

На правах рукописи

ЯРОВАЯ ВЕРА АНДРЕЕВНА

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ТОНКОИГОЛЬНАЯ АСПИРАЦИОННАЯ БИОПСИЯ
УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

14.01.07 – глазные болезни

14.01.12 – онкология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва-2020

Работа выполнена на базе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Научные руководители:

Малюгин Борис Эдуардович

профессор, доктор медицинских наук, заместитель генерального директора по научной работе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Демидов Лев Вадимович

профессор, доктор медицинских наук, заведующий онкологическим отделением хирургических методов лечения №12 (онкодерматологии) ФГБУ «НМИЦ Онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Шишкин Михаил Михайлович

д.м.н., профессор, заведующий кафедрой глазных болезней ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Проценко Светлана Анатольевна

д.м.н., профессор, заведующий отделением химиотерапии и инновационных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России.

Ведущая организация:

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»

Защита диссертации состоится «14» декабря 2020г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.014.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, ул. Бескудниковский бульвар, дом 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им.акад. С.Н.Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, ул. Бескудниковский бульвар, дом 59А.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Мушкова Ирина Альфредовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Уvealная меланома (УМ) – наиболее частая злокачественная опухоль сосудистой оболочки глаза у взрослых (Бровкина А.Ф.2002; Singh A 2011; Virgili G 2007), метастатическая форма которой является некурабельным состоянием с медианой общей выживаемости не более 12 мес (Damato B 2014; Nathan P 2016).

В настоящее время лечение УМ имеет выраженную органосохраняющую направленность (Бровкина А.Ф.2003, 2004; Bedford M 1973; Саакян С.В. 2015, 2016; Яровой А.А. 2010, 2016; Шишкин М.М.2009,2012; Бойко Э.В.2007,2016; Pe'er J 2011; Vecrakis N 2015; Smith S 2013; Amaro A 2017), что обусловлено не только ухудшением качества жизни у пациентов с анофтальмом (Гришина Е.Е. 1998; Либман Е.С. 2001; Blanco-Rivera C 2008), но и отсутствием различий в выживаемости при проведении энуклеации и при сохранении глаза (Margo C 2004; COMS 2006; Яровой А.А. 2010).

Прогноз при УМ индивидуален и зависит от множества как клинических (Correa Z.M. 2014; Verus T 2017), так и морфологических факторов (Paul E 1962; Folberg R 1993; Li W 2000; Ziemssen F 2006; Brouwer N 2019). Кроме того, в настоящее время большое значение придается молекулярным факторам прогноза (Amaro A 2017), анализ которых возможен лишь на материале опухоли. Попытка использования молекулярных факторов в стратификации риска развития метастазов (МТС) УМ повышает точность прогноза, однако уровень прогностической эффективности недостаточен (Eleuteri A 2012; DeParis S 2016; Walter S 2016; Vaquero-Garcia J 2017; Shields CL 2017). Исследования, посвященные данной проблеме, противоречивы, содержат несогласующиеся результаты, широкий и разрозненный спектр генетических нарушений, входящих в прогностические классификации, анализ которых не проведен в однородных группах пациентов с МТС и без МТС. Вопрос о выделении наиболее значимых генетических факторов прогноза также остается открытым.

Органосохраняющая направленность в лечении УМ, а также необходимость наличия опухолевого материала для прогностического анализа, требует проведения биопсии УМ с прогностической целью (т.н. «прогностическая» биопсия), которая может проводиться методом тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) (Augsburger J 1985; Cohen V 2001; Polyzos S 2010; Shields CL 2011; McCannel T 2012; Seider M 2020), целостная технология которой, однако, не представлена. Основной проблемой ТИАБ является малое количество получаемого материала (Jensen O 2009; Sellam A 2016), что ведет к низкой цитологической и особенно прогностической информативности. Как правило, ТИАБ внутриглазных образований (ВГО) выполняется инъекционными иглами 25-27G, специализированные биопсийные иглы не разработаны. Неясной остается техника забора материала, не определены оптимальные доступы для очагов различной

локализации. Инструментальная и методическая неразработанность ТИАБ являются причиной низкой информативности и качества биопсийного материала, а также возможных осложнений (Glasgow B 1988; Damato B 2001; Scheffler A 2013; Mashayekhi A 2016), профилактика которых не описана. Забор малого количества ткани опухоли может частично компенсироваться его последующим сохранением с минимальной потерей в процессе обработки. Целесообразным может быть использование не только клеточного осадка (Singh A 2012), но и остаточной жидкости (супернатант), которая может содержать обломки и следы опухолевых клеток, являясь дополнительным источником генетического материала.

Таким образом, разработка всех составляющих целостной технологии ТИАБ, включающей инструментальное обеспечение, технические приемы, профилактику осложнений, обработку материала, а также определение прогностической панели необходимых маркеров, указывающих на высокий риск развития МТС УМ, является актуальным не только для офтальмоонкологии, но и для онкологии в целом.

Цель работы – Разработать технологию «прогностической» тонкоигольной аспирационной биопсии увеальной меланомы.

Задачи исследования:

1. Разработать в эксперименте методику ТИАБ ВГО и оптимальный инструментарий, позволяющие получить достаточный объем материала для морфологической верификации ВГО и мультимаркерного анализа УМ с прогностической целью.
2. Оценить в эксперименте диагностическую ценность и локальную безопасность ТИАБ УМ на энуклеированных глазах.
3. На основании клинических исследований при проведении дифференциальной диагностики ВГО изучить диагностическую ценность и безопасность разработанной методики ТИАБ.
4. Оценить связь морфологических и генетических факторов с уровнем выживаемости в ретроспективном сравнительном анализе групп пациентов с метастазами и без метастазов УМ с последующей разработкой прогностической панели наиболее значимых для диссеминации увеальной меланомы маркеров, использование которых целесообразно и возможно в рамках технологии «прогностической» тонкоигольной аспирационной биопсии.
5. Провести сравнительный анализ современных цитогенетической и мутационной классификаций риска развития метастазов увеальной меланомы для определения их прогностической ценности и целесообразности использования в практике.

Научная новизна

1. Разработана целостная технология ТИАБ с определением оптимального инструментария манипуляции, методических подходов и мер профилактики интра- и послеоперационных осложнений, что позволило повысить информативность биопсии даже при очагах малой проминенции.
2. Впервые предложено использование супернатанта при обработке материала ТИАБ ВГО.
3. Предложено оценивать присутствие эпителиоидных клеток в материале ТИАБ как неблагоприятного фактора в развитии метастазов УМ.
4. Впервые проведен сравнительный анализ встречаемости различных предиктивно значимых маркеров в клинически однородных группах пациентов с метастазами и без метастазов, а также оценка их корреляции с витальным исходом (выживаемости при выявляемых нарушениях).
5. Доказано, что мутации GNA11 и GNAQ являются взаимоисключающими, а их анализ может использоваться как дополнительный молекулярно-генетический метод дифференциальной диагностики УМ.
6. Среди всего спектра нарушений-«драйверов» и «модификаторов» были определены обладающие наибольшей предиктивной силой (эпителиоидный тип опухоли, изменения регионов 8p и 8q, а также мутации гена EIF1AX), а также группа маркеров с меньшим прогностическим потенциалом (1p, 3p, 6q, мутация гена GNAQ).
7. Впервые проведено сравнение мутационной и цитогенетической классификаций риска развития МТС УМ, выявлено их полное несовпадение.

Практическая значимость результатов исследования

1. Предложены тонкостенные иглы 25-27G с различными углами заточки косорезанного рабочего (30-60 °с шагом в 15 °: 30°, 45° и 60°) в зависимости от высоты ВГО, а также иглы с косорезанным рабочим концом, имеющим продолжение на противоположной острию иглы части трубки в виде прорези, позволили увеличить площадь аспирирующей поверхности инструмента и получать информативный материал ТИАБ.
2. Определена целесообразность использования игл 25G при биопсии очагов малого размера.
3. Определена предпочтительность трансвитреального доступа ТИАБ, показана его применимость для очагов передней локализации
4. Предложена методика профилактики экстрабульбарного распространения опухоли при ТИАБ, заключающаяся в установке порта-проводника, в эксперименте доказана эффективность разработки.

5. Разработан способ борьбы с интраоперационным кровотечением, возникающим при ТИАБ ВГО, заключающийся в установке дополнительного витреоретинального порта диаметром от 25G до 27G для подачи через него жидкости, для создания умеренной офтальмогипертензии, способствующей компрессии поврежденных сосудов.
6. Разработан способ обработки материала ТИАБ методом жидкостной биопсии, позволяющий использовать клеточный осадок, а также супернатант для выделения ДНК и проведения молекулярных тестов *in vitro* без искажений генетической информации.
7. В эксперименте доказана высокая информативность и чувствительность предложенной технологии ТИАБ, что было подтверждено при апробации технологии в клинике.
8. Впервые разработана прогностическая панель, включающая анализ клеточного типа опухоли, гена EIF1AX, регионов 1p, 3p, 6q, 8p и 8q, которая может использоваться для определения риска развития метастазов у пациентов с УМ.
9. Доказано, что иммуногистохимический анализ уровня экспрессии белка VAP1 обладает низкой чувствительностью, что указывает на целесообразность использования метода MLPA для определения статуса копийности гена VAP1 в УМ как маркерного региона хромосомы 3.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработанная технология ТИАБ ВГО, включающая предложенные хирургическую технику, инструментарий и методику обработки материала, позволяет получить достаточный материал, пригодный для морфологической верификации патологических очагов и проведения мультимаркерного анализа УМ с прогностической целью, при отсутствии локальной диссеминации опухоли.
2. При проведении дифференциальной диагностики ВГО диагностическая ценность разработанной технологии ТИАБ достигает 97% при отсутствии осложнений.
3. Предложенная прогностическая панель для определения риска развития метастазов УМ содержит все статистически достоверные морфологические и генетические маркеры, анализ которых целесообразен и возможен не только на материале хирургического удаления опухоли, но и на материале ТИАБ.

Внедрение результатов работы в практику

Разработанная технология ТИАБ ВГО, в том числе с прогностической целью, внедрена в клиническую, педагогическую деятельность головной организации, филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ, кафедры Глазных болезней Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, Федерального государственного бюджетного

учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на еженедельных научно-практических конференциях ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения РФ (Москва, 2019, 2020), на научно-практической конференции "Вопросы диагностики и лечения меланомы и других опухолей кожи" (Москва, 2017), на XII Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2017, 1-е место за устный доклад и «Приз зрительских симпатий»), на IV международном конгрессе «Молекулярный основы клинической медицины – возможное и реальное» (Санкт-Петербург, 2017г), на International Society of Ocular Oncology Congress (Австралия, Сидней, 2017 и США, Лос-Анджелес, 2019), на 53-th OOG Spring Meeting Meeting (Италия, Сиена, 2018), на World Ophthalmology Congress 2018 (Испания, Барселона, 2018), на XXII Российском онкологическом конгрессе 2018г (Москва, 2018, лучший постерный доклад конгресса), на ежегодной конференция Ассоциации специалистов про проблемам меланомы "Меланома и опухоли кожи" (Москва, 2019), VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Брахитерапия в лечении злокачественных образований различных локализаций» (Москва, 2019), на XXIII Российском онкологическом конгрессе 2019г (Москва, 2019, 1-е место в конкурсе молодых ученых), на 14 International Stereotactic Radiosurgery Society Congress (Рио-де-Жанейро, Бразилия, 2019), на V международном конгрессе «Молекулярный основы клинической медицины – возможное и реальное» (Санкт-Петербург, 2020г).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, из них 12 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 9 – в зарубежной печати. Имеется 6 патентов РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 178 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике материала и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и использованной литературы. Работа иллюстрирована 56 рисунками и 31 таблицей. Список использованной литературы содержит 232 источника, из них 26 – отечественных и 206 – зарубежных.

Клиническая и экспериментальная часть исследования выполнена на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, заведующий отделом - д.м.н. А.А. Яровой. Гистологическое исследование выполнено в лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза того же учреждения (заведующая лабораторией - к.м.н. А.В. Шацких). Морфологическое и генетическое исследования также выполнялось в отделе молекулярной онкологии лаборатории ООО «Евроген Лаб» (заведующий лабораторией – Зарецкий А.Р., врач-гистолог – к.м.н. Берщанская А.М. и врач-цитолог – к.м.н. Мельникова Н.В).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включено 230 глаз 230 пациентов с ВГО. Средний возраст пациентов составил 57,7 лет (от 22 до 88 лет). Мужчин было 107 (46%), женщин – 123 (54%).

В экспериментальную часть работы (Глава 3) вошел 71 энуклеированный глаз с УМ, на которых выполняли разработку технологии ТИАБ.

Апробацию предложенной технологии ТИАБ в клинике (Глава 4) выполняли у 48 пациентов (48 глаз) с диагностической целью при необходимости морфологической верификации опухолевого очага.

В ретроспективную группу исследования для определения наиболее значимых морфологических и генетических прогностических факторов (Глава 5) было включено 111 глаз 111 пациентов, которым была проведена энуклеация по поводу УМ. У 51 пациентов не было признаков диссеминации опухоли при сроке наблюдения свыше 3 лет (средний - 86,0, от 36 до 182 мес). У 60 выявляли МТС УМ при сроках наблюдения от 1 до 129 месяцев (средний – 21 мес).

Всем пациентам проводили комплексное офтальмологическое обследование, включающее стандартные, а также специальные методы диагностики: ультразвуковое исследование глаза (ультразвуковую биомикроскопию (УБМ) и В-сканирование), фоторегистрацию глазного дна, оптическую когерентную томографию. В случаях УМ для выявления МТС всем пациентам проведена магнитно-резонансная томография (МРТ) органов брюшной полости с контрастированием (примовист) и компьютерная томография (КТ) грудной клетки. Для диагностики МТС костей скелета использовали сцинтиграфию и КТ. МТС УМ подтверждали при морфологическом исследовании материала биопсии соответствующего метастатического очага. В ряде случаев МТС УМ выявляли при проведении аутопсии.

Морфологическое исследование удаленных глаз выполняли по стандартной методике. ДНК из образцов выделяли с помощью набора реагентов ExtractDNA FFPE

(ЗАО «Евроген», Москва, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Поиск мутаций в «горячих точках» генов GNAQ (экзоны 4 и 5) и GNA11 (экзоны 4 и 5) в ДНК методом высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ в модификации усиленной аллель-специфической ПЦР-РВ с одновременным подавлением амплификации аллелей «дикого типа». Количество копий короткого длинных плеч хромосом 1,3,6 и 8, а также количество копий гена VAP1 в ДНК, оценивали методом мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA). Использовали набор реагентов «Uveal Melanoma Probemix» (MRC Holland, Нидерланды) в соответствии с инструкцией производителя. Уровень экспрессии белка VAP1 оценивали иммуногистохимическим методом на автоматическом стейнере закрытого типа Benchmark XT (Ventana – Roche, Великобритания) с использованием моноклонального антитела C-4 (anti-VAP1; Santa Cruz Biotechnologies, США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерных программ MedCalc 19.5.3 («MedCalc Software Ltd», Бельгия) и Microsoft Office Excel 2016 («Microsoft», США). Рассчитывали среднюю арифметическую величину – M , стандартное отклонение – σ . Данные полученных результатов представлены в виде $M \pm \sigma$. Распределение показателей в группах оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для проверки достоверности различий между средними значениями двух выборок использовался параметрический t -критерий Стьюдента (p). Для сравнения качественных признаков между группами использовали критерий χ^2 и критерий Фишера, а также вариант критерия Вилкоксона (Wilcoxon rank-sum test, тест Манна-Уитни). Выживаемость на момент 3 и 5 лет оценивали методом Каплана-Майера с проверкой значимости различий по логарифмическому ранговому критерию. При этом в контексте УМ общая выживаемость приравнивалась к специфической ввиду крайне низкой выживаемости пациентов с метастатической формой УМ и отсутствия специфического лечения. Влияние различных факторов на выживаемость изучали методом регрессионного анализа пропорциональных рисков Кокса. Для определения согласия результатов исследования одного критерия двумя разными методами использовали критерий Каппа-Коуэна. Статистически достоверными считали различия, при которых уровень значимости (p) $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработка технологии ТИАБ внутриглазных образований

Разработку технологии ТИАБ выполняли на 71 энуклеированном глазу с клинически и инструментально установленным диагнозом УМ. ТИАБ проводили непосредственно после энуклеации и осуществляли двумя доступами: трансклеральным ($n=71$) и трансклеральным ($n=71$). Для опухолей постэкваториальной локализации использовали трансклеральную ТИАБ, для преэкваториальной – трансклеральную. При

трансклеральной ТИАБ для профилактики экстрабульбарного распространения опухоли использовали витреоретинальные порты, установленные в 3,5-4,0мм от лимба вне места проекции основания опухоли на склеру, в качестве проводника для биопсийной иглы, исключая контакт иглы как потенциального «переносчика» клеток опухоли со склерой. Трансклеральную ТИАБ выполняли после маркирования границ опухоли при проведении трансиллюминации. Офтальмологическим лезвием формировали интрасклеральный тоннель в форме треугольника на 2/3 глубины склеры длиной 2-3мм, через который производили вкол иглы в ткань опухоли под острым углом с последующей аспирацией опухолевой ткани.

На первом этапе работы ТИАБ выполняли инъекционными иглами 25-27G. При опухолях проминенцией менее 3мм отмечали неполное погружение острия иглы в ткань опухоли и выстояние верхней части аспирирующего окна над поверхностью сетчатки. Это являлось причиной аспирации стекловидного тела и сетчатки в процессе забора опухоли. Для решения данной проблемы были предложены иглы 25-27G длиной от 25 до 39 мм с различными углами заточки косорезанного рабочего конца (Патент РФ № 2020109301): 30°, 45° и 60°. Угол заточки выбирается в зависимости от высоты образования: при высоте до 3 мм угол среза составляет 60°, от 3 мм до 5 мм – 45°, более 5 мм – 30°. Предложенные тонкостенные иглы 25-27G имеют уменьшенную толщину стенки трубки, что увеличивает внутренний просвет инструмента в 2 раза по сравнению с инъекционными иглами. Для повышения информативности ТИАБ были разработаны иглы с косорезанным рабочим концом и дополнительной прорезью в продолжении аспирирующего окна. Прорезь при этом находится на противоположной острию иглы части трубки (Патент №2672476). Наличие прорези увеличивает площадь аспирирующего окна, а заточенные кромки вырезки позволяют при ротационном движении иглы в процессе ТИАБ «режущим» движением отсечь ткани ВГО, оказавшиеся в просвете иглы. Иглу соединяли с пустым шприцем 3-5мл посредством мягкой трубки-проводника, что обеспечивает свободу руки хирурга и позволяет тонко проводить манипуляцию, в отличие от прямого соединения шприца с иглой. По завершении аспирации на трубку необходимо накладывать зажим для предотвращения возможной аспирации сетчатки и стекловидного тела. Был предложен способ профилактики интраоперационных кровотечений при ТИАБ: устанавливали дополнительный витреоретинальный порт диаметром от 25G до 27G для подачи через него жидкости – сбалансированного раствора BSS (Патент РФ №2698448). Одновременно с аспирацией опухоли подавали жидкость в полость глаза до создания умеренной офтальмогипертензии, контролируемой пальпаторно. Создание кратковременной гипертензии способствует компрессии поврежденных сосудов и сокращает выраженность кровотечения. Кроме того, повышение внутриглазного давления создает условия для большего продвижения опухолевых масс в свободное пространство (просвет иглы).

Полученный материал помещали в пробирку с консервантом «ЦитоПротект» (ООО «Евроген Лаб», Москва). Производили трехкратное промывание биопсийной системы консервантом. Клеточность материала ТИАБ на интраоперационном этапе оценивали под микроскопом на большом увеличении. При сомнении в достаточности полученного аспирата возможно выполнять повторную пункцию опухоли. Забранный материал ТИАБ отправляли на последующий цитологический и генетический анализ в лабораторию ООО «Евроген Лаб», Москва.

Первичную обработку материала ТИАБ осуществляли методом жидкостной цитологии. Использовали материалы и реагенты серии «ЦитоСкрин» (ООО «Хоспитекс Диагностикс», Москва). Обработку проводили по технике центрифугирования-отстаивания. Изготовленные стеклопрепараты окрашивали азуром и эозином по стандартной методике, подвергали цитологическому исследованию методом световой микроскопии на микроскопе BioRevolution BZ-9000 (Keyence Corporation, Осака, Япония) Супернатант, оставшийся после первичной обработки материала ТИАБ, использовали для выделения ДНК и проведения молекулярных тестов *in vitro* (методами Супер-АС-ПЦР-РВ и ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР).

С целью **оценки информативности материала ТИАБ для морфологического исследования** был проведен сравнительный анализ гистологического материала и материала ТИАБ с клинически установленной УМ после проведения энуклеации у 39 пациентов. Средняя проминенция образования данной группы составила 10,2 мм (от 5,8 мм до 15,2 мм), протяженность – 14,8 мм (от 9,1 мм до 19,8 мм). Вторичную отслойку сетчатки наблюдали в 37 случаях, средняя высота отслойки составила 4,6 мм (от 1,4 мм до 12,6 мм).

Информативность материала ТИАБ составила 100%: во всех 39 случаях был получен материал, пригодный для проведения цитологического исследования. При гистологическом исследовании удаленного глаза цитологический диагноз УМ был подтвержден в 38 случаях из 39: в 1 случае был зафиксирован ложноположительный результат – аденома пигментного эпителия. Чувствительность ТИАБ для морфологического исследования составила 97%.

В ходе цитологического исследования оценивали наличие в УМ эпителиоидных клеток, являющихся фактором неблагоприятного прогноза. В 19 случае были обнаружены преимущественно веретенообразные клетки, в 16 случаях – круглые, в 3 случаях – немногочисленные полиморфные клетки УМ (клеточный тип определить не удалось). При гистологическом исследовании удаленного глаза веретенноклеточная УМ диагностирована в 22 случаях, эпителиоидная – в 4, смешанноклеточная – в 13. Чувствительность ТИАБ для определения клеточного типа УМ составила 89,5%.

С целью **оценки информативности материала ТИАБ для генетического исследования** на энуклеированных глазах (n=20) была проведена ТИАБ с последующей молекулярной верификацией адекватности полученного материала путем поиска драйверных молекулярных нарушений, характерных для УМ – мутаций в «горячих точках» экзонов 4 и 5 гена *GNAQ* и экзонов 4 и 5 гена *GNAI1* – в гистологическом и цитологическом материале. Высота образований в данной группе варьировалась от 2,3 мм до 13,7 мм (средняя – 10,0 мм), протяженность – от 10,8 мм до 19,8 мм (средняя – 15,2 мм). Информативность материала ТИАБ составила 100%: во всех 20 случаях получен материал, подходящий для проведения молекулярно-генетического исследования. Концентрация ДНК, выделенной из образцов УМ, составила $27,6 \pm 24,24$ нг/мкл для гистологических и $9,6 \pm 17,14$ нг/мкл для цитологических образцов. Качество ДНК во всех случаях было удовлетворительным. Конкордантность между результатами молекулярно-генетического исследования материала ТИАБ и гистологического материала отмечена в 19 случаях из 20 (чувствительность - 95%).

Для **оценки локальной безопасности предложенной методики ТИАБ** – риска имплантации опухолевых клеток в канал с последующим экстрабульбарным ростом УМ - провели морфологический анализ склеральных образцов (n=44) с биопсийными каналами на предмет опухолевых клеток при проведении ТИАБ с портом и без на 22 энуклеированных глазах. Высота опухоли варьировалась от 4,8 до 19,4 мм (средняя – 11,4 мм), протяженность – от 10,4 до 20,1 мм (средняя 14,4 мм). Во всех случаях материал, полученный в ходе ТИАБ, оказался пригодным для проведения цитологического исследования. По результатам гистологического исследования в 22 случаях из 22 была подтверждена УМ. В группе фрагментов склер после ТИАБ, выполняемой непосредственно через склеру, количество случаев имплантации опухолевых клеток в склеральный канал (n=5) оказалось статистически выше, чем при ТИАБ, выполняемой через порт ($p=0,018$, по критерию хи-квадрат Пирсона).

Клиническая апробация разработанной технологии ТИАБ внутриглазных образований с дифференциально-диагностической целью

Разработанная и предложенная для ВГО технология ТИАБ была апробирована в клинике у 48 человек (24 мужчины и 24 женщины, средний возраст – 57,5 лет, от 22 до 88) при проведении ТИАБ с диагностической целью. Высота образований в данной группе варьировалась от 1,72 до 15,4 мм (средняя – 5,3 мм), максимальная протяженность - от 3,8 до 22,2 мм (средняя – 13,0 мм). Вторичную отслойку сетчатки высотой 3,2 мм (от 0,5 мм до 4 мм) отмечали у 26 пациентов. В 34 случаях ВГО имело постэкваториальную локализацию, в 14 - преэкваториальную.

В 18 случаях ТИАБ выполняли при подозрении на метастатическое поражение сосудистой оболочки как при отсутствии установленного первичного опухолевого очага (n=11), так и при наличии злокачественной опухоли иной локализации в анамнезе (n=7). В 21 случае ТИАБ выполняли для подтверждения клинически предполагаемой УМ по причине отказа пациентов от лечения без морфологической верификации установленного диагноза, а также в случаях атипичной картины УМ; в 1 случае ТИАБ образования цилиарного тела выполняли после ранее перенесенного увеита; в 2 случаях - с целью дифференцирования УМ с отслойкой сосудистой оболочки; у 3 человек – для дифференцирования УМ с вазопрлиферативной опухолью (ВПО) сетчатки, в 1 случае – для дифференцирования ВПО с ретиноцитомой; в 1 - при подозрении на субретинальное кровоизлияние для исключения УМ, в 1 – при подозрении на рост УМ на фоне возрастной макулярной дегенерации.

ТИАБ проводили в условиях ретробульбарной анестезии с акинезией по Ван-Линту. ТИАБ выполняли трансклереально, трансклерально и транскорнеально. Транскорнеальный (n=1) доступ использовали при опухоли цилиарного тела и отсутствии необходимого мидриаза вследствие задней круговой синехии. Образования высотой до 3 мм пунктировали иглами 25G, опухоли свыше 3мм – 27 G. Угол заточки иглы определяли исходя из предложенной выше схемы. Во всех случаях трансклереальной ТИАБ использовали порт. При риске возникновения интраоперационного кровотечения из места пункции опухолевого очага перед ТИАБ устанавливали второй порт для подачи жидкости, а также использовали его для подведения эндоосветителя в случаях недостаточной прозрачности хрусталика.

Во всех случаях проведена однократная пункция. По результатам цитологического исследования, информативными были 47 из 48 (98%) образцов: в 34 случаях выявлена УМ, в 9 – злокачественное образование эпителиального генеза, в 3 и в 1 – лимфоцитарное и геморрагическое поражение сосудистой оболочки глаза, соответственно.

Послеоперационное ведение включало осмотр, стандартные методы обследования, ОКТ места пункции, а также УБМ для исключения возможного роста опухоли в биопсийном канале (не выявлено ни в одном случае). Ни в одном случае из 48 не выявлены осложнения ТИАБ при среднем сроке наблюдения 11 мес (от 3 до 41 мес). Все пациенты находятся под наблюдением.

Разработка панели наиболее значимых для диссеминации увеальной меланомы маркеров в рамках технологии прогностической ТИАБ

Для выделения наиболее значимых для оценки метастатического потенциала УМ маркеров, выявление которых возможно в рамках ТИАБ, проанализировано 111 образцов УМ 111 пациентов. Пригодными для анализа оказалось 96 образцов. Группы пациентов с

МТС и без МТС были сопоставимыми по основным клиническим факторам прогноза (Табл.1).

Таблица 1.

Основные характеристики групп пациентов с МТС и без МТС УМ

Критерий	Пациенты без МТС (n=41)	Пациенты с МТС (n=55)	p
Возраст пациентов, лет (M±δ)	57±10,9	60±15,0	0,9*
Пол, n (%)	-	-	-
Мужчины	20 (49%)	27 (49%)	1,0**
Женщины	21 (51%)	28 (51%)	1,0**
Высота опухоли, мм (M±δ)	10,7±3,3	10,5±3,2	0,6*
Максимальная протяженность опухоли, мм (M±δ)	14,4±4,0	16,0±3,6	0,2*
Юкстапапиллярная локализация, n (%)	12 (29%)	10 (18%)	0,2**
Вовлечение цилиарного тела, n (%)	17 (42%)	32 (58%)	0,1**
Экстрабульбарный рост, n (%)	5 (12%)	5 (9%)	0,7***
Срок наблюдения, мес (M±δ)	70,5±34,8	21±23,4	-

Примечание: статистически значимая разница между группами отсутствует, если $p > 0,05$, Группы пациентов с МТС и без МТС имеют нормальное распределение по возрасту и размеру опухоли

* - уровень значимости, рассчитанный по критерию Стьюдента

** - уровень значимости, рассчитанный по критерию χ^2

*** - уровень значимости, рассчитанный по точному двустороннему критерию Фишера.

Среди **морфологических факторов** прогноза на материале УМ пациентов с МТС и без МТС определяли клеточный тип и его связь с выживаемостью для последующего использования в рамках прогностической ТИАБ. Трехлетняя и 5-летняя выживаемость при веретенноклеточной УМ составила 78% и 70%, для смешанноклеточной – 37% и 24%, а для эпителиоидноклеточной – 50% и 31%, соответственно ($p < 0,001$). Таким образом, в рамках исследования материала ТИАБ с прогностической целью целесообразно использовать бинарный принцип – «присутствие эпителиоидных клеток» и «отсутствие эпителиоидных клеток» ($p < 0,0001$).

Мутационный анализ включал изучение мутаций-«драйверов» и «модификаторов». Молекулярная верификация УМ путем тестирования на «драйверные» мутации *GNA11* и *GNAQ* дала положительный результат в 89 образцах из 96 (чувствительность — 93%), что свидетельствует о возможности использования метода при дифференциальной диагностике УМ. При этом мутации двух генов являются взаимоисключающими ($p \leq 0,0001$). Анализ выживаемости методом Каплана-Майера

показал, что мутация с.626A>T, р.(Gln209Leu) в экзоне 5 гена *GNA11* может свидетельствовать о повышении риска развития МТС у пациентов с УМ при сроках наблюдения свыше 2 лет ($p=0,03$). Мутация гена *GNAQ* связи с выживаемостью не имела ($p=0,17$).

Среди «модификаторов» исследовали мутации в «горячих точках» генов *EIF1AX* (экзоны 1 и 2), *SF3B1* (экзон 14) и *SRSF2* (экзон 1), а также инактивацию белка *BAP1* и мутацию гена *BAP1*. Трех- и 5-летняя выживаемость пациентов с мутацией гена *EIF1AX*, выявленной в 18%, составила 94%, для пациентов без мутации - 49% и 35%, соответственно ($p<0,0001$). Анализа выживаемости пациентов с УМ с мутацией гена *SF3B1* (8% образцов) и без нее не выявил достоверных различий ($p=0,8$). Мутация гена *SRSF2* не выявлена ни в одном случае.

Нарушения в гене *BAP1* исследовали двумя методами – иммуноцитохимическим (ИГХ) и методом MLPA, – результаты которых имели значительные расхождения. ИГХ выявили различные уровни (высокий, средний, низкий и отсутствие) экспрессии белка *BAP1*, что, однако, не имело связи с выживаемостью ($p=0,98$). Проведенный по методу Каплана-Майера анализ показал, что у пациентов без делеции гена *BAP1* 3-летняя и 5-летняя выживаемость достоверно ($p=0,012$) выше, чем у пациентов с делецией, и составляет 63% и 58%, соответственно, против 52% и 36 % (пациенты с делецией). Делеция гена *BAP1* также ассоциирована с эпителиоидной УМ ($p=0,016$). Полученные результаты позволяют косвенно судить о недостаточной надежности ИГХ теста на инактивацию белка *BAP1*, что указывает на целесообразность использования метода MLPA для определения статуса копийности гена *BAP1* в УМ.

Цитогенетический анализ включал исследование короткого плеча хромосомы 1 (1p), изучение хромосомы 3 (короткое (3p) и длинное (3q) плечо), хромосомы 6 (короткое (6p) и длинное (6q) плечо), а также хромосомы 8 (короткое (8p) и длинное (8q) плечо).

Исследование выживаемости пациентов с УМ при изменении региона 1p показало значимость ($p=0,007$) амплификации, включая субклональную, в развитии МТС: показатели 3-х и 5-летней выживаемости без амплификации, включая субклональную, составили 62% и 49%, соответственно, с амплификацией – 34% и 22%, соответственно. Амплификация региона 1p ассоциирована с эпителиоидноклеточной УМ ($p=0,04$).

Изменения региона 3p оценивали с точки зрения наличия его делеции. Выживаемость пациентов с УМ при делеции, включая субклональную, в сроки 3 и 5 лет составила 47% и 34%, соответственно, при нормальном статусе 3p – 73% и 64%, соответственно ($p=0,004$). Отмечена статистически достоверная связь делеции 3p с амплификацией 8q ($p=0,0008$), делецией 8p ($p=0,02$) и эпителиоидным строением УМ ($p=0,03$).

Трех- и 5-летняя выживаемость пациентов с УМ с делецией региона 3q, включая субклональную, составила 52% и 38%, соответственно. Показатели выживаемости при отсутствии изменений данного маркера были значительно выше: 74% и 66%, соответственно ($p=0,006$). Делецию 3q чаще отмечали у пациентов с амплификацией 8q ($p=0,04$). Совпадение результатов исследования регионов 3p и 3q отмечено в 83% случаев (карра=0,61, 95% ДИ [0,5;0,8]). Методом пропорциональной регрессии рисков Кокса ($p_{\text{модели}}=0,005$) показано, что наибольшей предиктивной значимостью обладает изменение региона 3p ($p=0,002$).

Влияния изменений региона 6p на развитие МТС УМ выявлено не было ($p=0,1$). Амплификация региона 6q с тенденцией к достоверности ($p=0,05$) является предиктором благоприятного прогноза: 3- и 5-летняя выживаемость пациентов с увеличением копии региона 6q выше, чем с делецией и нормой, и составляет 80% и 67%, соответственно.

Анализ выживаемости в зависимости от изменения региона 8p показал связь делеции, включая субклональную, с низкими показателями выживаемости ($p<0,0001$): 25% и 6% на момент 3 и 5 лет, соответственно. Трех- и 5-летняя выживаемость пациентов без делеции 8p составила 64% и 54%, соответственно. Делецию 8p чаще наблюдали при эпителиоидноклеточной УМ ($p=0,001$).

Амплификация региона 8q, включая амплификацию высокой степени, ассоциирована с низкой выживаемостью пациентов с УМ: показатели составили 43% и 26% для 3 и 5 лет, соответственно. Без таких изменений региона 8q 3- и 5-летняя выживаемость была выше и составила 80% и 75%, соответственно. С тенденцией к достоверности ($p=0,06$) при амплификации 8q высокой степени выживаемость была ниже, чем при амплификации. Для подтверждения данного явления необходим дополнительный набор пациентов с таким изменением региона 8q. Амплификация 8q, включая амплификацию высокой степени, ассоциирована с эпителиоидноклеточной УМ ($p=0,004$).

Выделение маркеров, обладающих наибольшей предиктивной значимостью, проводили методом пропорциональной регрессии рисков Кокса (Табл.2). В регрессионную модель включали все нарушения, имеющие связь с выживаемостью: для мутационного профиля – мутации генов *EIF1AX*, *GNA11* и *VAP1*, для цитогенетического – амплификацию 1p, амплификацию 6q, делецию 3p, делецию 8p и амплификацию 8q.

Анализ мутационного профиля показал, что риск возникновения МТС у пациентов с мутацией в *EIF1AX* почти в 3 раз ниже, чем без нее ($p=0,003$). Исследование цитогенетического профиля выявило значимость как амплификации региона 8q ($p=0,004$), так и делецию региона 8p ($p=0,048$).

Многофакторный регрессионный анализ нарушений мутационного и цитогенетического профиля

	B	Стд. Ошибка	Вальд	P	Exp(B)	95% дов.интервал для Exp(B)
Мутационный профиль (P модели <0.0001)						
Мутация <i>EIF1AX</i>	-2,88	1,026	7,898	0,003	0,051	от 0,0075 до 0,4180
Мутация <i>GNA11</i>	0,28	0,272	1,045	0,297	1,328	от 0,7750 до 2,2491
Мутация <i>VAP1</i>	0,1	0,289	0,732	0,732	1,104	от 0,6260 до 1,9469
Цитогенетический профиль (P модели <0.0001)						
Делеция 8p	0,68	0,346	3,9027	0,048	1,982	от 1,0054 до 3,9076
Амплификация 8q	1,00	0,352	8,1416	0,004	2,729	от 1,3693 до 5,4388
Амплификация 1p	0,43	0,359	1,4425	0,229	1,541	от 0,7610 до 3,1196
Амплификация 6q	-0,59	0,376	2,4523	0,117	0,555	от 0,2654 до 1,1598
Делеция 3p	0,44	0,315	1,9951	0,158	1,561	от 0,8414 до 2,8963

Выявляемые в УМ нарушения-«модификаторы», формируя различные сочетания, образуют, по данным литературы, классификацию опухолей, предполагающую существование четырех прогностических классов— «хороший» (I), «средний» (II), «плохой» (III) и «очень плохой» (IV). По результатам мутационного и цитогенетического исследования, опухоль относили к одному из прогностических классов. В рамках мутационной классификации было выявлено два класса, не имеющих прогностической принадлежности: V (мутация в *EIF1AX* + отсутствие экспрессии белка *VAP*) и 0 (отсутствие каких-либо нарушений). Наибольший уровень выживаемости имели пациенты I (100% и 83% для 3 и 5 лет, соответственно) и V (100% для 3 и 5 лет) прогностических классов. Показатели 3-летней выживаемости пациентов 0, II и III классов составили 54%, 50% и 45%, соответственно, 5-летней – 32%, 50% и 34%, соответственно (p=0,0025).

Анализ выживаемости в зависимости от цитогенетических прогностических классов выявил наибольший риск развития МТС у пациентов IV класса: 3- и 5- летняя выживаемость составила 37% и 19%, соответственно. Выживаемость пациентов с III (89% и 82% для 3 и 5 лет, соответственно) классом была выше (p<0,0001), чем при I (76% и 70% для 3 и 5 лет, соответственно) и II (55% для 3 и 5 лет), что противоречит цитогенетической классификации.

Сравнение цитогенетической и мутационной классификаций выявило совпадение прогностических классов лишь в 20% ($\kappa = -0,007$, 95% ДИ [-0,17609;0,041524]), что ставит перед исследователями УМ новые задачи, заключающиеся в разработке новой прогностической классификации. Разработка новой классификации должна проводиться с учетом предложенной прогностической панели.

ВЫВОДЫ

1. Разработанная технология ТИАБ ВГО, включающая транссклеральный и транспортный трансквитреальный доступы, предложенное инструментальное обеспечение и применение жидкостной биопсии для обработки материала позволяет получить достаточный объем опухолевой ткани, пригодный для морфологической верификации патологических очагов и мультимаркерного анализа УМ с прогностической целью

2. Разработанная технология ТИАБ показала в эксперименте свою высокую морфологическую и генетическую диагностическую ценность (информативность ТИАБ составила 100%), а также высокий уровень безопасности манипуляции - ни в одном случае не выявлено имплантации опухолевых клеток в склеральный канал при проведении ТИАБ через порт-проводник ($p=0,018$).

3. Предложенная и апробированная в клинике технология ТИАБ обладает высокой диагностической ценностью (информативность – 98%) при дифференциальной диагностике ВГО различного генеза, в том числе опухолей малого размера, при отсутствии каких-либо осложнений.

4. Проведенная оценка связи выживаемости пациентов с УМ с морфологическими и генетическими факторами и их встречаемости в двух стандартизированных группах пациентов с метастазами и без метастазов позволили разработать панель из 8 прогностически значимых для развития диссеминации УМ маркеров: с большей предиктивной силой - эпителиоидный тип опухоли, изменения регионов 8p и 8q, мутация гена *EIF1AX*, и с меньшим прогностическим потенциалом - 1p, 3p, 6q, мутация гена *GNAQ*. Использование разработанной панели целесообразно и возможно при проведении прогностической ТИАБ УМ.

5. Сравнение двух наиболее распространенных генетических классификаций риска развития МТС УМ - мутационной и цитогенетической - выявило совпадение прогностических классов лишь в 20% случаев ($\kappa = -0,007$), что свидетельствует о полной их разобщенности и определяет необходимость разработки новой прогностической классификации с учетом предложенной прогностической панели.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Данную методику ТИАБ возможно использовать с диагностической целью при противоречивых и/или недостаточных для установления диагноза данных клинических и инструментальных исследований, при подозрении на метастатическое поражение сосудистой оболочки, а также в случаях отказа пациента от энуклеации без морфологической верификации патологического очага.

2. Разработанную технологию ТИАБ целесообразно использовать для получения материала УМ с целью выявления морфологических и генетических изменений, влияющих на развитие МТС

3. Выбор угла заточки биопсийной иглы необходимо осуществлять с учетом проминенции опухолевого очага во избежание получения неинформативного материала ТИАБ, перфорации склеры, а также аспирации сетчатки и стекловидного тела.

4. Доступ ТИАБ должен определяться исходя из расположения опухолевого очага: оптимальной при постэкваториальной локализации образования при условии адекватной визуализации опухолевой ткани является трансклеральный доступ, при преэкваториальной – транссклеральный. Однако трансклеральный доступ является более предпочтительным ввиду удобства выполнения манипуляции, визуализация процесса забора опухоли, а также возможности контроля места пункции склеры в отсроченном периоде, что исключено при проведении транссклеральной ТИАБ.

5. Для профилактики экстрабульбарного роста опухоли по склеральному каналу при трансклеральной ТИАБ необходимо использовать порт в качестве проводника, препятствующего контакту иглы со склерой. При гипотонии через порт возможно восполнить утраченный объем стекловидного тела раствором BSS, а в случае избыточного нагнетания жидкости в полость глаза с целью купирования кровотечения – «спустить» излишний объем.

6. Для профилактики интраоперационного кровотечения в случаях опухолей малого размера и опухолей с богатой сосудистой сетью целесообразно устанавливать дополнительный витреоретинальный порт диаметром от 25G до 27G для подачи через него жидкости – сбалансированного раствора BSS.

7. В случаях недостаточной прозрачности хрусталика второй установленный витреоретинальный порт в возможно использовать для подведения эндоосветителя в полость стекловидного тела.

8. При отсутствии необходимого мидриаза и при отсутствии убедительной визуализации границ опухоли при проведении трансиллюминации при периферическом расположении опухоли (цилиарное тело) ТИАБ может выполняться транскорнеально.

9. Обработку материала ТИАБ ВГО целесообразно выполнять методом жидкостной цитологии, что позволит использовать не только клеточный осадок, но и супернатант.

10. ТИАБ может проводиться как в амбулаторных условиях, так и в условиях стационара, что не исключает проведения предоперационной подготовки в виде отмены или снижения дозы принимаемых ангиокоагулянтов и проведения сосудукрепляющей и гемостатической терапии. В качестве анестезиологического обеспечения целесообразно проведение ретробульбарной анестезии с акинезией по Ван-Линту.

11. В случаях диагностической ТИАБ при подозрении на УМ при неоднозначной морфологической картине или при небольшом количестве материала во избежание повторного вмешательства целесообразно проведение молекулярно-генетической верификация диагноза УМ путем анализа «драйверных» мутаций генов *GNA11* и *GNAQ*.

12. Прогностическая ТИАБ УМ должна включать исследование материала на наличие эпителиоидных клеток, что является достоверно неблагоприятным фактором прогноза.

13. Прогностическая панель маркеров, предсказывающих метастатический потенциал УМ, должна включать анализ регионов, обладающих как наибольшей (8p, 8q, *EIF1AX*), так и меньшей (1p, 3p, 6q, *GNAQ*) предиктивной силой.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Яровая В.А., Яровой А.А., Зарецкий А.Р., Демидов Л.В., Назарова В.В., Клеянкина С.С., Сендерович А.И. Молекулярно-генетический анализ увеальной меланомы при органосохраняющем лечении //Практическая медицина. – 2018. – Т. 16. – № 3.

2. Яровой А. А., Яровая В. А., Чудакова Л. В., Чочаева А. М., Логинов Р. А., Клеянкина С. С., Зарецкий А. Р. Сравнение молекулярных классификаций увеальной меланомы //Саратовский научно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 14. – № 4.

3. Зарецкий А. Р., Яровая В. А., Чудакова Л. В., Назарова В. В., Демидов Л. В., Яровой А. А. Опыт молекулярного тестирования увеальной меланомы I-III стадии при консервативном и хирургическом лечении //Вопросы онкологии. – 2018. – Т. 64. – № 5. – С. 625-632.

4. Яровой А.А., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А. О возможностях одновременно" радикального и щадящего" эндовитреального удаления меланомы хориоидеи //Офтальмологические ведомости. – 2018. – Т. 11. – № 3.

5. Яровой А.А., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А. Современные аспекты первичного эндовитреального удаления меланомы хориоидеи //Злокачественные опухоли. – 2017. – Т. 7. – № 3s1. – С.155.

6. Яровая В. А., Яровой А. А., Малюгин Б. Э., Демидов Л. В., Чудакова Л. В., Назарова В. В., Коробов Е. Н., Зарецкий А. Р. Молекулярное тестирование увеальной меланомы //Злокачественные опухоли. – 2018. – Т. 8. – № 3s1. – С. 263.

7. Яровая В.А., Яровой А.А., Демидов Л.В., Назарова В.В., Малюгин Б.Э., Чудакова Л.В., Чочаева А.М., Коробов Е.Н., Зарецкий А.Р. «Прогностическая» биопсия меланомы хориоидеи. Head and neck/голова и шея. Российское издание. Журнал общероссийской общественной организации федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. – 2019. – № 2s. – С. 46-47.

8. Яровой А.А., Демидов Л.В., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А. Сравнительный анализ результатов лечения большой меланомы хориоидеи брахитерапией Ru-106 с последующей эндовитреальной хирургией и брахитерапией Ru-106 в качестве монотерапии //Злокачественные опухоли. – 2019. – Т. 9. – № 3s1. – С. 46.

9. Яровой А.А., Яровая В.А., Зарецкий А.Р., Малюгин Б.Э., Котельникова А.В. Тонкоигольная аспирационная биопсия внутриглазных опухолей. Злокачественные опухоли. – 2019. – Т. 9. - № 3s1. - С. 140.

10. Яровой А.А., Малюгин Б.Э., Яровая В.А., Мельникова Н.В., Котельникова А.В., Зарецкий А.Р. Тонкоигольная аспирационная биопсия внутриглазных образований //Офтальмохирургия. – 2020. – №. 1. – С. 51-56.

11. Яровой А.А., Демидов Л.В., Левашов И.А., Назарова В.В., Яровая В.А. Кожная и увеальная меланома: сходства и различия //Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16. – № 18. – С. 78–85.

Прочие публикации

12. Yarovoy A., Bulgakova E., Krivovoyaz O., Golubeva O., Yarovaya V. Comparison of Russian and BEBIG Ruthenium plagues in the treatment of choroidal melanoma // Abstracts of the 47th Ophthalmic Oncology group (OOG) Meeting. – Moscow, 12-14 March 2015. – p.32.

13. 14. Яровая В.А., Клеянкина С.С., Яровой А.А., Голубева О.В., Демидов Л.В., Кондратьева Т.Т., Сендерович А.И., Строганова А.М., Утяшев И.А., Назарова В.В., Орлова К.В., Зарецкий А.Р. «Прогностическая» биопсия меланомы хориоидеи: техника, морфологическая и молекулярно-генетическая диагностика //Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – №. 1. – С. 375-377.

14. Yarovoy AA, Magaramov DA, Golubeva OV, Kleyankina SS, Yarovaya VA, Loginov RA. Uveal melanoma in the only seeing eyes. Abstract book. ISOO – 2017. Sydney, Australia.

15. Яровая В.А., Клеянкина С.С., Голубева О.В., Яровой А.А., Зарецкий А.Р.. Прогностический молекулярно-генетический «портрет» увеальной меланомы //Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – №. 4. – С. 215-218.

16. Yarovoy AA, Golubeva OV, Kleyankina SS, Yarovaya VA, Loginov RA. Bilateral diffuse and bilateral multifocal uveal melanoma. Abstract book. ISOO – 2017. Sydney, Australia.

17. Коробов Е.Н., Яровой А.А., Горшков И.М., Яровая В.А.. Способ радикального удаления меланомы хориоидеи при эндовитреальном вмешательстве //Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – №. 4. – С. 119-121.

18. Яровая В.А., Яровой А.А., Зарецкий А.Р., Демидов Л.В., Назарова В.В., Коробов Е.Н.. «Прогностическая» биопсия меланомы хориоидеи: за и против /Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины: сборник материалов IV Российского конгресса с международным участием «Молекулярный основы клинической медицины – возможное и реальное». 29 ноября – 2 декабря 2017 года под науч.ред. И.А.Максимцева, В.И. Ларионовой. – СПб.: СПбГЭУ, 2017. – С.94-96.

19. Яровой А.А., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А., Логинов Р.А. Первые результаты сравнительного анализа эндорезекции и брахитерапии при лечении меланомы хориоидеи больших размеров //Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – №. 1. – С. 445-448.
20. Яровая В.А., Яровой А.А., Клеянкина С.С., Коробов Е.Н., Чудакова Л.В., Демидов Л.В., Назарова В.В., Зарецкий А.Р. Молекулярное тестирование увеальной меланомы. Находки //Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – №. 4. – С. 297-299.
21. Yarovaya V.A., Yarovoy A.A., Zaretsky A.R., Demidov L.V., Nazarova V.V., Korobov E.N. Comprehensive genetic testing of uveal melanoma in eye-sparing treatment. Abstract book. OOG 2018. Siena, Italy
22. Yarovaya V.A., Yarovoy A.A., Zaretsky A.R., Demidov L.V., Nazarova V.V., Chudakova L.V., Korobov E.N. Prognostic biopsy of choroidal melanoma: results and genetic findings. Abstract book. WOC – 2018. Barcelona, Spain.
23. Yarovoy A., Shatskikh A., Yarovaya V., Korobov E., Loginov R. What will be with an eye after Ru-106 irradiation with a scleral dose over 5000Gy? Abstract book. ISOO – 2019. Los Angeles, USA.
24. Yarovaya V., Yarovoy A., Zaretsky A., Chudakova L., Malyugin B., Korobov E. Cytogenetic and Molecular genetic prognostic classifications of uveal melanoma: do they match? Abstract book. ISOO – 2019. Los Angeles, USA.
25. Yarovaya VA, Yarovoy AA, Zaretsky AR, Malyugin BE, Chudakova LV, Korobov EN, Kleyankina SS, Chochaeva AM. Matching Cytogenetic and Molecular Prognostic Classifications of Uveal Melanoma. Abstract book. OOG – 2019. London, UK.
26. Yarovoy AA, Yarovaya VA, Golanov AV, Golubeva OV. Outcomes of gamma-knife radiosurgery of posterior uveal melanoma unsuitable for other eye-sparing treatment modalities. Abstract book. ISRS-2019. Rio de Janeiro, Brazil.

Патенты РФ на изобретение

1. Яровой А.А., Яровая В.А., Коробов Е.Н., Логинов Р.А. Игла для биопсии // Патент РФ № 2017138224, Оpubл. 15.11.2018 (Приоритет от 02.11.2017)
2. Яровой А.А., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А. Фильтр для сбора биологического материала при эндовитреальных операциях // Патент РФ № 2669859. Оpubл. 16.10.2018 (Приоритет от 18.01.2018).
3. Яровой А. А., Яровая В. А., Малюгин Б. Э., Чочаева А. М., Клеянкина С. С., Логинов Р. А. Способ трансквитреальной аспирационной биопсии внутриглазных образований. Патент РФ № 2698448, Оpubл. 26.08.2019 (Приоритет от 12.02.2019).
4. Яровой А.А., Демидов Л.В., Зарецкий А.Р., Яровая В.А., Назарова В.В., Чудакова Л.В., Котельникова А.В. Способ определения тактики ведения пациентов с увеальной меланомой. Патент РФ № 2019136524, Оpubл. 24.07.2020 (Приоритет от 14.11.2019).
5. Яровой А.А., Горшков И.М., Коробов Е.Н., Яровая В.А. Способ эндовитреального удаления меланомы хориоидеи. Патент РФ № 2653271. Оpubл. 07.05.2018 (Приоритет от 29.03.2017).
6. Яровой А.А., Малюгин Б.Э., Яровая В.А., Левашов И.А. Тонкостенная игла для биопсии внутриглазных новообразований и способ выбора угла среза рабочего конца иглы. Заявка №2020109301 от 03.03.2020г.

Список сокращений

- ВГО – внутриглазное образование
КТ - компьютерная томография
МРТ – магнитно-резонансная томография
МТС – метастаз
ОКТ – оптическая когерентная томография
ТИАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия
УБМ – ультразвуковая биомикроскопия
УЗИ – ультразвуковое исследование
УМ – увеальная меланома

Биографические данные

Яровая Вера Андреевна, 1992 года рождения, в 2015 г. окончила ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России по специальности «Лечебное дело».

С 2015 по 2017 гг. проходила обучение в ординатуре по специальности «Офтальмология» на базе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, с 2017 по 2020 гг. - в очной аспирантуре на базе того же института.

Автор 62 научных работ по различным направлениям офтальмоонкологии, из них 30 – в журналах, рецензируемых ВАК РФ, 20 – в зарубежной печати, 10 патентов РФ на изобретение.

Победитель (1 место) XII Всероссийской научной конференции Молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2017) и конкурса Молодых ученых в рамках XXIII Российского онкологического конгресса (Москва, 2019), а также призер (лучший постер Конгресса) XXII Российского онкологического конгресса (Москва, 2018).