

**АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМУ RS3200401 ГЕНА ДОВГОЇ НЕКОДУЮЧОЇ РНК MALAT1 ІЗ РОЗВИТКОМ РАКУ СЕЧОВОГО МІХУРА***А. Д. Волкогон, Я. Д. Чумаченко, А. А. Рощупкін, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман*

Сумський державний університет, м. Суми, Україна

**Ключові слова:***алельний поліморфізм, довга некодуєча РНК MALAT1, рак сечового міхура.**Буковинський медичний вісник. Т.23, № 3 (91). С. 23-27.***DOI:***10.24061/2413-0737.XXIV.3.91.2019.57***E-mail:***volkogon\_andrei@ukr.net, yaroslavus.dm@gmail.com, transmitter@ukr.net, v.garbuzova@med.sumdu.edu.ua, ataman@med.sumdu.edu.ua***Мета роботи** — вивчення зв'язку rs3200401-поліморфізму гена довгої некодуєчої РНК MALAT1 із розвитком раку сечового міхура в популяції мешканців Сумської області.**Матеріал і методи.** У дослідженні використано цільну венозну кров 141 пацієнта із перехідноклітинним раком сечового міхура (ПКРПСМ) та 100 клінічно здорових осіб без онкологічних захворювань в анамнезі. Визначення розподілу алелів за rs3200401-локусом гена MALAT1 здійснювали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (Real-time PCR) із використанням 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, США) та Taq-Man Assays (TaqMan® SNP Assay C\_3246069\_10). Статистичне опрацювання отриманих даних проводили з використанням пакета SPSS (версія 17.0).**Результати.** Встановлена значуща відмінність частот генотипів та алелів за поліморфним сайтом rs3200401 гена MALAT1 між групою хворих на ПКРПСМ та контрольною групою ( $P = 0,025$  та  $P = 0,004$ , відповідно). Результати логістичної регресії показали, що ризик розвитку ПКРПСМ у носіїв мінорного Т-алеля менший, порівняно з гомозиготами СС ( $OR = 0,504$ ;  $P = 0,018$  — відповідно до домінантної моделі та  $OR = 0,534$ ;  $P = 0,045$  — відповідно до адитивної моделі).**Висновки.** Наведене дослідження є першим щодо пошуку асоціації rs3200401-сайту гена MALAT1 із настанням раку сечового міхура. Поліморфний локус rs3200401 пов'язаний із розвитком ПКРПСМ у популяції мешканців Сумської області. Носії мінорного Т-алеля мають менший ризик настання ПКРПСМ, порівняно із СС-гомозиготами.**Ключевые***слова: аллельный полиморфизм, длинная некодирующая РНК MALAT1, рак мочевого пузыря.**Буковинский медицинский вестник. Т.23, № 3 (91). С. 23-27.***АССОЦИАЦИЯ ПОЛІМОРФІЗМА RS3200401 ГЕНА ДЛИННОЙ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК MALAT1 С РАЗВИТИЕМ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ***А. Д. Волкогон, Я. Д. Чумаченко, А. А. Рощупкин, В. Ю. Гарбузова, А. В. Атаман***Цель работы** — изучение связи rs3200401-поліморфізма гена длинной некодирующей РНК MALAT1 с развитием рака мочевого пузыря в популяции жителей Сумской области.**Материал и методы.** В исследовании была использована цельная венозная кровь 141 пациента с переходноклеточным раком мочевого пузыря (ПКРМП) и 100 клинически здоровых лиц без онкологических заболеваний в анамнезе. Определение распределения аллелей по rs3200401-локусу гена MALAT1 осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (Real-time PCR) с использованием 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, США) и Taq-Man Assays (TaqMan® SNP Assay C\_3246069\_10). Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета SPSS (версия 17.0).**Результаты.** Установлено значимое различие частот генотипов и аллелей по полиморфному сайту rs3200401 гена MALAT1 между группой больных с ПКРМП и контрольной группой ( $P = 0,025$  и  $P = 0,004$ , соответственно). Результаты логистической регрессии показали, что риск развития ПКРМП у носителей мінорного Т-аллеля меньше, по сравнению с гомозиготами

## Оригінальні дослідження

CC ( $OR = 0,504$ ;  $P = 0,018$  — в соответствии с доминантной моделью и  $OR = 0,534$ ;  $P = 0,045$  — в соответствии с аддитивной моделью).

**Выводы.** Это исследование является первым касательно поиска ассоциации rs3200401-сайта гена MALAT1 с наступлением рака мочевого пузыря. Полиморфный локус rs3200401 связан с развитием ПКРМП в популяции жителей Сумской области. Носители минорного T-аллеля имеют меньший риск наступления ПКРМП по сравнению с CC-гомозиготами.

**Keywords:** allelic polymorphism, long non-coding RNA MALAT1, bladder cancer.

Bukovinian Medical Herald. V.23, № 3 (91). P. 23-27.

### ASSOCIATION BETWEEN RS3200401 LONG NON-CODING RNA MALAT1 GENE POLYMORPHISM AND BLADDER CANCER DEVELOPMENT

A.D. Volkohon, Ya.D. Chumachenko, A.A. Roshchupkin, V.Yu. Harbuzova, A.V. Ataman

**Objective:** to study the association between rs3200401 long non-coding RNA MALAT1 gene polymorphism and bladder cancer development in population of Sumy oblast.

**Material and methods.** Venous blood of 141 patients with transitional cell carcinoma of urinary bladder (TCCUB) and 100 clinically healthy subjects without any history of oncological diseases was used for the study. The determination of MALAT1 rs3200401 alleles distribution was carried out using Real-time PCR with 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA) and Taq-Man Assays (TaqMan® SNP Assay C\_3246069\_10). Processing of statistical data was performed using the SPSS package (Version 17.0).

**Results.** The significant difference of rs320040 MALAT1 gene polymorphic site genotypes and alleles frequencies between TCCUB patients and control group was established ( $P = 0.025$  and  $P = 0.004$ , respectively). The results of logistic regression revealed the minor T-allele carriers had lower risk of TCCUB development compared to CC-homozygous ( $OR = 0.504$ ;  $P = 0.018$  – according to the dominant model and  $OR = 0.534$ ;  $P = 0.045$  – according to the additive model).

**Conclusions.** This is the first study investigating the link between rs3200401 MALAT1 gene polymorphism and bladder cancer development. The rs3200401 locus is associated with TCCUB development in population of Sumy oblast. The minor T-allele carriers have the lower risk of TCCUB onset compared to CC-homozygotes.

**Вступ.** Використання високотехнологічних методів досліджень упродовж останнього десятиріччя дозволило поповнити молекулярну онкологію значною кількістю даних про важливу роль епігенетичних регуляторних механізмів у розвитку і прогресії пухлин. Особливе значення у цьому процесі належить довгим некодуючим РНК. З огляду на важливе значення у патогенезі і можливості клінічного використання, у вивченні раку уrogenітального тракту найбільша увага наукової спільноти сьогодні прикута до некодуючої РНК із назвою MALAT1.

MALAT1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) також відома як NEAT2 (noncoding nuclear-enriched abundant transcript 2) довга некодуюча РНК, що є висококонсервативною у ссавців і активно експресується у багатьох клітинах і тканинах організму (нирки, мозок, серце, щитоподібна залоза, надниркові залози, скелетні м'язи, яєчники, кишечник, легені, печінка, простата та ін.) [1]. Транскрипт гена MALAT1 уперше

описаний у 1997 році як  $\alpha$ -транскрипт при вивченні множинної ендокринної неоплазії типу 1 (MEN-1) [2]. У 2003 році MALAT1 виявлено як транскрипт, асоційований із метастазуванням у пацієнтів із ранньою стадією недрібноклітинного раку легенів [3]. Сьогодні вважають, що основною функцією MALAT1 є регуляція експресії генів, пов'язаних із метастазами [4]. Крім того, доведена його важлива роль у таких клітинних процесах, як альтернативний сплайсинг, ядерна організація та епігенетична модуляція експресії генів [5].

Ген MALAT1 знаходиться на 11-й хромосомі (11q13.1), містить 8708 пар основ та має 2 екзони [6]. На сьогодні відомо 5558 однонуклеотидних поліморфізмів гена MALAT1. Одним із найбільш вивчених у контексті розвитку раку є поліморфізм rs3200401. Колектив Wang J.-Z. et al. продемонстрував, що алель T за цим локусом асоційований із кращою виживаністю пацієнтів із раком легень [7]. А групою дослідників на чолі з Peng R. доведено, що жінки з генотипом CT

мають нижчий рівень ризику розвитку раку молочної залози [8]. Поряд з цим роботи щодо пошуку зв'язку поліморфних сайтів гена MALAT1 із ризиком розвитку пухлинних процесів уrogenітального тракту, зокрема раку сечового міхура, взагалі відсутні.

**Мета дослідження.** Дослідження асоціації rs3200401-поліморфного сайту гена довгої некодуєчої РНК MALAT1 із розвитком раку сечового міхура в популяції мешканців Сумської області.

**Матеріал і методи.** У дослідженні типу «випадок — контроль» використано цільну венозну кров 141 пацієнта із перехідноклітинним раком сечового міхура (ПКРСМ) (середній вік  $[\pm SD]$   $62,88 \pm 12,91$  року) та 100 клінічно здорових осіб без онкологічних захворювань в анамнезі (середній вік  $77,38 \pm 8,49$  року). Слід зауважити, що середній вік представників контрольної групи був значно вищим, ніж у пацієнтів із ПКРСМ. Така обставина дозволила підвищити надійність контролю, оскільки зменшувався ризик виникнення раку сечового міхура або будь-якого іншого онкологічного захворювання у представників цієї групи в подальших етапах їх життя.

Усі хворі перебували на лікуванні та/або спостереженні в Сумському обласному клінічному онкологічному диспансері з 2005 по 2016 рік. Остаточний морфологічний діагноз ПКРСМ встановлений згідно з рекомендаціями Європейської асоціації урологів. Усі пацієнти мали II клінічну стадію раку відповідно до TNM-класифікації злоякісних пухлин. Особи зі спадковими хворобами, хворобами нез'ясованої етіології та наявністю злоякісних пухлин іншої локалізації виключалися з дослідної групи.

Протокол дослідження затверджений Етичним комітетом Медичного інституту Сумського державного університету (№ 3/05.12.11) та відповідав Гельсінкській декларації. Від усіх учасників отримано письмову інформовану згоду.

Венозну кров для генотипування забирали у монорети об'ємом 2,7 мл із додаванням 11,7 мМ ЕДТА ("Sarstedt", Німеччина). Виділення ДНК із крові проводили із застосуванням наборів GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (ThermoFisher Scientific, США).

Визначення дискримінації алелів за локусом rs3200401 гена MALAT1 здійснено за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (Real-time PCR) із використанням 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, США) та Taq-Man Assays (TaqMan@SNP Assay C\_3246069\_10). Ампліфікація ділянки гена MALAT1, що містила поліморфний сайт rs3200401, складалася із 50 циклів: початкова денатурація — 95 °C (20 с), денатурація — 95 °C (30 с) гібридизація та елонгація — 60,0 °C (30 с). Аналіз отриманих даних проводили із використанням програмного забезпечення 7500 Fast Real-time PCR Software.

Математичне опрацювання отриманих даних проводили із використанням пакета SPSS (версія 17.0). З метою перевірки відповідності розподілу алелів

за rs3200401-локусом закону Харді-Вайнберга та для порівняння розподілу генотипів за вказаним поліморфним сайтом у групах порівняння застосовували  $\chi^2$ -критерій Пірсона. З метою встановлення ризику настання ПКРСМ залежно від конкретного генотипу розраховували відношення шансів (OR) та 95% довірчий інтервал (CI) у рамках домінантної, рецесивної, наддомінантної та адитивної моделей успадкування. Мультиваріабельна логістична регресія застосована з метою аналізу асоціації досліджуваного сайту гена MALAT1 із розвитком ПКРСМ в умовах поправки на стать пацієнтів, їх вік та наявність у них звички до паління. Усі тести були двосторонніми, значення  $P < 0,05$  вважали статистично значимим.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Генотипування пацієнтів із ПКРСМ та осіб групи контролю за rs3200401-локусом гена MALAT1 дозволило з'ясувати частоту, з якою траплялися алелі та генотипи за вказаним сайтом, перевірити відповідність закону Харді-Вайнберга та провести порівняльний аналіз між групами.

Встановлено, що у хворих на ПКРСМ співвідношення гомозигот СС, гетерозигот СТ і гомозигот ТТ становило 75,2%, 20,6% і 4,3%, а в групі порівняння — відповідно 59%, 32% та 9% (табл. 1). Наведений розподіл у групі із раком сечового міхура (частота мінорного алеля 0,15) та в контролі (частота мінорного алеля 0,25) не мав достовірних відхилень від очікуваних за законом Харді-Вайнберга ( $P = 0,143$ ). Поряд з цим була виявлена значима відмінність частот генотипів та алелів за поліморфним сайтом rs3200401 гена MALAT1 між групою хворих на ПКРСМ та контрольною групою ( $P = 0,025$  та  $P = 0,004$ , відповідно).

Наступним кроком дослідження став аналіз зв'язку окремих генотипів за поліморфізмом rs3200401 гена MALAT1 із ризиком настання раку сечового міхура (табл. 2). Результати бінарної логістичної регресії показали, що ризик розвитку ПКРСМ у носіїв мінорного алеля менший, порівняно із гомозиготами СС ( $OR_c = 0,475$ ; 95% CI = 0,274–0,825;  $P_c = 0,008$ ). Також у рамках наддомінантної та адитивної моделей успадкування встановлено, що в гетерозигот СТ ризик настання раку сечового міхура нижчий, ніж у СС-гомозигот ( $OR_c = 0,550$ ; 95% CI = 0,306–0,989;  $P_c = 0,046$  — відповідно до наддомінантної моделі;  $OR_c = 0,504$ ; 95% CI = 0,278–0,914;  $P_c = 0,024$  — відповідно до адитивної моделі). Після поправки на стать, вік пацієнтів та наявність у них звички палити статистично значущий зв'язок лишився лише в рамках домінантної ( $OR_p = 0,504$ ; 95% CI = 0,286–0,889;  $P_p = 0,018$ ) та адитивної ( $OR_p = 0,534$ ; 95% CI = 0,289–0,987;  $P_p = 0,045$ ) моделей успадкування.

На сьогодні відомо, що довга некодуєча РНК MALAT1 локалізується у ядерних параспеклах, що вказує на її причетність до процесингу мРНК [9]. Крім цього, експерименти із застосуванням генетичного нокауту також продемонстрували важливе значення MALAT1 для активації таких факторів сплайсингу,

## Оригінальні дослідження

Таблиця 1

Розподіл алелів та генотипів за rs3200401-поліморфізмом гена MALAT1 у пацієнтів із перехідноклітинним раком сечового міхура та в групі контролю

Генотип	ПКРСМ (n = 141)		Контроль (n = 100)		P <sub>HWE</sub>	P
	n	%	n	%		
Генотипи						
CC	106	75,2	59	59	–	0,025
CT	29	20,6	32	32		
TT	6	4,3	9	9		
Алелі						
C	241	85	150	75	0,143	0,004
T	41	15	50	25		

**Примітка:** n – кількість осіб у підгрупі; ПКРСМ – перехідноклітинний рак сечового міхура; P<sub>HWE</sub> – статистично значущість відмінностей розподілу алелів від рівноваги Харді-Вайнберга; P – статистично значущість відмінностей розподілу алелів та генотипів між групами порівняння.

Таблиця 2

Аналіз генотипної асоціації rs3200401-локусу гена MALAT1 із розвитком перехідноклітинного раку сечового міхура у рамках різних моделей успадкування

Модель	P <sub>c</sub>	OR <sub>c</sub> (95% CI)	P <sub>n</sub>	OR <sub>n</sub> (95% CI)
Домінантна	0,008	0,475 (0,274-0,825)	0,018	0,504 (0,286-0,889)
Рецесивна	0,142	0,449 (0,155-1,306)	0,179	0,471 (0,157-1,412)
Наддомінантна	0,046	0,550 (0,306-0,989)	0,077	0,579 (0,316-1,060)
Аддитивна <sup>a</sup>	0,072	0,371 (0,126-1,094)	0,103	0,397 (0,131-1,205)
	0,024	0,504 (0,278-0,914)	0,045	0,534 (0,289-0,987)

**Примітки:** 95% CI – 95% довірчий інтервал; P<sub>c</sub> – спостережене значення P (без поправки на коваріати); OR<sub>c</sub> – спостережене відношення шансів; P<sub>n</sub> – значення P після поправки на стать, вік та звичку палити; OR<sub>n</sub> – відношення шансів після поправки на коваріати.

<sup>a</sup>Перший рядок в адитивній моделі відображає порівняння TT-генотипу з CC-генотипом, другий рядок – порівняння CT-генотипу з CC-генотипом.

як SRF1 (Strubbelig-receptor family 1 protein) та SC35 (Serine/arginine-rich splicing factor SC35) [10].

Сутністю однонуклеотидного поліморфізму rs3200401 гена MALAT1 є заміна цитозину на тимін у 65504361-у положенні 11-ї хромосоми. Результати експериментальних досліджень показали, що така нуклеотидна заміна зумовлює наростання мінімальної вільної енергії молекули MALAT1, що, у свою чергу, змінює її просторову структуру та погіршує її взаємодію із фактором сплайсингу SC35 (Serine/arginine-rich splicing factor SC35) [7]. Порушення інтеракції між MALAT1 та SC35 призводить до інгібування сплайсингу пре-мРНК та експресії генів, причетних до метастазування пухлин.

Отримані в нашому дослідженні результати продемонстрували зв'язок між поліморфним локусом rs3200401 гена MALAT1 та розвитком раку сечового міхура серед пацієнтів Сумської області. Встановлено,

що ризик настання ПКРСМ в осіб, які є носіями мінорного Т-алеля, значно нижчий, ніж у гомозигот та основним С-алелем. Такі дані повною мірою збігаються з результатами робіт інших авторів, що займалися вивченням даної тематики. Як вже зазначалось, колективом R. Peng et al. показано, що в жінок із гетерозиготним СТ-генотипом за rs3200401-локусом ризик настання раку молочної залози значно менший, ніж в осіб жіночої статі, що є СС-гомозиготами [8]. А науковою групою J. Z. Wang et al. встановлено, що хворі з аденокарциною легень, які містять у своєму генотипі за локусом rs3200401 гена MALAT1 мінорний Т-алель, мають значно довшу медіану виживання, якщо порівнювати із хворими гомозиготами за основним С-алелем [7].

**Висновки**

1. Наведене дослідження є першим щодо пошуку асоціації rs3200401-сайту гена MALAT1 із настанням

раку сечового міхура як у вітчизняній популяції, так і в усьому світі.

2. Поліморфний локус rs3200401 гена MALAT1 пов'язаний із розвитком перехідноклітинного раку сечового міхура в мешканців Сумської області.

3. Носії мінорного Т-алеля мають менший ризик настання перехідноклітинного раку сечового міхура, порівняно з гомозиготами за основним С-алелем.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальша робота буде проводитись у напрямку вивчення ролі rs3200401-поліморфізму гена MALAT1 у розвитку інших онкологічних патологій сечостатевого тракту.

#### References:

1. Ulitsky I, Shkumatava A, Jan CH, Sive H, Bartel DP. Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic development despite rapid sequence evolution. *Cell*. 2011;147(7):1537–50.
2. Marx SJ. Molecular genetics of multiple endocrine neoplasia types 1 and 2. *Nat Rev Cancer*. 2005;5(5):367–75.
3. Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene*. 2003;22(39):8031–41.
4. Sun Y, Ma L. New Insights into Long Non-Coding RNA MALAT1 in Cancer and Metastasis. *Cancers*. 2019;11(2):E216.
5. Zhang X, Hamblin H, Yin KJ. The long noncoding RNA Malat1: Its physiological and pathophysiological functions. *RNA Biol*. 2017;14(12):1705–14.
6. Wu Y, Huang C, Meng X, Li J. Long Noncoding RNA MALAT1: Insights into its Biogenesis and Implications in Human Disease. *Curr Pharm Des*. 2015;21(34):5017–28.
7. Wang JZ, Xiang JJ, Wu LG, Bai YS, Chen ZW. A genetic variant in long non-coding RNA MALAT1 associated with survival outcome among patients with advanced lung adenocarcinoma: a survival cohort analysis. *BMC Cancer*. 2017;17(1):167.
8. Peng R, Luo C, Guo Q, Cao J, Yang Q. Association analyses of genetic variants in long non-coding RNA MALAT1 with breast cancer susceptibility and mRNA expression of MALAT1 in Chinese Han population. *Gene*. 2018;642:241–48.
9. Lin Y, Schmidt B, Bruchez M. Structural analyses of NEAT1 lincRNAs suggest long-range RNA interactions that may contribute to paraspeckle architecture. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(7):3742–52.
10. Tripathi V, Ellis J, Shen Z. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell*. 2010;39(6):925–38.

#### Відомості про авторів:

Волкогон Андрій Дмитрович — к. мед. н., асистент кафедри хірургії та онкології Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Чумаченко Ярослав Дмитрович — лаборант Наукової лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Рошупкін Антон Адріанович — студент 3-го курсу Медичного інституту Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Гарбузова Вікторія Юріївна — д. біол. н., проф., завідувач наукової лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

Атаман Олександр Васильович — д. мед. н., проф. кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету, м. Суми, Україна.

#### Сведения об авторах:

Волкогон Андрей Дмитриевич — к. мед. н., ассистент кафедры хирургии и онкологии Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Чумаченко Ярослав Дмитриевич — лаборант Научной лаборатории молекулярно-генетических исследований Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Рошупкин Антон Адрианович — студент 3-го курса Медицинского института Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Гарбузова Виктория Юрьевна — д. биол. н., проф., заведующая научной лабораторией молекулярно-генетических исследований Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

Атаман Александр Васильевич, д. мед. н., проф. кафедры физиологии и патофизиологии с курсом медицинской биологии Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина.

#### Information about the authors:

Volkohon Andrii Dmytrovych — PhD, Assistant Professor of Surgery and Oncology Department of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Chumachenko Yaroslav Dmytrovych — employee of the Scientific Laboratory of Molecular Genetic Studies of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Roshchupkin Anton Adrianovych — the 3rd year student of the Medical Institute of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Harbuzova Viktoriia Yuriivna — Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of Scientific Laboratory of Molecular Genetic Research of Sumy State University, Sumy, Ukraine.

Ataman Olexander Vasiliiovych — Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Physiology and Pathophysiology with Medical Biology Course of Sumy State University, Sumy, Ukraine

*Надійшла до редакції 10.04.2019*

*Рецензент — проф. Сидорчук Л.П.*

*© А. Д. Волкогон, Я. Д. Чумаченко, А. А. Рошупкін, В. Ю. Гарбузова, О. В. Атаман, 2019*