

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-1-51-58>



Роль полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* в развитии начальной меланомы хориоидеи

С.В. Саакян¹, М.Р. Хлгатын¹, А.Ю. Цыганков¹, А.М. Бурденный², В.И. Логинов²

¹ ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

² ФГБУН «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАН, ул. Балтийская, д. 8, Москва, 125315, Россия

Цель работы — определить ассоциацию полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* с риском развития начальной меланомы хориоидеи (НМХ) и изучить частоту распределения генотипов полиморфного гена *ABCB1* у пациентов с НМХ. **Материал и методы.** В дизайне проспективного исследования обследовали 26 ранее не леченных пациентов с НМХ (7 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 32 до 80 лет (средний возраст — $59,0 \pm 14,3$ года). Всем пациентам проводили общеофтальмологические обследования и специальную инструментальную диагностику (ультразвуковое исследование, спектральную оптическую когерентную томографию, ОКТ-ангиографию). Монокулярная форма диагностирована у 25 (96 %) пациентов, бинокулярная форма — у 1 (4 %) пациента (всего 27 глаз). Материалом для исследования служила геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови пациентов с НМХ. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). **Результаты.** Показана статистически значимая ассоциация генотипа *CC* с риском развития НМХ и значимая связь генотипа *TT* гена *ABCB1* с низким риском развития опухоли. Выявлена достоверная ассоциация генотипа *CT* маркера *C3435T* гена *ABCB1* с наличием очагов оранжевого пигмента на поверхности опухоли и отягощенным онкологическим семейным анамнезом больных НМХ. **Заключение.** Выявленные результаты в перспективе можно использовать для разработки современных подходов к прогнозированию течения НМХ, а также для скрининга пациентов.

Ключевые слова: начальная меланома хориоидеи; молекулярно-генетическое исследование; ген *MDR1/ABCB1*

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования: Саакян С.В., Хлгатын М.Р., Цыганков А.Ю., Бурденный А.М., Логинов В.И.

Роль полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* в развитии начальной меланомы хориоидеи. Российский офтальмологический журнал. 2020; 13 (1): 51-8. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-1-51-58>

The role of the *C3435T* polymorphic marker of the *ABCB1* gene in the development of early choroidal melanoma

Svetlana V. Saakyan¹, Mariam R. Khlgatyan¹, Alexander Yu. Tsygankov¹, Alexey M. Burdennyi², Vitaly I. Loginov²

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St, Moscow, 105062, Russia

² Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8, Baltiyskaya St., Moscow, 125315, Russia
khlgtatyanmariam@yandex.ru

The aim of the work is to find out how the *ABCB1* *C3435T* polymorphism gene is associated with the risk of early choroidal melanoma (ECM) and to study the genotypes distribution frequency of the *ABCB1* polymorphic gene in ECM patients. **Material and methods.** The prospective study included 26 previously untreated ECM patients (7 men and 19 women) aged 32 to 80 (mean age 59.0 ± 14.3 years). All patients underwent general ophthalmological examinations and special instrumental diagnostics (ultrasound examination, spectral optical coherence tomography, OCT angiography). Monolateral ECM was diagnosed in 25 patients (96 %), bilateral ECM in 1 patient (4 %). In all, 27 eyes were affected. The material for the study was genomic DNA taken from peripheral blood leukocytes from patients with ECM. Genotyping was carried out using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis. **Results.** Significant associations were found between (1) the CC genotype and the risk of ECM and (2) between the TT genotype and a low risk of tumor development. A reliable association of the CT genotype of the *ABCB1* *C3435T* polymorphism gene with the presence of orange pigment on the tumoral surface and the familial cancer history of ECM patients was revealed. **Conclusion.** In the future, the obtained results can be used in the development of innovative approaches predicting the course of melanoma, and in patient screening.

Keywords: early choroidal melanoma; genetic research; *MDR1/ABCB1* gene

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Saakyan S.V., Khlgatyan M.R., Tsygankov A.Yu., Burdennyi A.M., Loginov V.I. The role of the *C3435T* polymorphic marker of the *ABCB1* gene in the development of early choroidal melanoma. Russian ophthalmological journal. 2020; 13 (1): 51-8 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-1-51-58>

Увеальная меланома (УМ) является злокачественной внутриглазной опухолью меланоцитарного генеза, которая несет угрозу для жизни пациента [1]. Среди меланом других локализаций частота заболеваемости УМ составляет 12–15 %, а доля УМ среди внутриглазных новообразований составляет 85–88 % [1]. По данным литературы, заболеваемость УМ в мире варьируется от 1 до 23 человек на 1 млн взрослого населения в год [2, 3]. По результатам исследований, проведенных Е. Кужала и соавт. [4], частота выявления начальной меланомы хориоидеи (НМХ) составляет 24 %, а выживаемость при 10-летнем наблюдении — 89 %. Вероятность метастазирования НМХ может достигать 12 % при 10-летнем наблюдении [5]. УМ является мультифактор-

ным заболеванием, в связи с этим поиску факторов прогноза уделяется большое значение [1–3]. В настоящее время основное внимание направлено на молекулярно-генетические факторы [6–11]. Накоплен значительный опыт изучения цитогенетических изменений, характерных для УМ [6–11]. Выявлена взаимосвязь между полной потерей (моносомией) копии хромосомы 3 в ткани опухоли с неблагоприятным витальным прогнозом [6–11]. Показано, что удвоение хромосомы 8q и перестройки в коротком плече хромосомы 1 ассоциированы с ускорением прогрессирования опухоли [12, 13]. Помимо хромосомных aberrаций, для УМ характерны специфические мутации в генах. Ключевыми из них являются *GNAQ*, *GNA11*, *PLCB4*, *CYSLTR2*, *SF3B1*, *EIF1AX*,

метилование промоторных районов гена *RASSF1A*, полиморфизм гена *ABCB1/MDR1*, мутации в гене *BAP1* и изменение экспрессии белка *BAP1* [8, 14]. Указанные молекулярно-генетические маркеры позволяют дифференцировать УМ от других первичных опухолей и прогнозировать течение опухолевого процесса [8]. Полиморфизм гена *ABCB1/MDR1* представляет особый интерес в связи с риском развития и прогностической значимостью УМ [15, 16]. Однако отсутствие исследований, направленных на изучение частоты распределения генотипов полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1/ABCB1* у пациентов с НМХ, а также ассоциации данного гена с риском развития НМХ диктуют необходимость изучения указанных взаимосвязей.

ЦЕЛЬ работы — определить ассоциацию полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* с риском развития НМХ и изучить частоту распределения генотипов полиморфного гена *ABCB1* у пациентов с НМХ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В дизайне проспективного исследования обследованы 26 ранее не леченных пациентов с НМХ (7 мужчин и 19 женщин) в возрасте от 32 до 80 лет (средний возраст — $59,0 \pm 14,3$ года). Диагноз «меланома хориоидеи» устанавливали на основании клинико-инструментального обследования: комплексного офтальмологического и ультразвукового исследования (УЗИ) (рис. 1), спектральной оптической когерентной томографии (СОКТ) (рис. 2), ОКТ-ангиографии (ОКТА) (рис. 3); магнитно-резонансной томографии органов брюшной полости с контрастированием и компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки для исключения отдаленных метастазов. Исследование проводили на многофункциональной ультразвуковой системе Voluson® 730Pro (General Electric, Healthcare, Германия). СОКТ с режимом улучшенного глубокого изображения (EDI) проводили на ретиноангиотомографе HRA+OCT (Heidelberg, Германия). ОКТА осуществляли с помощью OCT-Angiography Software for RS-3000 (Advance, Nidek, Япония) с применением алгоритма амплитудно-декорреляционной спектроскопии (SSADA) en face в режиме AngioRetina. Монокулярная форма диагностирована у 25 (96 %) пациентов, бинокулярная — у 1 (4 %) пациента (27 глаз). Опухоли имели центральную ($n = 13, 48 %$) или парацентральную ($n = 14, 52 %$) локализацию на глазном дне.

Офтальмоскопически опухоли были овальной формы, с нечеткими, неровными границами, неровной поверхностью (рис. 4). Очаги оранжевого пигмента на поверхности образований выявлены в 3 (11,1 %) случаях, сливные друзы — в 12 (44,4 %) случаях, субретинальная жидкость — в 4 (15 %) случаях, дистрофические изменения на поверхности образования — в 6 (22,2 %) случаях, экстрабуль-

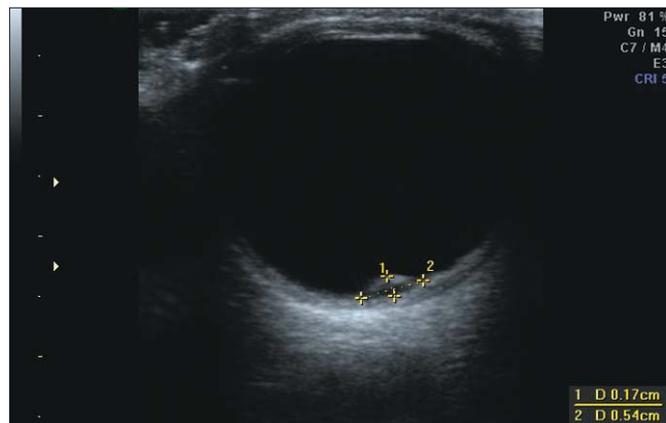


Рис. 1. Ультразвуковое исследование. Начальная меланома хориоидеи

Fig. 1. Ultrasound examination. Early choroidal melanoma

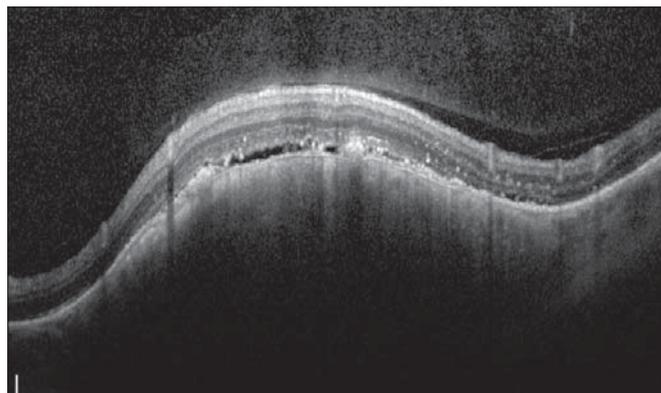


Рис. 2. Спектральная оптическая когерентная томография. Начальная меланома хориоидеи

Fig. 2. Spectral optical coherence tomography. Early choroidal melanoma

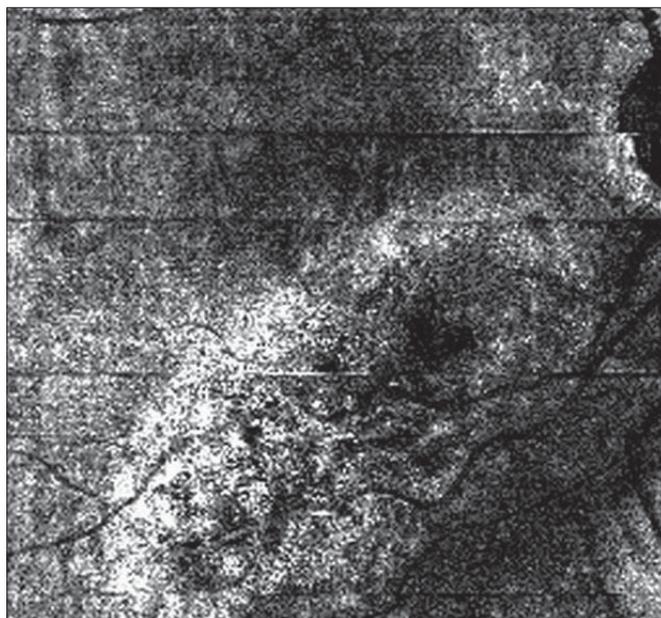


Рис. 3. Оптическая когерентная томография-ангиография. Начальная меланома хориоидеи

Fig. 3. Optical coherence tomography angiography. Early choroidal melanoma

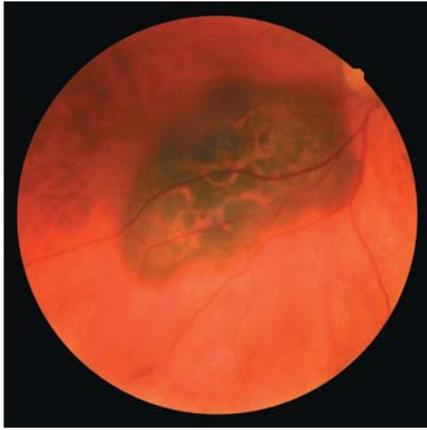


Рис. 4. Офтальмоскопия. Начальная меланома хориоидеи
Fig. 4. Ophthalmoscopy. Early choroidal melanoma

барный рост не был выявлен ни в одном случае. По степени пигментации выделяли пигментированные ($n = 19, 70\%$) и неравномерно пигментированные новообразования ($n = 8, 30\%$). По данным ультразвукового сканирования, проминенция (толщина) опухоли составила от 0,8 до 2,4 мм ($1,5 \pm 0,4$ мм), диаметр основания — от 4,0 до 10,2 мм ($7,5 \pm 1,7$ мм). В 30,7% случаев ($n = 8$) отмечали отягощение семейного анамнеза пациента онкологическими заболеваниями различных локализаций. Все клинико-инструментальные исследования проведены на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии НМИЦ ГБ им. Гельмгольца, молекулярно-генетическое исследование — на базе лаборатории патогеномики и транскриптомики НИИ общей патологии и патофизиологии. От всех больных получено добровольное информированное согласие на медицинские процедуры. В качестве популяционного контроля использовали выборку лиц без онкологических заболеваний, сопоставимую по возрасту и полу ($n = 60$).

Материалом исследования служила геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови с помощью протеиназы К с последующей фенольно-хлороформной экстракцией и осаждением этанолом. Выделенные образцы ДНК хранили при температуре -20°C . Идентификацию аллелей полиморфного маркера *C3435T* (rs1045642) гена *ABCB1* проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ).

Для ПЦР использовали олигонуклеотиды: ABCB-3435-F 5'-AGGTTTCACATCACCAAGATTCC-3', ABCB-3435-R 5'-TTCTCAGAAAGGAGTATGCCTTA-3'. ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 60 mM трис-HCl; pH 8,9, 10 mM 2-меркаптоэтанол, 25 mM KCl, 0,1% Triton X-100; 0,25 mM каждого dNTP; 1–10 нг ДНК; 25 пмоль каждого праймера; 0,5 ед. Taq-полимеразы («СибЭнзим»); MgCl₂ в концентрации 2 mM. Амплификацию проводили по следующей программе: $94^\circ\text{C} - 1$ мин 30 с;

35 циклов по $92^\circ\text{C} - 15$ с; $60^\circ\text{C} - 20$ с; $72^\circ\text{C} - 15$ с; $72^\circ\text{C} - 1$ мин 30 с — на амплификаторе «Терцик» (Россия). Далее амплифицированный фрагмент ДНК гена *ABCB1* подвергали обработке с использованием рестриктазы PstI («СибЭнзим») в термостате при 50°C в течение 16 ч. 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 3 фрагмента. Результаты ПДРФ анализировали электрофоретически в 10% полиакриламидном геле с добавлением бромистого этидия (0,5 мкг/мл) и визуализацией в проходящем УФ-свете (рис. 5).

Статистическую обработку результатов при оценке полиморфизма генов проводили с использованием закона генетического равновесия Харди — Вейнберга для аутосомных признаков. При сравнении частот встречаемости генотипов применяли точный критерий Фишера. Комплексную оценку

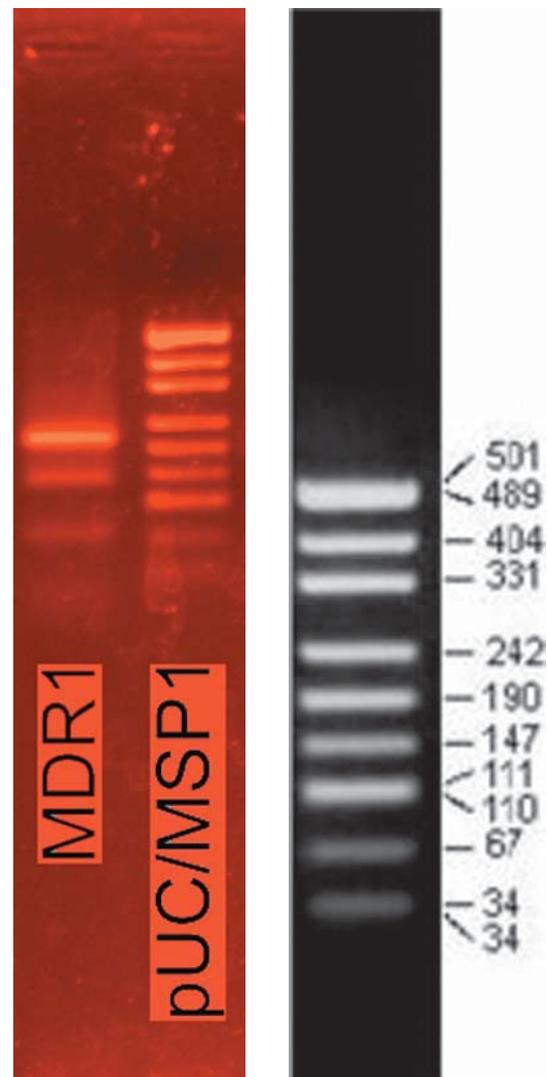


Рис. 5. Анализ полиморфного маркера гена *ABCB1*. 2%-ный агарозный гель
Fig. 5. Analysis of the *ABCB1* polymorphic gene. 2% agarose gel

связей между исследуемыми группами проводили с использованием логистической регрессии, определяя отношение шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом с уровнем значимости, равным 0,05. Проведен расчет среднего арифметического значения (M), стандартного отклонения от среднего арифметического значения (m_1), минимальных (min) и максимальных (max) значений, размаха вариации Rv (разность max-min). Расчеты проводили в пакетах программ для Windows (Microsoft Excel, Statistica 10.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота аллелей и генотипов полиморфного маркера C3435T гена ABCB1 в контрольной группе и группе больных с НМХ представлена в таблице 1.

При НМХ аллель С гена ABCB1 встречается чаще (69 %), чем в контрольной группе (31 %), что может свидетельствовать о высокой специфичности данного аллеля для пациентов с НМХ (OR = 3,15 (от 1,18 до 8,38), F = 0.033526, $\xi^2 = 5.51$). Показана также достоверно значимая ассоциация генотипа CC с высоким риском развития НМХ (46 % против 15 % в опытной и контрольной группах соответственно; OR = 4,86 (от 1,7 до 13,84), F = 0.005052, $\xi^2 = 9.54$).

Аллель Т гена ABCB1 в опытной группе выявлена в 31 % случаев, а в контрольной группе — в 58,3 %, при этом различие статистически значимо (OR = 0,32 (от 0,12 до 0,84), F = 0.033526, $\xi^2 = 5.51$), что может свидетельствовать о низкой специфичности данного аллеля для пациентов с НМХ. Выявлена достоверная ассоциация генотипа TT гена ABCB1 с низким риском развития опухоли (OR = 0,18 (от 0,04 до 0,84), F = 0.026742, $\xi^2 = 5.65$).

Генотип СТ полиморфного маркера C3435T гена ABCB1 отмечался в 46 % случаев, однако данная ассоциация не была значимой по сравнению с группой контроля (OR = 0,75 (от 0,3 до 1,89), F = 0.640416, $\xi^2 = 0.37$). Таким образом, можно предположить, что наличие аллеля С является неблагоприятным фактором при развитии НМХ, в то время как аллель Т можно рассматривать как относительно благоприятный фактор.

В настоящем исследовании проведена оценка ассоциаций полиморфизма гена ABCB1 в лейкоцитах периферической крови со следующими клинически-

ми характеристиками пациентов: пол, возраст, размеры опухоли (проминенция и диаметр основания), степень пигментации, наличие субретинального экссудата, друз, полей оранжевого пигмента, дистрофических изменений, экстрабульбарного роста. Учитывалось также наличие у пациентов отягощенного семейного онкологического анамнеза. Показана статистически значимая ассоциация генотипа СТ гена ABCB1 с наличием очагов оранжевого пигмента на поверхности образования и с отягощенным онкологическим семейным анамнезом больных НМХ. С другими клиническими признаками достоверных связей не выявлено. Подробный анализ ассоциации клинических признаков пациентов с генотипами гена ABCB1 приведен в таблице 2 (исследованные клинические признаки были разделены на 2 группы).

ОБСУЖДЕНИЕ

УМ — первичная злокачественная внутриглазная опухоль, которая характеризуется агрессивным течением и высоким риском метастазирования [1–3]. Офтальмоскопически НМХ представляет собой слегка проминирующее образование с неровными и нечеткими границами, с различной степенью пигментации, очагами оранжевого пигмента на поверхности образования, наличием друз и субретинальной жидкости [1]. Особое внимание уделяется симптому «полей оранжевого пигмента», который является признаком быстрой прогрессии опухоли [1, 17]. При первичном обследовании больных метастазы в печени диагностируют до 6,5 % случаев, однако в первые 3 года с момента постановки диагноза выявляют до 74 % метастазов [18]. По данным литературы, продолжительность жизни пациентов с метастатической болезнью (МБ) составляет в среднем менее года [19]. Низкая продолжительность жизни пациентов с МБ определяет необходимость более тщательного изучения клинических и молекулярно-генетических особенностей опухоли на начальных стадиях заболевания. Лечение УМ остается актуальной проблемой, так как меланома хориоидеи является химиорезистентной опухолью.

В клетках человека функционируют более 48 транспортных белков [20]. Наиболее изучаемым трансмембранным белком является Р-гликопротеин (от англ. permeability — проницаемость), который играет ключевую роль во множественной лекарственной резистентности злокачественных клеток [15, 20]. Р-гликопротеин относится к АТР-связывающим белкам (АТР — binding cassette, ABC), имеет молекулярную массу 170 кДа и состоит из 1280 остатков аминокислот, которые сгруппированы в две гомологичные половины [21, 22]. Данный белок кодируется

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов полиморфного маркера C3435T гена ABCB1 у пациентов с начальной меланомой хориоидеи (НМХ) и в контрольной группе
Table 1. The frequency of alleles and genotypes of the ABCB1 C3435T polymorphism gene in patients with early choroidal melanoma (ECM) and in control groups included in the study

Ген Gene			НМХ, % ECM, % n = 26	Контрольная группа, % Control group, % n = 60
ABCB1	Аллель Allele	C	69	41,7
		T	31	58,3
	Генотип Genotype	CC	46	15
		CT	46	53,3
	TT	8	31,7	

Таблица 2. Ассоциация клинических признаков пациентов с генотипами маркера *C3435T* гена *ABCB1*
Table 2. Association between clinical signs of patients and genotypes of the *ABCB1 C3435T* gene

Клинический признак Clinical sign	Генотип Genotype	OR	F	ξ^2
Пол/Gender мужчины/men 27 % женщины/women 73 %	CC	2,78 (0,43–18,04)	0.391304	1.19
	CT	0,74 (0,17–3,24)	0.714373	0.16
	TT	0,37 (0,02–6,72)	0.497354	0.48
Возраст, лет/Age, yrs < 59 (35 %) ≥ 59 (65 %)	CC	0,9 (0,18–4,56)	10 000 000	0.02
	CT	0,9 (0,18–4,56)	10 000 000	0.02
	TT	2 (0,11–36,31)	1.000000	0.23
Проминенция опухоли, мм/Tumor thickness, mm < 1,5 (41 %) ≥ 1,5 (59 %)	CC	1,07 (0,23–5,02)	1.000000	0.01
	CT	1,39 (0,29–6,61)	0.710444	0.17
	TT	0,43 (0,04–4,82)	0.623931	0.48
Диаметр основания опухоли, мм/The diameter of the tumor base, mm < 7,5 (41 %) ≥ 7,5 (59 %)	CC	2 (0,42–9,52)	0.451653	0.77
	CT	0,57 (0,12–2,75)	0.695966	0.49
	TT	0 (0–NAN1)	0.498575	1.49
Степень пигментации/Pigmentation degree пигментированные/pigmented 70 % неравномерно пигментированные/unevenly pigmented 30 %	CC	0,35 (0,06–1,93)	0.398067	1.5
	CT	3,33 (0,53–20,91)	0.235748	1.74
	TT	0,39 (0,02–7,11)	0.512820	0.43
Друзы/Druze 44,4 %	CC	0,44 (0,09–2,11)	0.440795	1.08
	CT	0,82 (0,18–3,78)	1.000000	0.07
	TT	–	0.188034	2.7
Субретинальная жидкость/Subretinal fluid 15 %	CC	1,3 (0,16–10,9)	0.999999	0.06
	CT	1,3 (0,16–10,9)	0.999999	0.06
	TT	0 (0–NAN1)	1.000000	0.38
Дистрофические изменения/Melanoma-associated retinopathy 22,2 %	CC	0,55 (0,08–3,68)	0.661835	0.39
	CT	1,33 (0,22–8,22)	0.999999	0.1
	TT	4 (0,21–75,66)	0.401709	0.96
Оранжевый пигмент/Orange pigment 11,1 %	CC	0,59 (0,05–7,43)	1.000000	0.17
	CT	14 (0,83–235,09)	0.097007	4.46
	TT	0 (0 до NAN1)	1.000000	0.27
Отягощенный онкологический семейный анамнез/ Familial cancer 30,7 %	CC	0,27 (0,04–1,7)	0.216384	2.08
	CT	6 (0,92–39,19)	0.089519	3.87
	TT	0 (0–NAN1)	0.999999	0.96

Примечание. Жирным шрифтом выделены достоверные ассоциации клинических признаков с генотипами гена *ABCB1*. NAN1 — «не-число».

Note. Reliable associations between clinical features and *ABCB1* gene genotypes are marked in bold. NAN1 — “Not-a-Number”.

геном *MDR1/ABCB1* (от англ. multidrug resistance gene — ген множественной лекарственной устойчивости) [15, 23]. Ген *MDR1/ABCB1*, расположенный на 7-й хромосоме, в локусе 7q21 (28-й экзон), впервые был исследован в клетках опухолей, обладающих лекарственной резистентностью [24]. Интерес к данному гену вызван его ролью в развитии множественной лекарственной устойчивости у больных раком молочной железы [25]. Как известно, ген *MDR1/ABCB1* характеризуется полиморфизмом [19]. Наиболее изучаемыми являются следующие аллельные полиморфные маркеры: *G2677T*, *G2677T/A* (21-го экзона), являющиеся структурными полиморфизмами, и *C3435T* (26-го экзона), *C1236T* (12-го экзона), влияющие на экспрессию гена *MDR1/ABCB1* [23, 26]. Особое внимание уделяется маркеру *C3435T* гена *ABCB1*. Полиморфный маркер *C3435T*

вызывает снижение экспрессии гена *MDR1* [27], что приводит к замедлению выведения лекарственных веществ. Маркер *C3534T* гена *ABCB1* представляет большой интерес для практической офтальмоонкологии в связи с оптимизацией лекарственной терапии пациентов с УМ. S. Landreville и соавт. [16] выявили, что усиление экспрессии гена *ABCB1* приводит к усилению роста метастатических клеток УМ. Авторы при изучении субпопуляции клеток отметили, что клетки, содержащие *ABCB1*-ген, обладали более высокой метастатической активностью, чем клетки, в которых отсутствовал данный ген.

С.В. Саакян и соавт. [15] впервые показали распределение частот генотипов полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* и их ассоциацию с клиничко-патоморфологическими характеристиками УМ больших размеров (умеренная пигментация опухоли, высота

опухоли и наличие видимых собственных сосудов, смешанно-клеточный и эпителиоидно-клеточный тип опухоли) и риском развития УМ. Было также отмечено, что наличие аллеля *T* гена *ABCB1* свидетельствует об относительно благоприятном течении опухолевого процесса, однако генотип *TT* полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1* не был выявлен [15]. В ходе нашего исследования мы подтвердили статистически значимую ассоциацию генотипа *CC* с риском развития НМХ и статистически значимую связь генотипа *TT* гена *ABCB1* с низким риском развития опухоли. В настоящем исследовании также выявлена статистически значимая ассоциация генотипа *CT* маркера *C3435T* гена *ABCB1* с наличием очагов оранжевого пигмента и отягощенным онкологическим семейным анамнезом больных НМХ.

Полученные результаты в перспективе можно использовать для разработки современных подходов к прогнозированию течения НМХ, а также для скрининга пациентов. По данным литературы, при 5-летнем ретроспективном анализе пациентов с УМ не удалось подтвердить ассоциацию генотипа *CC* гена *ABCB1* с неблагоприятным витальным прогнозом в связи с небольшой выборкой [9]. В нашем исследовании продолженный рост меланомы хориоидеи выявлен только у одного пациента с генотипом *CC* гена *ABCB1*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе впервые изучены: распределение частот генотипов полиморфного маркера *C3435T* гена *ABCB1*, риск развития НМХ и связь указанных изменений с клиническими факторами. Выявлена достоверная ассоциация генотипа *CC* с высоким риском развития НМХ и статистически значимая связь генотипа *TT* гена *ABCB1* с низким риском развития опухоли. Выявленные молекулярно-генетические особенности могут использоваться для дальнейших исследований по прогнозированию течения НМХ, а также в сравнительном аспекте с невисами хориоидеи.

Литература/References

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. Руководство для врачей. Москва: Медицина; 2002. [Brovkina A.F. Ophthalmooncology. A guide for physicians. Moscow: Meditsina; 2002 (in Russian)].
2. Lutz J.M., Cree I.M., Foss A.J. Risk factors for intraocular melanoma and occupational exposure. Br. J. Ophthalmol. 1999; 83 (10): 1190–3. doi: 10.1136/bjo.83.10.1190
3. Амирян А.Г., Саакян С.В. Факторы прогноза увеальной меланомы. Вестник офтальмологии. 2015; 1: 90–4. doi: 10.17116/oftalma2015131190-94 [Amiryani A.G., Saakyan S.V. Prognostic factors for uveal melanoma. Vestnik oftalmologii. 2015; 1: 90–4 (in Russian). doi: 10.17116/oftalma2015131190-94]
4. Kujala E., Damato B., Coupland S., et al. Staging of ciliary body and choroidal melanomas based on anatomic extent. J. Clin. Oncol. 2013; 31 (22): 2825–31. doi: 10.1200/JCO.2012.45.2771
5. Garcia-Arumi F.C., Peralta I.F., Garcia-Arumi J. Is optical coherence tomography angiography helpful in the differential diagnosis of choroidal nevus versus melanoma? European Journal of Ophthalmology. 2019; 1: 7–1. doi: 10.1177/1120672119851768
6. Саакян С.В., Цыганков А.Ю., Амирян А.Г. и др. Выживаемость при увеальной меланоме: роль молекулярно-генетических

факторов. Вестник офтальмологии. 2016; 132 (1): 3–9. doi: 10.17116/engoftalma20161321-1 [Saakyan S.V., Tsygankov A.Yu., Amiryani A.G., et al. Role of molecular and genetic factors in survival from uveal melanoma. Vestnik oftalmologii. 2016; 132 (1): 3–9 (in Russian). doi: 10.17116/engoftalma20161321-1]

7. Prescher G., Bornfeld N., Hirche H., et al. Prognostic implications of monosomy 3 in uveal melanoma. Lancet. 1996; 347: 1222–1225. doi: 10.1016/s0140-6736(96)90736-9
8. Нероев В.В., Саакян С.В., Амирян А.Г. и др. Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций. Альманах клинической медицины. 2018; 46 (4): 338–46. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-338-346 [Neroev V.V., Saakyan S.V., Amiryani A.G., et al. Long-term survival of uveal melanoma patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations. Almanach of Clinical Medicine. 2018; 46 (4): 338–46 (in Russian). doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-338-346]
9. Shields C.L., Ganguly A., Bianciotto C.G., et al. Prognosis of uveal melanoma in 500 cases using genetic testing of fine-needle aspiration biopsy specimens. Ophthalmology. 2011; 118: 396–401. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.05.023
10. Rishi P., Koundanya V.V., Shields C.L. Using risk factors for detection and prognostication of uveal melanoma. Indian J. Ophthalmol. 2015; 63 (2): 110–6. doi: 10.4103/0301-4738.154373
11. Dogrusöz M., Bagger M., van Duinen S.G., et al. The prognostic value of AJCC staging in uveal melanoma is enhanced by adding chromosome 3 and 8q status. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2017; 58 (2): 833–42. doi: 10.1167/iovs.16-20212
12. Singh A.D., Damato B., Howard P., et al. Uveal melanoma: genetic aspects. Ophthalmol. Clin. North Am. 2005; 18 (1): 85–97. doi: 10.1016/j.ohc.2004.08.004
13. Häusler T., Stang A., Anastassiou G., et al. Loss of heterozygosity of 1p in uveal melanomas with monosomy 3. Int. J. Cancer. 2005; 116 (6): 909–13. doi: 10.1002/ijc.21086
14. Drabarek W., Yavuziyigitoglu S., Obulkasim A., et al. Multimodality analysis improves survival prediction in enucleated uveal melanoma. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2019; 60 (1): 3595–605. doi: 10.1167/iovs.18-24818
15. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. и др. Ассоциация гена *ABCB1* с риском развития увеальной меланомы. Архив патологии. 2014; 2: 3–7. doi: 10.17116/oftalma2015131190-94 [Saakyan S.V., Amiryani A.G., Tsygankov A.Yu., et al. Association of the *ABCB1* gene with risk for uveal melanoma. Arkhiv Patologii. 2014; 2: 3–7 (in Russian). doi: 10.17116/oftalma2015131190-94]
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. 2011; 24 (3): 430–7. doi: 10.1111/j.1755-148X.2011.00841.x
17. Smith L.T., Irvine R. Diagnostic significance of orange pigment accumulation over choroidal tumors. Am. J. Ophthalmol. 1973; 76: 212–6.
18. Саакян С.В., Ширина Т.В. Анализ метастазирования и выживаемости больных увеальной меланомой. Опухоли головы и шеи. 2012; (2): 53–6. doi: 10.17650/2222-1468-2012-0-2-53-56 [Saakyan S.V., Shirina T.V. Analysis of metastases and survival rates in patients with uveal melanoma. Head and Neck Tumors (HNT). 2012; 2: 53–6 (in Russian). doi: 10.17650/2222-1468-2012-0-2-53-56]
19. Eskelin S., Pyyhonen S., Hakka-Kemppinen M., et al. A prognostic model and staging for metastatic uveal melanoma. Cancer. 2003; 97: 465–75. doi: 10.1002/cncr.11113
20. Белицкий Г.А., Лесовая Е.А., Кирсанов К.И. и др. Вторые первичные опухоли у онкологических больных: лекарственный канцерогенез в онкологии. Успехи молекулярной онкологии. 2016; 3 (3): 44–55. doi: 10.17650/2313-805X-2016-3-3-44-55 [Belitskiy G.A., Lesovaya E.A., Kirsanov K.I., et al. Second primary malignancies of cancer patients: treatment-related carcinogenesis. Advances in molecular oncology. 2016; 3 (3): 44–55 (in Russian). doi: 10.17650/2313-805X-2016-3-3-44-55]
21. Sharom F.J. The P-glycoprotein multidrug transporter. Essays Biochem. 2011; 50: 161–78. doi: 10.1042/bse0500161

22. *Боброва О.П., Шнайдер Н.А., Сычев Д.А. и др.* Значение полиморфизма гена MDR1 для индивидуализации анальгетической терапии в онкологии. Фармакогенетика и фармакогеномика. 2017; 1: 25–9. [Bobrova O.P., Shnyder N.A., Sychev D.A., et al. Pharmacogenetics and pharmacogenomics. The importance of MDR1 gene polymorphism for the individualization of analgesic therapy in oncology. 2017; 1: 25–9 (in Russian)]
23. *Сычев Д.А., Игнатьев И.В., Раменская Г.В. и др.* Значение полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин-P, для индивидуализации фармакотерапии. Клиническая фармакология и терапия. 2005; 14 (1): 92–6. [Sychev D.A., Ignat'ev I.V., Ramenskaya G.V., et al. The importance of the MDR1 gene polymorphism encoding glycoprotein-P for individualization of pharmacotherapy. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya. 2005; 14 (1): 92–6 (in Russian)].
24. *Takane H., Kobayashi D., Hirota T., et al.* Haplotype-oriented genetic analysis and functional assessment of promoter variants in the MDR1 (ABCB1) gene. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004; 311 (3): 1179–87. doi: 10.1124/jpet.104.069724
25. *Ставровская А.А., Генс Г.П.* Новое в изучении множественной лекарственной устойчивости клеток рака молочной железы. Успехи молекулярной онкологии. 2015; 2 (1): 039–051. doi: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.039–051 [Stavrovskaya A.A., Guens G.P. News in the studies of multidrug resistance of breast cancer cells. Advances in molecular oncology. 2015; 2 (1): 039–051 (in Russian). doi: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.039–051]
26. *Woodahl E.L., Ho R.J.* The role of MDR1 genetic polymorphisms in interindividual variability in P-glycoprotein expression and function. 2004; 5 (1): 9–11.
27. *Marzolini C., Paus E., Buclin T., et al.* Polymorphisms in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. Clin. Pharmacol. Ther. 2004; 75 (1): 13–33. doi:10.1016/j.cpt.2003.09.012

Вклад авторов в работу: С.В. Саакян, А.Ю. Цыганков, В. И. Логинов — концепция и дизайн исследования, М.Р. Хлгатян, А.Ю. Цыганков, А.М. Бурденный — сбор и обработка материала, М.Р. Хлгатян, А.Ю. Цыганков — статистическая обработка данных, М.Р. Хлгатян, А.М. Бурденный — написание текста, С.В. Саакян, А.Ю. Цыганков — редактирование

Поступила: 31.08.2019

Переработана: 11.09.2019

Принята к печати: 13.09.2019

Originally received: 31.08.2019

Final revision: 11.09.2019

Accepted: 13.09.2019

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ/INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Светлана Владимировна Саакян, д-р мед. наук, профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии

Мариам Рубеновна Хлгатян, аспирант отдела офтальмоонкологии и радиологии

Александр Юрьевич Цыганков, канд. мед. наук, младший научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии

ФГБУН «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАН, ул. Балтийская, д. 8, Москва, 125315, Россия

Алексей Михайлович Бурденный, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики

Виталий Игоревич Логинов, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики

Для контактов: Мариам Рубеновна Хлгатян, khlgatyanmariam@yandex.ru;

Александр Юрьевич Цыганков, alextsygankov1986@yandex.ru

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya Chernogryazskaya, Moscow, 105062, Russia

Svetlana V. Saakyan, Dr. of Med. Sci., Professor, head of ocular oncology and radiology department

Mariam R. Khlgatyan, Ph D student, ocular oncology and radiology department

Alexander Yu. Tsygankov, Cand. of Med. Sci., researcher, ocular oncology and radiology department

Institute of General Pathology and Pathophysiology of Russian Academy of Sciences, 8, Baltiyskaya, Moscow, 125315, Russia

Alexey M. Burdennyi, Cand. of Biol. Sci., senior researcher, laboratory of pathogenomics and transcriptomics

Vitaliy I. Loginov, Cand. of Biol. Sci., leading researcher, laboratory of pathogenomics and transcriptomics

Contact information: Mariam R. Khlgatyan,

khlgatyanmariam@yandex.ru;

Alexander Yu. Tsygankov,

alextsygankov1986@yandex.ru