

# ГРАНУЛЕЗОКЛЕТОЧНЫЕ ОПУХОЛИ ЯИЧНИКОВ: ПЕРВЫЕ ШАГИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**А. М. Бейшембаев<sup>1</sup>, Н. И. Поспехова<sup>2</sup>, А. М. Стroganova<sup>2</sup>, К. И. Жордания<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С. Б. Даниярова, г. Бишкек, Кыргызстан

<sup>2</sup> ФБГУ Национальный медицинский исследовательский центр имени Н. Н. Блохина, Москва

**Цель исследования.** Определение роли гена *FOXL2* в клиническом течении и прогнозе у больных гранулезоклеточными опухолями яичников.

**Материалы и методы.** В исследование были включены пациентки с гистологически верифицированным диагнозом гранулезоклеточной опухоли, принимавших лечение в НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина с 2015 по 2020 г. Гистологический материал получен от 36 пациенток. Методом прямого секвенирования (генетический анализатор ABI 3500) определяли наличие мутации *p.C134W* в гене *FOXL2*. В шести случаях из-за сильной фрагментации ДНК не удалось получить удовлетворительный результат, в связи с чем в анализ данные не включили. Таким образом, проанализированы 30 случаев. Этапы исследования: 1) выделение ДНК из опухолевого материала; 2) проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР); 3) проведение прямого секвенирования по методу Сэнгера.

**Результаты исследования.** Установлено, что мутация *p.C134W* в гене *FOXL2* значительно реже встречается в ГКО на ранних (I A, B) и «условно ранних» (IC) стадиях заболевания. С другой стороны, при наличии мутации и при более продвинутых стадиях процесса рецидивы отмечались чаще: в 75 % случаев против 50 % наблюдений при отсутствии мутации, что в сочетании с некробиозом опухоли ухудшало прогноз заболевания.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют констатировать, что мутация *p.C134W* в гене *FOXL2* при гранулезоклеточных опухолях играет значительную роль в течении заболевания и его прогнозе.

**Ключевые слова:** гранулезоклеточная опухоль яичников (ГКО), *FOXL2*, *TERT*, *TP53*, *KMT2D*, *AKT1*, *SIRT1*, *RUNX1*, молекулярные маркеры

## GRANULOSA CELL TUMORS OF THE OVARIES: THE FIRST STEPS OF MOLECULAR GENETIC RESEARCH

**A. M. Beyshembaiy<sup>1</sup>, N. I. Pospekhova<sup>2</sup>, A. M. Stroganova<sup>2</sup>, K. I. Zhordania**

<sup>1</sup> Kyrgyz State Medical University of Retraining and Advanced Training named after S. B. Daniyarov, Bishkek, Kyrgyz Republic

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Institution N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

**Objective of the study:** To determine the role of *FOXL2* gene in the clinical course and prognosis in patients with granulosa cell tumors of the ovaries.

**Materials and Methods.** The study comprised the patients with histologically verified diagnosis of granulosa cell tumor, who had undergone treatment at N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology for the period from 2015 to 2020. Histological samples were obtained from 36 patients. The presence of *p.C134W* mutation in *FOXL2* gene was assessed using direct sequencing method (ABI 3500 Genetic Analyzer). In 6 cases, due to a severe level of DNA fragmentation, a satisfactory result could not be obtained, and therefore the data was not included in the analysis. Thus, 30 cases were further analyzed. The study included the following stages: 1. DNA extraction from tumor cytology material. 2. Carrying out polymerase chain reaction (PCR). 3. Performing direct sequencing using Sanger sequencing method.

**Results of the study.** It was established that *p.C134W* mutation in *FOXL2* gene is significantly less common in granulosa cell tumors (GCTs) at early (I A, B) and “conditionally early” (IC) stages of the disease. Conversely, relapses were obser-

ved more frequently in the presence of the mutations and at more advanced stages of the process: in 75 % of cases versus 50 % of observations without mutations, which in conjunction with tumor necrobiosis, worsened the prognosis.

**Conclusion.** The obtained results allow to conclude, that p.C134W mutation in *FOXL2* gene in granulosa cell tumors contributes significantly to the course of the disease and its prognosis.

**Keywords:** granulosa cell tumor of the ovaries (GCT), *FOXL2*, *TERT*, *TP53*, *KMT2D*, *AKT1*, *SIRT1*, *RUNX1*, molecular markers

### Введение

Гранулезоклеточные опухоли (ГКО) яичников — достаточно редкий подтип опухолей полового тяжа, обладающий уникальными молекулярными и клиническими характеристиками. На стромальноклеточные опухоли яичников (СКОЯ), к которым относится ГКО, приходится относительно малое количество всех злокачественных новообразований яичников — всего 3–5 %, при этом они занимают лидирующую позицию среди гормон-секретирующих новообразований. Прогноз при неоплазиях, продуцирующих гормоны, относительно благоприятный, т. к., во-первых, они достаточно высоко дифференцированы, во-вторых, их гормональная активность провоцирует типичные клинические симптомы уже на ранних стадиях процесса. Не менее интересной особенностью стромально-клеточных опухолей являются достаточно длительные периоды ремиссий после проведенного хирургического лечения. Однако заболевание на поздних стадиях и рецидивах остается серьезной проблемой для онкологов, поскольку его лечение не дает удовлетворительных результатов. Одну из основ патогенеза составляют мутации в гене *FOXL2*, участвующие в регуляции апоптоза, гормонального фона и клеточной пролиферации. Литературы, посвященной этому направлению, крайне мало. В настоящей статье представлены результаты мировых молекулярно-генетических исследований, связанных с развитием, прогрессированием и возможным прогнозом ГКО, а также собственные результаты проведенных молекулярно-генетических исследований.

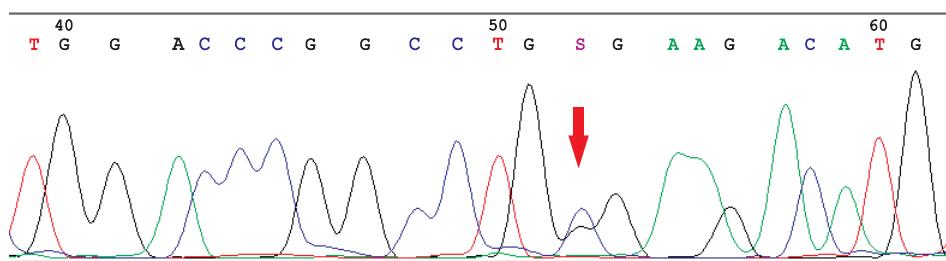
Гранулезоклеточные опухоли яичников относятся к опухолям полового тяжа и составляют 2–5 % всех злокачественных новообразований яичников. В большинстве случаев ГКО диагностируются у женщин в возрасте 45–55 лет, характеризуются медленным, но рецидивирующими течением. Благодаря развитию молекуляр-

ной генетики, удалось выявить специфические мутации, в первую очередь в гене *FOXL2* [1], что позволяет рассматривать ГКО как генетически детерминированное заболевание [2, 3, 4, 5, 6, 7]. Ниже перечислены некоторые наиболее известные мутации при ГКО яичников. ***FOXL2*** — транскрипционный фактор, играющий ключевую роль в развитии и функционировании гранулезных клеток. В более чем 95 % случаев взрослого типа ГКО обнаруживается соматическая мутация c.402C > G (p.C134W) в *FOXL2* [1, 2]. Эта мутация нарушает регуляцию апоптоза и активирует экспрессию ароматазы (CYP19A1), что способствует продукции эстрогенов и росту опухоли. Присутствие данной мутации высоко-специфично для ГКО и может использоваться как молекулярный диагностический маркер [8]. Недавние исследования показали, что мутантный белок *FOXL2* способен взаимодействовать с SMAD2/3 и SMAD4 [4], усиливая трансформацию и пролиферацию клеток опухоли [9]. С помощью методов CRISPR-Cas9 была подтверждена возможность таргетного ингибирования мутантного *FOXL2* как потенциального терапевтического подхода [10, 11].

***TERT*.** Мутации в промоторе теломеразы *TERT* (особенно C228T) обнаруживаются преимущественно в рецидивирующих опухолях [3, 12]. Они приводят к активации экспрессии теломеразы, что способствует клеточному бессмертию. Частота *TERT*-мутаций варьирует от 20 до 40 % при рецидивах, что делает их потенциальным прогностическим маркером агрессивности течения заболевания [13]. Существуют данные о когортах пациентов, у которых сочетание *FOXL2* и *TERT*-мутаций ассоциировалось с более высоким риском рецидива [14].

***TP53*, *KMT2D*.** Мутации в гене *TP53*, как правило, ассоциированы с более агрессивными и анапластическими формами ГКО, но встречаются крайне редко. В дополнение выявлены изменения в генах *KMT2D* (эпигенетический

## Опухоли придатков матки



**Рис. 1.** Образец с мутацией *p.C134W* в гене *FOXL2*

Примечание. Стрелкой указана нуклеотидная замена *c. 402C>G*

регулятор), *CDKN2A/B* (ингибиторы клеточного цикла), *MTAP* и *PIK3CA* [4, 6, 7, 15]. Эти изменения чаще ассоциируются с поздними стадиями или рецидивами, что может указывать на участие в опухолевой прогрессии [16, 17, 18]. Использование секвенирования нового поколения (WES и RNA-seq) позволило выделить новые возможные сигнальные пути, вовлеченные в патогенез ГКО, включая участие микроРНК, нарушающие регуляцию *FOXL2* [12].

***AKT1*.** Для ГКО характерна мутация в гене *AKT1* (*c.49G>A; p.E17K*), которая активирует PI3K/AKT-путь, способствуя пролиферации клеток [5]. У детей и подростков также описаны делеции *RUNX1*, мутации в генах NOTCH-сигнального каскада и увеличение экспрессии *SIRT1/3*, связанных с клеточной пластичностью и устойчивостью к терапии.

Далее мы приводим результаты нашего исследования по мутации *p.C134W* в гене *FOXL2* у больных гранулезолегочными опухолями,ключенными в работу.

### Анализ результатов с использованием программы Chromas

В процессе исследования пациентки были распределены на две основные подгруппы: мутации нет — шесть случаев (три с рецидивом, три без рецидива); мутация *p.C134W* есть — 24 случая (18 — с рецидивом, шесть — без рецидива).

В таблице 1 представлены данные по наличию мутации, стадиям заболевания и наличию рецидива заболевания.

Отметим, что в случае отсутствия мутации *p.C134W* в гене *FOXL2* большинство больных относились к группе с ранними (I A, B) и условно ранними (IC) стадиями заболевания — пять из шести (83,3 %), тогда как при наличии мутации первая стадия (I A, B, C) отмечена у восьми из 24 пациенток (33,3 %) ( $p = 0,028$ , критерий  $\chi^2$ ). У всех больных с III–IV стадиями заболевания в опухоли присутствовала мутация *p.C134W*.

В первой подгруппе больных (без мутаций) из шести случаев у трех (50 %) с ранними

Таблица 1

Характеристика пациентов по стадии заболевания, статусу гена *FOXL2* и наличию рецидива заболевания

Стадия процесса FIGO	Мутации нет	<i>p.C134W</i> (мутация есть)
	Абсолютное количество ( % )	Абсолютное количество ( % )
I A,B	3 (50 %) (рецидива нет)	6 (25 %) (рецидива нет)
IC	2 (37,5 %) (рецидив)	2 (8,3 %) (рецидив)
II A,B	1 (12,5 %) (рецидив)	6 (25 %) (рецидив)
III–IV		10 (46,7 %) (рецидив)
Итого:	6 (100,0 %)	24 (100,0 %)

стадиями (I A, B) не отмечено рецидива заболевания. У двух пациенток, которые были отнесены к группе так называемых условно ранних (IC стадия), отмечены рецидивы заболевания. У больных со II A, B стадией заболевания зарегистрирован только один случай рецидива заболевания при отсутствии мутации.

Во второй подгруппе (р.C134W — мутация есть) из 24 наблюдений в шести (25 %) случаях с ранними стадиями заболевания не отмечался рецидив, у двух пациенток из группы условно ранних стадий (IC) рецидивы были, все шесть случаев группы II (A, B) и все 10 больных группы III–IV стадий имели рецидив заболевания.

Также оценены корреляционные связи исследуемых мутаций и таких критериев, как наличие некробиотических нарушений в опухолях, влияние объемов хирургических операций и режимов лекарственного лечения. В случае проведения предоперационной химиотерапии эффективность лечения оценивалась по степени лечебного патоморфоза согласно шкале ВОЗ.

При однофакторном анализе значимых различий между группами с учетом статуса мутации и таких данных, как возраст, сопутствующие заболевания, количество беременностей, абортов, родов и онкологического анамнеза, достоверных статистически значимых различий не выявлено. Представляется особенно интересным влияние исследуемых нами мутаций на некоторые морфологические особенности опухолей. В частности, в группе больных с мутацией в *FOXL2* в 18 (75 %) случаях наблюдения отмечено наличие значительных некробиотических процессов, что значительно выше, чем в группе без мутации — 50 %. А как известно, некробиоз в опухоли существенно повышает агрессивность процесса, что в дальней-

шем сказывается на выживаемости пациенток (табл. 2).

В группе больных без мутаций количество случаев некробиотических изменений в опухолях было одинаковым, но наличие этого признака чаще сопровождало рецидив заболевания. В группе больных с подтвержденной мутацией и с некробиотическими изменениями в опухоли в дальнейшем выявлены рецидивы в 18 (75 %) наблюдениях, в то время как у шести (25 %) больных без некробиотических изменений прогрессирование процесса длительное время не отмечалось.

### **Обсуждение**

Анализ публикаций по ГКО в мировой научной литературе показывает, что ряд тем, посвященных клинической картине, ранней диагностике, профилактике и лечению рецидивов обсуждаемого новообразования, на сегодняшний день недостаточно изучен, а информация в разных источниках часто противоречива. Учитывая, что современные методы терапии нельзя назвать удовлетворительными, взгляд исследователей был прикован к молекулярно-генетическим особенностям ГКО, тем более что известны семейные формы этих новообразований. В частности, ГКО могут сопровождаться рядом заболеваний и синдромов, таких как синдром Мафуччи (энхондроматоз и гемангиоматоз) и болезнь Оллье (энхондроматоз). При некоторых формах эти опухоли ассоциированы с синдромом Мейгса (опухоль яичников, реактивный плеврит и асцит). Анализ молекулярно-генетических параметров ГКО имеет большое значение для улучшения и подтверждения новых стратегий лечения пациентов с высоким риском или рецидивами заболевания.

Таблица 2

#### **Частота некробиотических изменений у пациенток СКОЯ в зависимости от статуса гена *FOXL2***

Некробиотические изменения	Мутации нет	р.C134W (мутация есть)
	Абсолютное количество (%)	Абсолютное количество (%)
Нет	3 (50 %) (рецидива нет)	6 (25 %) (рецидива нет)
Есть	3 (50 %) (рецидив)	18 (75 %) (рецидив)
Итого:	6 (100 %)	24 (100 %)

### Выводы

Таким образом, исходя из полученных даже малочисленных результатов, можно подтвердить, что мутация p.C134W в гене *FOXL2* значительно реже встречается в ГКО на ранних (I A, B) и условно ранних (IC) стадиях заболевания. С другой стороны, при наличии мутации и при более продвинутых стадиях процесса рецидивы отмечались чаще: в 75 % случаев про-

тив 50 % наблюдений при отсутствии мутации, что в сочетании с некробиозом опухоли ухудшало прогноз заболевания. Дальнейший набор первичных пациенток с ГКО яичников, а также мониторинг за больными с мутациями и без них позволит использовать полученные результаты в качестве прогностического фактора и, возможно, в перспективе в таргетной/ иммунотерапии.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Shah S. P., Kçbel M., Senz J., et al. Mutation of *FOXL2* in granulosa-cell tumors of the ovary. *N Engl J Med.* 2009;360(26):2719–29. doi:10.1056/NEJMoa0902542.
2. Rosario R., Cohen P. A., Shelling A. N. The *FOXL2* gene: at the crossroads of ovarian function and tumorigenesis. *J Ovarian Res.* 2014;7:37. doi:10.1186/1757-2215-7-37.
3. Alexiadis M., et al. TERT promoter mutations in adult granulosa cell tumors of the ovary. *Mod Pathol.* 2019;32(2):298–308. doi:10.1038/s41379-018-0103-6.
4. Jamieson S., Butz H., Balla B., et al. The role of microRNAs in granulosa cell tumors of the ovary. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(1):F17–29. doi:10.1677/ERC-09-0251.
5. Kalfa N., Philibert P., Patte C., et al. Juvenile granulosa cell tumors: clinical and molecular characteristics. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(8):2936–43. doi:10.1210/jc.2006-2766.
6. Michaliková R., et al. The molecular landscape of 227 adult granulosa cell tumors of the ovary: Insights into the progression from primary to recurrence. *Lab Invest.* 2025;105(3):102201. doi:10.1016/j.labinv.2024.102201.
7. Karstensen S., et al. DNA alterations in ovarian adult granulosa cell tumours: A scoping review. *PLoS One.* 2024;19(6):e0303989. doi:10.1371/journal.pone.0303989.
8. Weis-Banke S. E., et al. Mutant *FOXL2C134W* hijacks SMAD4 and SMAD2/3 to drive adult granulosa cell tumors. *Cancer Res.* 2020;80(17):3466–3479. doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-0456.
9. Pilsworth J. A., et al. Adult-type granulosa cell tumor of the ovary: a *FOXL2*-centric disease. *J Pathol Clin Res.* 2021;7(3):243–252. doi:10.1002/cjp2.198.
10. Karstensen S., et al. Ovarian Adult Granulosa Cell Tumors: A Scoping Review of DNA Alterations. *Anticancer Res.* 2025;45(1):1–10. doi:10.21873/anticanres.16234.
11. Cheung L. W., et al. Targeting mutant *FOXL2* in granulosa cell tumors using CRISPR-Cas9. *Mol Cancer Res.* 2023;21(9):1452–1461. doi:10.1158/1541-7786.MCR-22-0563.
12. Ling M., et al. Transcriptional networks involving *FOXL2* in ovarian granulosa tumors. *BMC Cancer.* 2023;23:1273. doi:10.1186/s12885-023-11334-z.
13. Tomasini P., et al. Emerging biomarkers in granulosa cell tumors of the ovary. *Cancers (Basel).* 2023;15(4):1037. doi:10.3390/cancers15041037.
14. Bianchi E., et al. The impact of TERT promoter mutation in recurrence of adult granulosa cell tumors. *Int J Mol Sci.* 2024;25(2):789. doi:10.3390/ijms25020789.
15. Lenz T., et al. Whole-exome sequencing of granulosa cell tumors reveals novel alterations. *Gynecol Oncol.* 2023;171(1):93–101. doi:10.1016/j.ygyno.2023.05.006.
16. Бейшембаев А. М., Темирова М. Ш., Жордания К. И., Каинурников А. Ю. Особенности метастазирования и рецидивирования у больных со стромально-клеточными опухолями яичников // Тазовая хирургия и онкология. — 2020. — Т. 10, № 3–4. — С. 54–59.
17. Бейшембаев А. М., Жордания К. И., Туркменов А. А. и др. Принципы современной диагностики гранулезоклеточных опухолей яичников (обзор литературы) // Вопросы онкологии. — 2023. — № 2 (69). — С. 203–209.
18. Бейшембаев А. М., Жордания К. И. Эктопические опухоли стромы полового тяжа // Онкогинекология. — 2023. — № 2 (46). — С. 32–37. DOI: 10.52313/2227871\_0\_2023\_2\_32

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**

*Бейшембаев Алмаз Мукашевич*, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой онкологии, гематологии, лучевой диагностики и терапии факультета усовершенствования врачей, Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации имени С. Б. Даниярова Министерства здравоохранения Кыргызской Республики, 720062 Кыргызстан, г. Бишкек, ул. Боконбаева, 144а, e-mail: almazyaka@yandex.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4915-2219>

*Beishembaev Almaz M.*, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Oncology, Hematology, Radiation Diagnostics and Therapy, Faculty of Advanced Medical Education, S. P. Daniyarov Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Advanced Training of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyz Republic, Bokonbayeva str. 144a 720062, e-mail: almazyaka@yandex.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4915-2219>

*Поспехова Наталья Ивановна*, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетической диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, д. 23, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5255-5065>

*Pospekhova Natalia I.*, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Genetic Diagnostics of the Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation. Kashirskoe shosse 24, Moscow, Russian Federation, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5255-5065>

*Строганова Анна Михайловна*, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетической диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, д. 23, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7297-5240>

*Stroganova Anna M.*, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Diagnostics of the Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation. Kashirskoe shosse 24, Moscow, Russian Federation, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7297-5240>

*Жордания Кирилл Иосифович*, доктор медицинских наук, профессор, онкогинеколог, ведущий научный сотрудник отделения гинекологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, д. 23, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7931-2338>

*Zhordania Kirill I.*, MD, Professor, Oncogynecologist, Leading Researcher at the Department of Gynecology, Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation. Kashirskoe shosse 24, Moscow, Russian Federation, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7931-2338>