

ЛЕВАШОВ ИЛЬЯ АНДРЕЕВИЧ

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ
УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ НА ОСНОВЕ
ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ**

3.1.5 – Офтальмология

3.1.6 – Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена на базе Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Яровой Андрей Александрович

доктор медицинских наук, заведующий отделом офтальмоонкологии и радиологии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»

Демидов Лев Вадимович

доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением опухолей кожи ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина»

Официальные оппоненты:

Шишкин Михаил Михайлович

доктор медицинских наук, профессор кафедры глазных болезней ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова»

Новик Алексей Викторович

доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела онкоиммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им Н.Н. Петрова»

Ведущая организация:

ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

Защита диссертации состоится «18» сентября 2023 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 21.1.021.01 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 «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Мушкова Ирина Альфредовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Увеальная меланома (УМ) – наиболее распространенное первичное злокачественное внутриглазное новообразование, уровень 10-летней выживаемости при котором составляет 50-80% (Бровкина А.Ф., 2002; Jager M.J., 2020; Radivoyevitch T., 2021). Метастатическая форма УМ даже при попытках лечения характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом с 1-летней выживаемостью до 15% (Lane A.M., 2018).

Определение прогноза заболевания при УМ улучшает информированность пациентов, позволяет оптимизировать схему мониторинга метастазов и улучшить их раннюю диагностику, а также осуществлять отбор пациентов для проведения клинических исследований, направленных на поиск эффективной адъювантной терапии (Beran T., 2009; Dogrusöz M., 2018; Singh A.D., 2021). Вероятность развития метастазов УМ определяется соотношением различных прогностических факторов: клинических, морфологических и генетических, при этом последняя категория оказывает наибольшее влияние на выживаемость пациентов с УМ (Gill H.S., 2012; Kaliki S., 2015; Singh A.D., 2021). Определение морфологических и генетических факторов возможно только непосредственно на материале опухоли, который может быть получен при ее хирургическом удалении (энуклеация, блокэксцизия) или, с учетом органосохраняющих тенденций в локальном лечении УМ, в результате тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) (Яровая В.А., 2018; Dogrusöz M., 2018; Shields C.L., 2011; Singh A.D., 2016).

Данные о хирургической технике ТИАБ крайне разрозненны и в то же время не исчерпывающи, а именно: отсутствует подробное описание применения этой технологии при опухолях малых размеров, при локализации на крайней периферии глазного дна и при низком уровне транспупиллярной визуализации, а также при различных видах органосохраняющего лечения, в том числе остается нерешенной проблема эффективности брахитерапии (БТ) за счет изменения поглощенной дозы облучения при неплотном контакте офтальмоаппликатора к склере в проекции опухоли при проведении транссклеральной ТИАБ (Яровая В.А., 2020; Dogrusöz M.,

2018; McCannel, 2012; Medina C., 2015; Sellam A., 2016). Отсутствуют упоминания о возможности использования субретинальной жидкости в качестве биопсийного материала, а также методах ее получения и анализа, изучение которой может расширить имеющиеся представления о биологии УМ и дополнить информативность ТИАБ.

Представленные в литературе клинические результаты ТИАБ и анализ осложнений, а также разработка методов их профилактики малоинформативны: не представлен детальный анализ факторов, влияющих на вероятность кровоизлияний, ассоциированных с данной процедурой, и их характер, отсутствуют сведения о проведении сравнительного анализа по таким осложнениям как отслойка сетчатки, продолженный и экстрасклеральный рост, необходимость дополнительного органосохраняющего лечения или энуклеации (Bagger M.M., 2018; Finn A.M., 2018). Принципиальное значение имеет системная безопасность – единичные зарубежные исследования свидетельствуют об отсутствии увеличения риска метастазирования в результате ТИАБ, однако данные работы не базированы на статистически однородных по основным клиническим характеристикам группах (Char D.H., 1996; Dogrusöz M., 2018; McCannel T.A., 2012).

Вопросы, связанные с потребностью пациентов с УМ в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования, остаются открытыми, поскольку в отечественной практике такие исследования не проводились, а данные из зарубежных источников нельзя в полной мере считать репрезентативными (Beran T., 2009; Cook S.A., 2009). Различные клинические и исследовательские группы используют различные прогностические подходы, основываясь на собственных интерпретациях данных по хромосомам 3, 6 и 8, мутаций в генах EIF1AX, SF3B1, GEP, экспрессии гена PRAME и других параметрах (Саакян С.В., 2015; Зарецкий А.Р., 2018; Jager M.J., 2018; Onken M.D., 2012; Robertson A., 2017; Royer-Bertran V., 2016). Разобщенность прогностических подходов, а также отсутствие доступной комплексной системы учета клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов затрудняет интерпретацию результатов морфологических

и молекулярно-генетических исследований и, как следствие, стратификацию риска метастазирования УМ.

Таким образом, технология прогностической ТИАБ нуждается в оптимизации хирургического этапа, более точной интерпретации данных цитологического и молекулярно-генетического исследований, во всестороннем анализе безопасности, изучении индивидуальной потребности пациентов с УМ в прогнозе заболевания и в создании комплексной прогностической системы для стратификации риска метастазирования.

Цель исследования – разработать систему прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы на основе оптимизированной технологии тонкоигольной аспирационной биопсии.

Задачи исследования:

1. Оптимизировать хирургический этап технологии прогностической тонкоигольной аспирационной биопсии при проведении органосохраняющего лечения у пациентов с увеальной меланомой.

2. На основании данных морфологических и молекулярно-генетических исследований на материале увеальной меланомы определить эффективность оптимизированной тонкоигольной аспирационной биопсии, встречаемость цитогенетических нарушений и их связь с выживаемостью пациентов.

3. Оценить локальную безопасность оптимизированной тонкоигольной аспирационной биопсии при проведении органосохраняющего лечения у пациентов с увеальной меланомой.

4. На основании сравнительного анализа выживаемости группы пациентов после прогностической тонкоигольной аспирационной биопсии с брахитерапией и группы пациентов, которым проводилась только брахитерапия, оценить риск системной диссеминации увеальной меланомы.

5. Разработать комплексную систему индивидуального прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы, учитывающую данные клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов.

Научная новизна

1. Впервые показана возможность определения в субретинальной жидкости генетического материала УМ со специфическими мутационными изменениями.

2. Проведен детальный анализ локальных осложнений ТИАБ, по результатам которого показано, что процедура не приводит к развитию клинически значимых кровоизлияний, отслойки сетчатки, продолженному росту опухоли, экстрасклеральному росту, необходимости дополнительного органосохраняющего лечения и увеличению числа случаев энуклеации глаза.

3. На основании впервые проведенного сравнительного анализа выживаемости пациентов с УМ в статистически однородных по основным клиническим параметрам группам, в которых проводилась брахитерапия с ТИАБ или только брахитерапия, было показано отсутствие статистически значимой разницы по уровням 3- и 5-летней выживаемости.

4. Впервые показана связь делеции гена PPAR γ и амплификации гена MYC с выживаемостью пациентов с УМ.

5. Апробирована прогностическая панель, включающая определение оригинальных прогностических факторов – делеции гена PPAR γ и амплификации гена MYC.

6. Впервые проведен многосторонний анализ индивидуальной потребности пациентов с УМ в прогнозировании риска метастазирования.

7. Разработана комплексная система прогнозирования риска метастазирования УМ, включающая оценку клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов риска.

Практическая значимость

1. Оптимизирована хирургическая техника прогностической ТИАБ при УМ, находящихся на крайней периферии глазного дна, и при помутнениях

оптических сред, определена оптимальная зона наложения зажима на аспирационную трубку, описан способ ограничения кровоизлияния в субретинальном пространстве, предложен способ фиксации офтальмоаппликатора, позволяющий достичь более плотного его прилегания к поверхности склеры и биопсийному каналу.

2. Представлен цельный клинический алгоритм ведения пациентов с УМ, которым выполняется прогностическая ТИАБ, включающий особенности подготовки, медикаментозного сопровождения, анестезиологического пособия, в том числе при различных видах органосохраняющего лечения.

3. Впервые разработана и апробирована в клинической практике хирургическая техника получения материала субретинальной жидкости при УМ, на котором показана возможность проведения морфологического и молекулярно-генетического исследований.

4. Доказано, что ТИАБ не связана с увеличением риска как локальной, так и системной диссеминации УМ.

5. Определена информативность «нативного» материала УМ, полученного в результате прогностической ТИАБ, по результатам исследования которого определена частота встречаемости клеточных типов УМ, мутаций в генах GNAQ, GNA11, EIF1AX, SF3B1, делеции гена PPARC и амплификации гена MYC.

6. Показана состоятельность прогностической панели ТИАБ, использование которой позволяет оценивать риск метастазирования УМ.

7. Впервые были определены социально-демографические и психологические факторы, влияющие на желание пациента с УМ знать индивидуальный риск метастазирования, а также на положительное решение о проведении прогностической ТИАБ.

8. Определены показания и противопоказания к прогностической ТИАБ, учитывающие психологические аспекты прогнозирования риска метастазирования УМ.

9. Предложен способ стратификации прогноза пациентов с УМ по категориям «благоприятный», «средний» и «неблагоприятный» на основании разработанной комплексной системы прогнозирования риска метастазирования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Оптимизированная технология прогностической тонкоигольной аспирационной биопсии увеальной меланомы позволяет получить необходимое количество материала для проведения морфологического и молекулярно-генетического исследований, не приводит к развитию клинически значимых локальных осложнений и увеличению риска метастазирования.

2. Разработанная комплексная система прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы, учитывающая данные ключевых клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов, позволяет достоверно стратифицировать прогноз с выделением трех прогностических групп риска.

Внедрение в практику

Разработанная и апробированная в клинической практике технология прогностической ТИАБ при УМ, а также комплексная система прогнозирования риска метастазирования УМ внедрены в клиническую, педагогическую деятельность Головной организации, филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ».

Апробация результатов исследования

Материалы диссертации доложены и обсуждены на еженедельных научно-практических конференциях МНТК «Микрохирургия глаза» им. Федорова (2020, 2021, 2023), на XII-ом Съезде Общества офтальмологов России (2020, Москва), Региональной научно-практической конференции Ассоциации онкологов России в СКФО: Новости и достижения в онкологии (2021, Ставрополь), Региональном

Съезде онкологов Центрального федерального округа (2021, Воронеж), Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Современные технологии лечения витреоретинальной патологии» (2021, Ростов-на-Дону; 2022, Уфа; 2023, Казань), I-ом Всероссийском Конгрессе "Диагностика в онкологии" (2022, Москва), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения. Конференция молодых ученых» (2022, Москва, постерный доклад; 2023, Москва, устный доклад с присуждением призового места по итогам выступления), научно-практической конференции «Опухоли и опухолеподобные заболевания органа зрения» (2023, Москва), 56-th Ocular Oncology Group Meeting (2023, Тель-Авив, Израиль).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 6 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Имеется 1 патент РФ, 2 заявки на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 149 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике материала и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 35 рисунками и 20 таблицами. Список использованной литературы содержит 175 источников, из них 18 – отечественных и 157 – зарубежных.

Работа выполнена в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России под руководством д.м.н. Ярового А.А. и ФГБУ «НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина» под руководством профессора, д.м.н. Демидова Л.В. Клиническая и экспериментальная часть исследования выполнена на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии, заведующий отделом – д.м.н. Яровой А.А. Гистологическое исследование выполнено в лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза в «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия

глаза» им. акад. С.Н. Федорова», заведующая лабораторией – к.м.н., Шацких А.В. Молекулярно-генетическое и цитологическое исследования проводились на базе молекулярно-генетической лаборатории (ООО «Эйджин», Москва, РФ, руководитель Зарецкий А.Р.).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование носит ретроспективно-проспективный характер и включает данные 470 пациентов с УМ.

По данным материалов из архива, за период 2017-2021 гг было проведено 156 ТИАБ УМ с прогностической целью в сочетании с брахитерапией (БТ) (90% (n=141) и в сочетании со стереотаксической радиохирургией «Гамма-Нож» (СТРХ ГН) в 10% (n=15). Данные этих пациентов составили основную группу исследования. Средний возраст составил 54 года, УМ локализовалась в хориоидее в 91% случаев (n=142), в хориоидее и цилиарном теле в 8% (n=12), в хориоидее, цилиарном теле и радужке в 1% (n=2), средняя высота проминенции опухоли составила $5,5 \pm 1,9$ мм, средний размер основания по наибольшему значению – $11,9 \pm 2,4$ мм, средняя высота отслойки сетчатки – $1,7 \pm 1,7$ мм.

Для ретроспективного сравнительного анализа выживаемости, оценки риска метастазирования и локальных осложнений у пациентов с УМ при проведении ТИАБ была сформирована контрольная группа пациентов, которым проводилась только БТ в качестве первичного метода лечения в период 2013-2016 гг. За указанный срок пациентам с УМ было проведено 552 курса БТ.

С целью анализа потребности в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования проводилось анкетирование 94 пациентов с УМ, проходивших лечение на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии в период с марта по декабрь 2021 года. Для разработки комплексного прогностического подхода из архива была отобрана группа пациентов с УМ, которым проводилась энуклеация (n=115) или органосохраняющее лечение (БТ, n=77, или СТРХ ГН, n=10) с

последующим проведением молекулярно-генетического исследования в период 2004-2021 г. Всего были отобраны данные 202 пациентов.

Методы исследования. Всем пациентам проводилось комплексное офтальмологическое обследование со стандартными (визометрия, тонометрия, периметрия, биомикроскопия и офтальмоскопия) и специализированными (ультразвуковое В-сканирование и биомикроскопия (УБМ), оптическая когерентная томография (ОКТ) и фоторегистрация глазного дна) методами исследования. С целью определения метастазов проводилось МРТ или ПЭТ-КТ или УЗИ органов брюшной полости (ОБП) и КТ или рентгенография органов грудной клетки (ОГК). Гистологическое исследование проводилось по стандартной методике. В качестве панели молекулярно-генетических онкомаркеров оценивались мутации в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX* и *SF3B1*, анализ статуса хромосомы 3 (по делеции гена *PPARG*) и хромосомы 8 – (по амплификации гена *MYC*) с предварительным цитологическим исследованием образца.

Статистические методы исследования. В рамках описательной статистики рассчитывались показатели среднего, минимума (min), максимума (max), медианы, стандартного отклонения (σ). Проводилось определение нормального распределения по критериям нормальности (Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова), при его отсутствии для оценки достоверности различий между количественными значениями двух выборок использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни и Уилкоксона. Для сравнения качественных признаков использовались критерий χ^2 (хи-квадрат) и критерий Фишера. Анализ риска метастазирования, безрецидивная выживаемость и сохранность глаз оценивались по методу Каплана-Майера с проверкой значимости различий по логранговому критерию; также в анализе риска метастазирования использовались методы «случай-контроль» и пропорциональной регрессии рисков Кокса. В разработке комплексного прогностического подхода использовали ROC-анализ, при котором анализировали площадь под кривой (AUC), а также данные чувствительности и специфичности. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оптимизация хирургического этапа

В до- и послеоперационном периоде проводились инстилляции противовоспалительных и антибактериальных препаратов. Всем пациентам с ТИАБ проводилась премедикация, акинезия и локальная анестезия (ретробульбарная).

В рамках данного исследования ТИАБ проводилась трансквитреальным (n=147, 94%), трансклеральным (n=9, 6%) или транскорнеальным доступами (n=3, не входили в основную группу исследования). Доступ определялся исходя из локализации опухоли и состояния прозрачности оптических сред. ТИАБ проводилась тонкостенными иглами 25-30G через двухпрофильную склеротомию с использованием витреоретинального порта. В соответствии с законом Пуазейля было показано, что пережатие силиконовой трубки целесообразно проводить в максимально возможной близости к глазу и дистальному концу аспирационной системы, что обеспечивает меньший перепад давления. При подозрении на неинформативность полученного материала интраоперационно возможно проведение повторной пункции опухоли в соответствии с аналогичными принципами.

Для проведения трансквитреальной ТИАБ в первую очередь необходимо обеспечить хорошую визуализацию опухолевого очага. С этой целью проводили осмотр глазного дна при помощи операционного офтальмологического микроскопа и различными видами силиконовых скошенных контактных линз, улучшение визуализации опухолей на крайней периферии достигалось при помощи различных режимов освещения, регулирования положения головы пациента и оптической оси микроскопа, склерокомпрессии и ротации контактной линзы. Технически возможен контроль формируемого типа кровоизлияния: при выведении иглы из опухолевой ткани сетчатка, приводимая в движение остаточным давлением в полости иглы, может приподниматься над опухолью и несколько смещаться относительно места перфорации, что обеспечивает

ограничение выхода крови субретинальным пространством.

Технология транссклеральной ТИАБ в сочетании с БТ была оптимизирована за счет предложенного способа фиксации офтальмоаппликатора при проведении БТ, способствовавшему его более плотному прилеганию к поверхности склеры и облучению биопсийного канала в соответствии с расчетной дозой: прошитый инертный материал цилиндрической формы (эписклеральная пломба, донорская склера) помещали между офтальмоаппликатором и теноновой капсулой по центру офтальмоаппликатора,

В эксперименте на 28 энуклеированных глазах была разработана хирургическая техника ТИАБ субретинальной жидкости (СРЖ). Различия со стандартной техникой биопсии самого опухолевого очага обусловлены разной плотностью субретинального содержимого и собственно ткани опухоли. Аспирация СРЖ выполнялась через ретинальный дефект, который формировался с помощью эндовитреальных ножниц. Без ретинотомии возможно введение иглы через сетчатку, расположенную по склонам новообразования, где она имеет больший уровень поверхностного натяжения и проще перфорируется биопсийной иглой. В рамках проведенного эксперимента информативность ТИАБ СРЖ составила 32% (определялись мутации в генах *GNAQ* и *GNA11*).

Морфологические и молекулярно-генетические результаты ТИАБ

Количество полученного биопсийного материала в пробирке макроскопически оценивалось интраоперационно под контролем микроскопа с большим увеличением по категориям «большое» (многочисленные и/или крупные опухолевые элементы, без труда визуализирующиеся в жидкости; 63%), «среднее» (отдельные опухолевые элементы или единичный крупный фрагмент; 17%) и «малое» (единичные опухолевые элементы, с трудом визуализирующиеся в жидкости, или при невозможности визуализации опухолевого материала с помощью операционного микроскопа; 20%). Статистический анализ продемонстрировал высокий уровень соответствия между макро- и микроскопической оценками материала ($p < 0,01$).

Общая информативность материала ТИАБ, определяемая как возможность верификации диагноза УМ цитологическим или молекулярно-генетическим методом, составила 91%. Таким образом, в 9% случаев не было обнаружено никаких молекулярно-генетических и цитологических признаков УМ, оцениваемых в рамках данного исследования при клинически установленном диагнозе УМ. Информативность материала зависела от толщины опухоли ($p < 0,01$ по критерию χ^2): с увеличением проминенции опухоли отмечались более высокие показатели информативности материала ТИАБ, однако при очагах более 4 мм разница в информативности устанавливается примерно на одинаково высоком уровне (93-96%). Более низкие показатели информативности (50%) ожидаемо наблюдались у образований толщиной до 3 мм.

Встречаемость молекулярно-генетических нарушений в информативных образцах составила: *GNAQ* – 44%, *GNA11* – 43%, *EIF1AX* – 18%, *SF3B1* – 18%, *PPARG* – 31%, *MYC* – 54%, веретеночлечный тип УМ – 79%, эпителиоидночлечный – 11%, смешанночлечный – 10%. Анализ встречаемости показал взаимоисключающую природу мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11*, а также мутации *EIF1AX* с другими «драйверными» мутациями.

При оценке риска развития метастазов в зависимости от наличия мутаций по методу «случай-контроль» и по методу Каплана-Майера, статистически значимые различия определялись при наличии делеции гена *PPARG*, ассоциированной с негативным прогнозом ($p < 0,01$), что было показано впервые и составило оригинальную часть прогностической панели.

Анализ безопасности ТИАБ

Локальная безопасность. С целью оценки локальных осложнений был проанализирован 151 операционный протокол ТИАБ: 143 (95%) трансклеральных и 8 (5%) трансклеральных. Анализ локальной безопасности показал, что в 42% случаев ТИАБ сопровождалась клинически незначимыми кровоизлияниями или их отсутствием, в 51% случаев приводила к претуморальному и/или субретинальному кровоизлиянию и в 7% случаев – к субтотальному гемофтальму. Тип и вероятность

кровоизлияния не были связаны с размерами ($p=0,13$) и степенью пигментации ($p=0,99$) опухоли, а также с калибром биопсийной иглы ($p=0,23$). В позднем послеоперационном периоде отмечалась резорбция 99% кровоизлияний. В 7 случаях (5%) отмечалось наличие единичных опухолевых элементов в витреальной полости, в 1 случае (<1%) в зоне склерального канала, что не вызывало роста опухоли, не влияло на необходимость дополнительного лечения ($p=0,99$), проведения энуклеации ($p=0,99$) или вероятность развития метастазов ($p=0,58$) при сроке наблюдения от 1 до 3 лет. На основании сравнительного анализа с контрольной группой было показано отсутствие статистически значимых различий по количеству таких осложнений как отслойка сетчатки ($p=0,31$), экстрасклеральный рост (0 случаев) и продолженный рост опухоли ($p=0,50$), а также по необходимости дополнительного органосохраняющего лечения ($p=0,30$) и/или энуклеации ($p=0,36$).

Системная безопасность. Ретроспективный сравнительный анализ выживаемости проводился в основной (ТИАБ+БТ) и контрольной (БТ) группах. С учетом критериев включения и исключения, группа ТИАБ+БТ составила 86 пациентов, группа БТ – 150 пациентов. Медиана срока наблюдения для группы ТИАБ+БТ составила 42 мес (среднее – 43 мес, минимум – 16 мес, максимум – 70 мес), медиана для группы БТ составила 66 мес (среднее – 64, минимум – 9 мес, максимум – 99 мес). За этот период метастазы в группе БТ были выявлены в 18 случаях (12%) – в 14 случаях в печени, в 2 случаях в легких и в 2 случаях – множественные метастазы; в группе ТИАБ+БТ – 8 случаев (9%) – в 7 случаях в печени, в 1 случае мультиорганное поражение. У 6 из 8 пациентов после ТИАБ+БТ с метастазами УМ отмечался высокий метастатический потенциал (мутация в гене *PPARG*), в 1 случае – средний и в 1 случае в материале не были обнаружены мутации в генах-«модификаторах», что, однако, не исключает их наличия.

По результатам анализа выживаемости пациентов из статистически однородных по основным клиническим параметрам (возраст, пол, вовлечение цилиарного тела, юкстапапиллярная локализация, экстрасклеральный рост,

размеры опухоли) групп ТИАБ+БТ и БТ, было показано отсутствие статистически значимой разницы как в период 3-летнего ($p=0,34$; HR 1,58 (ДИ95% 0,59-4,26), так и 5-летнего ($p=0,51$; HR 1,33 (ДИ95% 0,53-3,33) наблюдения. 3-летняя выживаемость в группах БТ и ТИАБ+БТ составила 93% и 88% соответственно, 5-летняя – 91% и 88% соответственно.

Разработка комплексной системы индивидуального прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы

Оценка потребности пациентов в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования осуществлялась методом анкетирования, которое проводилось анонимно после госпитализации для проведения стационарного лечения. Средний возраст опрошенных пациентов составил 60 ± 13 лет, 69% женщин и 31% мужчин, уровень образования – высшее (46%), среднее профессиональное (45%), общее (6%), 1 опрошенный сообщил о функциональной неграмотности (неспособность читать и писать на уровне, необходимом для заполнения формы). Анкета включала социально-демографический блок вопросов, общую справочную информацию и основной блок вопросов, сформированных по закрытому типу. На основании полученных данных были определены факторы, статистически значимо влияющие на желание пациентов знать индивидуальный прогноз: страх перед выявлением высокого риска развития метастазов, возможность стабилизации психологического состояния, а также на окончательное согласие на проведение прогностической ТИАБ: возраст, уровень образования, страх перед выявлением высокого риска развития метастазов, мнение о безопасности ТИАБ (для всех $p<0,01$).

С учетом полученных данных было определено показание к проведению прогностической ТИАБ – желание пациента иметь достоверную информацию об индивидуальном риске развития метастазов. Абсолютными противопоказаниями считали отсутствие желания пациента знать индивидуальный риск развития метастазов, острые инфекционные заболевания глаза, некомпенсированная офтальмогипертензия и глаукома. Относительными противопоказаниями являлись

страх перед выявлением высокого риска развития метастазов, невозможность стабилизации психологического состояния после получения прогноза, сомнение пациента в безопасности процедуры.

Комплексная система прогнозирования с учетом данных клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов разрабатывалась на основе клинических данных 202 пациентов, прошедших прогностическое тестирование вне зависимости от первичного метода лечения. Средний срок наблюдения составил 42 мес (медиана 35 мес, min 1 мес, max 182 мес). За данный период было отмечено 78 случаев метастазирования (39%).

Согласно полученным данным, метастазы статистически значимо чаще встречались у пациентов с большими размерами опухоли по системе TNM, при инвазии в цилиарное тело, при увеличении количества эпителиоидных клеток (как по стандартной, так и по бинарной классификации, которая подразумевает разделение только на эпителиоидноклеточную и веретенноклеточную УМ), делеции в гене *PPARG* и при амплификации гена *MYC* (для всех $p \leq 0,01$); статистически значимо реже встречались при мутациях в генах *EIF1AX* и *SF3B1* ($p < 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно). Возраст и пол пациентов ожидаемо не влияли на риск развития метастазов, однако также не было показано статистически значимого влияния на выживаемость экстраокулярного роста, что может потребовать дальнейшего исследования с более длительными сроками наблюдения.

С учетом данных, полученных в результате анализа выживаемости по методу Каплана-Майера и пропорциональной регрессии рисков Кокса, была предложена схема прогнозирования по балльной системе, основанная на сравнении эквивалентных параметров HR и $\text{Exp}(\beta_1)$. Стратификации риска в баллах проводилась по принципу расчета среднего арифметического и последующего округления до целых или полуторных значений параметров HR и $\text{Exp}(\beta_1)$. Комплексная прогностическая система подразумевает суммирование общего количества баллов в зависимости от клинических (размер опухоли от +1 до +3 баллов, инвазия в цилиарное тело 0 или +2 балла, экстраокулярный рост 0 или +1 балл), морфологических (веретенноклеточный тип опухоли – 0 баллов,

смешанноклеточный или эпителиоидноклеточный – +2 балла) и молекулярно-генетических (в зависимости от наличия мутации в гене *SF3B1* 0 или +1 балл, амплификации гена *MYC* – 0 или +1,5 балла, делеции гена *PPARG* – 0 или +2 балла, мутации в гене *EIF1AX* – 0 или вычет 4 баллов) факторов прогноза. Минимально возможная сумма прогностических баллов – 0, максимально возможная – 12,5.

С целью определения различных категорий прогноза по трехчастной системе («благоприятный», «средний» и «неблагоприятный»), был проведен ROC-анализ данных прогностических баллов у пациентов с метастазами и без них. Для выбора двух значений «отсечения» сумм прогностических баллов, формирующих границы трех прогностических категорий, были проанализированы данные чувствительности и специфичности. В результате этого были получены интервалы «от 0 до 3», «от 4 до 6» и «от 7 до 12,5», что определяет категории «благоприятного», «среднего» и «неблагоприятного» прогнозов соответственно. Статистически значимое влияние на выживаемость по методу Каплана-Майера было продемонстрировано не только для кривой выживаемости в целом ($p < 0,01$), но и при сравнении каждой из отдельно взятых категорий (рисунок 1).

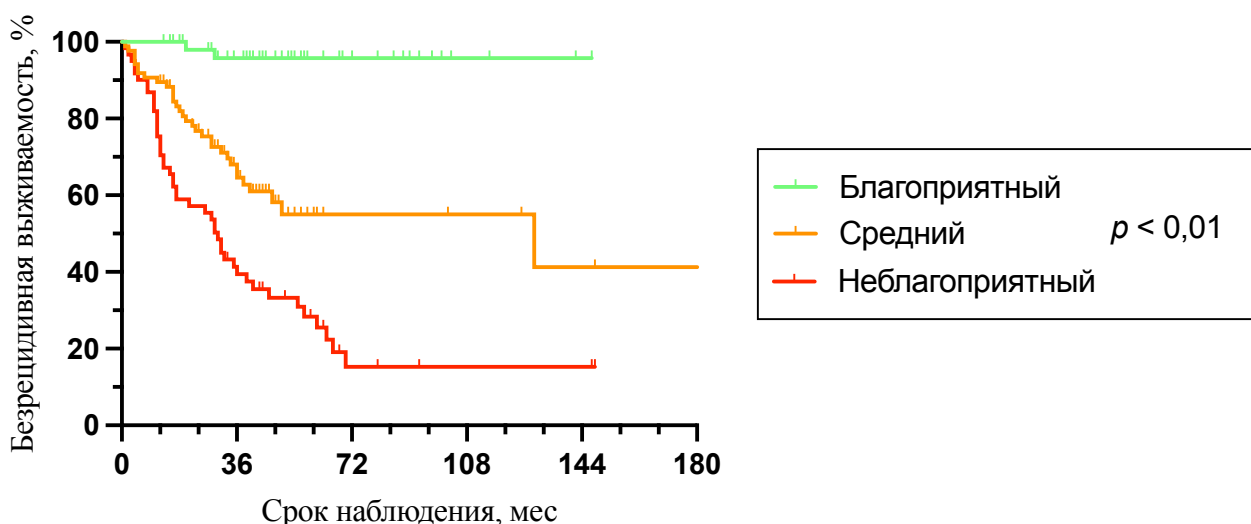


Рисунок 1 – Графики выживаемости пациентов с УМ по методу Каплана-Майера с благоприятным, средним и неблагоприятным прогнозами

Ожидаемая 3- и 5-летняя безрецидивная выживаемость в различных прогностических категориях составила при «благоприятном» прогнозе – 96% и

96% соответственно, при «среднем» – 64% и 55% соответственно, и при «неблагоприятном» – 39% и 26% соответственно.

ВЫВОДЫ

1. Разработан хирургический этап оптимизированной тонкоигольной аспирационной биопсии у пациентов при проведении органосохраняющего лечения увеальной меланомы, в том числе при помутнениях оптических сред и при опухолях на крайней периферии глазного дна, с использованием необходимого инструментария, способа наложения зажима на аспирационную трубку, плотной фиксации офтальмоаппликатора и ограничения кровоизлияния в субретинальном пространстве. Разработанная техника получения материала субретинальной жидкости при увеальной меланоме позволяет получить необходимый генетический материал со специфическими мутационными изменениями в 32% случаев.

2. Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы позволяет получить информативный материал, пригодный для проведения морфологического и/или молекулярно-генетического исследования, в 91% случаев, при этом частота выявления веретеночеточного типа опухоли составила 79%, эпителиодноклеточного – 21%, мутации в генах GNAQ, GNA11, EIF1AX и SF3B1 выявлялись в 44%, 43%, 18% и 18% случаях соответственно, делеция PPARG и амплификация MYC как часть оригинальной прогностической панели были обнаружены в 31% и 54% случаях соответственно. Впервые продемонстрирована связь с выживаемостью делеции гена PPARG ($p < 0,01$) и амплификации гена MYC ($p < 0,01$).

3. Результаты применения оптимизированной тонкоигольной аспирационной биопсии у пациентов при проведении органосохраняющего лечения увеальной меланомы показали, что пункция опухоли не приводит к развитию клинически значимых кровоизлияний (99% случаев резорбции без дополнительных вмешательств), отслойки сетчатки ($p = 0,48$), продолженному росту ($p = 0,50$), экстрасклеральному росту, необходимости дополнительного лечения ($p = 0,30$), в том числе энуклеации глаза ($p = 0,36$) в сравнении с контрольной группой, где

брахитерапия проводилась без биопсии.

4. Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия не приводит к увеличению риска метастазирования увеальной меланомы: сравнительный анализ выживаемости группы пациентов после брахитерапии с биопсией и группы пациентов, которым проводилась только брахитерапия, показал отсутствие статистически значимых различий по 3- и 5-летней выживаемости ($p=0,34$ и $p=0,51$ соответственно).

5. Анализ потребности пациентов в проведении индивидуального прогнозирования риска развития метастазов показал, что 77% хотели быть информированными об индивидуальном риске и 51% согласны на решение о проведении биопсии, при этом факторами, статистически значимо влияющими на желание пациентов знать прогноз, являются страх перед выявлением высокого риска развития метастазов и возможность стабилизации психологического состояния ($p<0,01$), а на решение о проведении биопсии – возраст, уровень образования, страх перед выявлением высокого риска развития метастазов и мнение о безопасности процедуры ($p<0,01$).

6. Разработана комплексная система прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы, учитывающая данные ключевых клинических (размеры опухоли, инвазия в цилиарное тело), морфологических (экстраокулярный рост, клеточный тип) и молекулярно-генетических факторов (мутации в генах EIF1AX, SF3B1, делеция гена PPARG, амплификация гена MYC), которая позволила стратифицировать риск метастазирования по баллам и выделить три достоверно различающихся между собой ($p<0,01$) категории прогноза: «неблагоприятный», «средний» и «благоприятный».

Практические рекомендации

1. Оптимизированная технология прогностической ТИАБ может осуществляться в комбинации с различными видами органосохраняющего лечения УМ (БТ, СТРХ, БТ+ТТТ), при помутнениях оптических сред и при УМ на крайней

периферии глазного дна, в том числе различными хирургическими доступами (трансивитреальный, трансклеральный, транскорнеальный).

2. Для получения субретинальной жидкости при УМ целесообразно применение специализированной разработанной хирургической техники.

3. Кровоизлияния в результате ТИАБ требуют консервативного подхода в ведении (использование гемостатических препаратов, отмена антикоагулянтов и антиагрегантов до операции) и динамического наблюдения, в редких случаях клинически значимого персистирующего гемофтальма (<1%) возможно проведение микроинвазивного эндовитреального вмешательства с лечебно-диагностической целью.

4. Дефект сетчатки в результате ТИАБ не требует проведения дополнительных вмешательств, в т.ч. лазерной коагуляции сетчатки, поскольку эта процедура не приводит к развитию отслойки сетчатки.

5. Применение оптимизированной техники ТИАБ позволяет минимизировать частоту таких осложнений как экстрасклеральный рост и продолженный рост опухоли, необходимость дополнительного органосохраняющего лечения или энуклеации глаза.

6. Определение клеточного типа УМ, мутаций в генах EIF1AX и SF3B1, а также делеции гена PPARG и амплификации гена MYC может быть использовано в качестве прогностических факторов риска метастазирования УМ.

7. Проведение ТИАБ возможно в рамках установленных показаний и противопоказаний, рекомендации к ее проведению должны учитывать социально-демографические характеристики (возраст, уровень образования) и психологические особенности (страх перед выявлением высокого риска развития метастазов, возможность стабилизации психологического состояния по результатам прогноза, мнение о безопасности процедуры) пациента.

8. С целью определения прогноза по категориям «благоприятный», «средний» и «неблагоприятный» и режима мониторинга метастазов целесообразно использовать комплексную прогностическую систему прогнозирования риска метастазирования УМ.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Яровой А.А., Демидов Л.В., **Левашов И.А.**, Назарова В.В., Яровая В.А. Кожная и увеальная меланома: сходство и различия // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16. – №. 18. – С. 78-85.
2. Яровая В.А., Шацких А.В., **Левашов И.А.**, Яровой А.А. Оценка диссеминации увеальной меланомы по склеральному каналу при тонкоигольной аспирационной биопсии // Офтальмохирургия. – 2020. – №. 4. – С. 63-66.
3. Яровая В.А., Шацких А.В., Зарецкий А.Р., **Левашов И.А.**, Володин Д.П., Яровой А.А. Прогностическое значение клеточного типа увеальной меланомы // Архив патологии. – 2021. – Т. 83. – №. 4. – С. 14-21.
4. **Левашов И.А.**, Яровой А.А., Яровая В.А., Булгакова Е.С. Оценка риска метастазирования при проведении «прогностической» тонкоигольной аспирационной биопсии увеальной меланомы // Злокачественные опухоли. – 2022. – Т. 12. – №. 2. – С. 29-35.
5. **Левашов И.А.**, Яровой А.А., Булгакова Е.С., Яровая В.А. Анализ потребности пациентов с увеальной меланомой в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования // Злокачественные опухоли. – 2022. – Т. 12. – №. 3. – С. 21-28.
6. Яровая А.А., Яровой А.А., Чудакова Л.В., **Левашов И.А.**, Зарецкий А.Р. Комплексный анализ прогностической значимости aberrаций хромосомы 8 у пациентов с увеальной меланомой // Успехи молекулярной онкологии. – 2022. – Т. 9. – №. 1. – С. 57-63.

Прочие публикации

7. Яровой А.А., Голанов А.В., Костюченко В.В., Голубева О.В., Яровая В.А., **Левашов И.А.** Стереотаксическая радиохирургия "Гамма-Нож" как альтернатива энуклеации в лечении "больших" увеальных меланом // Злокачественные опухоли. – 2020. – Т. 10. – №. 3S1. – С. 121.15.
8. Яровая В.А., Яровой А.А., Зарецкий А.Р., Чудакова Л.В., **Левашов И.А.** Риск развития метастазов увеальной меланомы на основе комплексного генетического анализа // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – №. 4. – С. 178-179.
9. Яровой А.А., Шацких А.В., Зарецкий А.Р., Яровая В.А., **Левашов И.А.** Прогностическая значимость клеточного типа для метастатического потенциала увеальной меланомы // Сборник тезисов по материалам Третьего международного форума онкологии и радиологии (20-24 сентября 2021), с.48-49.

Патенты РФ по теме диссертации

1. Яровой А.А., Малюгин Б.Э., Яровая В.А., **Левашов И.А.** Патент № 2739130, МПК А61F 9/00. «Тонкостенная игла для биопсии внутриглазных новообразований и способ выбора угла среза рабочего конца иглы». Заявитель и патентообладатель ФГАУ "НМИЦ "МНТК "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Федорова". – № 2020109301: заявл. 03.03.2020: опубл. 21.12.2020.
2. Яровой А.А., Володин П.Л., Яровая В.А., **Левашов И.А.**, Кулагина А.К. Заявка №2023103912, МПК А61В 3/00, А61F 9/007. «Способ фиксации офтальмоапликатора при брахитерапии внутриглазных опухолей». Заявитель ФГАУ "НМИЦ "МНТК "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Федорова". №2023103910: заявл. 21.02.2023.
3. Яровой А.А., Яровая В.А., **Левашов И.А.**, Матяева А.Д., Кулагина А.К. Заявка №2023103910, МПК А61F9/007. «Способ получения биопсийного материала при внутриглазных образованиях». Заявитель ФГАУ "НМИЦ "МНТК "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Федорова". №2023103910: заявл. 21.02.2023.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БТ – брахитерапия	ТТТ – транспупиллярная
КТ – компьютерная томография	термотерапия
МРТ – магнитно-резонансная томография	СТРХ – стереотаксическая радиохирургия
ОБП – органы брюшной полости	ТИАБ – тонкоигольная
ОГК – органы грудной клетки	аспирационная биопсия
ОКТ – оптическая когерентная томография	УЗИ – ультразвуковое исследование
ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография	УБМ – ультразвуковая биомикроскопия
	УМ – увеальная меланома

Биографические данные

Левашов Илья Андреевич, 1992 года рождения, в 2018 году окончил ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», Медицинский институт, по специальности «Лечебное дело». С 2018 по 2020 г. проходил обучение в клинической ординатуре на базе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» МЗ РФ по специальности «Офтальмология». С 2020 по 2023 г. обучался в очной аспирантуре на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии того же института и выполнял научные исследования по диссертационной работе на тему «Прогнозирование риска метастазирования увеальной меланомы на основе тонкоигольной аспирационной биопсии».

Является автором 32 публикаций, из них 12 в журналах, рекомендованных ВАК. По теме диссертации опубликовано 9 работ, 6 из которых в журналах, рекомендованных ВАК. Имеет 4 патента РФ на изобретение по различным направлениям офтальмологии.

Двукратный призер на конференции молодых ученых в рамках Всероссийских научно-практических конференций с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» (2019) в секции «Фундаментальные биомедицинские подходы к разработке инновационных методов лечения офтальмологической патологии» (2-ое место) и «Федоровские чтения» (2023) в секции «Клинические случаи» (3-е место).