

DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-3-90-97



Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы: молекулярно-генетические факторы риска развития метастазов

В.А. Яровая¹, И.А. Левашов¹, А.Р. Зарецкий², Л.В. Чудакова², В.В. Назарова³, А.Д. Матяева¹, Л.В. Демидов³, А.А. Яровой¹

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России; Россия, 127486 Москва, Бескудниковский бульвар, 59а;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 23

Контакты: Вера Андреевна Яровая verandreevna@gmail.com

Введение. Для определения прогноза заболевания при увеальной меланоме активно используются молекулярно-генетические методы исследования материала первичной опухоли, который может быть получен в рамках органосохраняющего лечения с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ). Молекулярно-генетическое тестирование и ТИАБ в отечественной практике имеют ряд особенностей, связанных с хирургической техникой, методикой молекулярно-генетического тестирования и классификационными подходами.

Цель – представить собственный опыт применения молекулярно-генетических методов в прогнозировании риска развития метастазов у пациентов с увеальной меланомой на основе материала ТИАБ.

Материалы и методы. Был проанализирован материал ТИАБ, полученный от 151 пациента. Тонкоигольную аспирационную биопсию с прогностической целью выполняли одновременно с органосохраняющим лечением (брахитерапией или стереотаксической радиохирургией). В ходе молекулярно-генетического исследования осуществляли анализ мутаций в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX* и *SF3B1* (методами высокочувствительной мутационно-специфической полимеразной цепной реакции в реальном времени и полимеразной цепной реакции с последующим секвенированием продуктов этой реакции по Сэнгеру) и количества копий генов *PPARG* и *MYC* (методом флуоресцентной гибридизации *in situ*). Также проводили цитологическое исследование всех образцов, полученных при ТИАБ.

Результаты. Уровень информативности материала ТИАБ составил 91 %, медиана срока наблюдения – 36 мес. За этот период отдаленные метастазы выявлены у 12 пациентов из 151. Частота встречаемости молекулярно-генетических нарушений в целом соотносится с данными других крупных исследований. Оригинальная прогностическая панель впервые продемонстрировала возможность определения прогноза пациента в зависимости от делеции гена *PPARG*, наличие которой ассоциировано с низкими показателями выживаемости ($p < 0,01$). Мутации в генах *EIF1AX* и *SF3B1*, амплификация гена *MYC* и клеточный тип опухоли по результатам цитологического исследования не продемонстрировали статистической значимости.

Заключение. Использованные нами у пациентов с увеальной меланомой технологии ТИАБ и молекулярно-генетического тестирования продемонстрировали надежность и высокую информативность. Ряд прогностических факторов требуют дальнейшего исследования с более длительными сроками наблюдения за пациентами.

Ключевые слова: офтальмоонкология, молекулярная онкология, увеальная меланома, прогнозирование, выживаемость

Для цитирования: Яровая В.А., Левашов И.А., Зарецкий А.Р. и др. Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы: молекулярно-генетические факторы риска развития метастазов. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(3):90–7. DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-3-90-97

Prognostic fine needle aspiration biopsy of uveal melanoma: Molecular and genetic factors of metastasis risk

V.A. Yarovaia¹, I.A. Levashov¹, A.R. Zaretsky², L.V. Chudakova², V.V. Nazarova³, A.D. Matyaeva¹, L.V. Demidov³, A.A. Yarovoy¹

¹S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Ministry of Health of Russia; 59a Beskudnikovsky Boulevard, Moscow 127486, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Russian Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115522, Russia;

Contacts: Vera Andreevna Yarovaya verandreevna@gmail.com

Introduction. Molecular genetic testing is actively used for prognostication in patients with uveal melanoma (UM). Tissue for genetic analysis may be obtained either by surgical excision or through fine-needle aspiration biopsy (FNAB). Performing genetic testing and FNAB in each institution can differ in surgical techniques and laboratory methodologies.

Aim. To present our own experience of performing FNAB-based molecular genetic testing for prognostication in patients with uveal melanoma.

Materials and methods. Prognostic FNAB ($n = 151$) were combined with brachytherapy or stereotactic surgery. Genetic testing was performed by methods based on polymerase chain reaction (*GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX* and *SF3B1* mutations) and fluorescence *in situ* hybridization (copy numbers of *PPARG* and *MYC* genes); cytology of FNAB material was also assessed.

Results. Fine-needle aspiration biopsy material was informative in 91 % of cases. At the median follow-up of 36 months, 12 cases of distant metastases were detected. Occurrence of the assessed mutations and copy numbers were related to other representative studies. *PPARG* deletion was shown to be a significant prognostic factor for metastasis-free survival ($p < 0.01$), which was demonstrated for the first time; *EIF1AX* and *SF3B1* mutations, *MYC* amplification and cytological class were not shown to be significantly associated with survival in our study.

Conclusion. FNAB-based molecular genetic testing for prognostication in patients with uveal melanoma was shown to be a reliable and highly informative approach. Some of the prognostic factors need to be evaluated further with longer follow-up.

Keywords: ocular oncology, molecular oncology, uveal melanoma, prognostication, survival

For citation: Yarovaya V.A., Levashov I.A., Zaretsky A.R. et al. Prognostic fine needle aspiration biopsy of uveal melanoma: Molecular and genetic factors of metastasis risk. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2023;10(3):90–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-3-90-97

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярно-генетические методы исследования в современной онкологии используются чаще всего для подбора таргетной терапии, несколько реже — для уточнения диагноза и еще реже — для определения прогностических факторов [1–3]. Прогностические факторы — это биологические или клинические маркеры, позволяющие уточнить шансы на реализацию различных исходов заболевания, например, вероятность развития метастазирования. Одним из редких примеров активного использования молекулярно-генетических методов в прогнозировании течения онкологического заболевания является их применение при увеальной меланоме (УМ).

Увеальная меланом — наиболее распространенное злокачественное внутриглазное новообразование, клеточным субстратом которого являются меланоциты сосудистой оболочки глаза [3–5]. Показатели локального контроля первичного очага УМ даже при органосохраняющем лечении находятся на уровне 70–98 % [3, 6, 7]. Тем не менее УМ характеризуется сравнительно низким уровнем выживаемости: 5-летняя общая выживаемость при данном типе опухоли составляет около 80 %, 10-летняя — 50–70 % [8, 9]. Такие показатели обусловлены прежде всего отсутствием эффективных методов системной терапии — как в адъювантном режиме, так и при лечении метастатической болезни.

Вероятность возникновения метастазов УМ зависит от ряда факторов: клинических (возраст пациента,

размеры, локализация и особенности роста опухоли), морфологических (клеточный тип опухоли, митотическая активность, инфильтрация лимфоцитами и др.) и молекулярно-генетических (мутации в генах и хромосомные aberrации) [3, 5, 10]. Изучение молекулярно-генетических особенностей УМ позволило улучшить понимание механизмов и рисков метастазирования данной опухоли, а выявление соответствующих прогностических маркеров стало центральным звеном в определении прогноза заболевания.

Успех применения генетических методов в прогнозировании заболевания во многом обусловлен относительно узким и уникальным мутационным профилем УМ. По данным литературы, наиболее часто встречаются мутации в генах *GNA11*, *GNAQ*, *EIF1AX*, *SF3B1* и *BAP1*, а также хромосомные aberrации — нарушения количества копий обширных участков хромосом 1, 3, 6 и 8 [3, 5, 10–13]. Мутации в гене *BAP1* ассоциированы с моносомией по короткому плечу хромосомы 3 (что неудивительно с учетом того, что ген *BAP1* физически расположен именно на 3p) и являются наиболее существенным молекулярным фактором плохого прогноза при УМ. Мутации в гене *EIF1AX* при данной опухоли связаны с самым благоприятным прогнозом и ожидаемой продолжительностью жизни как у здоровых людей. Мутации в гене *SF3B1* ассоциированы с промежуточным прогнозом и отсроченными метастазами, возникающими спустя 7 и более лет после установления диагноза. Наконец, мутации

в генах *GNAI1* и *GNAQ* являются драйверными, т. е. участвуют в начальных процессах онкогенеза, однако, по имеющимся данным, не оказывают существенного влияния на показатели выживаемости [4, 14].

В зависимости от представленных нарушений и использованных молекулярно-генетических методов авторы используют различные классификационные подходы. Наиболее распространенным методом стратификации является профилирование генной экспрессии (gene expression profiling, GEP), разделяющее все опухоли на 2 класса; результаты этой классификации ассоциированы со статусом хромосомы 3 (дисомия хромосомы 3 — класс 1, более благоприятный; моносомия — класс 2, менее благоприятный) [15]. Более детальное разделение на подклассы и подтипы предполагает учет других прогностических факторов: наличия мутаций в генах *EIF1AX* и *SF3B1*, статуса хромосом 1, 6 и 8. В зависимости от этих особенностей авторы могут использовать различные прогностические панели [4, 15–17].

В отечественной практике молекулярно-генетические методы прогнозирования течения УМ на материале первичной опухоли, полученном либо по результатам энуклеации, либо с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ), широко не используются в связи с отсутствием возможности проведения данного исследования на бюджетной основе и предвзятости отдельных специалистов-офтальмологов в отношении технологии ТИАБ. В то же время применение ТИАБ в отечественной практике имеет ряд особенностей, связанных с хирургической техникой, методикой молекулярно-генетического тестирования и классификационными подходами [12, 18–23].

Цель исследования — представить собственный опыт применения молекулярно-генетических методов в прогнозировании риска развития метастазов у пациентов с УМ на основе материала ТИАБ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с января 2017 г. по январь 2022 г. в отделении офтальмоонкологии и радиологии Национального медицинского исследовательского центра «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» была проведена 151 ТИАБ с прогностической целью. Всем пациентам ТИАБ выполнялась одновременно с органосохраняющим лечением в качестве первичного метода терапии или в течение нескольких дней от его начала (брахитерапия — в 136 (90 %), стереотаксическая радиохирургия гамма-нож — в 15 (10 %)). Тонкоигольная аспирационная биопсия проводилась по стандартной технологии, описанной ранее [20]. Все пациенты подписали информированное согласие на обработку персональных данных, диагностические исследования и лечение.

Молекулярно-генетическое исследование выполнялось методами высокочувствительной мутационно-специфической полимеразной цепной реакции в ре-

альном времени (ПЦР-РВ), ПЦР с последующим секвенированием продуктов этой реакции по Сэнгеру и флуоресцентной гибридизации *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization, FISH).

Анализ мутаций в *GNAQ* и *GNAI1* проводился 151 пациенту, *EIF1AX* и *SF3B1* — 144 и 142 соответственно (количество копий генов *PPARG* и *MYC* оценивалось у 121 и 122 пациентов соответственно). Тест на делецию гена *PPARG* использовали для определения статуса короткого плеча хромосомы 3, тест на амплификацию гена *MYC* — для выявления статуса длинного плеча хромосомы 8.

Также проводилось цитологическое исследование, по результатам которого определялся клеточный тип опухоли: как по стандартной трехчастной классификации (веретенноклеточная, смешанноклеточная или эпителиоидноклеточная УМ), так и по упрощенной бинарной (присутствие или отсутствие эпителиоидных клеток) [24].

Средний срок наблюдения за пациентами, прошедшими ТИАБ и находящимися на диспансерном наблюдении, составил 33 мес (минимум — 2 мес, максимум — 70 мес, медиана — 34 мес). Критерии включения в анализ показателей выживаемости: наличие на момент исследования актуальной информации о больных в архиве учреждения (по данным диспансерного наблюдения или, при отсутствии актуальной информации, по заключениям офтальмологов, терапевтов, онкологов или патологоанатомов, полученных через органы здравоохранения по месту жительства), срок наблюдения при отсутствии метастазов более 12 мес. Критериями исключения являлись установленная метастатическая болезнь до проведения локального лечения, эндовитреальные вмешательства в течение всего срока наблюдения, наличие >1 опухолевого очага и билатеральная УМ.

Анализ риска метастазирования проводился по типу «случай—контроль»: 2 группы пациентов — с метастазами («случай») и без них («контроль») — сравнивались на основе частоты встречаемости предполагаемого влияющего фактора и по методу Каплана—Майера. Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение Google Sheets (Google LLC), Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft) и GraphPad Prism 9.2.0 (GraphPad Software, LLC). Для оценки достоверности различий между количественными значениями 2 выборок применяли U-критерий Манна—Уитни; для сравнения качественных признаков — критерии χ^2 и Фишера. Безрецидивную выживаемость (выживаемость до выявления метастазов) оценивали с помощью метода Каплана—Майера с проверкой значимости различий по логранговому критерию. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая информативность материала ТИАБ, определяемая как возможность верификации диагноза УМ

цитологическим или молекулярно-генетическим методом, составила 91 % ($n = 138$). Таким образом, в 9 % ($n = 13$) случаев не обнаружено никаких молекулярно-генетических и цитологических признаков УМ, оцениваемых в рамках данного исследования, что, однако, не исключало клинически установленный диагноз УМ.

Встречаемость мутаций в информативных образцах составила 44 % ($n = 61$) для гена *GNAQ*, 43 % ($n = 59$) для гена *GNA11*, 18 % ($n = 25$) для гена *EIF1AX* и 18 % ($n = 25$) для гена *SF3B1*. В информативных образцах, в которых проводился анализ на делецию гена *PPARG* и амплификацию гена *MYC*, встречаемость этих молекулярных нарушений составила 31 % ($n = 36$) и 54 % ($n = 64$) соответственно. Драйверные мутации (в генах *GNAQ* или *GNA11*) были обнаружены в 78 % ($n = 108$) информативных образцов; в большинстве случаев они оказывались взаимоисключающими (в 5 случаях отмечались обе мутации). Результаты попарного анализа взаимовстречаемости молекулярных нарушений в информативных образцах УМ в рамках настоящего исследования представлены в таблице.

Попарный анализ взаимовстречаемости молекулярных нарушений в исследованных образцах продемонстрировал высокозначимые различия ($p < 0,01$) при сравнении групп с мутациями в генах *GNAQ* и *GNA11*. Умеренно значимые различия были обнаружены при сравнении образцов с мутациями в гене

EIF1AX и с молекулярными нарушениями в генах *GNAQ*, *SF3B1* и *PPARG* (показатель p составил 0,047; 0,03 и 0,03 соответственно), а также при сравнении образцов с нарушениями количества копий генов *PPARG* и *MYC* ($p = 0,02$).

По результатам цитологического исследования в 20 % случаев клеточный тип опухоли определить не удалось. В оставшихся случаях встречаемость веретенноклеточной меланомы составила 79 %, эпителиоидноклеточной – 11 % и смешанноклеточной – 10 % (в соответствии с классическим принципом определения клеточного типа УМ). Согласно бинарному принципу определения клеточного типа, в соответствии с которым выявляется наличие (>10 % эпителиоидных клеток) или отсутствие эпителиоидного компонента (≤ 10 % эпителиоидных клеток), встречаемость клеточных типов составила 30 и 70 % соответственно [24].

В группу пациентов, в которой проводился анализ показателей выживаемости в соответствии с критериями включения и исключения, вошли 133 больных. Средний срок наблюдения в ней составил 36 мес (медиана – 36 мес, минимум – 2 мес, максимум – 70 мес). За это время отмечены 12 случаев метастазирования УМ (метастазы в печени – 9 случаев, в легких – 1, множественные метастазы – 2).

Риск развития метастазов в зависимости от наличия мутаций, ассоциированных с уровнем выживаемости,

Взаимовстречаемость молекулярных нарушений

Cross-incidence of molecular abnormalities

Ген Gen		GNAQ ($n = 138$)		GNA11 ($n = 138$)		EIF1AX ($n = 131$)		SF3B1 ($n = 129$)		PPARG ($n = 117$)		MYC ($n = 118$)	
		Mt	WT	Mt	WT	Mt	WT	Mt	WT	Mt	WT	Mt	WT
<i>GNAQ</i>	Mt	—	—	5	56	16	44	13	46	12	39	27	24
	WT	—	—	54	23	9	62	12	58	24	42	37	30
<i>GNA11</i>	Mt	5	54	—	—	10	46	12	44	18	36	30	24
	WT	56	23	—	—	15	60	13	60	18	45	34	30
<i>EIF1AX</i>	Mt	16	9	10	15	—	—	1	24	2	18	12	8
	WT	44	62	46	60	—	—	24	79	31	60	50	42
<i>SF3B1</i>	Mt	13	12	12	13	1	24	—	—	5	18	14	10
	WT	46	58	44	60	24	79	—	—	28	57	47	38
<i>PPARG</i>	Mt	12	24	18	18	2	31	5	28	—	—	13	23
	WT	39	42	36	45	18	60	18	57	—	—	49	31
<i>MYC</i>	Mt	27	37	30	34	12	50	14	47	13	49	—	—
	WT	24	30	24	30	8	42	10	38	23	31	—	—

Примечание. Mt – молекулярное нарушение в соответствующем гене; WT – в соответствующем гене молекулярных нарушений не обнаружено. Статистическая значимость оценивалась по точному двустороннему критерию Фишера (ячейки зеленого цвета – $p < 0,05$, белого – $p > 0,05$).

Note. Mt – molecular abnormality in a corresponding gene; WT – no abnormalities found in the corresponding gene. Statistical significance was calculated using Fisher's exact two-sided test (green cells – $p < 0.05$, white cells – $p > 0.05$).

оценивался по типу «случай—контроль»: пациенты были разделены на 2 группы — с метастазами («случай») и без них («контроль»). Сравнение проводилось на основе предполагаемого влияющего фактора (мутации в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX*, *SF3B1*, *PPARG*, *MYC* и клеточный тип) по критерию χ^2 .

Статистически значимые различия определялись при делеции гена *PPARG*, наличие которой ассоциировано с негативным прогнозом ($p < 0,01$). Различия не были статистически значимы для молекулярных нарушений в генах *GNAQ* ($p = 0,99$), *GNA11* ($p = 0,31$), *EIF1AX* ($p = 0,1$), *SF3B1* ($p = 0,09$) и *MYC* ($p = 0,44$). Аналогичный анализ показателей выживаемости проводился в зависимости от клеточного типа как по традиционной трехчастной классификации, так и по предложенной нами двухчастной; в обоих случаях статистически значимые различия не были выявлены ($p = 0,27$ и $0,62$ соответственно).

В ходе анализа по методу Каплана—Майера получены схожие результаты статистически значимые различия показателей выживаемости в зависимости от наличия или отсутствия молекулярного нарушения определялись только для делеции гена *PPARG* ($p < 0,01$), различия не были статистически значимы для молекулярных нарушений в генах *EIF1AX* ($p = 0,11$), *SF3B1* ($p = 0,10$), *MYC* ($p = 0,53$), *GNAQ* ($p = 0,93$) и *GNA11* ($p = 0,22$) по логранговому критерию. График выживаемости по методу Каплана—Майера представлен на рисунке.

ОБСУЖДЕНИЕ

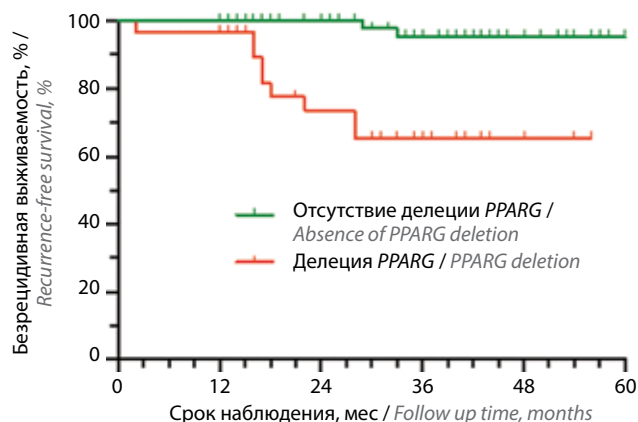
Генетический анализ опухолевого материала является частью комплексного подхода к ведению пациентов с УМ [1, 3, 5]. В специализированных офтальмоонкологических центрах Европы и США такой анализ осуществляется на материале как энуклеированных глаз, так и ТИАБ, в то время как в российской практике этот подход все еще не является общепризнанным. Данная работа представляет собой описание молекулярно-генетических результатов первого масштабного

отечественного опыта применения ТИАБ с прогностической целью у пациентов с УМ.

Информативность ТИАБ зависит от размеров опухоли и техники получения биопсии (использование иглы или витреотома, диаметра инструмента) и, по данным различных исследований, варьирует от 22 до 100 % [18, 22, 23, 25]. Как правило, низкий уровень информативности может наблюдаться при биопсии опухолей небольшого размера или при цитологическом анализе материала [26, 27]. Информативность генетического материала, по результатам различных исследований, находится на сравнительно высоком уровне: 85–100 %. По нашим данным, в 91 % образцов удалось провести молекулярно-генетический анализ.

По результатам наиболее крупных исследований, мутации *GNAQ* и *GNA11* в ткани УМ можно обнаружить в 57 и 41 % образцов соответственно, что соотносится с полученными нами результатами: эти мутации были выявлены в 44 и 43 % случаев соответственно [21, 28]. Мутации в генах *EIF1AX* и *SF3B1* и амплификация гена *MYC*, по данным литературы, встречаются в 8–21, 10–24 и 70 % случаев УМ [12, 21, 28, 29]. Представленная информация в целом соотносится с результатами нашего исследования: встречаемость мутаций в гене *EIF1AX* в исследованной группе образцов составила 18 %, в гене *SF3B1* — 18 %, амплификации гена *MYC* — 54 %. Вероятнее всего, разница обусловлена применением различных молекулярно-генетических методов идентификации мутаций. Информации о частоте встречаемости делеции гена *PPARG* в литературе найти не удалось; по нашим данным, эта мутация обнаружена в 31 % образцов. Анализ нарушений количества копий генов *PPARG* и *MYC* является отличительной особенностью нашей прогностической панели, в основе которой тем не менее лежат многократно валидированные принципы прогностической классификации УМ. Согласно этим принципам одними из главных прогностических факторов являются статусы хромосом 3 и 8 [3, 5, 10–13, 30].

В ходе анализа взаимовстречаемости молекулярных нарушений было показано, что в большинстве случаев мутации *GNAQ* и *GNA11* являются взаимоисключающими ($p < 0,01$), что полностью соответствует результатам предыдущих исследований [4, 14, 31]. При оценке попарной частоты встречаемости мутаций в гене *EIF1AX* с другими молекулярными нарушениями получены статистически значимые результаты для молекулярных нарушений в генах *GNAQ*, *PPARG* и *SF3B1*, однако в случае с *GNAQ* такой результат является скорее пограничным ($p = 0,047$) и требует дополнительной проверки. В то же время анализ взаимовстречаемости молекулярных нарушений в генах *EIF1AX*, *PPARG* и *SF3B1* демонстрирует намного более высокий уровень статистической значимости, что указывает на редкость сочетания этих мутаций, которые по своей прогностической сути во многом являются противоположными.



Безрецидивная выживаемость в зависимости от наличия делеции гена *PPARG* по методу Каплана—Майера
 Recurrence-free survival depending on the presence of *PPARG* gene deletion per the Kaplan-Meier method

В наиболее крупных исследованиях, посвященных изучению клеточного типа УМ на гистологическом материале энуклеированных глаз, веретенноклеточная меланома была выявлена в 34–44 % случаев, смешанноклеточная — в 35–62 %, эпителиоидноклеточная — в 3–21 % [24, 32, 33]. В нашем исследовании встречаемость данной патологии составила 79 %, смешанноклеточной — 10 %, эпителиоидноклеточной — 11 %. Представленную разницу во встречаемости веретенноклеточной УМ, вероятно, можно объяснить определенной степенью клеточной гетерогенности опухоли, а также тем фактом, что возможности цитологического анализа заведомо ограничены по сравнению с гистологическим анализом [34, 35].

Связь с уровнем выживаемости как при оценке риска развития метастазов по типу «случай—контроль», так и по методу Каплана—Майера, показала делеция гена *PPARG*. Данный ген несет информацию о синтезе рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом, — белков-факторов транскрипции с плейотропными эффектами, влияющими на метаболизм жиров и углеводов, развитие атеросклероза, воспалительных и онкологических процессов. Интерес к этой мутации обусловлен ее тесной связью с моносомией хромосомы 3 — главного прогностического фактора УМ [30]. Наше исследование впервые продемонстрировало возможность использования данного молекулярного маркера для оценки прогноза пациентов с УМ.

Наше исследование показало отсутствие статистически значимой связи между наличием мутаций в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX*, *SF3B1* и амплификации гена *MYC* и безрецидивной выживаемости пациентов с УМ. С учетом данных предыдущих работ, продемонстрировавших исключительно иницилирующую роль мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11* в процессе онкогенеза УМ, полученные результаты по этим мутациям являются вполне ожидаемыми [4, 14]. В ходе этого исследования не удалось продемонстрировать прогностическую значимость мутаций в генах *EIF1AX* и *SF3B1* и амплификации *MYC*, что можно объяснить сроками наблюдения (оценивалась только 3-летняя выживаемость, в то время как первое плато безрецидивной выживаемости отмечается после 5–6 лет, а в контекс-

те анализа мутации *SF3B1* — после 7–10 лет) [8–10]. В то же время необходимо отметить полное отсутствие случаев метастазирования УМ у пациентов с мутациями *EIF1AX* и *SF3B1*, что предварительно подтверждает потенциальную прогностическую ценность этих молекулярно-генетических факторов.

В одном из первых исследований прогностической значимости материала ТИАБ, проведенном в 1996 г., изучался только клеточный тип опухоли [36]. Авторы продемонстрировали статистически значимое влияние клеточного типа, а точнее — количества обнаруженных эпителиоидных клеток, на выживаемость пациентов с УМ. По данным этой работы, веретенноклеточная УМ обнаруживалась в 70–79 % случаев (в зависимости от классификационного подхода). Наш анализ выживаемости в зависимости от клеточного типа опухоли продемонстрировал отсутствие статистически значимого влияния этого фактора, что можно объяснить как относительно малыми сроками наблюдения, так и ограничениями метода, описанными выше [24, 32–34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тонкоигольная аспирационная биопсия УМ при проведении органосохраняющего лечения позволяет получить информативный материал в большинстве случаев (в нашем исследовании — в 91 %).

Высокий уровень информативности и частота встречаемости молекулярных нарушений в основных генах, значимых для УМ, обнаруживаемых в материале биопсии, в целом соотносятся с данными других крупных исследований, что позволяет сделать вывод о надежности используемых технологий биопсии и молекулярно-генетических методов оценки материала.

Использованная нами прогностическая панель продемонстрировала возможность определения прогноза пациентов в зависимости от наличия делеции гена *PPARG*. Остальные прогностические факторы, такие как мутации в генах *EIF1AX* и *SF3B1*, амплификация гена *MYC* и клеточный тип опухоли по результатам цитологического исследования, требуют дальнейшего изучения с более длительными сроками наблюдения за больными.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Hoiom V., Helgadottir H. The genetics of uveal melanoma: current in sights. *Appl Clin Genet* 2016;9:147–55. DOI: 10.2147/TACG.S69210
- Olopade O.I., Pichert G. Cancer genetics in oncology practice. *Ann Oncol* 2001;12(7):895–908. DOI: 10.2147/TACG.S69210
- Chattopadhyay C., Kim D.W., Gombos D.S. et al. Uveal melanoma: from diagnosis to treatment and the science in between. *Cancer* 2016;122(15):2299–312. DOI: 10.2147/TACG.S69210
- Royer-Bertrand B., Torsello M., Rimoldi D. et al. Comprehensive Genetic landscape of uveal melanoma by whole-genome sequencing. *Am J Hum Genet* 2016;99(5):1190–8. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.09.008
- Jager M.J., Shields C.L., Cebulla C.M. et al. Uveal melanoma. *Nat Rev Dis Prim* 2020;6(1):24. DOI: 10.1038/s41572-020-0158-0
- Egger E., Zografos L., Schalenbourg A. et al. Eye retention after proton beam radiotherapy for uveal melanoma. *Int J Radiat Oncol* 2003;55(4):867–80. DOI: 10.1016/S0360-3016(02)04200-1
- Shields C.L., Shields J.A., Perez N. et al. Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations. *Ophthalmology* 2002;109(2):225–34. DOI: 10.1016/S0161-6420(01)00902-2
- Kaliki S., Shields C., Shields J. Uveal melanoma: estimating prognosis. *Indian J Ophthalmol* 2015;63(2):93. DOI: 10.4103/0301-4738.154367

9. Radivoyevitch T., Zabor E.C., Singh A.D. Uveal melanoma: long-term survival. *PLoS One* 2021;16(5):e0250939. DOI: 10.1371/journal.pone.0250939
10. Singh A.D., Zabor E.C., Radivoyevitch T. Estimating cured fractions of uveal melanoma. *JAMA Ophthalmol* 2021;139(2):174–81. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2020.5720
11. Shain A.H., Bagger M.M., Yu R. et al. The genetic evolution of metastatic uveal melanoma. *Nat Genet* 2019;51(7):1123–30. DOI: 10.1038/s41588-019-0440-9
12. 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(2):396–401. DOI: 10.1016/j.ophtha.2010.05.023
13. Зарецкий А.Р., Яровая В.А., Чудакова Л.В. и др. Опыт молекулярного тестирования увеальной меланомы I–III стадии при консервативном и хирургическом лечении. *Вопросы онкологии* 2018;5:625–32. Zaretsky A.R., Yarovaia V.A., Chudakova L.V. et al. Experience of molecular testing of stage I–III uveal melanoma in conservative and surgical treatment. *Voprosy onkologii = Questions of Oncology* 2018;5:625–32. (In Russ.).
14. Dogrusöz M., Jager M.J. Genetic prognostication in uveal melanoma. *Acta Ophthalmol* 2018;96(4):331–47. DOI: 10.1111/aos.13580
15. Onken M.D., Worley L.A., Char D.H. et al. Collaborative Ocular Oncology Group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma. *Ophthalmology* 2012;119(119):1596–603. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.02.017
16. Jager M.J., Brouwer N.J., Esmaili B. The cancer genome atlas project: an integrated molecular view of uveal melanoma. *Ophthalmology* 2018;125(8):1139–42. DOI: 10.1016/j.ophtha.2018.03.011
17. Robertson A.G., Shih J., Yau C. et al. Integrative analysis identifies four molecular and clinical subsets in uveal melanoma. *Cancer Cell* 2017;32(2):204–20.e15. DOI: 10.1016/j.cccell.2017.07.003
18. McCannel T.A., Chang M.Y., Burgess B.L. Multi-Year follow-up of fine-needle aspiration biopsy in choroidal melanoma. *Ophthalmology* 2012;119(3):606–10. DOI: 10.1016/j.ophtha.2011.08.046
19. Яровая В.А., Яровой А.А., Коробов Е.Н. и др. Молекулярное тестирование увеальной меланомы. *Находки. Современные технологии в офтальмологии* 2018;(4):297–9. Yarovaia V.A., Yarovaia A.A., Korobov E.N. et al. Molecular testing of uveal melanoma. *Nahodki. Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii = Finds. Modern technologies in ophthalmology*. 2018;(4):297–9. (In Russ.).
20. Левашов И.А., Яровой А.А., Яровая В.А. и др. Оценка риска метастазирования при проведении «прогностической» тонкоигльной аспирационной биопсии увеальной меланомы. *Злокачественные опухоли* 2022;12(2):29–35. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-2-29-35 Levashov I.A., Yarovaia A.A., Yarovaia V.A. et al. Assessment of the risk of metastasis during the “prognostic” fine needle aspiration biopsy of uveal melanoma. *Zlokachestvennyye opuholi = Malignant tumors* 2022;12(2):29–35. (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-2-29-35
21. Dogrusöz M., Jager M.J. Genetic prognostication in uveal melanoma. *Acta Ophthalmol* 2018;96(4):331–47. DOI: 10.1111/aos.13580
22. Sellam A., Desjardins L., Barnhill R. et al. Fine needle aspiration biopsy in uveal melanoma: technique, complications, and outcomes. *Am J Ophthalmol* 2016;162:28–34.e1. DOI: 10.1016/j.ajo.2015.11.005
23. Singh A.D., Medina C.A., Singh N. et al. Fine-needle aspiration biopsy of uveal melanoma: outcomes and complications. *Br J Ophthalmol* 2016;100(4):456–62. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2015-306921
24. Яровая В.А., Шацких А.В., Зарецкий А.Р. и др. Прогностическое значение клеточного типа увеальной меланомы. *Архив патологии* 2021;83(4):14. DOI: 10.17116/patol20218304114 Yarovaia V.A., Shatskikh A.V., Zaretsky A.R. et al. Prognostic value of the cell type of uveal melanoma. *Arhiv patologii = Pathology archive* 2021;83(4):14. (In Russ.). DOI: 10.17116/patol20218304114
25. Finn A.P., Materin M.A., Mruthyunjaya P. Choroidal tumor biopsy: a review of the current state and a glance into future techniques. *Retina* 2018;38(1):S79–87. DOI: 10.1097/IAE.0000000000001997
26. Augsburger J.J., Corrêa Z.M., Schneider S. et al. Diagnostic transvitreal fine-needle aspiration biopsy of small melanocytic choroidal tumors in nevus versus melanoma category. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2002;100:225–32.
27. Cohen V.M.L., Dinakaran S., Parsons M.A. et al. Transvitreal fine needle aspiration biopsy: the influence of intraocular lesion size on diagnostic biopsy result. *Eye* 2001;15(2):143–7. DOI: 10.1038/eye.2001.48
28. Yavuziyigitoglu S., Koopmans A.E., Verdijk R.M. et al. Uveal melanomas with SF3B1 mutations. *Ophthalmology* 2016;123(5):1118–28. DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.01.023
29. Parrella P., Caballero O.L., Sidransky D. et al. Detection of c-myc amplification in uveal melanoma by fluorescent in situ hybridization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(8):1679–84. PMID 11431428
30. Souri Z., Wierenga A.P.A., van Weeghel C. et al. Loss of BAP1 is associated with upregulation of the NFκB Pathway and Increased HLA class I expression in uveal melanoma. *Cancers (Basel)* 2019;11(8):1102. DOI: 10.3390/cancers11081102
31. Shoushtari A.N., Carvajal R.D. *GNAQ* and *GNAI1* mutations in uveal melanoma. *Melanoma Res* 2014;24(6):525–34. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000121
32. Paul E.V., Parnell B.L., Fraker M. Prognosis of malignant melanomas of the choroid and ciliary body. *Int Ophthalmol Clin* 1962;2(2):387–402. DOI: 10.1097/00004397-196206000-00007
33. Callender Colonel G.R., Wilder H.C., Ash J.E. Five hundred melanomas of the choroid and ciliary body followed five years or longer. *Am J Ophthalmol* 1942;25(8):962–7. DOI: 10.1016/S0002-9394(42)90595-6
34. Sidawy M.K., Del Vecchio D.M., Knoll S.M. Fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Cancer* 1997;25;81(4):253–9. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0142
35. De Lange M.J., Nell R.J., van der Velden P.A. Scientific and clinical implications of genetic and cellular heterogeneity in uveal melanoma. *Mol Biomed* 2021;2(1):25. DOI: 10.1186/s43556-021-00048-x
36. Char D.H., Kroll S.M., Miller T. et al. Irradiated uveal melanomas: cytopathologic correlation with prognosis. *Am J Ophthalmol* 1996;122(4):509–13. DOI: 10.1016/S0002-9394(14)72110-5

Вклад авторов

В.А. Яровая: ведение пациентов с УМ, разработка концепции исследования, сбор, анализ и интерпретация данных;
 И.А. Левашов: разработка дизайна исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи;
 А.Р. Зарецкий: разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, научное редактирование;
 Л.В. Чудакова: проведение молекулярно-генетических тестов, сбор и анализ данных;
 В.В. Назарова: ведение пациентов с УМ, разработка дизайна исследования, анализ и интерпретация данных;
 А.Д. Матяева: сбор, анализ и интерпретация данных;
 Л.В. Демидов: разработка концепции исследования, научное редактирование;
 А.А. Яровой: разработка концепции и дизайна исследования, научное редактирование.

Authors' contribution

V.A. Yarovaya: management of patients with mental illness, development of the research concept, data collection, analysis and interpretation;
I.A. Levashov: research design development, data collection, analysis and interpretation, article writing;
A.R. Zaretsky: development of the research concept and design, data analysis and interpretation, scientific editing;
L.V. Chudakova: conducting molecular genetic tests, data collection and analysis;
V.V. Nazarova: management of patients with mental illness, study design development, data analysis and interpretation;
A.D. Matyaeva: data collection, analysis and interpretation;
L.V. Demidov: development of the research concept, scientific editing;
A.A. Yarovoy: development of the concept and design of research, scientific editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Яровая / V.A. Yarovaya: <https://orcid.org/0000-0001-8937-7450>,
И.А. Левашов / I.A. Levashov: <https://orcid.org/0000-0001-6949-1002>
А.Р. Зарецкий / A.R. Zaretsky: <https://orcid.org/0000-0002-7778-6617>
Л.В. Чудакова / L.V. Chudakova: <https://orcid.org/0000-0002-8592-1188>
В.В. Назарова / V.V. Nazarova: <https://orcid.org/0000-0003-0532-6061>
А.Д. Матяева / A.D. Matyaeva: <https://orcid.org/0000-0001-7543-619X>
Л.В. Демидов / L.V. Demidov: <https://orcid.org/0000-0002-8562-6082>
А.А. Яровой / A.A. Yarovoy: <https://orcid.org/0000-0003-2219-7054>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке Минздрава России (государственное задание № 300060056 для ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России).

Funding. The study was conducted with the support of the Ministry of Health of the Russian Federation (state task No. 300060056 for the Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Пациенты подписали информированное согласие на публикацию своих данных.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The protocol of the study was approved by the committee on biomedical ethics of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Ministry of Health of Russia.

The patients gave written informed consent to the publication of their data.

Статья поступила: 22.12.2022. **Принята к публикации:** 13.06.2023.

Article submitted: 22.12.2022. **Accepted for publication:** 13.06.2023.