V. Neskubina, A.I. Shikhlyarova, V.A. Bandovkina, P.S. Kachesova, N.D. Cheryarina, I.A. Udalenkova, A.P. Menshenina, E.A. Ozerkova, Yu.S. Shatova, A.A. Ovsyannikova

National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63 14th Line St., Rostov-on-Don 344037, Russia

Contacts: Denis Sergeyevich Kutilin *k.denees@yandex.ru*

Introduction. Uterine cancer is a leading gynecologic oncology morbidity. Early prediction of metastatic disease is critical for treatment decisions. Therefore, the search for minimally invasive molecular markers for predicting metastasis is a pressing issue. Promising biomarkers in this regard include gene copy number values in circulating cell-free DNA (cfDNA) in plasma.

Aim. To analyze the relative copy number of genes regulating mitochondrial function in plasma of uterine cancer patients to develop a minimally invasive method for predicting metastasis.

Materials and methods. The bioinformatics phase of the study identified a list of genes associated with mitochondrial dysfunction and abnormal copy number in uterine cancer. The study included 98 patients diagnosed with adenocarcinoma of the corpus uteri (G_1 ($n = 43$), G_2 ($n = 35$) and G_3 ($n = 20$)), 15 patients with uterine myoma and 20 conditionally healthy donors. The relative copy number of 13 genes was determined by quantitative real-time polymerase chain reaction on cfDNA samples from blood plasma. ROC analysis and LASSO-penalized (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) logistic regression were used to select markers.

Results. A significant decrease in relative copy number of *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MGME1*, and *MT-CO1* in plasma was revealed in uterine cancer patients (p <0.005) with a metastatic course of the disease, moreover, the degree of change in copy number increased from G_1 to G_3. LASSO regression analysis enabled the selection of three genes: *mtSSB*, *MT-RNR2*, and *MGME1*. The combined panel achieved an area under the curve (AUC) of 0.98 (95 % confidence interval 0.96–1.00), a sensitivity of 95 %, and a specificity of 92 % for predicting metastases.

Conclusion. Thus, determination of the copy number of the *mtSSB*, *MT-RNR2* and *MGME1* genes in blood plasma has potential for use in minimally invasive prediction of metastatic lesions in uterine cancer.

Keywords: endometrial cancer, cell-free DNA, gene copy number, LASSO regression, mitochondrial dysfunction, metastasis prediction

For citation: Kutilin D.S., Frantsiyants E.M., Neskubina I.V. et al. The genes copy number variation features in blood plasma of uterine cancer patients and disease prognosis. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2026;13(3):8–19. (In Russ.).
DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-3-8-19

ВВЕДЕНИЕ

Рак тела матки (РТМ) занимает лидирующие позиции в структуре онкогинекологической заболеваемости, при этом частота метастазирования достигает 15–25 % даже при ранних стадиях [1]. Метастатическое поражение является одним из наиболее значимых прогностических факторов при РТМ, оно определяет стадию заболевания и тактику лечения. Традиционные методы диагностики метастазов включают компьютерную томографию (КТ), магнитно-резонансную томографию (МРТ) и гистологическое исследование, однако они имеют ограничения в чувствительности на ранних стадиях заболевания [2]. При этом молекулярное прогнозирование риска развития метастазов остается сложной задачей. В последние годы внимание исследователей привлекает анализ копийности генов (copy number variation, CNV) в внеклеточной ДНК (внДНК) плазмы крови [3]. Копийность является важным молекулярным механизмом, влияющим на функционирование митохондрий [4]. Результаты исследований показывают, что вариации числа копий генов широко распространены в геноме человека и ассоциированы с различными заболеваниями, включая онкологические [5].

Митохондриальная дисфункция является важным звеном патогенеза РТМ, она влияет на энергетический метаболизм, апоптоз и метастатический потенциал [6]. Изменения копийности митохондриальных и ядерных генов, регулирующих функционирование митохондрий, могут отражаться на циркулирующей ДНК. Показатель копийности митохондриальных локусов в качестве маркера исследуется при различных онкологических заболеваниях, включая рак желудка [7], легкого [8], кишечника [9] и яичников [10]. Ранее мы идентифицировали ключевые гены (*MT-CO1*, *mtSSB*, *MT-RNR2*, *MGME1*), копийность которых изменяется в ткани опухоли тела матки [11]. Использование этих маркеров в жидкостной биопсии открывает перспективы неинвазивного прогнозирования метастазирования при РТМ.

Цель исследования – анализ относительной CNV генов, регулирующих функционирование митохондрий, в плазме крови больных РТМ для разработки малоинвазивного метода прогнозирования метастазирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоинформационный этап исследования. На биоинформационном этапе исследования выполнен анализ данных проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA; https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga) для выявления аномальной CNV при РТМ, ассоциированных с митохондриальной дисфункцией. Данные о числе копий генов получены из Genomic Data CommonsData Portal (https://portal.gdc.cancer.gov/) с помощью TCGAbiolinks (R v. 4.0.0, Rstudio). Для обнаружения областей генома, размер которых значимо изменялся в ряде опухолевых образцов, использовали алгоритм GISTIC [10, 11]. Для разделения генов по функциональным модулям применяли алгоритм Functional module detection (FMD), основанный на методе k-ближайших соседей (KNN) и методе определения множества Лувена для кластеризации тесно связанных генетических локусов, их группировки в отдельные модули [3].

Характеристика пациенток и получение биоматериала. В исследование включены 98 больных с морфологически верифицированной аденокарциномой тела матки, 15 пациенток с миомой матки и 20 условно-здоровых женщин. Пациентки получали лечение в период с 2023 по 2025 г. в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии (г. Ростов-на-Дону). Средний возраст больных РТМ составил 58,3 ± 8,7 года (медиана 59 лет; межквартильный размах – 52–65 лет),

пациенток с миомой матки – 49,6 ± 6,4 года, условно-здоровых доноров – 51,4 ± 7,2 года.

В зависимости от степени дифференцировки опухоли пациентки с аденокарциномой матки были разделены на 3 группы: G_1 (n = 43), G_2 (n = 35) и G_3 (n = 20). У 30 больных выявлены регионарные или отдаленные метастазы: в группе G_1 – 10 (23,3 %) случаев, в группе G_2 – 10 (28,6 %), в группе G_3 – 10 (50 %). Образцы крови (8 мл) собирали в вакутейнеры с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Плазму крови выделяли центрифугированием в течение 10 мин при 600 g и 2 °C.

Характеристика пациенток с аденокарциномой тела матки представлена в табл. 1.

Стадирование проводилось согласно классификации Международной федерации акушеров и гинекологов (International Federation of Gynaecology and Obstetrics, FIGO) 2018 г. Наличие регионарных (в тазовых и парааортальных лимфатических узлах) и отдаленных метастазов подтверждалось данными инструментальных методов (КТ, МРТ и при необходимости позитронной эмиссионной томографии, совмещенной с КТ) и гистологическим исследованием удаленных тканей. У всех пациенток с метастазами диагноз верифицирован морфологически. У 12 (40 %) из 30 больных с метастатическим поражением выявлены отдаленные метастазы (в легких, печени, костях), у остальных

Таблица 1. *Характеристика пациенток с аденокарциномой тела матки (n = 98)*

Table 1. *Characteristics of patients with adenocarcinoma of the uterine body (n = 98)*

Показатель Parameter	G_1 (n = 43)	G_2 (n = 35)	G_3 (n = 20)	Всего Total
Возраст, лет, M ± SD Age, years, M ± SD	56,2 ± 8,1	59,4 ± 9,0	60,1 ± 8,5	58,3 ± 8,7
Стадия по классификации FIGO, *n* (%): FIGO stage, *n* (%):				
I	28 (65,1)	16 (45,7)	4 (20,0)	48 (49,0)
II	8 (18,6)	9 (25,7)	4 (20,0)	21 (21,4)
III	7 (16,3)	8 (22,9)	9 (45,0)	24 (24,5)
IV	0	2 (5,7)	3 (15,0)	5 (5,1)
Метастазы, *n* (%): Metastases, *n* (%):				
нет (N0) no (N0)	33 (76,7)	25 (71,4)	10 (50,0)	68 (69,4)
регионарные (N1) regional (N1)	8 (18,6)	7 (20,0)	3 (15,0)	18 (18,4)
отдаленные (M1) distant (M1)	2 (4,7)	3 (8,6)	7 (35,0)	12 (12,2)
Гистологический тип опухоли, *n* (%): Tumor histological type, *n* (%):				
эндометриоидный endometrioid	41 (95,3)	31 (88,6)	14 (70,0)	86 (87,8)
серозный/светлоклеточный serous/clear cell	2 (4,7)	4 (11,4)	6 (30,0)	12 (12,2)
Инвазия миометрия, *n* (%): Myometrial invasion, *n* (%):				
<50 %	30 (69,8)	18 (51,4)	6 (30,0)	54 (55,1)
≥50 %	13 (30,2)	17 (48,6)	14 (70,0)	44 (44,9)
Лимфоваскулярная инвазия, *n* (%): Lymphovascular invasion, *n* (%):				
нет no	35 (81,4)	24 (68,6)	9 (45,0)	68 (69,4)
есть yes	8 (18,6)	11 (31,4)	11 (55,0)	30 (30,6)

Примечание. *Распределение по стадиям, глубине инвазии и лимфоваскулярной инвазией ожидаемо ассоциировано со степенью дифференцировки (χ^2-критерий, $p < 0,05$ для всех стадий, что подтверждает репрезентативность выборки относительно известных клинических закономерностей рака тела матки. M – среднее значение; SD – стандартное отклонение; FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics, Международная федерация акушеров и гинекологов.*

Note. *The distribution by stage, depth of invasion and lymphovascular invasion is expectedly associated with the degree of differentiation (χ^2 test, $p<0.05$ for all stages), which confirms the representativeness of the sample with respect to known clinical patterns of UC. M – mean; SD – standard deviation; FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics.*

18 (60 %) – только регионарные. Сопутствующая патология: у 22 (22,4 %) пациенток – сахарный диабет 2-го типа, у 41 (41,8 %) – артериальная гипертензия, у 36 (36,7 %) – ожирение (индекс массы тела ≥30 кг/м^2). Распределение больных с сопутствующими заболеваниями в зависимости от степени дифференцировки опухоли было сбалансированным (p >0,05 для всех сравнений).

Выделение внеклеточной ДНК и полимеразная цепная реакция в реальном времени. Внеклеточную ДНК плазмы крови выделяли методом фенол-хлороформной экстракции в модификации. К плазме крови добавляли равный объем лизирующего буфера (10 мМ TrisHCl; pH = 8,0; 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты; 2 % SDS; 1,5 % меркаптоэтанол) и 50 мкл протеиназы К, инкубировали в термостате при 58 °С 30 мин. К полученному лизату добавляли равный объем щелочного фенола и хлороформа (1:1) и центрифугировали 30 мин (3000 об/мин) при 5 °С [12]. Также использовали коммерческий набор «ДНК-сорб-В» (Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Россия) с модифицированным протоколом. Концентрацию ДНК нормализовали до 0,6 нг/мкл.

Относительную CNV (*MT-CO1*, *mtTFB*, *mtSSB*, *ATAD3*, *TFAM*, *POLG*, *POLRMT*, *TOP1MT*, *MGME1*, *TEFM*, *MT-RNR2*, *GCAT*, *NRF1*) определяли методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Реакцию амплификации проводили на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, США) в 20 мкл ПЦР-смеси (внДНК не менее 0,5 нг; 0,2 мМ dNTP; 0,4 мкМ праймеров; 2,5 мМ $MgCl_2$, 1X ПЦР-буфер с интеркалирующим красителем EvaGreen и 0,1 е. а./мкл SynTaq ДНК-полимеразы) по следующей программе: 95 °С 4 мин, 40 циклов (95 °С 10 с, 58 °С 30 с – чтение оптического сигнала по каналу FAM) и 72 °С 15 с. Относительную копийность (rC) рассчитывали по формуле: $rC = E^{-\Delta\Delta Ct}$ [13].

С использованием базы данных NCBI GenBank Overview (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) и онлайн-инструмента Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) разработаны последовательности синтетических олигонуклеотидов, в том числе для референсного локуса (*GAPDH*) (табл. 2).

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Национального медицинского исследовательского центра онкологии (г. Ростов-на-Дону) (https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742).

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с помощью R v.4.3.1. Нормальность распределения оценивали с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для межгрупповых сравне-

Таблица 2. *Последовательности олигонуклеотидных праймеров для полимеразной цепной реакции в реальном времени*

Table 2. *Sequences of oligonucleotide primers for real-time polymerase chain reaction*

Ген Gene	Прямой праймер (5' → 3') Forward primer (5' → 3')	Обратный праймер (5' → 3') Reverse primer (5' → 3')
MT-CO1	CCTACTCCTGCTCGCATCTG	AGAATGGGGTCTCCTCCTCC
mtSSB	AAGTGCTGGAGTCGTGTGT	GGCGCCACCACCTGAAA
MT-RNR2	GCACACCCGTCTATGTAGCA	ACAACCAGCTATCACCAGGC
MGME1	GGATGGTTCCTCGGACCTA	GCCACAAAGGTCTCTGCAT
NRF1	GGAACACGGAGTGACCCAAA	AGGCGAGTCTTCATCAGCAC
TFAM	AGCAGCAGTGGAGGAAGAGG	CCAGTCTCCTCAGCTTCACC
GCAT	GAGGTAGGAGCGATGTGGC	GATGACCCGCTCACTCTTCC
ATAD3	CTTGTGGGGTGGGGTTGG	TAGTGTGTGCAGCAGGTTCAG
POLG	CTACCCCGAGGCTGCGTA	GGTCCTCACGGTGCTTCC
mtTFB	GCCAGGGGGAATCACAAG	CGAGTGTCCTTTTCAACCAC
POLRMT	GGAGCGGCGTGCGTAA	GCCGCAAGGCCGTAG
TOP1MT	CTCTGACGCTGCTCGG	CTGGCTCCACTGCCCTT
TEFM	TTCCGATTGCTTCGTGGAAGA	TTTCCCGTCCAGTCTTTGGA
GAPDH	GCTGAACGGGAAGCTCACC	GGTTTTTCTAGACGGCAG

Таблица 3. *Функции генов и их клиническая значимость при патологиях матки*

Table 3. *Gene functions and their clinical significance in uterine pathologies*

Ген Gene	Локализация Location	Основная функция Main function	Роль в онкогенезе рака тела матки Role in the oncogenesis of uterine cancer
MT-CO1	Митохондрии Mitochondria	Кодирование субъединицы цитохром-с-оксидазы Encoding of the cytochrome-c-oxidase subunit	Снижение → нарушение OXPHOS → активация HIF-1α Decrease → disruption of OXPHOS→ HIF-1α activation
mtSSB	Митохондрии Mitochondria	Связывание одноцепочечной мтДНК Single-stranded mtDNA binding	Снижение → дестабилизация мтДНК Decrease → mtDNA destabilization
MT-RNR2	Митохондрии Mitochondria	Кодирование 16S рибосомной РНК Encoding of 16S ribosomal RNA	Снижение → подавление синтеза митохондриальных белков Decrease → suppression of mitochondrial protein synthesis
MGME1	Ядро/митохондрии Nucleus/mitochondria	Эндонуклеаза репарации мтДНК mtDNA repair endonuclease	Бифазная динамика при прогрессии Biphasic dynamics during progression
TFAM	Ядро Nucleus	Фактор транскрипции мтДНК mtDNA transcription factor	Сохранение биогенеза мтДНК Preservation of mtDNA biogenesis
NRF1	Ядро Nucleus	Регуляция экспрессии митохондриальных генов Regulation of mitochondrial gene expression	Дисбаланс синтеза субъединиц электрон-транспортной сети Synthesis imbalance of electron transport network subunits

Примечание. *мтДНК – митохондриальная ДНК; HIF-1α – фактор, индуцируемый гипоксией 1α.*
Note. *mtDNA – mitochondrial DNA; HIF-1α – hypoxia-inducible factor 1α.*

ний применяли U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

Для оценки возможного влияния клинико-демографических факторов (возраст, стадия по классификации FIGO, наличие сопутствующих заболеваний (сахарного диабета 2-го типа, артериальной гипертензии, ожирения) на rC исследуемых генов проводили многофакторный дисперсионный анализ (ANCOVA) с включением этих переменных как ковариат.

Диагностическую точность панели определяли с помощью ROC-анализа (пакет pROC) с расчетом площади под кривой (AUC), чувствительности и специфичности. Для оценки диагностической точности рассчитывали 95 % доверительные интервалы (ДИ) для чувствительности и специфичности с использованием метода Уилсона (пакет PropCIs). Для отбора наиболее информативных маркеров применяли LASSO-пенализованную (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) логистическую регрессию (пакет glmnet). Переменные стандартизировали, выбор оптимального параметра регуляризации λ проводили по 10-кратной перекрестной проверке с минимизацией бинарной кросс-энтропии. Для внутренней валидации модели и оценки ее стабильности применяли процедуру bootstrap с 1000 повторных выборок (с замещением). На каждой итерации выполнялась полная последовательность: LASSO-отбор предикторов с последующей логистической регрессией на отобранных генах. Для каждой bootstrap-выборки рассчитывали AUC, чувствительность и специфичность при фиксированных порогах, определенных по индексу Юдена на исходной выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты биоинформационного анализа открытых баз данных и предыдущих исследований, проведенных в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии [11], позволили выявить ряд генетических локусов, изменение копийности которых ассоциировано с митохондриальной дисфункцией при РТМ (*MT-CO1*, *mtTFB*, *mtSSB*, *ATAD3*, *TFAM*, *POLG*, *POLRMT*, *TOP1MT*, *MGME1*, *TEFM*, *MT-RNR2*, *GCAT* и *NRF1*). Информация о функциях некоторых локусов представлена в табл. 3.

Показатель копийности данных генетических локусов был валидирован методом ПЦР в реальном времени на образцах внДНК плазмы крови 98 больных с аденокарциномой тела матки, 15 пациенток с миомой и 20 условно-здоровых доноров (рис. 1).

У пациенток с аденокарциномой тела матки выявлено статистически значимое снижение rC *mtSSB*, *MT-RNR2*, *NRF1*, *MT-CO1* и *mtTFB* по сравнению с группой здоровых доноров и пациенток с миомой ($p < 0{,}005$). Степень уменьшения этого показателя коррелировала с увеличением злокачественности опухоли

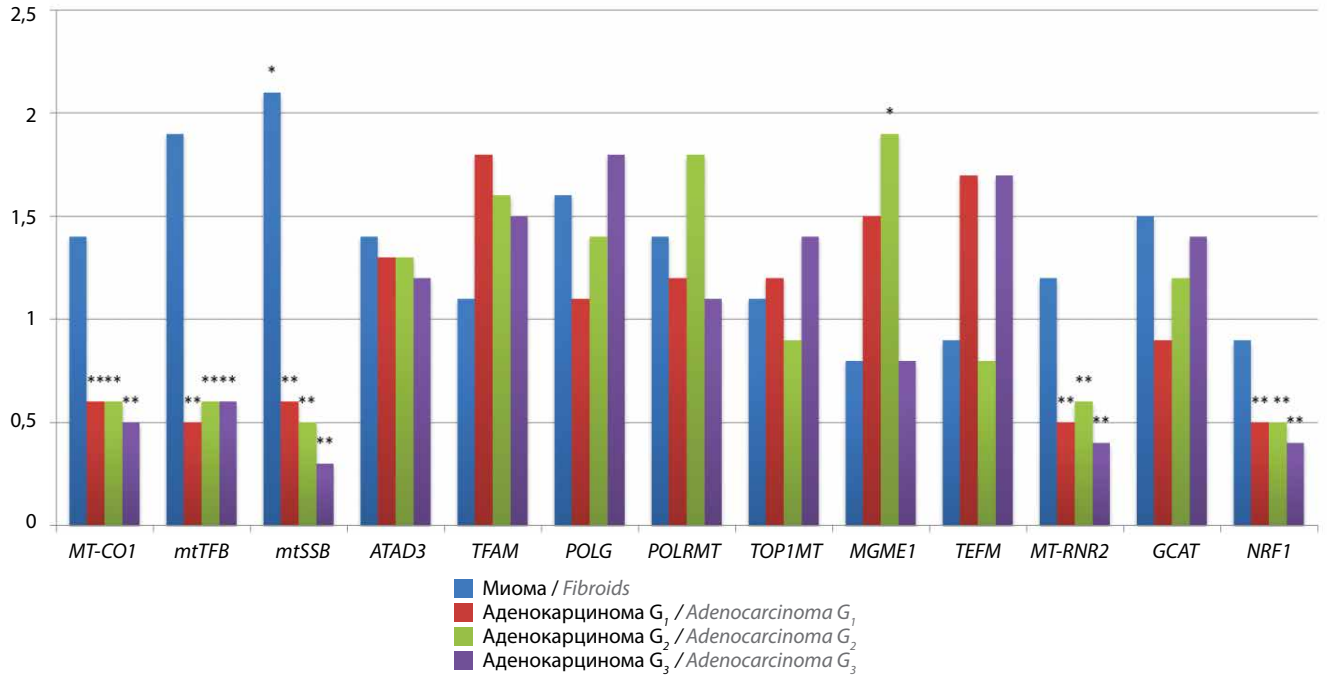

Рис. 1. *Копийность генов в плазме крови пациенток с аденокарциномой G_{1-3}. * – статистически значимые различия между этой группой и группой условно-здоровых доноров; ** – статистически значимые различия между группами пациенток с миомой и условно-здоровых доноров*
Fig. 1. *Gene copy number in the blood plasma of patients with adenocarcinoma G_{1-3}. *– statistically significant differences between this group and the group from conditionally healthy donors; ** –statistically significant differences between the groups of patients with fibroids and conditionally healthy donors*

(от G_1 к G_3). Анализ данных также выявил статистически значимое повышение копийности гена *mtSSB* у пациенток с миомой матки по сравнению с условно-здоровыми донорами (p <0,005). При этом отмечено прогрессирование снижения копийности этого гена при переходе от G_1 к G_3, что может отражать нарушение репликации и репарации метохондриальной ДНК (мтДНК) при прогрессии злокачественного процесса. Для гена *MGME1* продемонстрирована бифазная динамика: повышение CNV при опухоли G_1/G_2 (компенсаторный механизм) и значимое снижение при G_3 (коллапс мтДНК).

Для визуализации распределения показателей CNV построены диаграммы box-plot для каждого исследуемого гена в разных группах (рис. 2).

Для оценки возможного влияния клинико-демографических факторов на rC исследуемых генов мы провели многофакторный дисперсионный анализ (ANCOVA). Ни один из указанных факторов не оказывал статистически значимого влияния на rC генов (p >0,05 для всех генов и факторов после поправки на множественные сравнения; метод Холма). Кроме того, мы выполнили стратифицированный анализ внутри подгрупп пациенток без сопутствующей патологии (n = 46) и с ее наличием (n = 52). Различия в уровнях rC между группами G_1, G_2 и G_3 и метастатическим статусом сохранялись во всех стратах (p <0,01). Таким образом, выявленные ассоциации копийности с метастатическим поражением независимы от возраста, стадии заболевания и сопутствующей патологии.

Для определения диагностической значимости показателя копийности этих генов проведен анализ их способности классифицировать пациенток на группы метастатического поражения и без него с помощью ROC-кривых. Формирование панели маркеров прогнозирования РТМ проводили на основе 10 пар генов. Количество пар рассчитано по стандартной формуле математической комбинаторики. ROC-кривые с AUC не менее 0,70 представлены на рис. 3.

Для формирования оптимальной панели маркеров, информативных в отношении наличия метастазов (регионарных или отдаленных), проведен LASSO-пенализованный регрессионный анализ. Данный метод позволяет отобрать наиболее информативные предикторы путем пенализации коэффициентов регрессии и обнуления менее значимых переменных.

Важность переменных рассчитывали путем определения доли bootstrap-моделей с ненулевым коэффициентом (1000 итераций) (табл. 4). Ненулевые коэффициенты сохранили 3 гена: *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* (рис. 4).

На основании bootstrap-моделей получена финальная панель генов, в которую вошли *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*. Такое сочетание генов обеспечивает прогностическую чувствительность на уровне 95 % (AUC = 0,98; 95 % ДИ 0,94–1,00) и специфичность 92 % (95 % ДИ 83,5–96,5 %) (рис. 5).

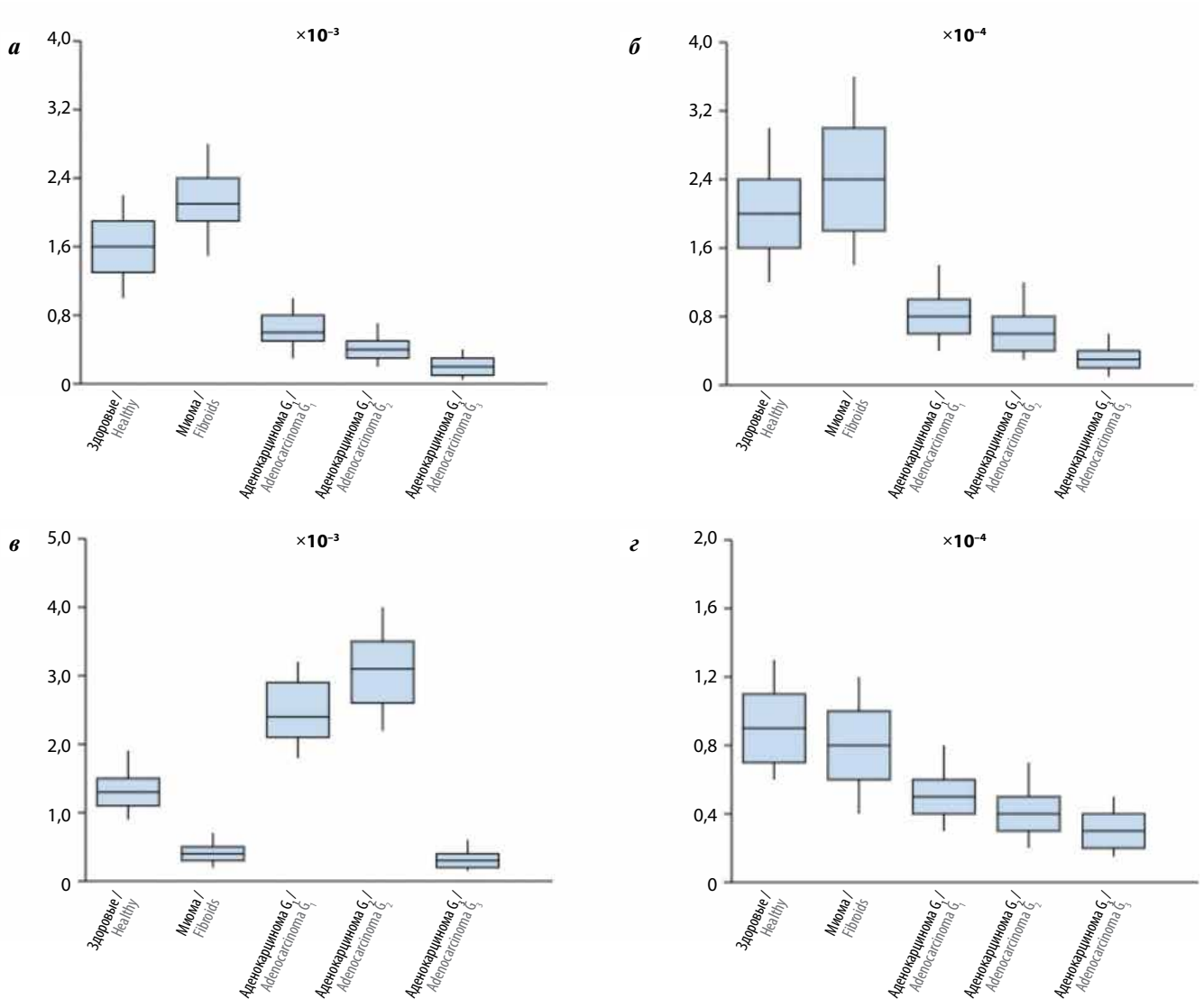

Рис. 2. *Box-plot-диаграммы распределения относительной копийности генов mtSSB (а), MT-RNR2 (б), NRF1 (в) и MGME1 (г) в плазме крови пациенток с различными патологиями тела матки*

Fig. 2. *Box plot diagrams showing the distribution of relative copy number of mtSSB (а), MT-RNR2 (б), NRF1 (в), and MGME1 (г) genes in the blood plasma of patients with various uterine pathologies*

На рис. 5 показаны значения коэффициентов LASSO-регрессии в зависимости от изменения параметра регуляризации 9.

На основании полученных данных установлены прогностические пороговые значения CNV для прогнозирования метастатического поражения при РТМ (табл. 5). Оптимальные пороговые значения rC, определенные по индексу Юдена, составили: $rC_{mtSSB} < 0{,}2 \times 10^{-3}$, $rC_{MT\text{-}RNR2} < 0{,}2 \times 10^{-4}$, $rC_{MGME1} < 0{,}3 \times 10^{-3}$. При одновременном выполнении всех трех условий прогнозируется высокий риск развития метастазирования. Комбинированный алгоритм, основанный на логистической функции с включением 3 генов – *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1*, обеспечивал чувствительность 95 % и специфичность 92 %.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменение копийности генов, ассоциированных с митохондриальной дисфункцией, в плазме крови отражает ключевые особенности опухолевого процесса при РТМ. Универсальное снижение копийности *mtSSB* во всех образцах аденокарциномы (100 %) и ее прогрессирующее уменьшение при переходе от G_1 к G_3 указывают на важность этого гена как маркера злокачественной прогрессии. Ген *mtSSB* кодирует митохондриальный белок, связывающий одноцепочечную ДНК и необходимый для стабильности и репликации мтДНК. Снижение копийности этого гена может привести к дестабилизации мтДНК, что нарушает энергетический метаболизм в опухолевых клетках и способствует ее прогрессии [14, 15].

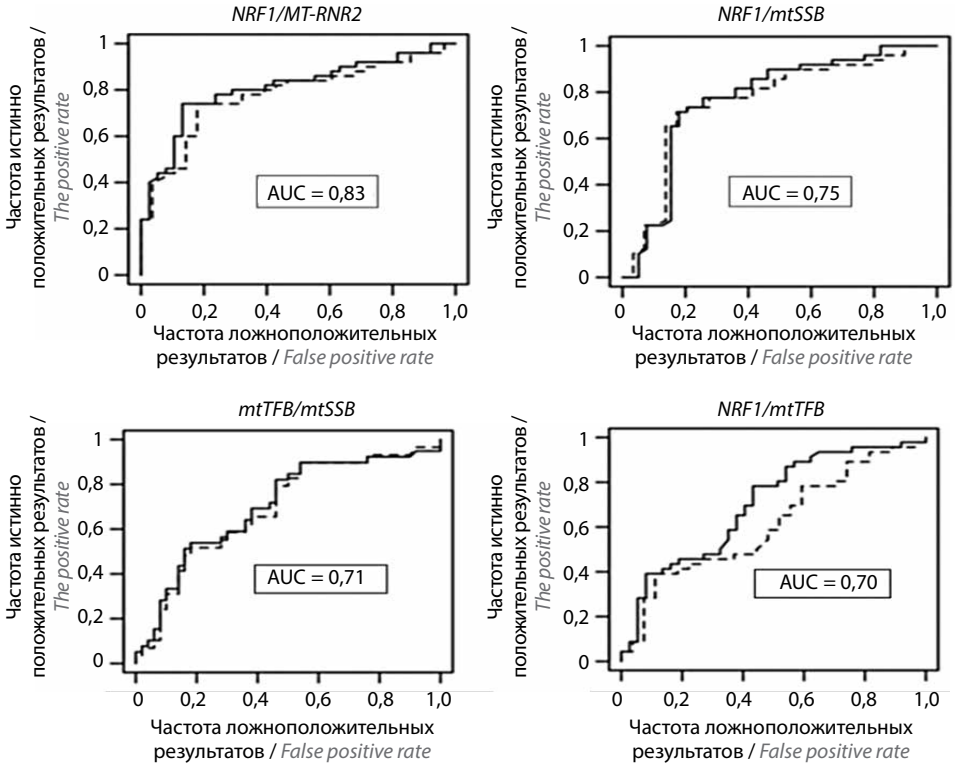

Рис. 3. *Показатели копийности генов у больных раком тела матки (сплошная линия) с метастазами и без них (пунктирная линия). ROC-кривые. AUC — площадь под кривой*

Fig. 3. *Gene copy number values in patients with uterine corpus cancer) with (solid line and without (dashed line) metastases. ROC curves. AUC — area under the curve*

Таблица 4. *Результаты LASSO-регрессионного (LASSO — Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) анализа для прогнозирования метастазов*

Table 4. *Results of LASSO (LASSO — Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) regression analysis for predicting metastases*

Ген Gene	Коэффициент β Coefficient β	Стандартная ошибка Standard error	Важность, % Importance, %	*p*	Статус Status
mtSSB	–2,847	0,423	98,5	<0,001	Включен в модель Included in the model
MT-RNR2	–2,156	0,387	96,2	<0,001	Включен в модель Included in the model
MGME1	1,923	0,351	94,8	<0,001	Включен в модель Included in the model
MT-CO1	–0,845	0,512	67,3	0,098	Исключен из модели Excluded from the model
TFAM	–0,623	0,489	58,4	0,201	Исключен из модели Excluded from the model
NRF1	–0,512	0,467	52,1	0,273	Исключен из модели Excluded from the model
mtTFB	–0,387	0,523	45,6	0,458	Исключен из модели Excluded from the model
TOP1MT	0,234	0,498	38,2	0,639	Исключен из модели Excluded from the model
POLRMT	0,156	0,534	31,5	0,770	Исключен из модели Excluded from the model
ATAD3	0,089	0,512	24,7	0,863	Исключен из модели Excluded from the model

Примечание. *Стандартная ошибка приведена для коэффициента логистической регрессии (коэффициента β) после LASSO-пенализации. Важность — доля bootstrap-моделей, в которых коэффициент для данного гена был ненулевым.*

Note. *The standard error is given for the coefficient of the logistic regression (coefficient β) after LASSO-penalization. Importance is the proportion of bootstrap models in which the coefficient for a given gene was non–zero.*

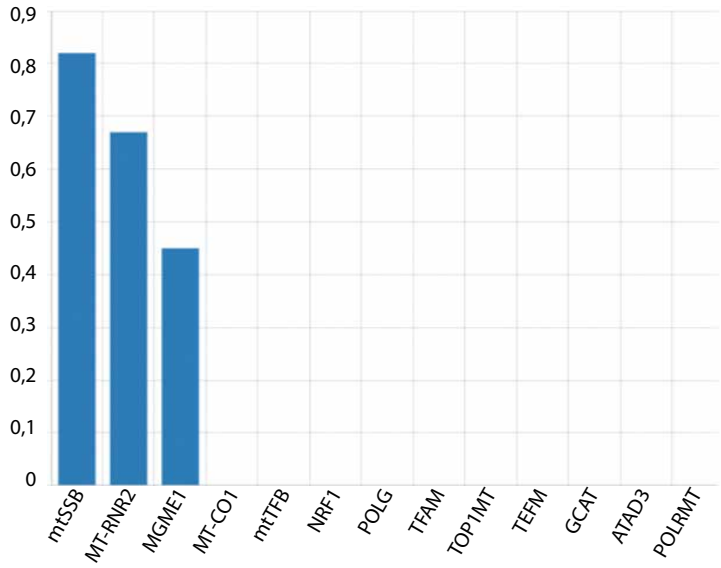

Рис. 4. *Коэффициенты LASSO-модели при λ_{min} (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator)*
Fig. 4. *Coefficients of the LASSO model at λ_{min} (LASSO – Least Absolute Shrinkage and Selection Operator)*

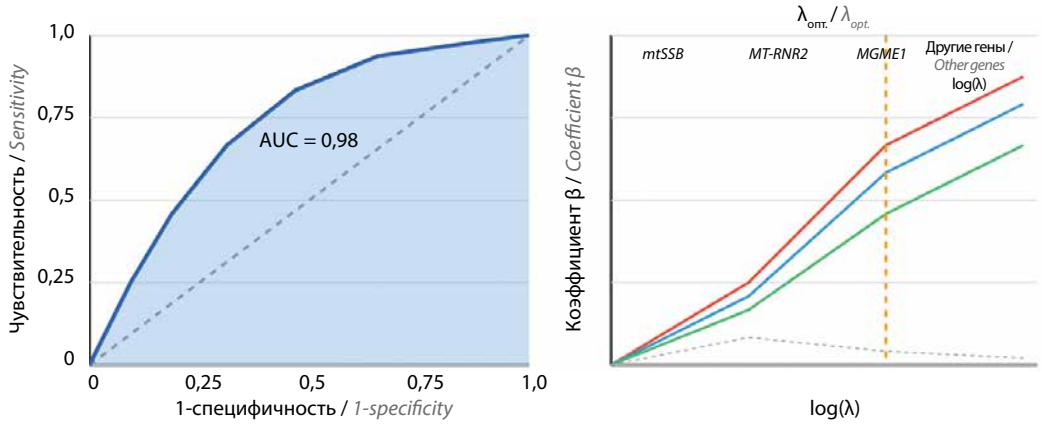

Рис. 5. *Прогностическая значимость панели из 3 генов – mtSSB, MT-RNR2 и MGME1 – для выявления метастатического поражения при раке тела матки: а – ROC-кривая модели, основанной на комбинации относительной копийности генов mtSSB, MT-RNR2 и MGME1 (площадь под кривой (AUC) = 0,98); б – зависимости коэффициентов β LASSO-регрессии от параметра регуляризации λ. Красная линия – траектория коэффициента β для гена mtSSB, синяя – для гена MT-RNR2, зеленая линия – для гена MGME1, серая пунктирная – для остальных генов, вертикальная пунктирная линия – оптимальное значение λ*
Fig. 5. *Prognostic value of a panel of three genes – mtSSB, MT-RNR2 and MGME1 – for detecting metastatic lesions in endometrial cancer: a – ROC curve of the model based on a combination of the relative copy number of the mtSSB, MT-RNR2 and MGME1 genes (area under the curve (AUC) = 0.98); б – dependences of the β LASSO regression coefficients on the regularization parameter λ, where the red line is the trajectory of the coefficient β for the mtSSB gene; the blue line is for the MT-RNR2 gene; the green line is for the MGME1 gene, the gray dotted line is for the remaining genes, the vertical dotted line is the optimal value of λ*

Таблица 5. *Прогностические пороговые значения коэффициентов копийности генов (rC) для прогнозирования развития метастазов*
Table 5. *Prognostic thresholds of gene copy number coefficients for predicting metastases*

Ген Gene	rC (нет метастазов) rC (no metastases)	rC (есть метастазы) rC (with metastases)	Пороговое значение Threshold value	Чувствительность, % Sensitivity, %	Специфичность, % Specificity, %
mtSSB	$>0,6 \times 10^{-3}$	$<0,2 \times 10^{-3}$	$0,4 \times 10^{-3}$	92	88
MT-RNR2	$>0,3 \times 10^{-4}$	$<0,2 \times 10^{-4}$	$0,25 \times 10^{-4}$	90	85
MGME1	$>2,0 \times 10^{-3}$	$<0,3 \times 10^{-3}$	$1,15 \times 10^{-3}$	88	90

Ген *MT-RNR2* кодирует 16S рибосомную РНК (16S рРНК), которая является частью митохондриальной рибосомы и участвует в синтезе митохондриальных белков. Также при РТМ выявлено стабильное снижение копийности гена *MT-RNR2* (16S рРНК), что согласуется с данными о нарушении синтеза митохондриальных белков при этом заболевании [16, 17].

Ген *MGME1* (эндонуклеаза репарации мтДНК) разрешает структуры flap мтДНК при репарации. Нарушения в работе *MGME1* могут привести к накоплению дефектной мтДНК, что приводит к развитию митохондриальных дисфункций, влияющих на энергетический метаболизм, апоптоз и устойчивость опухоли к терапии [18]. *MGME1* продемонстрировал бифазную динамику: увеличение CNV этого гена на ранних стадиях (G_{1-2}), вероятно, является компенсаторным механизмом, направленным на репарацию поврежденной мтДНК, а резкое ее снижение при G_3 ассоциируется с истощением репарационных резервов и коллапсом митохондриального генома, что способствует агрессивному метастазированию [18].

Полученные данные согласуются с результатами других исследований, которые продемонстрировали роль *mtSSB* и *MT-RNR2* в стабильности митохондриального генома и их связь с агрессивностью РТМ [14, 16]. Применение LASSO-регрессии позволило минимизировать переобучение и выделить именно те маркеры, которые несут независимую прогностическую информацию. Значение AUC для панели из 3 генов (0,98) превышает значения AUC, описанные для ранее предложенных способов прогнозирования, основанных на единичных маркерах или клинических параметрах. Так, ранее был предложен способ дооперационного прогнозирования вероятности риска рецидива у больных раком эндометрия T1 стадии (патент РФ № 2762493), но он основан на клинических параметрах и уступает разработанной панели по прогностической способности.

Исследование имело ряд ограничений: 1) не проводилась валидация на независимой выборке; 2) исследование выполнено на относительно небольшой выборке и имело одноцентровый характер; 3) не проводился анализ выживаемости пациенток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нестабильность митохондриального генома, особенно выявленное во всех образцах аденокарциномы снижение копийности *MT-RNR2*, бифазная дисрегуляция *MGME1* и уменьшение копийности *mtSSB*, определяет патогенез аденокарциномы тела матки. При этом анализ копийности генов *mtSSB*, *MT-RNR2* и *MGME1* в плазме крови имеет перспективу для использования в малоинвазивном прогнозировании метастатического поражения при РТМ с чувствительностью 95 %. Данные, полученные в ходе LASSO-регрессионного анализа, подтвердили прогностическую значимость панели, состоящей из 3 генов (*mtSSB*, *MT-RNR2*, *MGME1*), для прогнозирования метастатического поражения при РТМ по внДНК плазмы крови. Построенные прогностические модели количественно описывают ассоциацию аномальной копийности ядерных и митохондриальных генов с метастазированием и после дальнейшей клинической валидации могут быть применены для определения течения данного заболевания.

Полученные данные обосновывают необходимость разработки персонализированных подходов к терапии РТМ с учетом молекулярного статуса пациенток. Перспективными направлениями дальнейших исследований являются изучение влияния обнаруженных изменений CNV на эффективность различных вариантов лечения данного заболевания и оценка возможности коррекции митохондриальной дисфункции как потенциального терапевтического подхода.

Литература / References

1. Crosbie E.J., Kitson S.J., McAlpine J.N. et al. Endometrial cancer. Lancet 2022;399(10333):1412–28. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)00323-3
2. Concin N., Matias-Guiu X., Vergote I. et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. Radiother Oncol 2021;154:327–53. DOI: 10.1016/j.radonc.2020.11.018
3. Маслов А.А., Чалхахян Л.Х., Малинин С.А. и др. 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. Maslov A.A., Chalkhakhian L.H., Malinin S.A. et al. Gene copy number in patients with colorectal cancer as a marker of clinical outcome of the disease and response to therapy. Yuzhno-rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal = South Russian Journal of Oncology 2022;3(2):52–64. (In Russ.).
4. Hastings P.J., Lupski J.R., Rosenberg S.M., Ira G. Mechanisms of change in gene copy number. Nat Rev Genet 2009;10(8):551–64. DOI: 10.1038/nrg2593
5. Steele C.D., Abbasi A., Islam S.M.A. et al. Signatures of copy number alterations in human cancer. Nature 2022;606(7916):984–91. DOI: 10.1038/s41586-022-04738-6
6. Wallace D.C. Mitochondria and cancer. Nat Rev Cancer 2012;12(10):685–98. DOI: 10.1038/nrc3365
7. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С. и др. Копийность генов *GSTP1*, *NFKB1* и локуса HV2 митохондриальной ДНК при некоторых гистологических типах рака желудка. Успехи современного естествознания 2015;1–6:918–21. Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Kutilin D.S. et al. Copy number of *GSTP1*, *NFKB1* genes and mitochondrial DNA HV2 locus in some histological types of stomach cancer. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in Modern Natural Sciences 2015;1–6:918–21. (In Russ.).
8. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А. и др. Изменение относительной копийности генетических локусов во внеклеточной ДНК у пациентов с аденокарциномой легкого. Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки 2017;3:74–83.

Kutilin D.S., Airapetova T.G., Anistratov P.A. et al. Changes in the relative copy number of genetic loci in extracellular DNA in patients with adenocarcinoma of the lung. Izvestiya vuzov. Severo-Kavkazskiy region. Estestvennye nauki = University News. North Caucasus Region. Natural Sciences 2017;3:74–83. (In Russ.).

9. Xu Y., Zhou J., Yuan Q. et al. Quantitative detection of circulating MT-ND1 as a potential biomarker for colorectal cancer. Bosn J Basic Med Sci 2021;21(5):577–86. DOI: 10.17305/bjbms.2021.5576
10. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярные подтипы серозной аденокарциномы яичника и выживаемость пациенток. Онкогинекология 2022;4(44):14–24. DOI: 10.52313/22278710_2022_4_4
Tsandekova M.R., Porkhanova N.V., Kutilin D.S. Molecular subtypes of ovarian serous adenocarcinoma and patient survival. Onkoginekologiya = Oncogynecology 2022;4(44):14–24. (In Russ.). DOI: 10.52313/22278710_2022_4_4
11. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. и др. Особенности копийности митохондриальных генов и транскриптов микроРНК в плазме крови больных аденокарциномой эндометрия и миомой. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(1):76–83. DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-1-76-8
Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V. et al. Features of mitochondrial genes copy numbers and microRNA transcripts in endometrial adenocarcinoma and fibroids patients blood plasma. uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2025;12(1):76–83. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2025-12-1-76-8
12. Кутилин Д.С., Франциянц Е.М., Нескубина И.В. и др. Особенности копийности генов, регулирующих функционирование митохондрий, у больных раком тела матки с сахарным диабетом 2 типа. Современные проблемы науки и образования 2025;5. DOI: 10.17513/spno.34316
Kutilin D.S., Frantsians E.M., Neskubina I.V. et al. Features of gene copy number regulating the functioning of mitochondria in patients with uterine body cancer with type 2 diabetes mellitus. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education 2025;5. (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.34316
13. Кутилин Д.С., Кечерюкова М.М. От биоинформационного скрининга генетических маркеров к малоинвазивной диагностике метастазов в лимфатических узлах у пациенток с раком шейки матки. Казанский медицинский журнал 2022;103(5):725–36. DOI: 10.17816/KMJ2022-725
Kutilin D.S., Kecheryukova M.M. From bioinformatics screening of genetic markers to minimally invasive diagnosis of lymph node metastases in patients with cervical cancer. Kazanskiy medicinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal 2022;103(5):725–36. DOI: 10.17816/KMJ2022-725
14. Xu Y.C., Su J., Zhou J.J. et al. Roles of *MT-ND1* in cancer. Curr Med Sci 2023;43(5):869–78. DOI: 10.1007/s11596-023-2771-0
15. Cameron S.L., Yoshizawa K., Mizukoshi A. et al. Mitochondrial genome deletions and minicircles are common in lice (Insecta: Phthiraptera). BMC Genomics 2011;12:394. DOI: 10.1186/1471-2164-12-394
16. Kang S., Kim Y. Current unveiling key research trends in endometrial cancer. Healthcare 2025;13(13):1567. DOI: 10.3390/healthcare13131567
17. Njomen E., Evans H.G., Gedara S.H., Heyl D.L. Humanin peptide binds to insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP3) and regulates its interaction with importin-β. Protein Pept Lett 2015;22(10):869–76. DOI: 10.2174/0929866522666150728114955
18. Uhler J.P., Thörn C., Nicholls T.J. et al. MGME1 processes flaps into ligatable nicks in concert with DNA polymerase γ during mtDNA replication. Nucleic Acids Res 2016;44(12):5861–71. DOI: 10.1093/nar/gkw468

Благодарность. Исследование выполнено с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (регистрационный номер 3554742; https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/).

Acknowledgment. The study was performed using scientific equipment from the Center for Collective Use of the the National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (registration number 3554742; https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/).

Вклад авторов

Д.С. Кутилин: выполнение полимеразной цепной реакции, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи;
Е.М. Франциянц: идея, разработка методологии и дизайна исследования;
И.В. Нескубина: сбор, анализ и интерпретация данных;
А.И. Шихлярова, В.А. Бандовкина: разработка дизайна исследования, научное редактирование;
П.С. Качесова: первичная обработка данных, выделение нуклеиновых кислот, научное редактирование;
Н.Д. Черярина: поиск и анализ литературы, подготовка аналитического обзора, анализ данных;
И.А. Удаленкова, А.П. Меньшенина, Е.А. Озеркова, Ю.С. Шатова, А.А. Овсянникова: сбор, анализ и интерпретация данных.

Authors' contributions

D.S. Kutilin: performing polymerase chain reaction, data analysis and interpretation, article writing;
E.M. Franciyants: the idea, development of methodology and design of research;
I.V. Neskubina: collection, analysis and interpretation of data;
A.I. Shikhlyarova, V.A. Bandovkina: research design development, scientific editing;
P.S. Kachesova: primary data processing, nucleic acid extraction, scientific editing;
N.D. Cheryarina: literature search and analysis, preparation of an analytical review, data analysis;
I.A. Udalenkova, A.P. Menshenina, E.A. Ozerkova, Yu.S. Shatov, A.A. Ovsyannikova: data collection, analysis and interpretation.

ORCID авторов / ORCID of authors

Д.С. Кутилин / D.S. Kutilin: https://orcid.org/0000-0002-8942-3733
Е.М. Франциянц / E.M. Frantsiyants: https://orcid.org/0000-0003-3618-6890
И.В. Нескубина/ I.V. Neskubina: https://orcid.org/0000-0002-7395-3086
А.И. Шихлярова / A.I. Shikhlyarova: https://orcid.org/0000-0003-2943-7655
В.А. Бандовкина / V.A. Bandovkina: https://orcid.org/0000-0002-2302-8271
П.С. Качесова / P.S. Kachesova: https://orcid.org/0000-0001-6928-5014
Н.Д. Черярина / N.D. Cheryarina: https://orcid.org/0000-0002-3711-8155
И.А. Удаленкова / I.A. Udalenkova: https://orcid.org/0000-0003-0075-6935
А.П. Меньшенина / A.P. Menshenina: https://orcid.org/0000-0002-7968-5078
Е.А. Озеркова / E.A. Ozerkova: https://orcid.org/0009-0005-8658-8902
Ю.С. Шатова / Yu.S. Shatova: https://orcid.org/0000-0002-1748-9186
А.А. Овсянникова / A.A. Ovsyannikova: https://orcid.org/0009-0000-3473-7770

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. This research was conducted without sponsorship.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики
Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (протокол № 22 от 05.09.2023).
Пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The protocol of the study was approved by the committee on biomedical ethics of the National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (protocol No. 22 dated 05.09.2023).
The patients signed an informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 27.04.2026. **Принята к публикации:** 10.07.2026. **Опубликована онлайн:** 18.09.2026.
Article submitted: 27.04.2026. **Accepted for publication:** 10.07.2026. **Published online:** 18.09.2026.