



¹ Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

³ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии

Молекулярные факторы опухолевой прогрессии при увеальной меланоме

С.В. Саакян^{1,2}, А.Ю. Цыганков², А.Г. Амирян¹, В.И. Логинов³,
А.М. Бурденный³

Адрес для переписки: Александр Юрьевич Цыганков, alextsygankov1986@yandex.ru

Цель – анализ мутаций в онкогенах *GNAQ* и *GNA11* и полиморфизма гена *ABCB1/MDR1*, их корреляции с клиническими и морфологическими характеристиками при первичной увеальной меланоме (УМ).

Материал и методы. Обследовано и пролечено 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин, соотношение 2:3) в возрасте 23–72 лет (средний возраст $52,5 \pm 9,1$ года) с первичной УМ. Во всех случаях проведена энуклеация с гистологически подтвержденным диагнозом УМ. Мутации в генах *GNAQ/GNA11* и полиморфизм гена *ABCB1/MDR1* определены на основании ПЦР-ПДРФ-анализа.

Результаты. В 27 (90%) из 30 образцов выявлены мутации в экзонах 4 и 5 генов *GNAQ/GNA11*. Частота мутаций в экзонах 4 и 5 гена *GNAQ* составила 40 и 16,7%, гена *GNA11* – 0 и 50% соответственно.

Показана статистически значимая ассоциация между частотой мутации глутамина в 209-м положении гена *GNAQ* и высокой отслойкой сетчатки (0,55 при $p < 0,05$). Частота мутации в экзоне 5 гена *GNA11* в опухоли веретенчатого типа в 2,8 раза выше по сравнению с эпителиоидно-клеточным типом. Аллель С полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* выявлен в 80% случаев. Частота предрасполагающего генотипа СС у больных УМ в четыре раза выше, чем в контрольной группе. Данный генотип ассоциирован с высоким риском развития УМ (относительный риск 8,5; $p = 7 \times 10^{-6}$). Установлена достоверная корреляционная связь частоты встречаемости генотипа СС полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* с высотой и степенью пигментации опухоли ($p = 0,0391$ и $p = 0,0381$), состоянием сосудов и эпителиоидно-клеточным/смешанно-клеточным типом УМ (0,0493 и 0,0569). Генотип ТТ у больных УМ не выявлен.

Заключение. Показана высокая частота мутаций в генах *GNAQ/GNA11* и ассоциация аллеля С полиморфного маркера С3435Т гена *ABCB1* с неблагоприятными клиническими и морфологическими вариантами УМ. Выявленные особенности могли бы быть использованы для разработки в ходе дальнейших исследований современных подходов к прогнозированию течения УМ, а также для скрининга пациентов, входящих в группу риска по данному заболеванию.

Ключевые слова: увеальная меланома, мутации, онкогены, *GNAQ*, *GNA11*, *ABCB1*, *MDR1*

Введение

Злокачественные внутриглазные опухоли меланоцитарного генеза представляют угрозу не только для зрения, но и для жизни пациента. Их частота достигает 15% общего числа меланом других локализаций. При этом частота увеальной мела-

номы (УМ) составляет 85–88% всех первичных внутриглазных злокачественных новообразований [1]. В России заболеваемость УМ колеблется от 6,23 до 8 человек на 1 млн взрослого населения в год [1]. В педиатрической популяции данный показатель значительно ниже [2].

УМ характеризуется агрессивным, прогрессирующим течением, высокой вероятностью метастазирования и летального исхода. Через пять лет у 50% пациентов с УМ после проведенного лечения диагностируют метастазы в печени [3, 4].



Поиску факторов прогноза течения опухолевого процесса при УМ в последние годы придается особое значение. Первыми были изучены клинические факторы. К ним относятся пол, возраст, расовая принадлежность, иммунологический статус, общий статус больного, сопутствующие заболевания, локализация и размеры опухоли [5, 6]. К сожалению, на текущий момент взаимосвязь многих из перечисленных факторов с УМ изучена недостаточно. Более чувствительны патоморфологические факторы: тип гистологического строения опухоли, степень инвазии склеры, прорастание за пределы фиброзной капсулы, характер и тип ангиогенеза, степень лимфоидной инфильтрации в строме опухоли, уровень пролиферативной активности клеток новообразования, размеры ядра и ядрышкового анализатора и т.д. [7].

Выявление молекулярно-генетических изменений при УМ представляется наиболее перспективным способом прогнозирования течения заболевания. На сегодняшний день накоплен большой опыт в изучении цитогенетических изменений при УМ [8–9, 11]. К наиболее характерным хромосомным перестройкам и нарушениям численности отдельных хромосом можно отнести потерю одной копии хромосомы 3 (моносомия 3), что коррелирует с увеличением размера опухоли, вовлеченностью цилиарного тела, наличием в опухоли эпителиоидных клеток, полей оранжевого пигмента на поверхности опухоли, а также наличием замкнутых сосудистых петель [8–11].

В УМ удалось выявить мутации онкогенов, характерные для кожных меланом, однако частота их встречаемости невелика. Например, мутации BRAF при УМ обнаруживают в 13% случаев. При кожных меланомах частота данных мутаций достигает 90% [12]. В последние годы выявлена мутация новых онкогенов GNAQ и GNA11 в ряде опухолевых процессов органа зрения. Частота обнаружения мутации при УМ, по данным разных

авторов, – 46–90% [13–15]. Роль полиморфизма гена ABCB1 при УМ изучена в единичных работах [16, 17].

Целью исследования стал анализ мутаций в онкогенах GNAQ и GNA11 и полиморфизма гена ABCB1/MDR1, их корреляции с клиническими и морфологическими характеристиками при первичной УМ.

Материал и методы исследования

Всего обследовано 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин, соотношение 2:3) в возрасте от 23 до 72 лет (средний возраст $52,5 \pm 9,1$ года). Высота опухоли – от 2,6 до 13,8 мм ($9,05 \pm 3,8$ мм), диаметр основания опухоли – от 8,2 до 21,9 мм ($15,4 \pm 5,6$ мм). Объектом изучения стали опухоли цилиохориоидальной области ($n = 5$ (16,7%)), хориоидеи ($n = 22$ (73,3%)) и иридоцилиохориоидальной области ($n = 3$ (10%)).

Из исследования были исключены больные с обострением хронических воспалительных процессов, аутоиммунными, наследственными и психическими заболеваниями. В качестве популяционного контроля при анализе полиморфизма гена ABCB1 использовали сопоставимую по половозрастным характеристикам выборку онкологически здоровых индивидуумов ($n = 60$).

Исследованы препараты ДНК, выделенные из образцов УМ, полученных при энуклеации пораженного глаза. Гистологическая

верификация опухоли проведена в отделе патологической анатомии и гистологии Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца. По гистологическому строению выделяли опухоли веретеноклеточного типа – 16 (53,3%) пациентов, смешанно-клеточного – девять (30%) и эпителиоидноклеточного – пять (16,7%) больных. ДНК из образцов свежесамороженной опухолевой ткани выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Выделенные образцы ДНК хранились при температуре -20°C .

Для выявления мутации в генах GNAQ и GNA11 использовали метод определения полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ, RFLP – restriction fragment length polymorphism). Нуклеотидные последовательности праймеров приведены в табл. 1. Идентификация аллелей полиморфного маркера C3435T (rs1045642) гена ABCB1 также осуществлялась на основании анализа ПЦР-ПДРФ. Для ПЦР использовали следующие олигонуклеотиды: ABCB-3435-F 5'-AGGTTTCACATCACCAAGATTC-3' и ABCB-3435-R 5'-TTCTCAGAAAGGAGTATGCCTTA-3'. ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 60 мМ Трис-HCl, pH 8,9, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 25 мМ KCl, 0,1%-ный Тритон X-100; 0,25 мМ каждого dNTP; 1–10 нг ДНК; 25 пмоль каждого праймера; 2,0 ед Taq-полимеразы («СибЭн-

Таблица 1. Характеристика праймеров и условий ПЦР-ПДРФ-анализа

Ген/экзон/ мутация	Структура праймеров	Тотж./Mg, мМ ¹	Фермент рестрикции ²	Алель, п.н.
GNAQ экзон 4 Arg183	F: CTTGCCTCTGGGGAGTATGA R: AAGCCTATCTTGTTTTGAAGCC	60/2	TaqI	Дикий: 357 и 145 Мутант: 334, 145, 23
GNAQ экзон 5 Gln209	F: TTTTCCCTAAGTTTGTAAAGTAGTGC R: CCCACACCCTACTTTCTATCATTTAC	60/2	Eco0109I	Дикий: 298 Мутант: 191, 107
GNA11 экзон 4 Arg183	F: GTGCTGTGTCCCTGTCCTG R: GGCAAATGAGCCTCTCAGTG	60/2	BstFNI	Дикий: 249 Мутант: 139, 110
GNA11 экзон 5 Gln209	F: GGTGGGAGCCGTCCTGGGAT R: GGCAGAGGGAATCAGAGGGGC	60/2	MspA1I	Дикий: 195, 98, 51 Мутант: 293, 51

¹ Состав буферного раствора: 67 мМ Трис-HCl, pH 9,3, 16,7 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,01% твин-20, 2,0 мМ MgCl₂.

² Ферменты рестрикции производства «СибЭнзим».

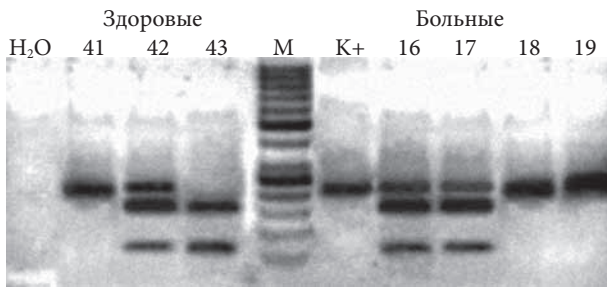


Рис. 1. Примеры анализа полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 в 10%-ном полиакриламидном геле: H₂O – отрицательный контроль (dd вода), K+ – образец до обработки рестриктазой, M – Lad 50 – маркер с шагом полос 50 п.н.

Таблица 2. Результаты исследования мутаций генов GNAQ и GNA11 в увеальных меланомах

№ случая	GNAQ Arg183Gln	GNAQ Gln209Leu	GNA11 Gln209Leu
1	–	–	Gln/Leu
2	–	Leu/Leu	Gln/Leu
3	–	–	Gln/Leu
4	–	–	Gln/Leu
5	–	–	Gln/Leu
6	–	Leu/Leu	–
7	Gln/Gln	–	–
8	Gln/Gln	–	–
9	Gln/Gln	–	–
10	Gln/Gln	–	–
11	–	–	Gln/Leu
12	–	–	Gln/Leu
13	–	–	Gln/Leu
14	–	–	Gln/Leu
15	–	–	Leu/Leu
16	–	–	Leu/Leu
17	–	–	Leu/Leu
18	–	–	Gln/Leu
19	–	–	–
20	–	Gln/Leu	–
21	Gln/Gln	–	–
22	Gln/Gln	–	Gln/Leu
23	Gln/Gln	Gln/Leu	Gln/Leu
24	Gln/Gln	–	–
25	Gln/Gln	–	–
26	Gln/Gln	–	–
27	Gln/Gln	–	–
28	Gln/Gln	Leu/Leu	–
29	–	–	–
30	–	–	–

Примечание. Прочерки в графах означают, что мутаций не обнаружено.

зим»); MgCl₂ в концентрации 2,0 мМ. Амплификацию (на амплификаторе Терцик, Россия) выполняли по следующей программе: 95 °С, 1 минута 30 секунд; 35 циклов 92 °С, 15 секунд; 60 °С, 20 секунд; 72 °С, 15 секунд; 72 °С, 1 минута 30 секунд. Далее амплифицированный фрагмент ДНК подвергали обработке соответствующей рестриктазой (табл. 1). Полноту расщепления ДНК рестриктазами проверяли путем расщепления 1 мкг фага лямбда за один час. Для продукта амплификации использовали трехкратное количество фермента.

Амплифицированный фрагмент ДНК гена ABCB1 подвергали обработке с использованием рестриктазы PstI («СибЭнзим») в термостате при температуре 50 °С в течение 16 часов. При наличии мутантного ТТ-генотипа амплифицируемый в ходе ПЦР фрагмент гена ABCB1 размером 206 п.н. гидролизует рестриктазой PstI на два фрагмента – 143 и 63 п.н. В гетерозиготном генотипе гена ABCB1-СТ присутствуют все три фрагмента.

Результаты ПДРФ анализировали электрофоретически в 10%-ном полиакриламидном геле с добавлением бромистого этидия (0,5 мкг/мл) и визуализацией в проходящем ультрафиолетовом свете (рис. 1). Статистический анализ проводили с использованием точного критерия Фишера. Расчеты осуществлялись в пакетах программ для Windows (Microsoft Excel, Statistica 6.0 RUS).

Результаты и их обсуждение

При ПДРФ-анализе 30 препаратов УМ-мутации в генах GNAQ и GNA11 были выявлены у 27 (90%) из 30 обследованных пациентов (табл. 2). Мутации в 5-м экзоне (Gln209) в гене GNAQ обнаружены у пяти (16,7%) пациентов, в гене GNA11 – у половины (50%).

В 4-м экзоне (Arg183) гена GNAQ у 12 (40%) обследованных пациентов зафиксированы гомозиготные мутации. В 4-м экзоне (Arg183) гена GNA11 мутаций не найдено. В 93% случаев (в 25 из 27) мутации глутамина в 209-м положении и аргинина в 183-м положении в генах GNAQ и GNA11 взаимоисключа-

ющие, то есть наличие одной мутации исключает наличие другой, что согласуется с данными литературы [13–15]. Примеры анализа мутаций приведены на рис. 2. В то же время, согласно данным литературы, частота мутаций в 5-м экзоне (Gln209) генов GNAQ и GNA11 составляет 45 и 32% соответственно, в 4-м экзоне (Arg183) для обоих генов ≈ 6% [13–15].

У трех пациентов из 27 выявлены одновременно две мутации. В случае мутации в паре GNAQ (Gln209)/GNA11 (Gln209) опухоль имела цилиохориоидальную локализацию. В другом случае при выявлении мутации в паре GNAQ (Arg183)/GNA11 (Gln209) опухоль имела смешанно-клеточный тип строения, у пациента присутствовалотягощенный семейный анамнез по онкологическим заболеваниям. В третьем случае при наличии мутаций в паре GNAQ (Arg183)/GNA11 (Gln209) опухоль располагалась в хориоидее и имела смешанно-клеточный тип строения. В одном случае удалось выявить три мутации в генах GNAQ (Arg183)/GNAQ (Gln209)/GNA11 (Gln209). У данного пациента опухоль располагалась также в хориоидее и имела веретенноклеточный тип строения.

По данным литературы, статистически значимых ассоциаций между мутациями в генах GNAQ и GNA11 при первичной УМ и клиническими (пол, возраст, высота и диаметр основания опухоли, пигментация), цитогенетическими или молекулярными параметрами не зафиксировано [13–15].

Нами проведена оценка ассоциаций между мутациями в генах GNAQ и GNA11 и клиническими параметрами опухоли, такими как локализация, размеры образования, наличие пигментации, гемофтальма, отслойки сетчатки, субретинального экссудата, видимых собственных сосудов, полей оранжевого пигмента, экстрабульбарного роста, а также гистологическим типом опухоли и наличиемотягощенного семейного анамнеза в отношении онкологической патологии у пациента. При этом удалось установить статистически значимую ассоциацию частоты му-



тации глутамина в 209-м положении гена GNAQ с высокой отслойкой сетчатки (4/11 против 1/19, $p = 0,0472$). В то же время с другими клиническими признаками значимых связей не зарегистрировано. По данным С.Д. Van Raamsdonk и соавт., мутации в генах GNAQ и GNA11 наиболее часто отмечаются в УМ эпителиоидно-клеточного и смешанно-клеточного типа по сравнению с веретенноклеточным типом. Однако подобная разница не носит статистически значимого характера [14]. В нашем исследовании частота мутации в экзоне 5 гена GNA11 в опухоли веретенноклеточного типа в 2,8 раза превышала таковую при эпителиоидно-клеточном типе (9/16 (56%) против 1/5 (20%)).

Учитывая, что веретенноклеточная УМ характеризуется более благоприятным течением по сравнению с эпителиоидно-клеточной и смешанно-клеточной, можно предположить, что выявление означенной мутации может свидетельствовать о более доброкачественном варианте течения УМ. Тем не менее данный вопрос сложный и многофакторный, требующий дальнейшего изучения.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 в контрольной группе и группе больных УМ представлено в табл. 3. В 80% случаев выявлен аллель С, что свидетельствует о высокой специфичности данного аллеля для УМ. При этом в опытной группе аллель С встре-

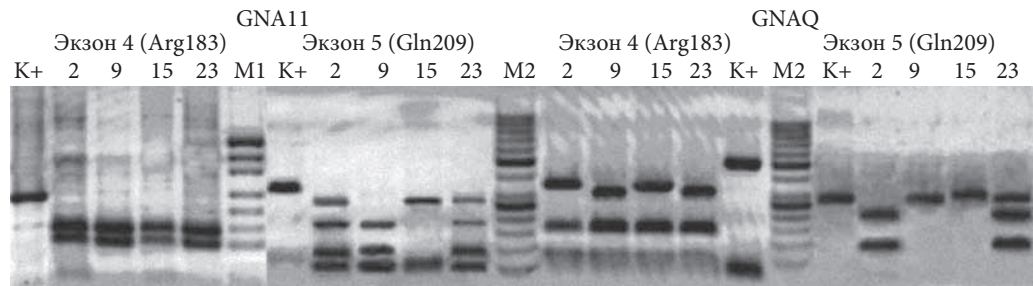


Рис. 2. Примеры анализа мутаций в экзонах 4 и 5 генов GNA11 и GNAQ. Электрофоретическое разделение в 2%-ном агарозном геле продуктов ПЦР-ПДРФ для образцов ДНК меланомы. К+ – образец до обработки рестриктазой, М1 – pUC19/MspI, М2 – Lad 50 – маркер с шагом полос 50 п.н.

Таблица 3. Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 среди больных увеальной меланомой

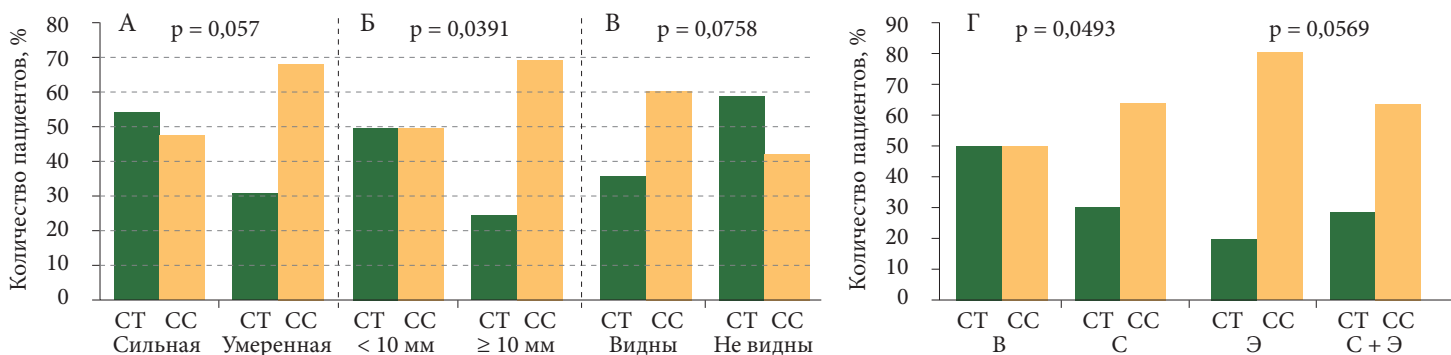
Ген	Аллель/генотип	УМ (n = 30)	Контроль (n = 60)	χ^2	p	Относительный риск		
						значение	95%-ный доверительный интервал	
ABCB1	Аллель	С	0,800	0,417	23,70	$1,0 \times 10^{-6}$	5,60	2,70–11,61
		Т	0,200	0,583			0,18	0,09–0,37
	Генотип	СС	0,600	0,150	23,73	$7,0 \times 10^{-6}$	8,50	3,07–23,52
		СТ	0,400	0,533			0,58	0,24–1,42
		ТТ	0,000	0,317			0,03	0,00–0,60

Примечание. Зеленым цветом выделены частоты предрасполагающих аллелей и генотипа и соответствующие им значения относительного риска.

чался почти в два раза чаще, чем в контрольной (80 против 41,7%). Показана достоверная ассоциация предрасполагающего генотипа СС-гена ABCB1 с риском развития УМ. Так, частота данного генотипа в группе больных оказалась в четыре раза выше, чем в группе контроля. Между тем генотип ТТ у больных не обнаружен. Ассоциация генотипа СТ с риском развития УМ отмечалась в 40% случаев от общего количества аллелей С.

Вместе с тем данная ассоциация не была значимой ($p > 0,05$). Таким образом, можно предположить, что наличие аллеля С является неблагоприятным фактором при развитии УМ, в то время как аллель Т можно рассматривать как благоприятный фактор.

Корреляция частот генотипов СТ и СС полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 с параметрами прогрессии УМ представлена на рис. 3.



Примечание. А – пигментация опухолей: с сильной исследовано 13 случаев, умеренной или отсутствием – 17. Б – высота опухолей: с высотой < 10 мм – 18 случаев, ≥ 10 мм – 12 случаев. В – состояние сосудов: видны – 23 случая, не видны – 7 случаев. Г – гистологическое строение: веретенноклеточный (В) тип – 16 случаев, смешанно-клеточный (С) – 9, эпителиоидно-клеточный (Э) – 5.

Рис. 3. Корреляция частот генотипов СТ и СС полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 с параметрами прогрессии увеальной меланомы



Выявлена значимая ассоциация генотипа СС полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 со степенью пигментации опухоли (с выраженной пигментацией исследовано 13 случаев, со слабой – 14, без пигментации – три) (диаграмма А, рис. 3). Частоты генотипов СТ и СС при выраженной пигментации опухоли значительно не отличались друг от друга и составили 52 и 46% соответственно. В случае умеренно выраженной пигментации или в ее отсутствие частота генотипа СС более чем в два раза превышала таковую для генотипа СТ (71% (12/17) против 29% (5/17)).

В настоящее время нет единого мнения о роли пигментации в опухолевом процессе при УМ, но большинство исследователей сходятся во мнении, что именно беспигментные и малопигментированные опухоли прогностически наиболее неблагоприятны [5]. В связи с этим наши данные могут свидетельствовать о большей злокачественности опухолей с генотипом СС.

Анализ распределения частот генотипов СС и СТ в зависимости от высоты опухоли показан на диаграмме Б (рис. 3). Исследованные опухоли были разделены на две группы: < 10 мм (n = 18) и ≥ 10 мм (n = 12). При этом частота генотипов СС и СТ в первой группе была одинаковой – 50% (по девять глаз в каждой группе). Во второй группе отмечалось трехкратное увеличение частоты генотипа СС по сравнению с генотипом СТ (75 и 25% соответственно), что свидетельствует о важной роли предрасполагающего генотипа СС гена ABCB1 в прогрессии УМ.

Выявлена также значимая ассоциация частот генотипов

СС и СТ с наличием видимых сосудов в опухоли (n = 23), что также принято считать относительно неблагоприятным прогностическим фактором (диаграмма В, рис. 3). При этом частота генотипа СС составила 65%, частота генотипа СТ – 35%. В семи случаях видимые собственные сосуды при офтальмоскопии не обнаружены, при этом частота генотипов СС и СТ отличалась незначительно – 42 и 58% соответственно.

При оценке ассоциации генотипов гена ABCB1 с различными гистологическими типами опухолей, такими как прогностически благоприятный веретеноклеточный (n = 16), менее благоприятный смешанно-клеточный (n = 9) и неблагоприятный эпителиоидно-клеточный (n = 5), смешанно-клеточный и эпителиоидно-клеточный типы были объединены в одну группу (диаграмма Г, рис. 3). Частота генотипов СС и СТ при веретеноклеточном типе опухоли не различалась – по 50% (по восемь глаз в каждой группе). В случае смешанно-клеточного типа опухоли частота генотипа СТ достигла 33% (три глаза). Частота генотипа СС была в два раза больше – 66% (шесть глаз). При эпителиоидно-клеточном типе опухоли разница была еще заметнее: частота генотипа СТ – 20% (один глаз), частота генотипа СС – 80% (четыре глаза). В объединенной группе с эпителиоидно-клеточным и смешанно-клеточным типом опухоли частота генотипа СТ составила 30%, генотипа СС – 70%.

Таким образом, показана неблагоприятная прогностическая значимость генотипа СС гена ABCB1 для развития УМ.

В одной из работ продемонстрирована возможность выявления

данных полиморфизмов в периферической крови, что в перспективе можно рассматривать в качестве потенциального скрининга по УМ для пациентов, входящих в группу риска по данному заболеванию, а также прогнозирования течения заболевания [18].

Заключение

В настоящей работе изучено распределение частот генотипов полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 и мутаций в онкогенах GNAQ и GNA11 с риском развития УМ и их связь с клинико-патоморфологическими параметрами УМ. Показана связь частоты мутаций в гене GNA11 с гистологическим типом опухоли. Выявлена ассоциация мутации в гене GNAQ с высокой отслойкой сетчатки. Определена статистически значимая ассоциация генотипа СС и ряда клинических (умеренная пигментация опухоли, высота опухоли и наличие видимых собственных сосудов) и патоморфологических (смешанно-клеточный и эпителиоидно-клеточный тип опухоли) факторов. В то же время наличие аллеля Т гена ABCB1, безусловно, свидетельствует об относительно благоприятном течении опухолевого процесса.

Полученные нами данные могут свидетельствовать о значимости генотипов полиморфного маркера С3435Т гена ABCB1 и онкогенов GNAQ и GNA11 в развитии УМ и их патогномичности для этой патологии. Выявленные особенности могли бы быть использованы для разработки в ходе дальнейших исследований современных подходов к прогнозированию течения УМ, а также для скрининга пациентов, входящих в группу риска по данному заболеванию. ☺

Литература

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. Руководство для врачей. М.: Медицина, 2002.
2. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю., Иванова О.А. Уvealная меланома у детей // Онкопедиатрия. 2015. Т. 2. № 3. С. 332–333.
3. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. и др. Клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические особенности uvealной меланомы с высоким риском метастазирования // Российский офтальмологический журнал. 2015. Т. 8. № 2. С. 47–52.
4. Саакян С.В., Цыганков А.Ю., Амирян А.Г. и др. Выживаемость при uvealной меланоме: роль молекулярно-генетических факторов // Вестник офтальмологии. 2016. Т. 132. № 1. С. 3–9.



5. Shields C.L. The hunts for the secrets of uveal melanoma // Clin. Exp. Ophthalmol. 2008. Vol. 36. № 3. С. 277–280.
6. Саакян С.В., Цыганков А.Ю., Амирян А.Г. Витальный прогноз у пациентов с увеальной меланомой цилиохориоидальной локализации // Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации «Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи». 2016. № 1–2. С. 20–23.
7. Цыганков А.Ю., Амирян А.Г., Саакян С.В. Роль патоморфологических и молекулярно-генетических факторов в развитии экстрабульбарного роста увеальной меланомы // Современные технологии в медицине. 2016. Т. 8. № 2. С. 76–83.
8. Rishi P., Koundanya V.V., Shields C.L. Using risk factors for detection and prognostication of uveal melanoma // Indian J. Ophthalmol. 2015. Vol. 63. № 2. P. 110–116.
9. Harbour J.W. Molecular prognostic testing and individualized patient care in uveal melanoma // Am. J. Ophthalmol. 2009. Vol. 148. № 6. P. 823–829.
10. Tschentscher F., Prescher G., Horsman D.E. et al. Partial deletions of the long and short arm of chromosome 3 point to two tumor suppressor genes in uveal melanoma // Cancer Res. 2001. Vol. 61. № 8. P. 3439–3442.
11. Minca E.C., Tubbs R.R., Portier B.P. et al. Genomic microarray analysis on formalin-fixed paraffin-embedded material for uveal melanoma prognostication // Cancer Genet. 2014. Vol. 207. № 7–8. P. 306–315.
12. Maat W., Kilic E., Luyten G.P. et al. Pyrophosphorolysis detects B-RAF mutations in primary uveal melanoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008. Vol. 49. № 1. P. 23–27.
13. Onken M.D., Worley L.A., Long M.D. et al. Oncogenic mutations in GNAQ occur early in uveal melanoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008. Vol. 49. № 12. P. 5230–5234.
14. Van Raamsdonk C.D., Bezrookove V., Green G. et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi // Nature. 2009. Vol. 457. № 7229. P. 599–602.
15. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. и др. Мутации в онкогенах GNAQ и GNA11 у больных увеальной меланомой // Молекулярная медицина. 2014. № 2. С. 34–37.
16. Landreville S., Agapova O.A., Kneass Z.T. et al. ABCB1 identifies a subpopulation of uveal melanoma cells with high metastatic propensity // Pigment Cell Melanoma Res. 2011. Vol. 24. № 3. P. 430–437.
17. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. и др. Ассоциация гена ABCB1 с риском развития увеальной меланомы // Архив патологии. 2014. Т. 76. № 2. С. 3–7.
18. Сычев Д.А., Игнатъев И.В., Раменская Г.В. и др. Значение полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин-Р, для индивидуализации фармакотерапии // Клиническая фармакология и терапия. 2005. Т. 14. № 1. С. 92–96.

Molecular Factors of Tumor Progression in Uveal Melanoma

S.V. Saakyan^{1,2}, A.Yu. Tsygankov², A.G. Amiryan¹, V.I. Loginov³, A.M. Burdenny³

¹ Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases

² A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

³ Research Institute of General Pathology and Pathophysiology

Contact person: Aleksandr Yuryevich Tsygankov, alextsygankov1986@yandex.ru

Objective – to analyze mutations in oncogenes GNAQ and GNA11 as well as polymorphism in gene ABCB1/MDR1, their correlation with clinical and morphological characteristics in primary uveal melanoma (UM).

Materials and methods. There were examined and treated 30 patients (12 males and 18 females, 2:3 ratio) aged 23–72 (average age 52.5 ± 9.1 years) with primary UM. In all cases, patients underwent enucleation with histologically confirmed diagnosis of UM. Mutations in genes GNAQ/GNA11 and polymorphism in gene ABCB1/MDR1 were assessed by using PCR-RFLP analysis.

Results. It was found that 27 (90%) out of 30 samples contained mutations in exon 4 and 5 of genes GNAQ/GNA11. Rate of mutations in exon 4 and 5 in gene GNAQ was 40 and 16.7%, in gene GNA11 – 0 and 50%, respectively. A significant association between rate of mutated glutamine at position 209 in gene GNAQ and high rate of retinal detachment (0.55 at $p < 0.05$) was found. Rate of mutations in exon 5 of gene GNA11 was found to be higher by 2.8-fold in spindle-cell vs. epithelioid type tumor. Allele C of polymorphic marker C3435T in gene ABCB1 was found in 80% cases. Rate of predisposing genotype CC in patients with UM vs. control group was higher by 4-fold. Such genotype was associated with high risk of developing UM (relative risk 8.5; $p = 7 \times 10^{-6}$). A significant correlation between incidence rate of CC genotype of polymorphic marker C3435T in gene ABCB1 and height and pigmentation degree of the tumor ($p = 0.0391$ and $p = 0.0381$) as well as condition of vascular vessels and epithelioid/mixed cell type of UM (0.0493 and 0.0569) was observed. TT genotype was not found in UUM patients.

Conclusions. High rate of mutations in genes GNAQ/GNA11 as well as association of allele C of polymorphic marker C3435T in gene ABCB1 with unfavorable clinical and morphological UM types were found. These data might be used in further studies for developing modern approaches for predicting course of UM as well as for screening UM risk group patients.

Key words: uveal melanoma, mutations, oncogenes, GNAQ, GNA11, ABCB1, MDR1

Онкология