

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС  
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

Левашов Илья Андреевич

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

3.1.5 – Офтальмология

3.1.6 – Онкология, лучевая терапия

диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

Яровой Андрей Александрович

доктор медицинских наук, профессор

Демидов Лев Вадимович

Москва – 2023

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>15</b>
1.1 Общая характеристика увеальной меланомы .....	15
1.1.1 Эпидемиология .....	15
1.1.2 Диагностика и классификация.....	16
1.1.3 Эффективность локального лечения увеальной меланомы.....	18
1.1.4 Выживаемость пациентов с увеальной меланомой.....	19
1.2 Прогнозирование риска метастазирования увеальной меланомы.....	20
1.2.1 Клинические факторы прогноза .....	21
1.2.2 Морфологические факторы прогноза .....	23
1.2.3 Генетические факторы прогноза .....	24
1.2.4 Психологические аспекты прогнозирования риска метастазирования.....	28
1.3 Тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы .....	29
1.3.1 Технология ТИАБ .....	29
1.3.2 Информативность материала ТИАБ .....	32
1.3.3 Безопасность ТИАБ .....	33
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....</b>	<b>36</b>
2.1 Общая характеристика материала клинических исследований.....	36
2.2 Инструментальные методы исследования .....	37
2.3 Лабораторные методы исследования .....	39
2.4 Оборудование и инструментарий .....	41
2.5 Методы статистического анализа .....	41
<b>ГЛАВА 3. ОПТИМИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЭТАПА ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ.....</b>	<b>43</b>
3.1. Хирургические доступы .....	43
3.2 ТИАБ субретинальной жидкости .....	57
3.3 Периоперационное ведение пациентов с ТИАБ.....	61



<b>ГЛАВА 4. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ...</b>	<b>64</b>
4.1 Информативность материала ТИАБ.....	64
4.2 Частота встречаемости морфологических и генетических прогностических факторов.....	68
4.3 Связь морфологических и генетических факторов с выживаемостью пациентов с увеальной меланомой.....	72
<b>ГЛАВА 5. АНАЛИЗ БЕЗОПАСНОСТИ ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ .....</b>	<b>75</b>
5.1 Характеристика групп сравнения .....	75
5.2 Анализ локальных осложнений .....	79
5.3 Сравнительный анализ выживаемости .....	93
<b>ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ .....</b>	<b>96</b>
6.1 Анализ потребности пациентов в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования .....	96
6.2 Показания и противопоказания к прогностической ТИАБ.....	103
6.3 Разработка комплексной прогностической системы с учетом данных клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов.....	103
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>115</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>127</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....</b>	<b>129</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>131</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>132</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Уvealная меланома (УМ) – наиболее распространенное первичное злокачественное внутриглазное новообразование, связанное с малигнизацией меланоцитов сосудистой оболочки глаза (Бровкина А.Ф., 2002; Jager M.J., 2020; Singh A.D., 2014).

Средняя частота встречаемости УМ составляет 4,3 случаев на миллион (Singh A., 2005). Диагностика УМ носит преимущественно неинвазивный характер и, в отличие от большинства злокачественных новообразований другой локализации, как правило, не требует морфологической верификации (Midena E., 2011).

В лечении первичного очага УМ используются хирургические методы, радио- и термотерапия (Линник Л.Ф., 2002; Булгакова Е.С., 2005; Яровой А.А., 2010; Egger E., 2001; Gunduz K., 2010; Jager M.J., 2020; Singh A.D., 2008). В большинстве случаев лечение УМ носит органосохраняющий характер, а ведущим методом является брахитерапия, в том числе в комбинации с термотерапией (Яровой А.А., 2010; Collaborative Ocular Melanoma Study Group, 2006; Margo C.E., 2004). Высокая эффективность методов локального лечения на уровне 90% и выше позволяет контролировать первичный очаг, однако не решает проблему дистанционных метастазов (Afshar A.R., 2015; Damato V., 2005).

Уровень 5-летней выживаемости при УМ составляет 70-80%, 10-летней – 50-80% (Kaliki S., 2015; Radivoyevitch T., 2021). Актуальные схемы мониторинга метастатической болезни направлены на визуализацию органов, в которых наиболее часто локализуются метастазы: печень, легкие (Collaborative Ocular Melanoma Study Group, 2001). Метастатическая форма УМ даже при попытках лечения характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом с 1-летней выживаемостью до 15% (Carvajal R., 2017; Lane A.M., 2018). Несмотря высокую эффективность локального лечения и широкие возможности онкологических методов, показатели выживаемости пациентов с УМ не демонстрируют

положительной динамики по последним данным эпидемиологических исследований (Гришина Е.Е., 2017; Singh A.D., 2014).

Определение прогноза заболевания улучшает информированность пациентов, позволяет оптимизировать схему мониторинга метастазов и улучшить их раннюю диагностику, а также отбирать 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, по многочисленным данным, оказывает наибольшее влияние на выживаемость пациентов с УМ (Яровая В.А., 2020; Gill H.S., 2012; Kaliki S., 2015; Singh A.D., 2021). Оценка клинических факторов риска доступна всем пациентам с УМ, в то время как определение морфологических и генетических факторов возможно только непосредственно на материале опухоли, который может быть получен при хирургическом удалении опухоли (энуклеация, блокэксцизия) или в результате биопсии (Яровая В.А., 2018; Dogrusöz M., 2018).

Учитывая органосохраняющие тенденции в локальном лечении УМ, особую актуальность имеет изучение способов получения опухолевого материала, среди которых в качестве ключевого рассматривается тонкоигольная аспирационная биопсия (ТИАБ) (Bagger M.M., 2018; Dogrusöz M., 2018; Shields C.L., 2011; Singh A.D., 2016). Данная процедура может выполняться с использованием различных хирургических доступов (трансклерального, трансовитреального, транскорнеального) и инструментария (инъекционные иглы с аспирационной шприц-системой, витреотом, эндовитреальные ножницы) (Bagger M.M., 2018; McCannel, 2013; Medina C., 2015; Shields C.L., 2011). С учетом этих особенностей, 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, хотя при этом сообщается о низкой информативности материала биопсии таких

новообразований, не представлены способы ТИАБ при локализации УМ на крайней периферии глазного дна и при низком уровне транспупиллярной визуализации, а также при различных видах органосохраняющего лечения (Яровая В.А., 2020; Dogrusöz M., 2018; McCannel, 2012; Medina C., 2015; Sellam A., 2016). Предложенные особенности хирургической техники ТИАБ носят экспериментальный характер и требуют апробации в клинической практике.

Клинические результаты ТИАБ и анализ локальных осложнений, а также разработка методов их профилактики малоинформативны: не представлен детальный анализ факторов, влияющих на вероятность кровоизлияний, ассоциированных с данной процедурой, и их характер, также в литературе отсутствуют сведения о проведении сравнительного анализа с контрольной группой по таким осложнениям как отслойка сетчатки, продолженный и экстрасклеральный рост. Кроме того, не описаны такие исходы как необходимость дополнительного органосохраняющего лечения и сохранность глаз. До сих пор остается нерешенной проблема отклонения офтальмоаппликатора при проведении БТ от поверхности склеры в проекции опухоли – актуальность этого вопроса связана не только с техникой транссклеральной ТИАБ, но и с оптимизацией техники БТ в целом. Ранее предлагалось наложение «матрасного» шва вокруг офтальмоаппликатора с целью дополнительной фиксации, однако этот способ подразумевает более высокий уровень травматизации глаза и не актуален при локализации опухоли в центральных отделах глазного дна (Damato V., 2005).

Определенную диагностическую и прогностическую ценность могут представлять методы жидкостной биопсии (Цыганков А.Ю., 2015; Jin E., 2021). Имеются многочисленные исследования, посвященные анализу крови на наличие циркулирующих опухолевых клеток, единичные работы посвящены изучению влаги передней камеры (Anand, 2019; Im D., 2022). Отсутствуют упоминания о методах получения и анализе субретинальной жидкости, исследование которой может расширить имеющиеся представления о биологии УМ и дополнить информативность ТИАБ.

Анализ полученного в результате ТИАБ материала подразумевает проведение цитологического и молекулярно-генетического исследований. Несмотря на наличие большого количества прогностических факторов, определяемых в рамках морфологического исследования, материал ТИАБ позволяет оценить только клеточный тип опухоли, однако методика его определения и интерпретация данных до сих пор составляют предмет дискуссии (Яровая В.А., 2020; Gambrelle J., 2007; Jensen O.A., 2009).

Результаты большинства исследований прогностических факторов метастазирования УМ указывают на ключевую роль молекулярно-генетических факторов (Bagger M.M., 2018; Dogrusöz M., 2018; Singh A.D., 2021). В разнообразии генетических нарушений при УМ выделяют гены-«драйверы» и «гены-модификаторы» – первые, по данным многочисленных исследований, не влияют на прогноз заболевания, а изменения во вторых, наоборот, существенно коррелирует с риском метастазирования УМ (Зарецкий А.Р., 2018; Chattopadhyay S., 2016; Jager M.J., 2020; Shain A., 2019; Shields C.L., 2011; Singh A.D., 2021). При этом 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., 2018; Яровая В.А., 2020; Jager M.J., 2018; Onken M.D., 2012; Robertson A., 2017; Royer-Bertran V., 2016). Разобщенность прогностических подходов затрудняет интерпретацию результатов морфологических и молекулярно-генетических исследований и, как следствие, стратификацию риска метастазирования УМ.

Молекулярно-генетические методы исследования в современной онкологии используются чаще всего для подбора таргетной терапии, несколько реже – для уточнения диагноза и еще реже – для определения прогностических факторов (Яровая В.А., 2020; Chattopadhyay S., 2016; Hoiom V., 2016; Olopade O.I., 2001). В связи со сравнительно «молодым» характером этого направления, многие вопросы, связанные с потребностью пациентов в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования опухоли, в особенности при УМ,

остаются открытыми (Bagger M.M., 2018; Cook S.A., 2009; Singh A.D., 2021). В отечественной практике такие исследования не проводились, а данные из зарубежных источников нельзя в полной мере считать репрезентативными ввиду различий в менталитете пациентов и экономических условиях разных стран (Beran T., 2009; Cook S.A., 2009).

Принципиальное значение имеет локальная и системная безопасность инвазивных вмешательств, связанных с УМ (Bagger M.M., 2018). Ятрогенные осложнения, приводящие к риску интраокулярной и эпibuльбарной диссеминации опухоли с необходимостью энуклеации глаза, а также опасения по поводу системной диссеминации клеток УМ в результате инвазивных вмешательств длительное время ограничивали применение ТИАБ в клинической практике (Caminal J.M., 2006; Eide N., 2009). Единичные зарубежные исследования свидетельствуют об отсутствии увеличения риска метастазирования в результате ТИАБ, однако доказывают это не в полной мере убедительно, поскольку во всех исследованиях, где оценивалась системная безопасность ТИАБ, отсутствовало сравнение двух статистически однородных по основным клиническим характеристикам групп, в ряде исследований оценивался только транссклеральный подход, а среди статистических методов использовался только многофакторный анализ (Char D.H., 1996; Dogrusöz M., 2018; McCannel T.A., 2012).

Единственная прогностическая система, комплексно учитывающая все факторы, а именно клинические, морфологические и молекулярно-генетические, не лишена недостатков, среди которых можно отметить учет только неспецифической смертности пациентов и ограничения в доступе к этой системе (Eleuteri A., 2012). Отсутствие единого прогностического подхода затрудняет стратификацию рисков метастазирования УМ как в клинической практике, так и при информировании пациента о прогнозе заболевания, что требует создания комплексной системы прогнозирования риска метастазирования.

Таким образом, прогнозирование риска метастазирования опухоли является важной составляющей комплексного подхода в ведении пациентов с

УМ, в том числе при проведении органосохраняющего лечения. Для масштабирования технологии прогностической ТИАБ в клинической практике необходимо решение таких принципиальных вопросов как оптимизация технологии прогностической ТИАБ, хирургическая техника, интерпретация данных цитологического и молекулярно-генетического исследований, всесторонний анализ безопасности, изучение «психологического портрета» пациента с УМ и создание комплексной прогностической системы для стратификации риска метастазирования.

### **Цель исследования**

Разработать систему прогнозирования риска метастазирования увеальной меланомы на основе оптимизированной технологии тонкоигольной аспирационной биопсии.

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

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 *PPARG* и амплификации гена *MYC* с выживаемостью пациентов с УМ.

5. Апробирована прогностическая панель, включающая определение оригинальных прогностических факторов – делеции гена *PPARG* 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 конференция «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., а также 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 ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, 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.).

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Общая характеристика увеальной меланомы

#### 1.1.1 Эпидемиология

Увеальная меланома (УМ) – злокачественное новообразование сосудистой оболочки глаза [1; 66; 87]. Происхождение УМ связано с малигнизацией меланоцитов увеального тракта глаза: в большинстве случаев хориоидеи (90%), реже – цилиарного тела (5%) или радужки (5%) [22].

Средняя частота встречаемости УМ составляет 4,3 случаев на 1 миллион, что примерно в 50 раз реже, чем встречаемость кожной меланомы [155]. Заболеваемость остается стабильной на протяжении по меньшей мере последних 50 лет [4; 155]. Средний возраст пациентов с УМ составляет 60 лет, однако заболевание может встречаться и среди молодых людей (до 1% случаев), в частности у детей – в литературе описан случай УМ у ребенка 3 лет, что диктует необходимость онкологической настороженности в том числе в этой возрастной группе [165]. В подавляющем большинстве случаев заболевание носит односторонний характер. УМ несколько чаще встречается у мужчин в сравнении с женщинами (4,9 и 3,7 случаев на 1 миллион, соответственно) [22; 25]. Также важный вклад вносят ряд факторов: фенотип пациента (цвет кожи и глаз), частое использование сварочной дуги, наличие окулодермального меланоцитоза и регион проживания, связанный с повышенной инсоляцией и этническими особенностями [114]. Прямая зависимость от географической широты проживания наблюдается в Европе: заболевание реже встречается в странах Средиземноморья (около 2 случаев на миллион в Испании и Италии) и чаще в странах Скандинавского полуострова (более 8 случаев на миллион) [170]. УМ крайне редко встречается у азиатского населения (менее 1 случая на миллион).

Влияние ультрафиолета на риск развития УМ является предметом многочисленных дискуссий [101; 157]. Несмотря на очевидную связь заболеваемости УМ со степенью естественной пигментации и регионом проживания (для которых характерны различные типы воздействия солнечного

света) по эпидемиологическим данным, результаты крупного мета-анализа и секвенирования генома клеток опухоли рассматривают связь между риском развития УМ и воздействием УФ как малозначительную [91; 133].

Около 12% пациентов с УМ характеризуются особенностями семейного или индивидуального онкологического анамнеза [87]. Частота наследственной формы УМ составляет не более 2%. В этом контексте важно открытие роли гена *BAP1* в развитии УМ. Мутация в этом гене вызывает развитие *BAP1* (BRCA1-associated protein 1) наследственного ракового синдрома, связанного с предрасположенностью как к УМ, так и к другим злокачественным новообразованиям. Драйверными факторами канцерогенеза УМ в первую очередь считаются мутации генов семейства *GNA* (*GNAQ* и *GNA11*), реже – *CYSLTR2* и *PLCB4*, ответственные за активацию множества различных сигнальных путей [118].

### 1.1.2 Диагностика и классификация

Для пациентов с УМ характерны неспецифические жалобы на снижение остроты зрения, зрительный дискомфорт, вспышки, плавающие помутнения и дефекты полей зрения. При этом около трети пациентов могут не предъявлять никаких активных жалоб – в таком случае опухоль может стать случайной находкой в рамках скринингового офтальмологического осмотра [87].

Диагноз основывается на клинических данных, получаемых при проведении биомикроскопии с непрямой офтальмоскопией, а также на данных инструментальных исследований, таких как ультразвуковое В-сканирование, ультразвуковая биомикроскопия (УБМ), оптическая когерентная томография (ОКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и флюоресцентная ангиография глаза глазного дна с флуоресцеином или индоцианином зеленым [5].

УМ классифицируется по принципу TNM, наиболее актуальная версия этой классификации была разработана Американским объединенным комитетом по изучению рака (American Joint Committee on Cancer, AJCC) [143]. Ключевыми параметрами в этой классификации являются размеры образования

(максимальная проминенция и базальный размер), устанавливающие первый регистр T от 1 до 4, а также вовлеченность в опухолевый процесс цилиарного тела и экстраокулярный рост, устанавливающие второй регистр T буквенными значениями a, b, c или d [143]. В зависимости от наличия метастазов в лимфатических узлах, что в целом не характерно для УМ, присваивается значение 0 или 1. Категория M описывает наличие отдаленных метастазов значениями 0 или 1 (с уточнением их размера вторым буквенным регистром a, b или c).

В соответствии с классификацией Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS, 2005) УМ разделяют на малые (проминенция до 3 мм и протяженность 5-16 мм), средние (проминенция 3-8 мм и протяженность до 16 мм) и большие (проминенция >8 мм и/или протяженность >16 мм) [46; 163].

УМ является одним из исключительных случаев в онкологической практике, когда диагноз устанавливается на основании клинических и инструментальных данных и, как правило, не требует морфологической верификации [109]. Проведение диагностической биопсии новообразования необходимо в сложных случаях дифференциальной диагностики с невусом хориоидеи, меланоцитомой, аденомой пигментного эпителия и метастазами в сосудистую оболочку, либо при желании пациента верифицировать диагноз с помощью морфологического исследования [137]. К другим состояниям, которые наиболее часто могут имитировать УМ, относят субретинальное кровоизлияние, врожденную гипертрофию/гиперплазию пигментного эпителия, отслойку сосудистой оболочки, экссудативную геморрагическую хориоретинопатию и гемангиому хориоидеи [149]. В настоящее время биопсия УМ чаще проводится не с точки зрения диагностического вмешательства, а с прогностической целью, т.е. для определения риска метастазирования опухоли – это самое «молодое» и многообещающее направление в изучении УМ, которое связано с рядом нерешенных вопросов [62; 73; 87; 171].

### 1.1.3 Эффективность локального лечения увеальной меланомы

До 1970-ых годов XX века энуклеация являлась стандартом оказания медицинской помощи больным с УМ, но в ходе исследований по сравнению выживаемости при использовании различных методов лечения роль органосохраняющих операций была пересмотрена. По результатам исследования COMS Report №18 (2001), 5-ти, 10-ти и 12-летняя смертность у пациентов с гистологически подтвержденными метастазами УМ составила 10%, 18% и 21%, соответственно, в группе с использованием I-125 брахитерапии и 11%, 17% и 17%, соответственно, в группе с энуклеацией (отсутствие статистически значимой разницы); при этом общая смертность (с учетом других причин смерти) в обеих группах также не имела статистически значимой разницы [49].

Выбор метода лечения УМ, в том числе показания к энуклеации или органосохраняющему лечению, зависят комбинации целого ряда факторов: размеры и локализация опухоли, экстраокулярный рост, наличие и степень вторичных изменений (отслойка сетчатки, глаукома и другие), перспективы сохранения зрительных функций и глаза как органа, желание и возможности пациента [16; 67; 102].

Ведущим методом органосохраняющего лечения УМ является радиотерапия, преимущественно в виде брахитерапии (БТ) [16; 50; 67; 102]. Суть метода БТ заключается в подшивании аппликатора с радиоактивными элементами к склере в проекции опухоли, при этом могут использоваться различные изотопы: йод-125 ( $^{125}\text{I}$ ), иридий-192 ( $^{192}\text{Ir}$ ), палладий-103 ( $^{103}\text{Pd}$ ), стронций ( $^{90}\text{Sr}$ ) и рутений-106 ( $^{106}\text{Ru}$ ) [16; 33; 49; 92; 154]. Также в качестве дистанционной лучевой терапии возможно использование протонотерапии или стереотаксической радиохирургии (СТРХ) [17; 111]. Эффективность радиотерапевтических методов, которая характеризуется частотой локальных рецидивов, составляет более 90% [20]. Среди хирургических методов лечения выделяют транссклеральный (блокэксцизия) или трансретинальный (эндорезекция) подходы [11; 18; 80]. Отдельное место в органосохраняющем



лечения «малых» УМ занимает транспупиллярная термотерапия (ТТТ) [164; 172]. Ее проведение возможно в качестве первичного метода лечения при УМ постэкваториальной локализации и проминенцией не более 3 мм, что обеспечивает полную регрессию опухоли в 69% случаев [172].

Высокая эффективность методов локального лечения позволяет контролировать первичный очаг, однако не решает проблему дистанционных метастазов, о чем свидетельствуют последние эпидемиологические данные – выживаемость пациентов с УМ не изменилась за последние 50 лет [3; 155].

#### **1.1.4 Выживаемость пациентов с увеальной меланомой**

По наиболее грубым оценкам, около половины пациентов с УМ погибают в результате метастатической болезни [171]. 5-летняя выживаемость при УМ составляет около 70-80%, 10-летняя – 50-80% [50; 94; 96; 122]. Поскольку для внутриглазных структур характерно отсутствие лимфатической системы, метастазы в регионарные лимфатические узлы при УМ встречаются редко [26; 92]. Для УМ характерен гематогенный тип метастазирования, наиболее распространенная локализация метастазов по данным COMS Report №15 приходится на печень (93%) и легкие (24%), реже – кожа, мягкие ткани, лимфатические узлы, кости, головной мозг; множественные метастазы могут определяться в 43% случаев [44].

Существуют следующие методы мониторинга метастазов УМ (перечислены в порядке увеличения чувствительности и специфичности): определение печеночных ферментов в анализе крови, УЗИ органов брюшной полости (ОБП), рентгенография или компьютерная томография (КТ) или мультиспиральная КТ органов грудной клетки (ОГК), позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), МРТ ОБП, в том числе с контрастированием [28; 44; 48].

Метастатическая форма УМ остается инкурабельным заболеванием с 1-летним уровнем выживаемости, не превышающим 15%, в том числе при проведении попыток ее лечения [38; 98]. В связи с этим, одним из основных направлений в изучении УМ является поиск методов раннего выявления метастазов.

Понимание процессов роста первичной опухоли и метастазов позволяет оптимизировать лечение и последующий мониторинг онкологических заболеваний. В качестве одного из базовых показателей для оценки этих процессов используется время удвоения опухоли. При изучении времени удвоения размеров УМ у пациентов с метастатической болезнью, Eskelin S. с соавт. (2000) пришли к выводу, что большинство микрометастазов возникают в течение 5 лет еще до обнаружения первичного очага и проведения соответствующего лечения [70]. Но это только частично объясняет случаи выявления метастазов в ближайшие сроки после проведения первичного локального лечения. В наибольшей степени метастатические процессы обусловлены наличием факторов риска развития метастазов УМ – клинических, морфологических и молекулярно-генетических – изучение которых стало одним из основных научных направлений в изучении УМ [62; 87; 105; 160].

Несмотря на высокий уровень локального контроля первичной опухоли и множество предложенных методов лечения метастазов УМ (химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия, изолированная перфузия печени, хирургия, химио- и радиоэмболизация и другие), показатели выживаемости пациентов с УМ не изменились за последние 50 лет [4; 159]. Это свидетельствует о высокой актуальности проблемы метастазирования УМ и необходимости более глубокого и масштабного изучения этих процессов.

## **1.2 Прогнозирование риска метастазирования увеальной меланомы**

Прогностические факторы – это биологические или клинические маркеры, позволяющие уточнить шансы на реализацию различных исходов заболевания, например, вероятность метастазирования. УМ является одним из редких примеров активного использования молекулярно-генетических методов для прогнозирования риска метастазирования [84; 87; 116; 168]. Прогнозирование метастазирования УМ является комплексной задачей ввиду широкого спектра факторов, влияющих на вероятность метастазирования опухоли: клинических, морфологических и генетических [76; 160].

### 1.2.1 Клинические факторы прогноза

Оценка клинических факторов, к которым относятся размер, конфигурация и локализация опухоли, вовлечение в патологический процесс цилиарного тела и экстраокулярный рост, а также возраст и пол пациента, производится на основании сбора анамнеза, осмотра и общего офтальмологического обследования с применением неинвазивных методов диагностики [30; 32; 73; 76; 92; 94; 158].

В ряде исследований было показано, что прогноз при УМ ухудшается с увеличением возраста пациента [93; 138]. По результатам одной из таких работ, 10-летняя вероятность метастазирования в группе пациентов 11-20 лет составляла 10%, в группе 41-50 лет – 21% и у пациентов 71-80 лет – 30% [138]. Хотя по данным COMS пол не влияет на прогноз заболевания, в ряде других исследований было показано, что для мужчин характерен менее благоприятный прогноз, что, предположительно, можно отчасти объяснить косвенным влиянием эстрогена на первичную опухоль или метастатические очаги [126; 175].

С точки зрения локализации наиболее благоприятный прогноз характерен для меланом радужки ввиду их относительно небольшого размера – 10-летняя летальность таких пациентов составляет 3-5% [141]. Наименее благоприятный прогноз описывается у пациентов с меланомами цилиарного тела – 5-летняя летальность определяется на уровне 20-50% [158]. Вероятнее всего, это связано с тем, что новообразования цилиарного тела становятся доступны прямой визуализации уже при достижении сравнительно крупных размеров, а также с особенностями кровоснабжения этой части сосудистой оболочки [130]. В ряде случаев в рамках клинического исследования точно определить первоначальную локализацию УМ, т.е. отличить крупную меланому цилиарного тела от меланомы хориоидеи с распространением в цилиарное тело, не представляется возможным. Для меланом хориоидеи характерен «промежуточный» прогноз, который в большей степени определяется размером новообразования [142].

Одним из базовых и наиболее валидированных показателей прогноза являются размеры опухоли – вертикальный (проминенция, или толщина) и

горизонтальный (базальный размер, или протяженность). Так, по данным мета-анализа выживаемости, 5-летний уровень летальности пациентов после энуклеации по поводу малых меланом (по классификации COMS) составил 16%, средних – 32%, больших – 53% [61]. Shields С.Л. с соавт. (2009) предложили упрощенную схему оценки прогноза, основанную на размерах опухоли: каждое увеличение проминенции опухоли на 1 мм увеличивает вероятность метастазирования в течение 10 лет – она составляет 6% при проминенции до 1 мм, 12% при размерах 1-3 мм, 16% при 3-4 мм, 27% при 4-5 мм, 28% при 5-6 мм, 29% при 6-7 мм, 41% при 7-8 мм, 50% при 8-9 мм, 51% при размерах более 10 мм, однако очевидным недостатком этой схемы является отсутствие учета влияния других факторов прогноза [142].

УМ чаще всего имеет куполовидную форму, реже встречается грибовидная (при прорыве опухолью мембраны Бруха) и диффузная формы [158]. Среди них негативное влияние на прогноз оказывает только диффузная форма УМ, что можно объяснить большими базальными размерами и особенностями роста [59; 140]

Экстраокулярный рост опухоли является неблагоприятным прогностическим признаком [94; 117]. В одном из крупных исследований было показано, что 5-летняя летальность пациентов с микроскопическими признаками выхода опухоли за пределы глаза и экстраокулярным узлом размером 1-4 мм составляла 37% и 24% соответственно, в то время как у пациентов с экстраокулярным очагом размером более 5 мм этот показатель составил 78% [117]. Важность данного клинического фактора, наряду с вовлечением цилиарного тела, подчеркивается тем, что их наличие учитывается в классификационном подходе TNM последнего издания [143].

Клинические факторы риска метастазирования УМ изолированно валидированы по результатам крупных исследований, однако их роль в контексте комплексного прогноза, включающего также оценку морфологических и молекулярно-генетических факторов, остается неясной.

### 1.2.2 Морфологические факторы прогноза

Морфологическое исследование материала УМ может проводиться в рамках цитологического или гистологического анализа.

Цитологическое исследование проводится при небольшом количестве опухолевого материала, который не дает полноценного представления об архитектонике ткани (например, на материале тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) [24]. С помощью данного исследования можно определить клеточный тип опухоли – наиболее важный прогностический фактор, оцениваемый в рамках морфологии [13; 76]. Однако цитологическое исследование требует получения достаточного количества материала, что не всегда является возможным при биопсии УМ, особенно в случае новообразований малых размеров [53].

К морфологическим особенностям УМ, определяемым при проведении гистологического исследования и обладающим прогностической ценностью, относят: клеточный тип опухоли, высокую митотическую активность, диаметр ядрышек, некрозы, инфильтрацию лимфоцитами и макрофагами, признаки патологического сосудообразования и экстравазкулярный матрикс [34; 72; 73; 132; 156; 158]. Достоверная оценка этих факторов возможна только на достаточном количестве материала, который можно получить либо в результате энуклеации, либо блокэцизии УМ [35; 94].

Классификация клеточного типа УМ на протяжении многих лет претерпевала различные изменения [13; 43; 75; 88; 107]. В настоящее время выделяют 3 клеточных типа УМ – веретенноклеточный, смешанноклеточный и эпителиоидноклеточный [143]. Для веретенноклеточной УМ характерен наиболее благоприятный прогноз, для эпителиоидноклеточной – наименее благоприятный. При этом не вполне ясным остается влияние на прогноз смешанноклеточного типа УМ, что обусловлено разрозненными данными, представленными в литературе [36; 63; 75; 88; 120].

В наиболее крупных исследованиях, посвященных изучению клеточного типа опухоли, веретенноклеточная УМ обнаруживалась в 34-44% случаях,

смешанноклеточная – в 45-62%, эпителиоидноклеточная – в 3-21 % [13; 36; 120]. В литературе широко представлены данные об ассоциации между наличием эпителиоидных клеток в гистологическом материале УМ и ухудшением прогноза (повышением риска развития метастазов) [54; 130; 132]. Кроме того, в Seddon J.M. с соавт. (1987) предложили количественный подход, при использовании которого была установлена корреляция между количеством эпителиоидных клеток в поле зрения микроскопа и ухудшением прогноза, однако такой метод не получил широкого распространения, и в настоящее время для оценки клеточного типа используется дискретный подход [131]. Более того, в отечественном исследовании клеточного типа УМ была предложена бинарная классификация УМ по признаку клеточного типа [13]. Согласно полученным данным, низкое количество эпителиоидных клеток (<10%, веретенклеточный тип опухоли) было ассоциировано с благоприятным прогнозом, тогда как более высокое количество (>10%, смешанноклеточный и эпителиоидноклеточный типы опухоли) становилось предиктором неблагоприятного прогноза; при этом предполагается, что различия в выживаемости пациентов со смешанноклеточным и с эпителиоидноклеточным типами УМ были незначительными, невозпроизводимыми и статистически незначимыми. Данный подход в определении клеточного типа не был валидирован на других клинических данных.

Несмотря на наличие большого количества прогностических факторов, определяемых в рамках морфологического исследования, большинство из них могут быть оценены только на нативном материале опухоли, получаемым в результате удаления опухоли «единым блоком» (энуклеация или блокэксцизия). Роль морфологического исследования, в частности цитологии, на материале ТИАБ, при органосохраняющем лечении УМ остается недостаточно изученной.

### **1.2.3 Молекулярно-генетические факторы прогноза**

Молекулярно-генетические методы исследования в современной онкологии используются чаще всего для подбора таргетной терапии, несколько реже – для уточнения диагноза и еще реже – для определения прогностических

факторов [84; 116; 168]. Оценка молекулярно-генетических факторов УМ менее требовательна к количеству биопсийного материала в сравнении с морфологическими факторами [53]. Результаты большинства исследований по этой теме указывают на ключевую роль молекулярно-генетических факторов в оценке риска метастазирования УМ [62; 160]. В подтверждение этому – появление наиболее современного классификационного подхода The Cancer Genome Atlas (2019), основанного на результатах молекулярно-генетического исследования УМ [147]. Данный классификатор, адаптированный Jager с соавт. (2019), разделяет УМ на 4 категории: А (дисомия хромосом 3 и 8, мутация в гене EIF1AX), В (дисомия хромосомы 3, амплификация 8q, мутация в гене SF3B1), С (моносомия хромосомы 3) и D (моносомия хромосомы 3, амплификация 8q) [86].

По результатам сравнительного анализа, опубликованного в JAMA Ophthalmology (2020), молекулярно-генетический классификационный подход способен более точно идентифицировать риск развития метастазов у пациентов с УМ в сравнении с классификационным подходом AJCC [105].

Генетическая нестабильность является ключевым характерным признаком для всех опухолей, но в сравнении с большинством других онкологических заболеваний, в том числе с меланомой кожи, УМ обладает сравнительно небольшим количеством характерных мутаций и хромосомных aberrаций [62; 81–83].

В разнообразии генетических нарушений при УМ выделяют «гены-драйверы» и «гены-модификаторы» [6; 87; 135; 146; 160; 168]. К первым относятся мутации в генах *GNAQ* и *GNAI1* (в хромосомах 9q и 19p соответственно), выявляемые в подавляющем большинстве образцов УМ (25-50% и 33-58% соответственно) [150; 153]. Зачастую эти мутации являются взаимоисключающими, их общая встречаемость достигает 80-90%. Более редкие иницирующие онкогенез мутации *CYSLTR2* и *PLCB4* можно встретить в образцах УМ, в которых отсутствуют мутации *GNAQ* и *GNAI1* [113]. Перечисленные мутации, по данным многочисленных исследований, не влияют на прогноз заболевания, что ставит под сомнение их прогностическую ценность,

но не умаляет их значения при проведении дифференциальной диагностики УМ [62; 118; 128].

В то же время набор «генов-модификаторов» существенно коррелирует с риском метастазирования УМ. К таким нарушениям относятся изменения в генах *BAP1*, *EIF1AX* и *SF3B1*, а также характерные цитогенетические aberrации – нарушения копийности хромосом 1, 3, 6 и 8 или крупных регионов этих хромосом [6; 87; 134].

Моносомия хромосомы 3 – один из самых важных и многократно валидированных молекулярно-генетических факторов прогноза метастазирования УМ [51; 56; 86; 128]. Определение статуса этой хромосомы возможно разными способами. Различными исследовательскими группами используется определение мутации в гене *BAP1*, встречающейся в 32-58% образцах и тесно ассоциированной с моносомией хромосомы 3 [62; 64; 74]. Оценка статуса хромосомы 3 также возможна по наличию делеции в гене *PPARG* (*PPAR $\gamma$* ), что, однако, не было подтверждено в рамках крупных исследований [166]. Упоминания о частоте встречаемости делеции гена *PPARG* в литературе также отсутствуют. Тем не менее, использование данного молекулярно-генетического фактора в оценке статуса хромосомы 3 требует дополнительных исследований как с целью изучения одного из самых важных генетических нарушений, так и с целью разработки альтернативных способов его идентификации.

В отличие от подходов COMS (2012) и Robertson et al. (2017 г), фокус которых направлен преимущественно на статус хромосомы 3, благодаря исследовательским группам TCGA и из Швейцарии, в последнее время отмечается растущий интерес к изучению aberrаций хромосомы 8 и их влияния на риск развития метастазов [62; 86; 127; 128; 139; 169]. Для оценки статуса хромосомы 8, кроме прочего, возможен анализ гена *MYS*, ассоциативная связь с которым была подтверждена в рамках предыдущих исследований [15; 119].

*EIF1AX* является уникальной мутацией, наличие которой парадоксальным образом ассоциировано с самым благоприятным прогнозом и ожидаемой



продолжительностью жизни, сравнимой со здоровыми людьми [103]. Встречаемость мутации составляет 8-21% [62; 64; 173].

Мутация в гене *SF3B1*, встречаемость которой составляет 10-24%, характеризуется «отсроченными» метастазами, как правило, легочной локализации, спустя 7 и более лет после установления диагноза [58; 62; 64; 74].

Подавляющее большинство прогностических подходов основаны на молекулярно-генетических факторах и принципиально стратифицирует риск в зависимости от наличия или отсутствия моносомии хромосомы 3. Тем не менее, детали прогностических подходов могут значительно отличаться в зависимости от интерпретации данных по хромосомам 6 и 8, мутаций в генах *EIF1AX*, *SF3B1*, *GEP*, экспрессии гена *PRAME* и других параметрах [14; 45; 86; 128]. Это привело к тому, что различные клинические и научные исследовательские группы используют различные прогностические подходы, основываясь на собственных возможностях определения комплекса молекулярно-генетических особенностей УМ, логистической доступности метода, возможностях проведения исследования на небольшом количестве материала, учете опухолевой гетерогенности, а также трудозатрат и экономической стоимости.

Прогнозирование течения УМ включает в себя анализ множества факторов, возможность получения информации о которых зависит от выбранного метода лечения, используемых молекулярно-генетических методов и анализируемых морфологических и генетических факторах. В зависимости от этого формируется система оценки прогноза – прогностическая панель, основной задачей которой является интерпретация полученных данных и формирование прогностического класса. В литературе встречаются разрозненные данные об используемых прогностических подходах. При этом существует единственная прогностическая система, комплексно учитывающая все факторы – клинические, морфологические и молекулярно-генетические – Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online (LUMPO, 2012) [69]. Коллаборационным исследованием OOG (2016) и сотрудниками Калифорнийского университета Сан-Франциско (2020) была проведена

валидация этой системы на собственных клинических данных [55; 60]. Тем не менее, стоит отметить, что разработка системы проводилась по данным смертности по всем причинам, а не специфичной смертности в результате метастазов УМ, и только на выборке пациентов из Великобритании. Кроме того, были отмечены значительные трудности с онлайн-доступом к этой прогностической системе. Отсутствие единого прогностического подхода затрудняет стратификацию рисков метастазирования УМ как в клинической практике, так и при информировании пациента о прогнозе заболевания.

#### **1.2.4 Психологические аспекты прогнозирования риска метастазирования**

Молекулярно-генетические исследования в онкологии в большей мере направлены на раннее выявление онкологического заболевания, чем на прогнозирование метастазирования уже имеющегося [31]. В связи со сравнительно «молодым» характером этого направления, многие вопросы, связанные с прогнозированием онкологических заболеваний, в особенности при УМ, остаются открытыми.

Потребность в более детальном прогнозе связана с социально-экономическими факторами и личностными особенностями пациента, изучение которых необходимо для улучшения уровня информированности и психологического состояния пациентов [7–9; 31; 52]. Благоприятный прогноз может способствовать стабилизации психологического состояния пациента, а неблагоприятный – стать основанием для возможного участия в клинических исследованиях по профилактике метастатической болезни. С учетом того, что более точный прогноз не оказывает принципиального влияния на выживаемость при этом заболевании, отношение пациентов к такой информации малоизучено.

Ввиду отсутствия однозначных рекомендаций после установления более точного прогноза, а также невозможности в настоящее время проведения молекулярно-генетического тестирования за счет бюджетных средств, не все пациенты могут считать данное исследование целесообразным и / или доступным. В рамках отечественных исследований оценивалось только качество жизни у пациентов с УМ при проведении различных типов лечения [7–9]. По

данным зарубежных авторов, подавляющее большинство (97–98%) пациентов с УМ заинтересованы в проведении молекулярно-генетического исследования с целью установления более детального прогноза заболевания [31; 52]. В исследовании из Великобритании прогнозирование предлагалось только пациентам, которым была рекомендована энуклеация, в исследовании из США – и энуклеация, и органосохраняющее лечение. Отсутствие информации в отечественной литературе, а также различия в менталитете пациентов из разных стран делают актуальным проведение собственного исследования по анализу потребности пациентов с УМ в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования.

### **1.3 Тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы**

Первые упоминания о ТИАБ злокачественных внутриглазных новообразований относятся к 1950-ым годам XX века, однако в то время подобные процедуры имели исключительно диагностический характер [41]. В реалиях современной клинической практики для подтверждения диагноза УМ биопсия требуется крайне редко [168]. По данным COMS Report №1 (1990 г), более 99% энуклеированных по поводу УМ глаз впоследствии получали подтверждение диагноза по данным гистологического исследования, что указывает на высокую чувствительность и специфичность неинвазивной диагностики [79]. В то же время выраженный прогресс в понимании молекулярно-генетических особенностей УМ и их влияния на риск метастазирования опухоли, а также редкие случаи затрудненной дифференциальной диагностики внутриглазных новообразований диктуют необходимость изучения и совершенствования биопсийных технологий с целью повышения их эффективности и безопасности.

#### **1.3.1 Технология ТИАБ**

Материал опухоли может быть получен с использованием различных хирургических доступов: трансклерального, трансквитреального и транскорнеального [29; 71].

Трансклеральный доступ может быть использован как в рамках эксцизионной биопсии, так и средствами ТИАБ [29; 89]. Трансклеральный доступ выполняется комбинированно на этапе подшивания бета-аппликатора для брахитерапии с целью минимизации риска экстрасклерального роста опухоли [29; 106; 162; 174]. Преимуществами такого подхода являются возможность биопсии опухолей при локализации на крайней периферии и при выраженных изменениях прозрачности оптических сред, отсутствие повреждений структур стекловидного тела и сетчатки, возможность получения достаточного количества материала. К недостаткам стоит отнести большую травматичность и техническую сложность процедуры, особенно в случаях постэкваториальной локализации опухоли, необходимость комбинации с брахитерапией, а также высокий риск экстраокулярного роста опухоли, в т.ч. диссеминации опухолевых клеток в орбиту. Более того, учитывая конфигурацию глаза, стандартные эписклеральные швы не способны обеспечивать плотную фиксацию офтальмоаппликатора к склере, что может приводить не только к неравномерному распределению дозы по опухолевой ткани, но и к недостаточному облучению склерального канала ТИАБ [23].

Трансвитреальный доступ предполагает биопсию опухоли со стороны полости стекловидного тела через плоскую часть цилиарного тела (*pars plana*) путем инцизионной биопсии, с применением эндовитреальных ножниц Эссена или в рамках ТИАБ [27; 29; 162; 167]. Преимуществами трансвитреального доступа являются сохранение анатомической целостности склерального ложа опухоли, возможность проведения биопсии в сочетании с любыми методами органосохраняющего лечения УМ. Недостатки использования трансвитреального доступа включают относительную зависимость от возможности прямой визуализации опухоли при осмотре глазного дна, увеличение рисков локальных эндовитреальных осложнений (гемофтальм, отслойка сетчатки) и снижения зрительных функций, в особенности при таких объемных хирургических манипуляциях как инцизионная биопсия или биопсия ножницами Эссена.

Транскорнеальный подход используется в отдельных случаях при передней локализации УМ (меланомы цилиарного тела и/или радужки) [40; 109; 125]. Представленное в литературе описание не позволяет сформировать целостного представления о технике использования этого хирургического доступа.

Определенную диагностическую и прогностическую ценность могут представлять методы жидкостной биопсии в различных биологических средах (кровь, влага передней камеры, субретинальная жидкость и другие) [10; 90]. Такая технология характеризуется минимальной инвазивностью, однако предполагает крайне малое количество опухолевого материала, которое может не отражать истинную мутационную картину первичного опухолевого очага. Im D.H. et al. (2022) проводили аспирационную биопсию влаги передней камеры при УМ различной локализации: информативные образцы не удалось получить при меланоме хориоидеи, однако в 6 из 8 случаев при меланоме цилиарного тела были обнаружены специфические для УМ мутации [85]. Исследование субретинальной жидкости (СРЖ) может расширить имеющиеся представления о биологии УМ и дополнить информативность ТИАБ, однако данные об анализе СРЖ при ТИАБ УМ в литературе отсутствуют.

Наиболее широкое применение среди всех способов биопсии УМ получила ТИАБ благодаря относительной простоте и скорости выполнения манипуляции. Для проведения ТИАБ предлагалось использование различных инструментов: инъекционной иглы (23-30G) с аспирационной шприц-системой, витреотома, эндовитреальных ножниц [27; 29; 162; 167]. Наибольшую популярность получили иглы с аспирационной системой ввиду простоты использования, экономической целесообразности и достаточно высокой эффективности. Разработанная технология тонкостенных игл с различными углами заточки не была апробирована в клинической практике (патент РФ № 2739130). Данные о хирургической технике ТИАБ разрозненны, отсутствует подробное описание применения этой технологии при опухолях малых размеров

и локализации на крайней периферии глазного дна, а также при низком уровне транспупиллярной визуализации.

Применение ТИАБ возможно при всех видах органосохраняющего лечения УМ, однако в случае применения хирургических методов (эндорезекция, блокэксцизия) обсуждение роли ТИАБ не имеет смысла, поскольку такие вмешательства предполагают получение достаточного количества материала для проведения морфологического и молекулярно-генетического исследования [18; 80]. Также спорным является применение ТИАБ у пациентов с «малыми» УМ, которым показана ТТТ в качестве единственного метода лечения, поскольку ТТТ относится к неинвазивным технологиям и при экстрафовеальной локализации опухоли позволяет полностью сохранить центральное зрение после лечения, что в определенной мере не согласуется с применением ТИАБ как инвазивной процедуры, локальные осложнения которой в ряде случаев способны приводить к нарушению зрительных функций [145; 162; 172]. Тем не менее, учитывая транзиторный характер этих нарушений в большинстве случаев и принимая во внимание желание пациента знать детальный прогноз своего заболевания, применение ТИАБ возможно и при использовании ТТТ как основного метода лечения. Описание особенностей применения ТИАБ при различных видах лечения УМ, в том числе при СТРХ или при комбинированном лечении (БТ в комбинации с ТТТ) отсутствует, что затрудняет использование этой технологии в клинической практике.

### **1.3.2 Информативность материала ТИАБ**

Информативность материала ТИАБ, по данным различных авторов, составляет 40-100% [53; 71; 161]. На информативность оказывают влияние такие факторы как высота проминенции опухоли, хирургическая техника (в частности, используемый инструментарий и калибр иглы), опыт хирурга и фактор гетерогенности опухоли [99; 100]. ТИАБ слабопротинирующих образований является технически более сложной процедурой, для которой характерна более низкая информативность полученного материала: исследования, в которых

проводилась ТИАБ таких образований (с высотой проминенции менее 2 и 3 мм), сообщают об информативности в 40 и 44%, соответственно [39; 42]. Помимо биопсийных игл, в качестве инструментов для получения материала предлагалось использование витреотомов и специальных витреальных щипцов [21; 78]. Также в качестве комбинированной технологии предлагалось проведение субтотальной витрэктомии с последующим забором материала с помощью ТИАБ [124]. Данные технологии не способствуют увеличению информативности получаемого материала, однако предполагают больший объем вмешательства и, как следствие, большую травматичность, а также затраты с точки зрения временных и финансовых ресурсов.

Следует различать информативность с точки зрения цитологического и молекулярно-генетического анализов – проведение последнего возможно на меньшем количестве материала, что нередко может приводить к ситуациям, в которых материал ТИАБ неинформативен с точки зрения цитологии, но достаточен для проведения молекулярно-генетического исследования. По данным Correa et al. (2014 г), информативность для цитологии определялась на уровне 22% и для генетики – на уровне 99% [53]. Также определенную проблему составляет время определения материала как информативного или неинформативного, поскольку в условиях операционной непосредственно после процедуры возможна только макроскопическая оценка информативности материала.

Данные литературы об информативности ТИАБ носят разрозненный характер и не позволяют судить о том, какие из особенностей процедуры или характеристики опухоли позволили бы оптимизировать получение максимально информативного материала.

### **1.3.3 Безопасность ТИАБ**

Ятрогенные осложнения, приводящие к стойкому снижению зрительных функций, риску диссеминации опухоли с необходимостью энуклеации глаза, а также опасения по поводу системной диссеминации клеток УМ в результате

инвазивных вмешательств длительное время ограничивали применение ТИАБ в клинической практике [37; 68].

Данные по анализу локальных осложнений ТИАБ демонстрируют крайнюю вариативность. Описание частоты интравитреальных кровоизлияний в результате ТИАБ, по данным различных авторов, может составлять до 97% или отсутствовать вовсе [29; 42; 71; 109; 161]. Такую вариативность можно объяснить отсутствием правильной интерпретации относительно кровоизлияний, ассоциированных с проведением ТИАБ, которые могут носить разный характер как по объему, так и по локализации. Кроме того, в литературе не представлен детальный анализ факторов, влияющих на вероятность кровоизлияний и их характер.

Регматогенная отслойка сетчатки и эндофтальмит являются крайне редкими осложнениями, их описание встречается в единичных случаях [29; 106; 148]. Анализ локальных осложнений ТИАБ, а также описание методов по их профилактике малоинформативны.

Среди офтальмологических осложнений ТИАБ наиболее грозным является экстраокулярный рост опухоли [54]. Glasgow В.Ј. и соавт. (1988) определили, что использование трансклериальной техники в меньшей мере ассоциировано с имплантацией опухолевых клеток в склеральный канал, чем использование транссклеральной [77]. Тем не менее, трансклериальная ТИАБ также не исключает вероятности экстраокулярного распространения опухоли [115; 123]. В литературе описаны различные методы профилактики этого осложнения, однако их реальная клиническая значимость остается неизученной, поскольку носит экспериментальный характер и не была апробирована или проанализирована в клинической практике [12; 71; 95].

Механическое повреждение опухолевых сосудов при проведении биопсии связано с теоретическим увеличением риска метастазирования первичного очага [29]. В общей онкологической практике ТИАБ используется для диагностики новообразований практически любой локализации, при этом риск диссеминации опухоли в результате этой процедуры считается минимальным [109]. В то же



время биопсия меланомы, как кожи, так и сосудистой оболочки глаза, на протяжении длительного времени рассматривалась как потенциально опасная процедура ввиду высокого метастатического потенциала этих опухолей. В случае кожной меланомы смена парадигмы произошла благодаря результатам крупных исследований, в которых было показано отсутствие различий в выживаемости при различных типах биопсии [104; 106; 112]. Аналогичные работы проводились и с участием пациентов с УМ [29; 41]. При этом во всех исследованиях, где оценивалась системная безопасность ТИАБ, отсутствовало сравнение двух статистически однородных по основным клиническим характеристикам групп, что является их принципиальным недостатком. В анализе Char D.H. et al. (1996 г) использовался только многофакторный анализ и трансклеральный хирургический доступ, в работе McCannel et al. (2012 г) проводилось сравнение двух когорт пациентов из разных исследований [41; 106].

Отсутствие убедительных данных о безопасности ТИАБ ограничивает применение этой технологии не только с целью прогностического исследования при УМ, но и в случае «жизнеугрожающих» ситуаций, требующих проведения ТИАБ с диагностической целью, например, при метастатическом поражении хориоидеи.

Таким образом, прогнозирование риска метастазирования опухоли является важной составляющей комплексного подхода в ведении пациентов с УМ, в том числе при проведении органосохраняющего лечения. Основным способом получения материала для проведения морфологических и молекулярно-генетических исследований является ТИАБ, однако целостный клинический подход к применению этой технологии отсутствует. Интерпретация цитогенетических нарушений на материале, полученном с помощью ТИАБ, затруднена ввиду разобщенности прогностических подходов, что делает актуальным проведение собственного анализа. Потребность в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования основана не только на необходимости исследования УМ и разработки эффективных методов адъювантной терапии, но и непосредственно на мнении пациентов с этим

заболеванием, а наиболее точная стратификация риска метастазирования УМ возможна только при комплексном учете клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов прогноза.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Общая характеристика материала клинических исследований

Исследование проводилось в ФГАУ «НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Минздрава России на базе отделения офтальмоонкологии и радиологии. Исследование носит ретроспективно-проспективный характер. Всего были отобраны данные 470 пациентов с УМ, во всех случаях имел место клинически установленный диагноз УМ. Все пациенты подписывали информированное добровольное согласие на обработку персональных данных, диагностические исследования и лечение. В рамках консультации офтальмоонколога им разъяснялись суть, цели и возможные осложнения ТИАБ.

По данным материалов из медицинского архива «МНТК "Микрохирургия глаза" им. Федорова», за период 2017-2021 гг было проведено 156 ТИАБ УМ с прогностической целью в сочетании с БТ (90% (n=141) и в сочетании с СТРХ «Гамма-Нож» (ГН) в 10% (n=15). Данные этих пациентов составили основную группу исследования.

Средний возраст пациентов основной группы составил 54 года (min 10 лет, max 84 года), среди них 27% мужчин, 73% женщин. В этой группе пациентов 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). Распределение УМ по локализации: в 17% – юкстапапиллярно, в 6% – в верхнем отделе, в 6% – в верхневнутреннем квадранте, в 8% – во внутреннем, в 6% – в нижневнутреннем, в 6% – в нижнем, в 17% – в нижненаружном, в 16% – наружном, в 18% – в верхненаружном. Экстрабульбарный рост отмечался в 2 (1%) случаях. Средняя высота проминенции опухоли по данным В-сканирования составила  $5,5 \pm 1,9$  мм (min 2,0 мм, max 10,9 мм), средний размер основания по

наибольшему значению –  $11,9 \pm 2,4$  мм (min 6,1 мм, max 17,9 мм), средняя высота отслойки сетчатки –  $1,7 \pm 1,7$  мм (min 0 мм, max 10,5 мм). Средняя острота зрения на момент проведения ТИАБ – 0,6 (min – неправильная светопроекция, max – 1,0).

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. Данная ретроспективная когорта формировалась по материалам из медицинского архива «МНТК "Микрохирургия глаза" им. Федорова» пациентов с УМ, пролеченных в период 2013-2016 гг. За указанный срок пациентам с УМ было проведено 552 курса БТ. Подробная характеристика группы с учетом критериев включения и исключения представлена в разделе 5.1.

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. Подробная характеристика группы представлена в разделе 6.1.

Для разработки комплексного прогностического подхода из медицинского архива «МНТК "Микрохирургия глаза" им. Федорова» была отобрана группа пациентов с УМ, которым проводилась энуклеация или органосохраняющее лечение (БТ или СТРХ «ГН») с последующим проведением молекулярно-генетического исследования в период 2004-2021 г. Подробная характеристика группы представлена в разделе 6.3.

## **2.2 Инструментальные методы исследования**

Офтальмологическая диагностика УМ проводилась по данным биомикроскопии, офтальмоскопии и инструментальных методов диагностики (ультразвукового В-сканирования с определением локализации и размеров очага, а также вторичной отслойки сетчатки, и оптической когерентной томографии (ОКТ). Также всем пациентам проводилась визометрия

(определение остроты зрения (ОЗ), периметрия, тонометрия (определение внутриглазного давления, ВГД).

Визометрия проводилась без коррекции и с определением максимально корригируемой ОЗ (МКОЗ) с помощью проектора знаков (Торсон, Япония), электронного фороптера (Торсон, Япония) и стандартного набора очковых линз (Торсон, Япония).

Визометрия при отсутствии предметного зрения определялась методами светопроекции и светоощущения с использованием прямого офтальмоскопа (Carl Zeiss Meditec, Германия). Определение ВГД проводили с помощью бесконтактного компьютерного тонометра (Торсон, Япония). Оценка периферических зрительных функций проводилась по определению полей зрения посредством проекционного периметра и объекта белого цвета различной величины с интервалом в 30 градусов (ППП-60, РФ).

Биомикроскопию проводили на щелевой лампе «SL-120 / 130» (Carl Zeiss Meditec, Германия). Офтальмоскопию за щелевой лампой проводили с использованием высокодиоптрийных асферических бесконтактных линз +78D (Volk Super Field NC, США) и +90D (Volk II BIO, США). Фоторегистрация картины глазного дна проводилась на фундус-камере «Visucam 500» (Carl Zeiss Meditec, Германия).

Ультразвуковое исследование проводилось с целью определения размеров и локализации опухоли и вторичных изменений (отслойки сетчатки), а также динамики регрессии опухоли и вторичных изменений на фоне проведенного лечения проводили на аппаратах «Ultrascan Imaging System» (Alcon, США), «Ophthalmoscan 200» (Sonometrics Systems Inc, США), «ABSolu» (Quantel Medical, Франция). Диафаноскопию проводили в затемненном помещении с использованием трансиллюминатора (диафаноскопа) (Welch Allyn, США). ОКТ проводили с целью дифференциальной диагностики между УМ малых размеров, невусом хориоидеи и другими внутриглазными новообразованиями, определения выраженности вторичных изменений (отслойка сетчатки, субретинальная жидкость) с использованием оптических когерентных

томографов «RTVue 100» (Optovue, США) и «Cirrus HD-OCT 4000» (Carl Zeiss Meditech AG, Германия).

МРТ или УЗИ органов брюшной полости и КТ и рентгенография органов грудной клетки проводились вне основного учреждения на различной аппаратуре.

На этапе до госпитализации на стационарное лечение проводилась общая диагностика с целью определения соматического состояния пациентов: лабораторные исследования крови (общий анализ крови, биохимический анализ крови, анализ крови на ВИЧ, гепатиты В и С, сифилис) и мочи (общий анализ мочи), электрокардиография, консультации терапевта, оториноларинголога, стоматолога, по показаниям – эндокринолога.

### 2.3 Лабораторные методы исследования

Молекулярно-генетическое и цитологическое исследования проводились на базе молекулярно-генетической лаборатории (ООО «Эйджин», Москва, РФ, руководитель Зарецкий Андрей Ростиславович) в формате отчета о научно-исследовательской работе с целью исследования панели молекулярно-генетических онкомаркеров – мутаций в «горячих точках» генов *GNAQ* (экзоны 4 и 5), *GNA11* (экзоны 4 и 5), *EIF1AX* (экзоны 1 и 2) и *SF3B1* (экзон 14), оценки статуса хромосомы 3 (тест на делецию гена *PPARG*) и хромосомы 8 (тест на амплификацию гена *MYC*) с предварительным цитологическим исследованием образца. Цитологические стеклопрепараты, изготовленные по стандартной методике, подвергались цитологическому исследованию (консультация к.м.н., Мельниковой Надежды Васильевны). Поиск мутаций в «горячих точках» генов *GNAQ* (экзоны 4 и 5) и *GNA11* (экзоны 4 и 5) в ДНК проводился в два этапа: на первом этапе осуществляли поиск трех наиболее часто встречающихся мутаций – с.626А>Т, р.(Gln209Leu) в экзоне 5 гена *GNA11* и с.626А>Т, р.(Gln209Leu) и с.626А>С, р.(Gln209Pro) в экзоне 5 гена *GNAQ* – методом высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ в модификации усиленной аллель-специфической ПЦР-РВ с одновременным подавлением амплификации аллелей «дикого типа»; при отсутствии этих трех мутаций на втором этапе проводили

поиск редких мутаций в «горячих точках» экзонов 4 и 5 гена *GNAI1* и экзонов 4 и 5 гена *GNAQ* методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру. Поиск мутаций в «горячих точках» генов *EIF1AX* (экзоны 1 и 2) и *SF3B1* (экзон 14) в ДНК проводили методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР. Определение количества копий короткого плеча хромосомы 3 (3p) и длинного плеча хромосомы 8 (8q) проводили методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с ДНК-зондами серии «Poseidon» (Kreatech, США) специфичными к генам *PPARG* и *MYC* (C-Myc), соответственно.

Морфологическое (гистологическое) исследование удаленных глаз проводили в патогистологической лаборатории ФГАУ «НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» (заведующая лабораторией патологической анатомии и гистологии глаза, к.м.н., Анна Викторовна Шацких). Исследование выполняли по стандартной методике с изготовлением серийных срезов, использовали микроскоп «DM LB2» (Leica, Германия) при увеличении в 50, 100, 200, 400 раз. Макроскопически оценивали локализацию, распространенность опухоли и наличие экстрабульбарного роста. Клеточный тип УМ оценивали согласно Международной гистологической классификации опухолей 8-го издания (2018 г.) (G1, G2, G3): веретеночелюстная меланома (>90% веретеночелюстных клеток), смешанночелюстная меланома (>10% и <90% эпителиоидных клеток, <90% веретеночелюстных клеток) и эпителиоидночелюстная меланома (>90% эпителиоидных клеток). Веретеночелюстными считали клетки вытянутой формы с ядрами овоидной, нитевидной или продольно плоской формы. Эпителиоидными считали круглые, овальные или полиморфные клетки неправильных очертаний, расположенные рыхло, не окруженные ретикулиновыми волокнами, с обильной, обычно ацидофильной цитоплазмой и более крупными ядрами. Другие характеристики опухоли в рамках данной работы не оценивались.

В рамках диспансерного наблюдения проводились общий офтальмологический осмотр и обследования (биомикроскопия, офтальмоскопия,

визометрия и тонометрия), ультразвуковое исследование, контроль общеклинических обследований по заключению онколога, заключениям МРТ или УЗИ органов брюшной полости и КТ или рентгенографии органов грудной клетки. В качестве основного метода скрининга на метастазы рекомендовалось использование МРТ органов брюшной полости с использованием контраста (примовист) и КТ органов грудной клетки.

## **2.4 Оборудование и инструментарий**

Для проведения ТИАБ использовались операционные офтальмологические микроскопы «HS Hi-R 700» (Haag Streit Surgical, Германия) и Zeiss «OPMI Lumera 700» (Carl Zeiss Meditec, Германия). В ходе процедуры использовались силиконовые контактные линзы для осмотра глазного дна (НЭП МГ, РФ), троакарные наборы 25G (AKtive, Италия), эндоосветители, эндовитреальные ножницы «Grieshaber Revolution 25+ DSP 705.52» (Alcon, США) и пинцеты «Grieshaber Revolution 25+ DSP 705.43» (Alcon, США) для витреоретинальной хирургии, модифицированные иглы калибром 25-30G на материале канюль 25-30G 3225 (MedOne Surgical, США), аспирационные системы с силиконовыми трубками и шприцами, хирургические пинцеты, диатермокоагулятор Bird Fire SME-1200 (SME, РФ), иглодержатели, лезвиедержатели с наборами лезвий, конъюнктивальные ножницы, вискоэластики, шовный материал Coated Vicryl 6-0, 7-0, 8-0, Mersilk Soie 4-0 (Ethicon Johnson & Johnson, США), Polyester 5-0, Nylon 10-0 (Mani, Япония).

Материал ТИАБ собирался в пробирку типа Eppendorf объемом 5,0 мл и сопровождался макроскопическим описанием (цвет жидкости, наличие осадка).

## **2.5 Методы статистического анализа**

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Google Sheets (Google LLC), Microsoft Office Excel version 16.55 (Microsoft) и GraphPad Prism 9.3.1 (GraphPad Software LLC). В рамках описательной статистики рассчитывались показатели среднего, минимума (min), максимума (max), медианы, стандартного отклонения ( $\sigma$ ).

Определение нормального распределения (распределение Гаусса) в выборке проводилось по критериям нормальности Шапиро-Уилка, Д'Агостино, Колмогорова-Смирнова и Андерсона-Дарлинга. При отсутствии нормального распределения для оценки достоверности различий между количественными значениями двух выборок использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни и Уилкоксона. Для сравнения качественных признаков использовались критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат) и критерий Фишера.

Анализ риска метастазирования проводился по типу «случай-контроль»: две группы пациентов – с метастазами («случай») и без («контроль») – сравнивались на основе частоты встречаемости предполагаемого влияющего фактора. 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 использовался метод 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  $p < 0,05$ .



### **ГЛАВА 3. ОПТИМИЗАЦИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЭТАПА ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ**

Цель данной главы – оптимизировать хирургический этап ТИАБ для клинической практики с описанием применения различных хирургических доступов и в комбинации с различными видами органосохраняющего лечения, а также описание особенностей периоперационного ведения пациентов с ТИАБ.

Для достижения поставленной цели потребовался анализ операционных протоколов ТИАБ, определение оптимальной локализации наложения зажима на аспирационную трубку и способа равномерной фиксации офтальмоаппликатора к склере и биопсийному каналу, проведение эксперимента по разработке способа получения субретинальной жидкости (СРЖ) при УМ, подробное описание особенностей медикаментозного сопровождения и анестезиологического пособия у пациентов с ТИАБ.

#### **3.1. Хирургические доступы**

##### **Трансвитреальная ТИАБ**

Трансвитреальная ТИАБ проводилась в 147 случаях (94%) у пациентов с УМ.

Для проведения трансвитреальной ТИАБ в первую очередь необходимо обеспечить хорошую визуализацию опухолевого очага. С этой целью проводился осмотр глазного дна при помощи операционного офтальмологического микроскопа и силиконовой скошенной контактной линзы. Выбор силиконовых контактных линз (НЭП МНТК, РФ) зависел от расположения очага – центральной локализации, на средней или крайней периферии – в зависимости от этого выбиралась контактная линза с минимальным ( $0^\circ$ ), средним ( $20^\circ$ ) или максимальным ( $36^\circ$ ) углом скоса (рисунок 1).

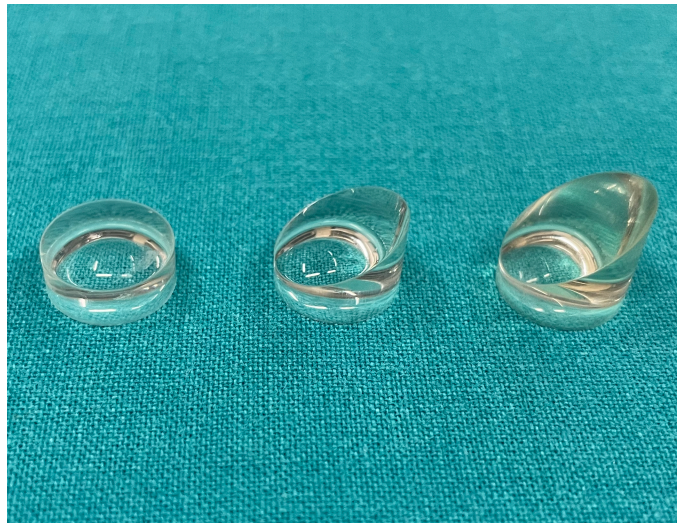


Рисунок 1 – Набор силиконовых контактных линз для визуализации глазного дна с различными углами скоса

Улучшение визуализации опухолей на крайней периферии возможно при помощи различных режимов освещения, регулирования положения головы пациента, склерокомпрессии (склерокомпрессором, мышечным крючком или стерильной ватной палочкой) и ротации контактной линзы (рисунок 2). Так, диффузный свет микроскопа не всегда позволяет визуализировать новообразование на глазном дне, в то время как использование режима фокального освещения может значительно улучшить уровень визуализации.

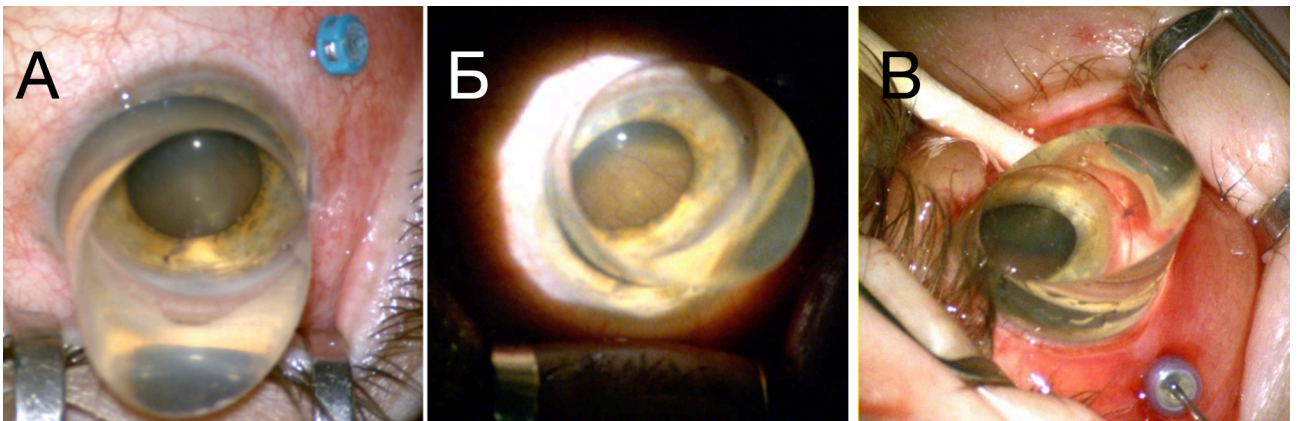


Рисунок 2 – Визуализация внутриглазной опухоли: А – при диффузном освещении (затруднена), Б – при фокальном освещении (улучшена), В – при склерокомпрессии

Кроме прочего, улучшение визуализации крайней периферии возможно регулировкой оптической оси микроскопа (более гибкая регуляция этого параметра возможна при использовании операционного микроскопа с тремя

степенями свободы – в рамках данного исследования это осуществлялось микроскопом HS Hi-R 700 («Haag Streit Surgical», Германия), вид которого представлен на рисунке 3. В качестве альтернативы возможно применение бинокулярного налобного офтальмоскопа и собирающей бесконтактной линзы 20 дптр.

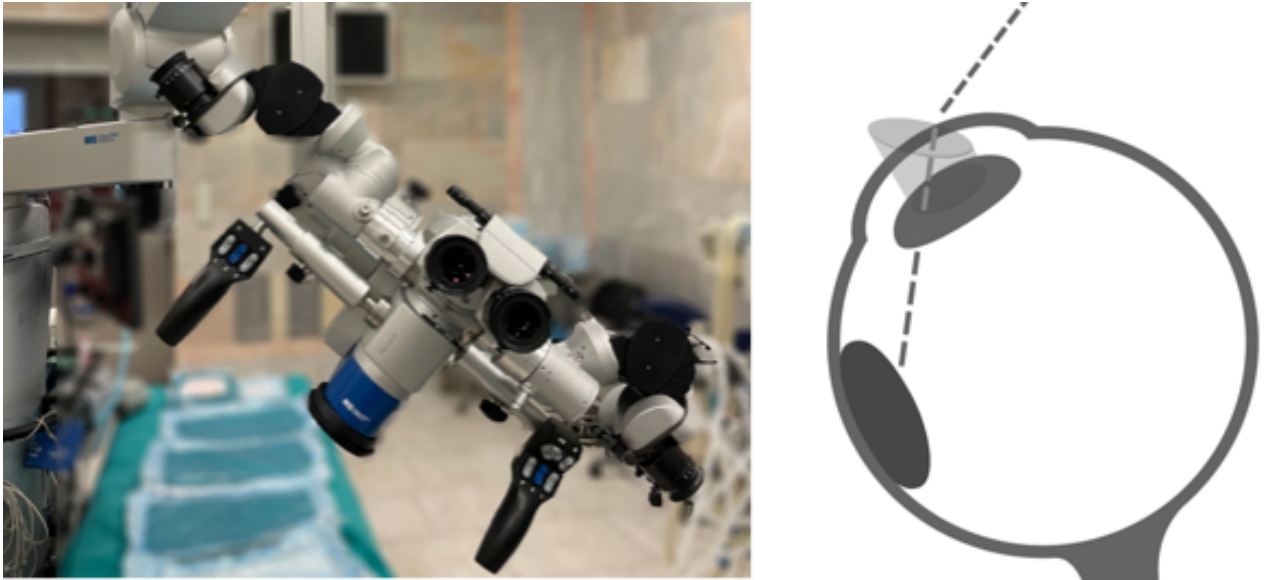


Рисунок 3 – Визуализация опухолей на крайней периферии: А – регулировка микроскопа HS Hi-R 700, Б – схематическое изображение визуализации опухоли на крайней периферии при наклоне глаза, силиконовой контактной линзы и оптической оси микроскопа

При выраженных помутнениях оптических сред (помутнения роговицы, катаракта, гемофтальм и другие) может потребоваться использование эндоовитреальных осветителей или шандельеров (рисунок 4). При затрудненной визуализации опухоли из-за патологических изменений в стекловидном теле (гемофтальм, помутнения) возможно проведение витрэктомии по стандартной трехпортовой технологии первым этапом с последующим проведением ТИАБ.

После обеспечения достаточной визуализации опухоли в проекции pars plana цилиарного тела (3,5 мм от лимба) устанавливался витреоретинальный порт-проводник для биопсийной иглы – калибр троакара в диапазоне 25-27G определялся в соответствии с калибром биопсийной иглы 25-30G, с помощью которой планировалось получение материала опухоли (рисунок 5). ТИАБ выполнялась с использованием игл калибром 25G (59%; n=86), 27G (40%; n=60)

или 30G (1%; n=1). Целесообразность применения порта-проводника при проведении ТИАБ была доказана в рамках предыдущей экспериментальной работы [12].

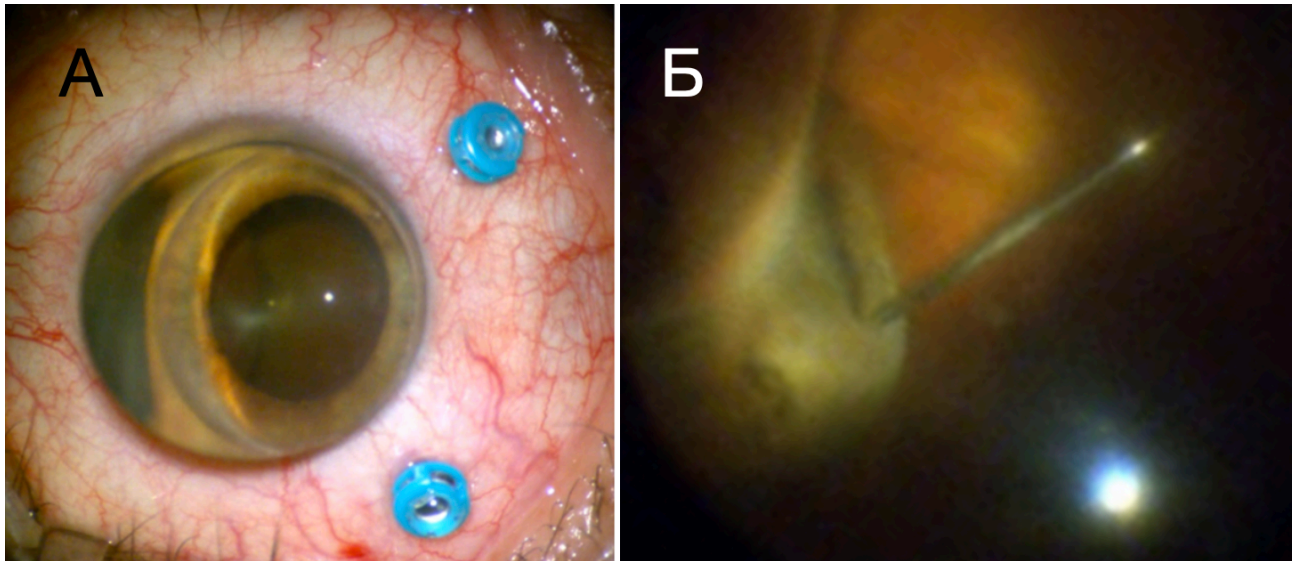


Рисунок 4 – Проведение ТИАБ УМ (локализация во внутреннем сегменте) с эндоосветителем: А – фотография переднего отрезка, Б – фотография глазного дна

Для обеспечения наилучшей герметизации склерального канала целесообразно проведение двухпрофильной склеротомии. Локализация склеротомии определялась расположением опухоли и удобством доступа хирурга. Во избежание повреждения троакарном длинных цилиарных нервов и задних длинных цилиарных артерий склеротомии не проводились в проекции горизонтальных меридианов.

Биопсийная игла соединялась со шприцом через силиконовую трубку, вводилась через витреоретинальный порт-проводник и под визуальным контролем проводилась через витреальную полость до поверхности опухоли (рисунок 5). Оптимальным местом пункции является зона наибольшей проминенции опухоли (ее вершина), в особенности при очагах малых размеров, – это обеспечивает минимальный риск сквозной перфорации склеры и упрощает манипуляции с иглой в витреальной полости. При выборе места пункции также необходимо учитывать расположение опухоли относительно макулярной зоны и ретинальных сосудов, а также необходимость детальной визуализации опухоли



в кратчайшие после ТИАБ сроки (например, при проведении комбинированного лечения с применением ТТТ) – в случае такой необходимости возможна пункция в склон опухоли, что при возникновении кровотечения позволяет сохранять достаточный уровень визуализации большей части поверхности опухоли.

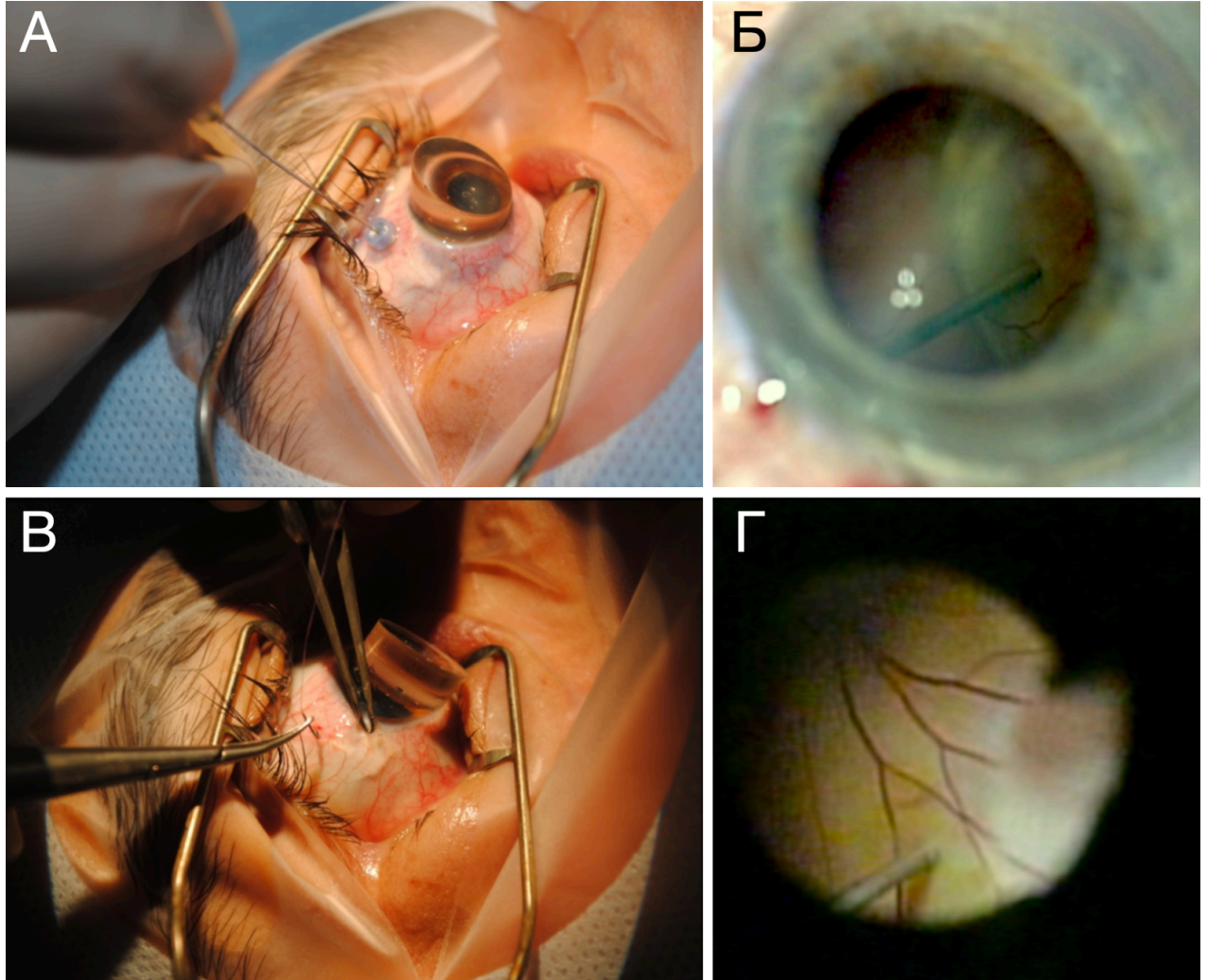


Рисунок 5 – Проведение трансквитреальной ТИАБ УМ: А – внешний вид при введении иглы в витреоретинальный порт, Б, Г – виды с операционного микроскопа во время пункции опухоли; В – наложение эписклерального шва на область склеротомии

Для полноценного погружения иглы в опухоль (в особенности при новообразованиях небольших размеров), а также с целью минимизации аспирации стекловидного тела и тракций сетчатки после выведения иглы из опухоли, погружение иглы в толщу опухоли необходимо проводить по принципу максимальной конгруэнтности (сопоставления наклонов среза иглы и

поверхности опухоли). С этой целью пункция опухоли проводилась модифицированными тонкостенными иглами с различными углами заточки (патент №2739130). Принцип выбора угла среза был основан на достижении максимальной конгруэнтности поверхностей режущей части иглы и склона поверхности опухоли при полном погружении рабочей части иглы в толщу новообразования, что определялось высотой его проминенции и размерами основания. При опухолях высотой проминенции менее 3 мм использовались иглы с углом заточки  $60^\circ$  (n=11), при проминенции опухоли 3-5 мм –  $45^\circ$  (n=53), при проминенции более 5 мм –  $30^\circ$  (n=83).

После пункции опухоли игла погружалась в ее толщу в соответствии с размерами очага. Оттягивание поршня осуществляло активную аспирацию опухолевой ткани. Одновременно с этим движением целесообразно проводить вращение иглы вокруг своей оси – это позволяет получить большее количество опухолевого материала в окружении биопсийного канала.

Введение иглы с аспирационной системой внутрь глаза сопровождается снижением давления в аспирационной системе с атмосферного до уровня, обеспечивающего баланс (гидростатическое равновесие) между ВГД и давлением внутри аспирационной системы. После пункции опухоли биопсийной иглой при оттягивании поршня шприца в системе возникает разность давлений с формированием зоны пониженного давления в аспирационной системе. В результате, за счет градиента давления происходит аспирация опухолевого содержимого в аспирационную систему.

Перед выведением иглы из толщи опухоли необходимо произвести пережатие силиконовой трубки аспирационной системы с помощью хирургического зажима. В случае невыполнения этой манипуляции возможны тракции сетчатки и аспирация стекловидного тела в полость иглы при ее выведении из опухоли при трансклереальном доступе и аспирации опухоли с ее экстрасклеральным распространением при трансклереальном доступе.

Важное значение имеет место пережатия трубки: целесообразно проводить его в максимально возможной близости к глазу и дистальному концу трубки

аспирационной системы, при этом не ограничивая движение руки хирурга, в которой находится игла (рисунок 6).

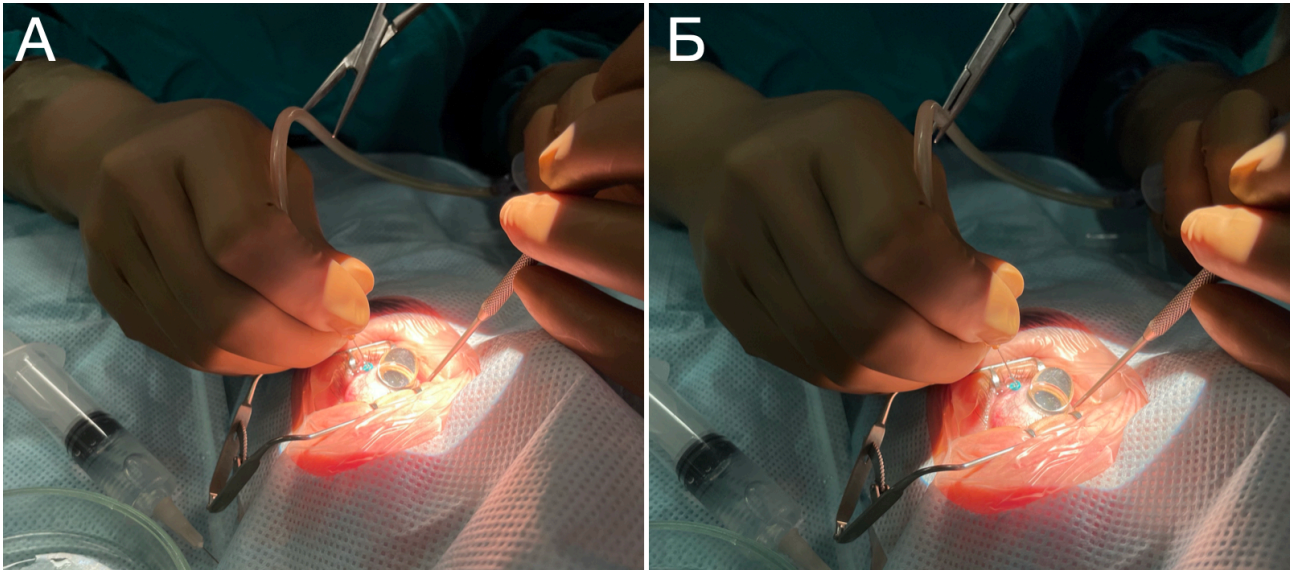


Рисунок 6 – Наложение зажима на силиконовую трубку: А – определение наиболее проксимальной локализации наложения зажима, Б – пережатие аспирационной системы

Теоретическое обоснование для определения места наложения зажима на аспирационную трубку определяется физическим законом гидродинамики течения жидкости в тонкой цилиндрической трубке (закон Пуазейля):

$$Q = \frac{\pi R^4}{8\eta l} (p_1 - p_2) = \frac{\pi d^4}{128\eta l} \Delta p,$$

где  $\Delta p$  – перепад давления на концах трубки, Па;  $Q$  – объемный расход жидкости, м<sup>3</sup>/с;  $R$  – радиус трубки, м;  $d$  – диаметр трубки, м;  $\eta$  – коэффициент динамической вязкости, Па·с;  $l$  – длина трубки, м. Из уравнения следует, что перепад давления на концах трубки аспирационной системы прямо пропорционален ее длине: чем меньше длина, т.е. чем ближе к глазу и дистальному концу трубки накладывается зажим, тем меньше будет перепад давления. С практической точки зрения также было отмечено, что при пережатии трубки аспирационной системы у ее проксимального конца возможно

индуцирование высокой отслойки сетчатки вслед за ходом иглы в витреальной полости.

Содержимое аспирационной системы при надавливании на поршень шприца выводилось в заранее подготовленную микроцентрифужную пробирку типа Eppendorf с консервационным раствором. Для более тщательного сбора опухолевого материала производилось трехкратное «продувание» трубки и иглы путем отсоединения трубки от шприца, оттягивания поршня, повторной сборки системы и надавливания на поршень.

При подозрении на неинформативность полученного материала интраоперационно возможно проведение повторной биопсии. В этом случае выбор оптимального места для повторной пункции определяется теми же принципами, что и для первичной. Повторная биопсия является технически более сложной в сравнении с первой пункцией, поскольку выраженное кровоизлияние может затруднить визуализацию опухоли. Для получения макроскопически достаточного количества материала требовались одна (88%), две (11%) или три (1%) попытки.

Технически возможным является 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. Таким образом кровь из сосудов опухоли ограничивается субретинальным пространством и не выходит в полость стекловидного тела.

В завершение процедуры витреоретинальные порты извлекались с наложением узловых швов на зону склеротомии. Полученный материал помещался в микроцентрифужные пробирки (Eppendorf) с консервантом для последующего анализа.

### **Трансклеральная ТИАБ**

Трансклеральная ТИАБ проводилась в 9 случаях (6%), всегда комбинированно с первым этапом брахитерапии (при подшивании офтальмоапликатора), поскольку склеротомия в области проекции опухоли



требует облучения этой зоны ввиду высокого риска экстрабульбарного распространения УМ.

Иглы калибром 25G были использованы в 3 случаях, 27G – в 4 случаях и 30G – в 2 случаях. В 8 из 9 случаев макроскопически достаточное количество материала было получено с первой попытки, в одном случае – после двух попыток.

Первым этапом проводилась отсепаровка конъюнктивы и теноновой оболочки в проекции зоны опухоли. Эта зона выводилась в операционное поле при помощи прямых мышц, взятых на лигатурные швы. Границы опухоли визуализировались и маркировались при помощи диафаноскопии. С помощью офтальмологического лезвия формировался склеральный лоскут в форме равнобедренного треугольника с длинной стороны 2-3 мм на толщину 2/3 склеры. Пункция опухоли осуществлялась в этой зоне при помощи иглы и аспирационной системы, аналогичной таковой при трансквитреальной ТИАБ. Перед извлечением иглы из толщи опухоли также проводилось пережатие силиконовой трубки с помощью хирургического зажима во избежание аспирации опухолевого содержимого за пределы склеры. Склеральный лоскут ушивался узловым швом и в последующем полностью накрывался офтальмоапликатором, фиксированным с помощью двух узловых эписклеральных швов (рисунок 7).

Учитывая сферическую конфигурацию глаза, два эписклеральных шва обеспечивают плотную фиксацию офтальмоапликатора к склере только в его проксимальной части (вблизи швов), в то время как дистальный отдел офтальмоапликатора (обращенный к заднему полюсу глаза), особенно при использовании аппликаторов малых диаметров, может отклоняться от поверхности склеры, приводя к неравномерному распределению дозы и, как следствие, неполному облучению опухоли и склерального канала ТИАБ за счет отсутствия плотного прилегания (рисунок 8).

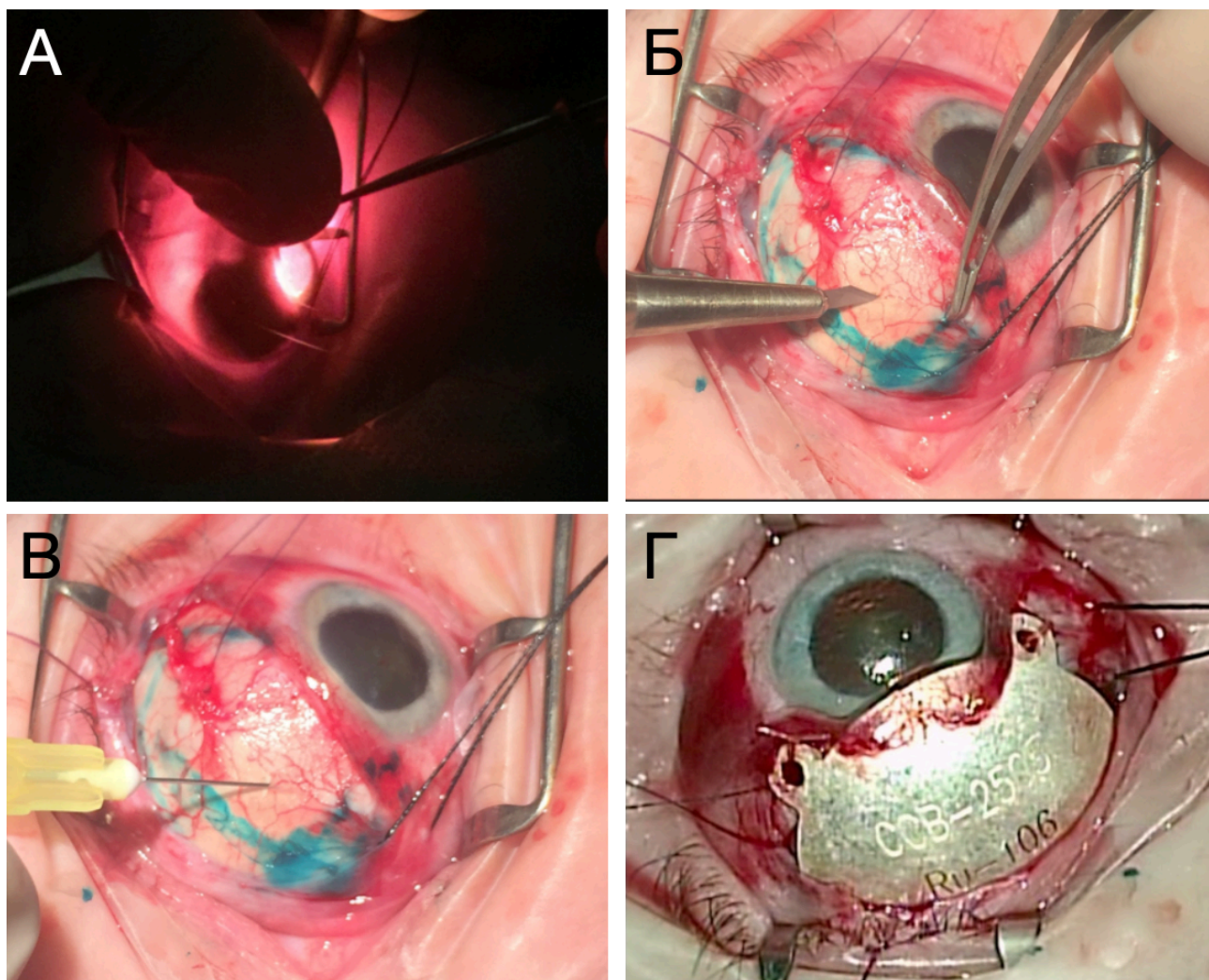


Рисунок 7 – Проведение транссклеральной ТИАБ УМ: А – диафаноскопия новообразования, Б – формирование склерального лоскута, В – пункция в проекции опухоли, Г – фиксация офтальмоаппликатора

Для решения этой проблемы использовался альтернативный способ фиксации офтальмоаппликатора при проведении БТ – после стандартного наложения двух эписклеральных швов отдельным этапом вне операционного поля прошивали непрерывным швом инертный материал цилиндрической формы (эписклеральная пломба, донорская склера) диаметром 3-5 мм и длиной, равной диаметру офтальмоаппликатора, оставляя свободными концы нити (заявка на изобретение № 2023103912). Прошитый инертный материал помещали между офтальмоаппликатором и теноновой капсулой по центру офтальмоаппликатора, параллельно условной линии, соединяющей фиксирующие элементы. Под контролем ультразвукового В-сканирования оценивалась степень прилегания офтальмоаппликатора к склере – в случае его

плотного прилегания операцию заканчивали ушиванием конъюнктивы обвивным непрерывным швом; в случае выявления отклонения офтальмоаппликатора от поверхности склеры, прошитый материал продвигали дистальнее к заднему полюсу глаза до достижения плотного прилегания офтальмоаппликатора и склеры.

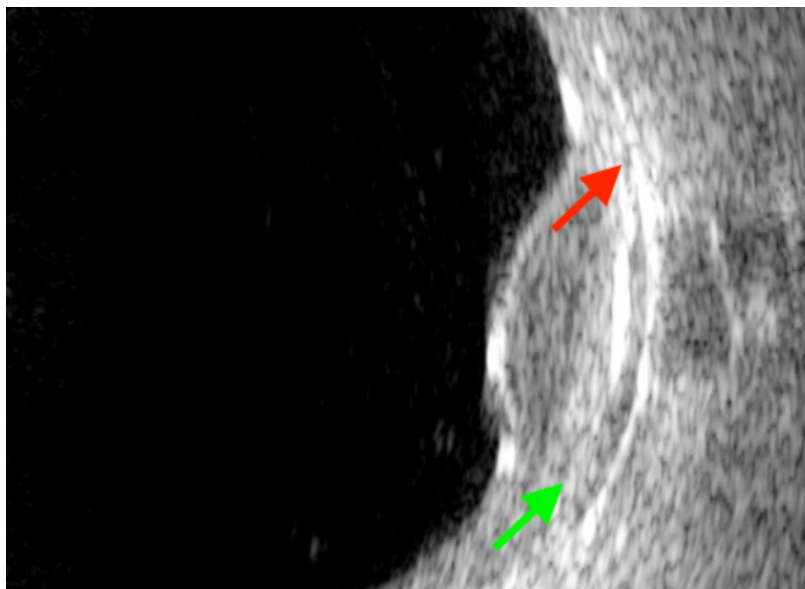


Рисунок 8 – Прилежание офтальмоаппликатора к склере в проксимальной (красная стрелка) и дистальной (зеленая стрелка) частях по данным В-сканирования

### **Транскорнеальная ТИАБ**

Транскорнеальная ТИАБ проводилась при УМ передних локализаций (меланома цилиарного тела и/или меланома радужки), полностью или частично визуализирующихся в передней камере (n=3, пациенты, у которых применялся данный хирургический доступ, не были включены в основную группу исследования). В качестве доступа использовался роговичный парацентез 1 мм с учетом локализации новообразования и удобства введения инструментов. Вискоэластик вводился в паратуморальную зону передней камеры для поддержания ее объема и тампонирования зоны предполагаемой пункции. Биопсийная игла, соединенная со шприцом через резиновую аспирационную трубку, вводилась через роговичный разрез и затем в новообразованную ткань. В одном случае проводилась пункция опухоли с локализацией в цилиарном теле:

при этом прокол проводился под прямым углом к плоскости радужки, игла проводилась через роговицу, корень радужки и вводилась непосредственно в новообразование цилиарного тела. Получение биопсийного материала осуществлялось путем активной аспирации с помощью шприца. В дальнейшем проводилось вымывание вискоэластика из передней камеры путем ирригации раствором BSS. На роговичный разрез накладывался шов (нейлон 10-0). Этапы использования транскорнеального доступа ТИАБ представлены на рисунке 9.

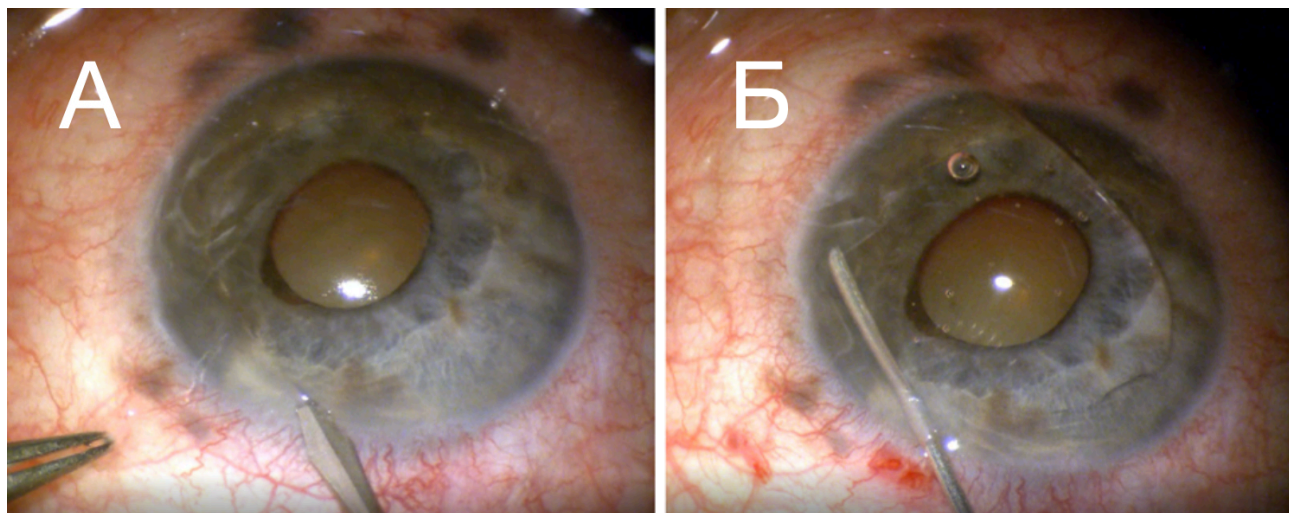


Рисунок 9 – Транскорнеальная ТИАБ: А – формирование парацентеза, Б – аспирация новообразования радужки

### **ТИАБ в комбинации с различными видами органосохраняющего лечения**

Стандартная хирургическая техника БТ предполагала подшивание офтальмоаппликатора с его последующим снятием в условиях операционной – проведение трансклериальной ТИАБ возможно в обоих случаях, однако и при том, и при другом этапе имеет ряд особенностей. Проведение трансклериальной ТИАБ возможно только на этапе подшивания офтальмоаппликатора.

ТИАБ при подшивании офтальмоаппликатора проводилась непосредственно после обработки операционного поля. Преимущества такого подхода заключаются в проведении манипуляций на «спокойном» глазу с конъюнктивой без гиперемии и без вторичных экссудативных реакций опухоли в ответ на проводимое лечение, а также экспозиция внутриопухолевого биопсийного канала ионизирующим излучением бета-аппликатора.



При необходимости проведения комбинированного лечения БТ с ТТТ выполнение ТИАБ при подшивании офтальмоаппликатора может осложниться интравитреальным или субретинальным кровоизлиянием, затрудняющим визуализацию опухоли для проведения последующей ТТТ. С целью профилактики этого осложнения в качестве выбора места вкола целесообразно рассмотреть периферическую зону опухоли (склон) – кровоизлияние такой локализации в меньшей степени затруднит последующее проведение ТТТ (рисунок 10).

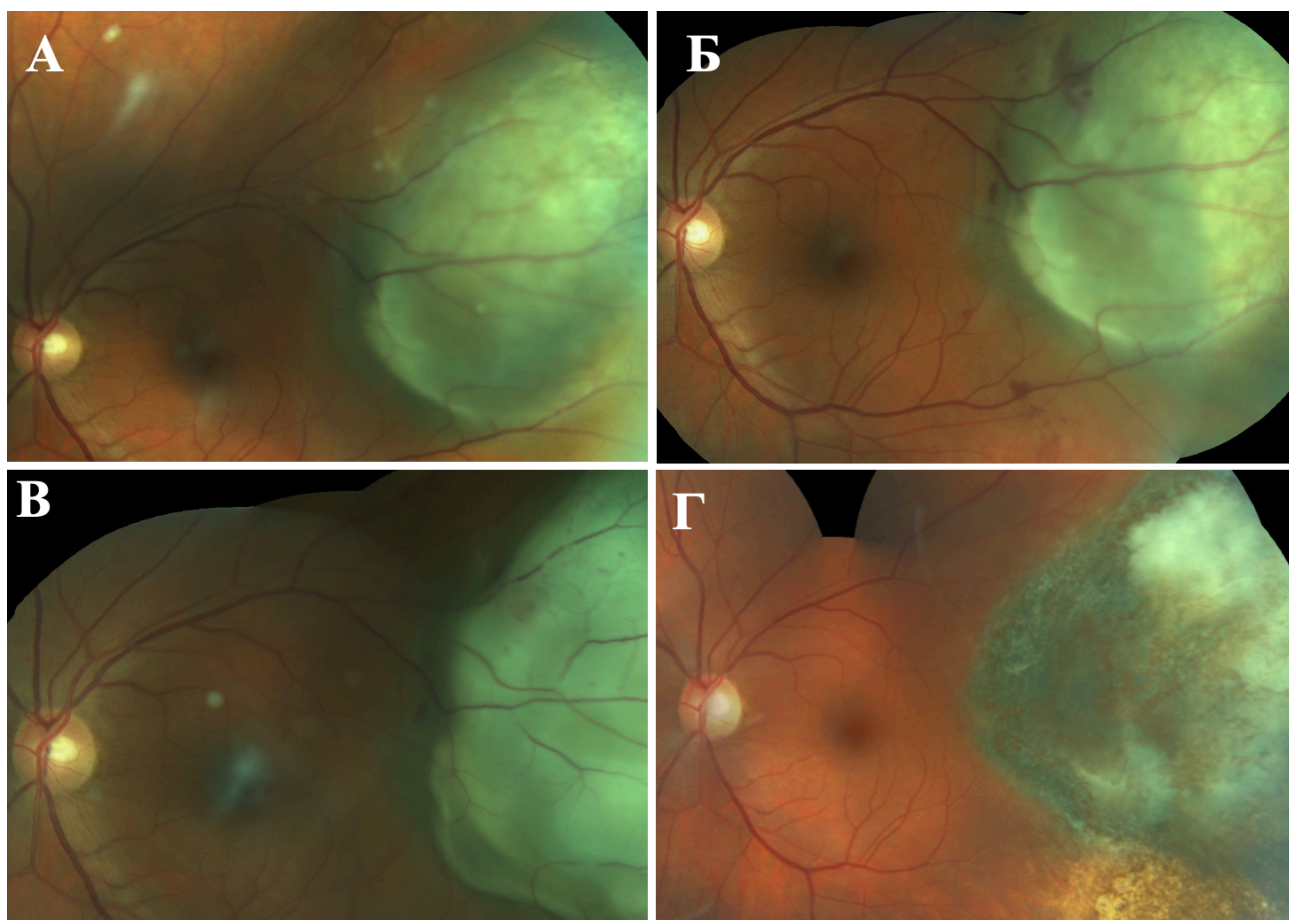


Рисунок 10 – Картина глазного дна: А – до лечения,

Б – после подшивания офтальмоаппликатора и ТИАБ,

В – после ТИАБ с последующей ТТТ, Г – через 21 мес после лечения

*Примечание: визуализируется минимальное претуморальное кровоизлияние в верхневнутренней части очага*

Однако в случае выраженного кровоизлияния проведение ТТТ может стать невозможным, в связи с чем при необходимости комбинированного лечения БТ

и ТТТ ТИАБ проводилась при снятии офтальмоаппликатора. Примеры выраженных кровоизлияний, затрудняющих визуализацию опухоли и, как следствие, проведение ТТТ (рисунок 11).

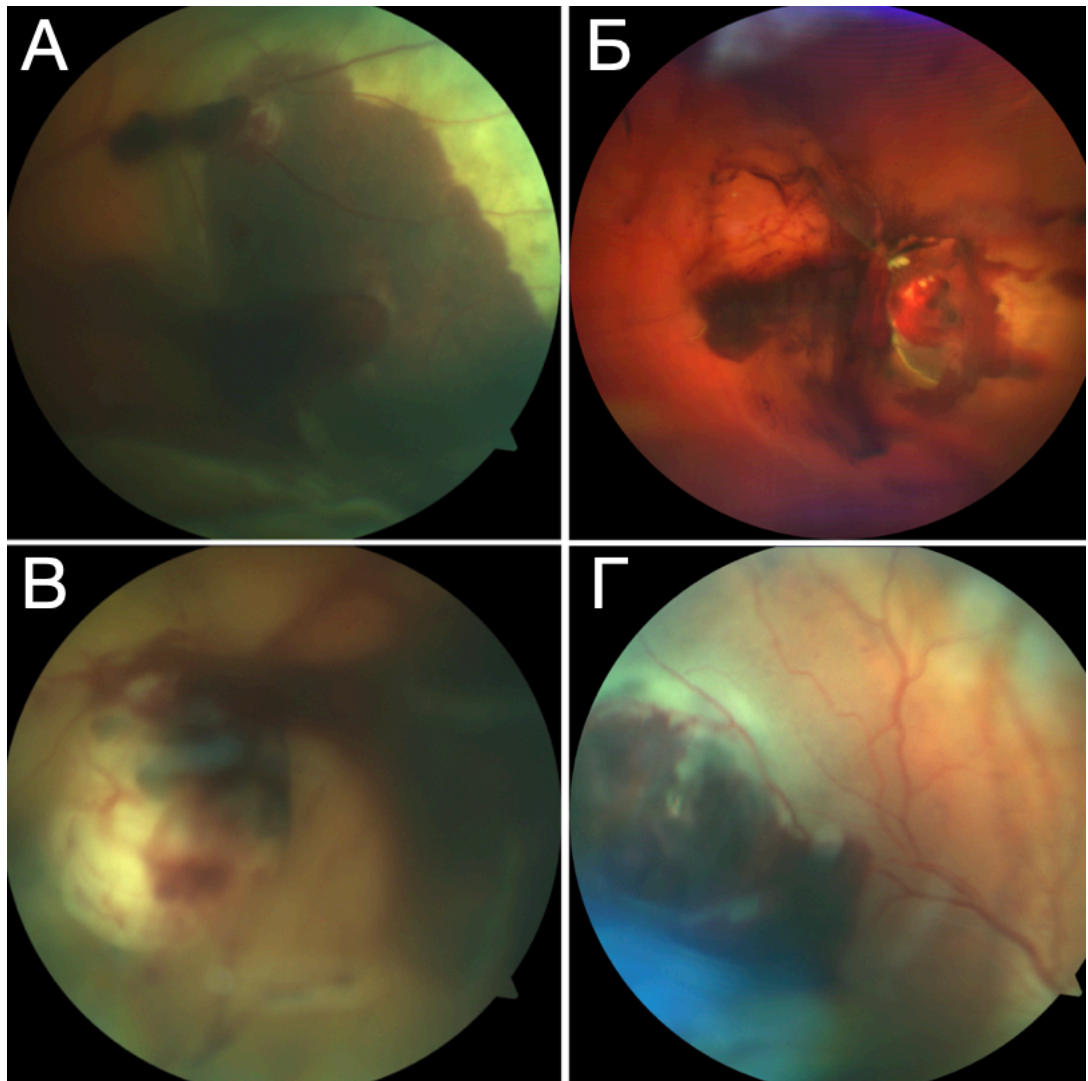


Рисунок 11 – Картина глазного дна с кровоизлияниями, затрудняющими визуализацию для проведения ТТТ в рамках комбинированного лечения:

А, Б – суб- и преретинальное,

В – преимущественно преретинальное,

Г – преимущественно субретинальное

ТИАБ при снятии офтальмоаппликатора проводилась в качестве завершающего этапа операции непосредственно после удаления офтальмоаппликатора и ушивания конъюнктивы. В ряде случаев БТ может приводить к выраженной острой асептической воспалительной реакции, которая может проявляться в виде гиперемии конъюнктивы, хемоза, повышенной

кровооточивости, экссудативной отслойки сетчатки или сосудистой оболочки. Эти процессы способны технически затруднить проведение ТИАБ.

В 10% случаев (n=15) ТИАБ выполнялась после проведения СТРХ «Гамма-Нож» (выполнялась на базе Центра радиохирургии «Гамма-Нож» в НМИЦ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко Минздрава РФ) в ближайшие сроки после первичного лечения (в течение недели). Во всех случаях СТРХ «Гамма-Нож» применялся в качестве альтернативы энуклеации и как первый метод лечения по ранее описанной технологии [17]. При использовании СТРХ постлучевая воспалительная реакция может проявляться в виде изменений на глазном дне (увеличение экссудативной отслойки сетчатки), что может технически усложнять процедуру биопсии, однако обычно такие реакции носят отсроченный характер (несколько месяцев), поэтому в целом хирургическая техника ТИАБ УМ в ближайшие сроки после СТРХ «Гамма-Нож» не имеет особенностей, отличных от проведения ТИАБ в комбинации с БТ.

### **3.2 ТИАБ субретинальной жидкости**

Эксперимент по проведению ТИАБ субретинальной жидкости (СРЖ) проводился на 28 энуклеированных глазах. В рамках эксперимента разрабатывалась хирургическая методика получения СРЖ и необходимый инструментарий, а также оценивался ее потенциал с точки зрения информативности материала.

Средняя высота проминенции опухоли в энуклеированных глазах по данным В-сканирования составила 9,6 мм (min 3,1 мм, max 14,8 мм), средний размер основания по наибольшему значению – 15,1 мм (min 10,1 мм, max 20,3 мм), средняя высота отслойки сетчатки – 5,4 мм (min 1,5 мм, max 12,6 мм).

Хирургическая техника ТИАБ СРЖ имеет ряд особенностей, отличающих ее от ТИАБ опухолевого очага. В первую очередь они обусловлены различием в плотности субретинального содержимого и собственно ткани опухоли. При попытке введения инструмента (иглы, соединенной с аспирационной системой) в зону экссудативной отслойки сетчатки ее пункция представляется невозможной ввиду слабого обратного механического сопротивления со

стороны субретинального содержимого. С целью создания ретинального дефекта, через который впоследствии возможна аспирация СРЖ, сетчатка надсекалась с помощью эндовитреальных ножниц (Grieshaber Revolution 25+ DSP Curved Scissors 705.52, Alcon) с последующим введением биопсийной иглы в зону СРЖ (рисунок 12А). Наиболее щадящим, но также технически трудноосуществимым является введение иглы в паратуморальную зону, где отслойка сетчатки распространяется по склонам новообразования сосудистой оболочки (рисунок 12Б).

Описание этой техники легло в основу нового способа получения биопсийного материала при внутриглазных образованиях (заявка на изобретение №2023103910).

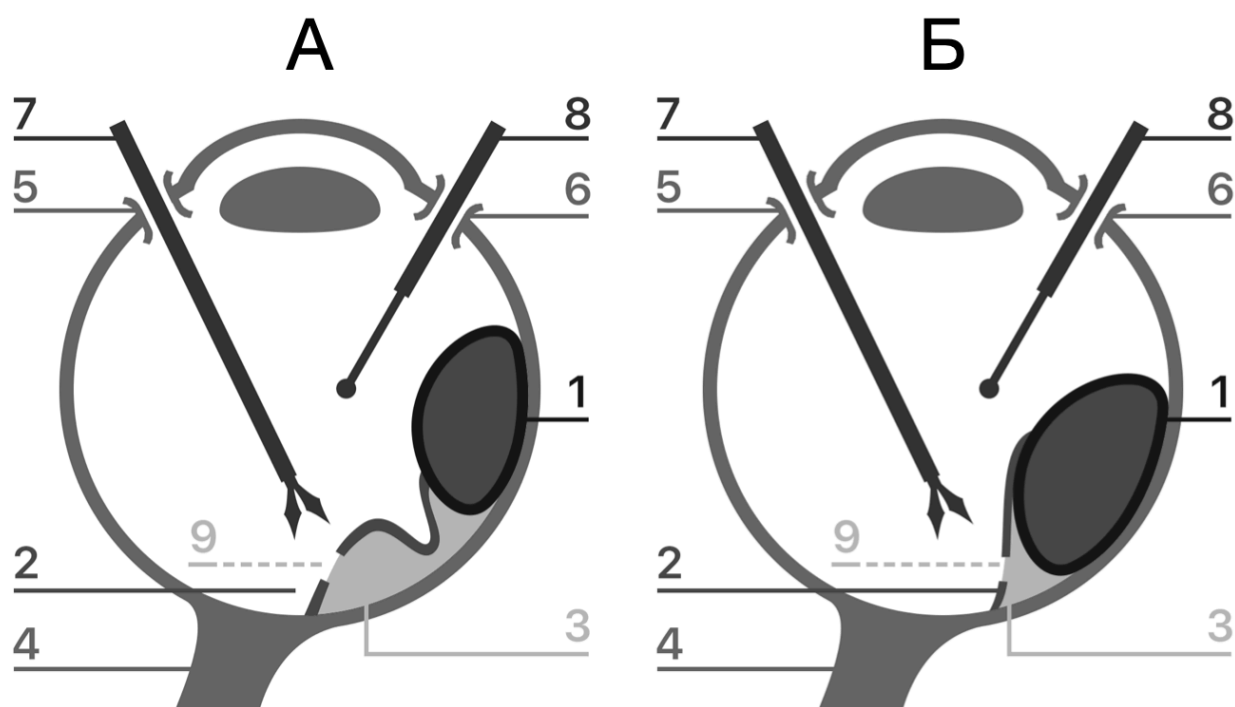


Рисунок 12 – Способ получения субретинальной жидкости с помощью эндовитреальных ножниц: А – в зоне отслойки сетчатки, распространяющейся на диск зрительного нерва, Б – в зоне отслойки сетчатки на склоне опухоли

*Примечание: 1 – внутриглазное образование, 2 – отслойка сетчатки, 3 – субретинальная жидкость, 4 – ДЗН, 5 – витреоретинальный порт для введения эндовитреальных ножниц и биопсийной иглы, 6 – витреоретинальный порт для*



введения эндоосветителя, 7 – эндovitреальные ножницы, 8 – эндоосветитель, 9 – ретиномическое отверстие

Определение мутаций в генах *GNAQ* и *GNAI1*, «драйверных» и наиболее распространенных мутаций УМ, проводилось методом супер-АС-ПЦР-РВ. Также оценивалась концентрация ДНК в образцах ТИАБ СРЖ, ТИАБ опухолевого очага и по гистологическому материалу с парафинового блока. ДНК выделяли с помощью набора реагентов ExtractDNA FFPE (ЗАО «Евроген», Москва, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Материал ТИАБ СРЖ оценивался во всех 28 образцах (100%), материал ТИАБ опухолевого очага в 23 образцах (82%), гистологический материал парафиновых блоков в 9 образцах (32%). Результаты представлены в таблице 1.

В рамках проведенного эксперимента информативность ТИАБ СРЖ составила 32% (9 информативных образцов), ТИАБ опухолевого очага 91% (21 информативный образец), гистологического материала – 100% (9 информативных образцов).

Средняя концентрация ДНК в образцах ТИАБ СРЖ составила 1,15 нг/мл, ТИАБ опухоли – 20,67 нг/мл, в гистологическом материале – 106,8 нг/мл. Примечательно, что в 43% случаев (n=10) концентрация ДНК в материале ТИАБ СРЖ была выше, чем в материале ТИАБ опухоли, что, однако, не влияло на итоговую информативность материала. Уровень концентрации ДНК в материале ТИАБ СРЖ был ожидаемо и статистически значимо ниже в сравнении с образцами гистологического материала ( $p < 0,01$ , критерий Уилкоксона), однако при сравнении с концентрацией ДНК в материале ТИАБ опухолевого очага разница не была статистически значимой ( $p = 0,27$ , критерий Уилкоксона).

Таблица 1 – Информативность и концентрация ДНК в образцах

#	ТИАБ СРЖ			ТИАБ опухоли			Гистологический материал		
	<i>GNAQ</i>	<i>GNAI1</i>	<i>C</i>	<i>GNAQ</i>	<i>GNAI1</i>	<i>C</i>	<i>GNAQ</i>	<i>GNAI1</i>	<i>C</i>
1	-	-	0,3	+	-	9	+	-	36
2	+	-	0,66	+	-	55,8	+	-	164

3	-	-	4,3	-	+	2,5	-	+	137
4	+	-	0,021	+	-	0,054	+	-	212
5	-	-	0,108	+	-	0,012	+	-	55
6	-	-	0,3	+	-	1,17	+	-	58
7	-	-	11,61	-	+	0,09	/	/	/
8	-	-	0,159	-	+	1,8	/	/	/
9	-	-	0,072	-	-	1,05	/	/	/
10	+	-	0,033	+	-	348	/	/	/
11	-	+	2,25	-	+	1,71	/	/	/
12	-	-	1,2	-	-	0,18	/	/	/
13	-	-	0,18	+	-	0,27	/	/	/
14	-	-	0,06	-	+	39,9	/	/	/
15	-	-	0,15	+	-	0,12	/	/	/
16	+	-	3,9	+	-	1,71	/	/	/
17	-	+	2,31	-	+	7,2	/	/	/
18	-	-	0,42	+	-	0,18	/	/	/
19	-	-	0,78	-	+	1,98	/	/	/
20	+	-	0,51	+	-	0,48	/	/	/
21	+	-	0,6	+	-	0,3	/	/	/
22	-	-	0,15	-	+	0,15	/	/	/
23	+	-	1,35	+	-	1,8	/	/	/
24	-	-	0,36	/	/	/	-	+	72
25	-	-	0,01	/	/	/	+	-	68
26	-	-	0,18	/	/	/	+	-	159
27	-	-	0,18	/	/	/	/	/	/
28	-	-	0,09	/	/	/	/	/	/

*Примечание: «+» – мутация обнаружена, «-» – мутация не обнаружена, «/» – исследование не проводилось; С – концентрация ДНК в образце, нг/мкл*

В одном случае при подозрении на субретинальную диссеминацию опухолевых клеток по клиническим данным (офтальмоскопическая картина, данные ОКТ) была проведена ТИАБ как опухолевого очага, так и зоны отслойки сетчатки с СРЖ, подозрительной по содержанию на опухолевые клетки (рисунок 13). ТИАБ опухолевого очага проводилась по стандартной технике, ТИАБ СРЖ

– через предварительно сформированную с помощью эндовитреальных ножниц насечку в сетчатке в зоне обширной экссудативной отслойки.

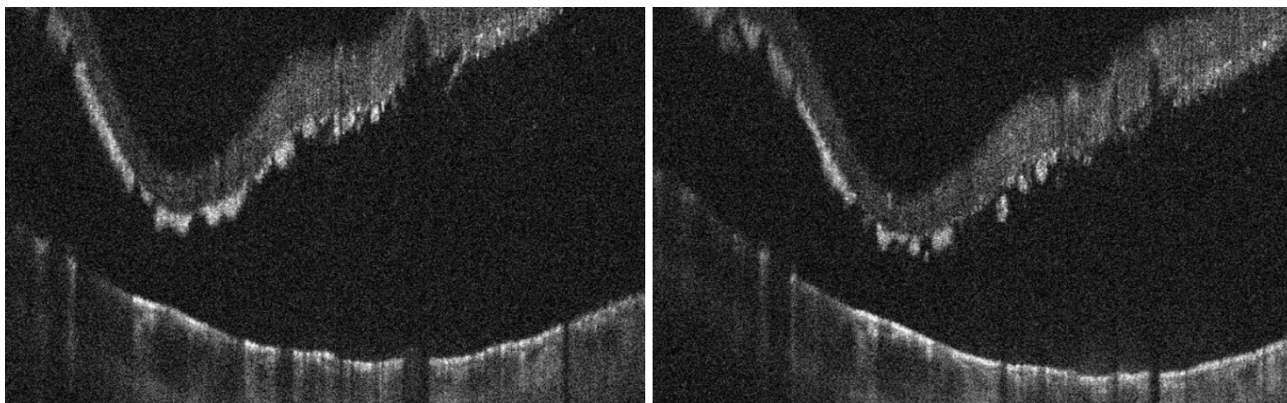


Рисунок 13 – ОКТ зоны отслойки сетчатки и предполагаемых субретинальных опухолевых клеток

Данный пациент не входил в ретроспективно-проспективную группу исследования. Согласно полученным результатам цитологического исследования, в материале СРЖ обнаружено 10% веретенообразных клеток с пигментированной цитоплазмой, а материал, полученный из опухолевого очага, цитологически оказался неинформативен.

### 3.3 Периоперационное ведение пациентов с ТИАБ

#### *Предоперационное медикаментозное сопровождение*

В качестве предоперационного медикаментозного сопровождения использовались мидриатики (тропикамид 0,8% + фенилэфрин 5%) и антибиотики (ципрофлоксацин 0,3% или левофлоксацин 0,5%) в виде инстилляций в конъюнктивальную полость.

#### *Анестезиологическое пособие*

Всем пациентам с ТИАБ проводилась премедикация, акинезия и локальная анестезия. В качестве премедикации выполнялось внутривенное введение раствора диазепама 0,5% с анксиолитической целью, раствора хлоропирамина 2% для достижения противовоспалительного, противоаллергического и седативного эффектов, а также раствора атропина 0,1% с целью профилактики брадикардии при последующих инъекциях анестетиков. Акинезия проводилась по методу Ван Линта с введением 1 мл 2% раствора лидокаина, локальная

анестезия – в виде ретробульбарной инъекции 3 мл раствора анестетиков (1 мл 10% раствора лидокаина и 2 мл 1% раствора ропивакаина). Аппликационную анестезию в виде инстилляции в конъюнктивальную полость 0,5% раствора проксиметакаина гидрохлорида проводят непосредственно перед манипуляцией после обработки операционного поля.

#### *Послеоперационное медикаментозное сопровождение*

В качестве послеоперационного медикаментозного сопровождения использовались антибиотики (ципрофлоксацин 0,3% или левофлоксацин 0,5%), мидриатики (тропикамид 0,8% + фенилэфрин 5% в капельной форме, фелинэфрин 1% или атропин 0,1% для субконъюнктивального введения), нестероидные противовоспалительные средства (диклофенак 0,1% или бромфенак 0,09% в капельной форме или кеторолак 3% раствор для в/в и в/м введения), стероидные средства (дексаметазон 0,1% в капельной форме или 0,4% для субконъюнктивального, в/в и в/м введения, триамцинолон 4% или бетаметазон 0,7% для парабульбарного введения).

Таким образом, оптимизированный хирургический этап ТИАБ подразумевает использование различных хирургических доступов в зависимости от локализации опухоли (трансивитреальный, транссклеральный и реже транскорнеальный) и соответствующего инструментария, позволяет проводить трансивитреальную биопсию в том числе УМ, локализующихся на крайней периферии глазного дна и при низком уровне визуализации, а также при различных видах органосохраняющего лечения (БТ, СТРХ, БТ+ТТТ). Исходя из закона Хагена-Пуазейля была обоснована оптимальная зона проксимального наложения хирургического зажима на аспирационную трубку при аспирации опухоли, предложен способ эписклеральной фиксации офтальмоаппликатора инертным материалом для равномерного облучения опухоли и биопсийного канала, а также способ ограничения кровоизлияния субретинальным пространством. Разработанная хирургическая техника получения СРЖ с использованием эндовитреальных инструментов (пинцета, ножниц) позволила получить необходимое количество материала в 32% случаев, при этом была

впервые показана возможность идентификации специфических для УМ мутаций (GNAQ, GNA11) в СРЖ. Описанный цельный клинический алгоритм ведения пациентов с ТИАБ в до- и послеоперационном периоде включает рекомендации, особенности медикаментозного сопровождения и анестезиологического пособия.

## **ГЛАВА 4. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ**

Целью этой главы стал анализ результатов морфологических и молекулярно-генетических исследований материала, полученного при помощи ТИАБ.

Для достижения поставленной цели потребовалась оценка информативности материала, полученного в результате ТИАБ и факторов, влияющих на информативность, а также частоты встречаемости и одновременной встречаемости цитологических (клеточный тип опухоли) и мутационных (мутации в генах GNAQ, GNA11, EIF1AX, SF3B1, делеция гена PPARG, амплификация гена MYC) нарушений с определением их связи с выживаемостью у пациентов с УМ.

### **4.1 Информативность материала ТИАБ**

Пробирка с материалом опухоли доставлялась в молекулярно-генетическую лабораторию (ООО «Эйджин», Москва, РФ, руководитель Зарецкий Андрей Ростиславович).

Количество полученного материала в пробирке макроскопически оценивалось интраоперационно под контролем микроскопа с большим увеличением (рисунок 14).

Материал оценивался по категориям «большое» (многочисленные и/или крупные опухолевые элементы, без труда визуализирующиеся в жидкости), «среднее» (отдельные опухолевые элементы или единичный крупный фрагмент) и «малое» (единичные опухолевые элементы, с трудом визуализирующиеся в жидкости, или при невозможности визуализации опухолевого материала с помощью операционного микроскопа).



Рисунок 14 – Визуальная оценка полученного после ТИАБ материала под контролем операционного микроскопа

Вне зависимости от техники выполнения ТИАБ, макроскопически количество материала могло значительно варьировать – от минимального до выраженного, что, вероятно, можно объяснить различным составом и взаимоотношением стромального и паренхиматозного компонентов. Визуально большой объем полученного материала зачастую был обусловлен наличием геморрагического компонента (рисунок 15).

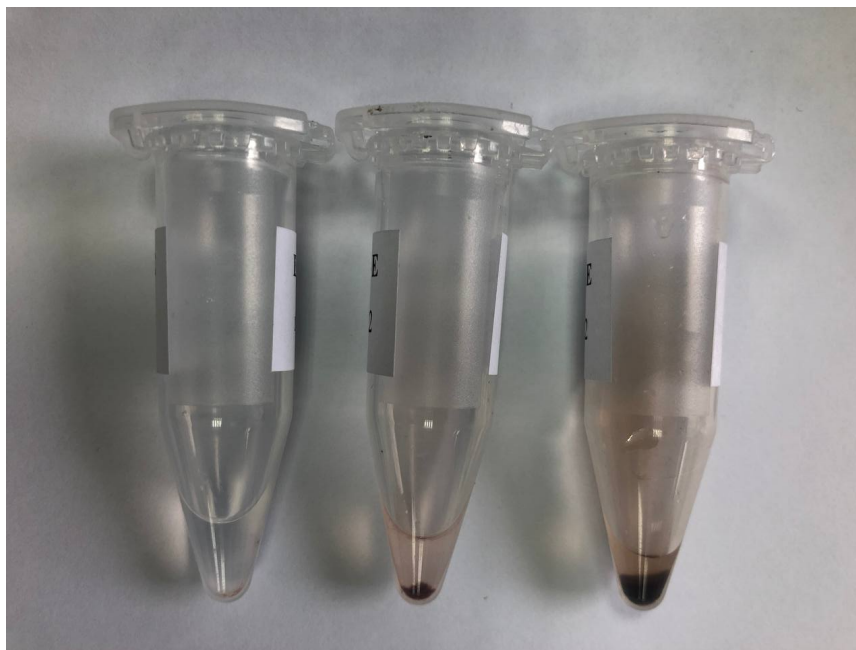


Рисунок 15 – Микроцентрифужные пробирки (эппендорфы) с различным количеством биоптата (материал справа преимущественно представлен геморрагическим содержимым)

По данным макроскопической оценки, в 63% случаях отмечалось «большое» количество материала, в 17% случаях «среднее» и в 20% – «малое»; при микроскопической оценке клеточности препаратов по категориям «высокая», «средняя» и «низкая или отсутствие» эти результаты представляли 41%, 22% и 37% случаев.

Статистический анализ соответствия между микро- и макроскопическими картинками по критерию  $\chi^2$  продемонстрировал статистически значимые отличия ( $p < 0,01$ ) по встречаемости низкой / средней или высокой клеточности препаратов в пробирках с макроскопически малым, средним и большим количеством материала (таблица 2). Полученный результат указывает на высокий уровень соответствия между макро- и микроскопической оценками материала: при получении макроскопически «среднего» или «малого» количества материала, вероятность оценки его клеточности при последующей микроскопической оценке как «высокой» крайне мала.



Таблица 2 – Соответствие между микро- и макроскопической оценкой материала

$p < 0,0001$		Уровень клеточности при микроскопической оценке	
		Низкий / средний	Высокий
Макрооценка количества материала	«Большое»	24	39
	«Среднее»	16	1
	«Малое»	17	0

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, что, однако, не исключало клинически установленный диагноз УМ.

Достаточное количество материала для цитологического исследования (т.е. возможность визуализации даже единичных разрозненных клеток с формированием заключения об их принадлежности к опухоли) отмечалось в 81% случаев, для проведения молекулярно-генетического исследования (т.е. обнаружение по меньшей мере одной специфичной для УМ мутации в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX*, *SF3B1*, делеции гена *PPARG* или амплификации *MYC*) – в 91% случаев.

Информативность материала зависела от размеров опухоли ( $p < 0,01$  по критерию  $\chi^2$ ), зависимость представлена на рисунке 16. 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%). Самые низкие показатели информативности ожидаемо наблюдались у образований до 3 мм.

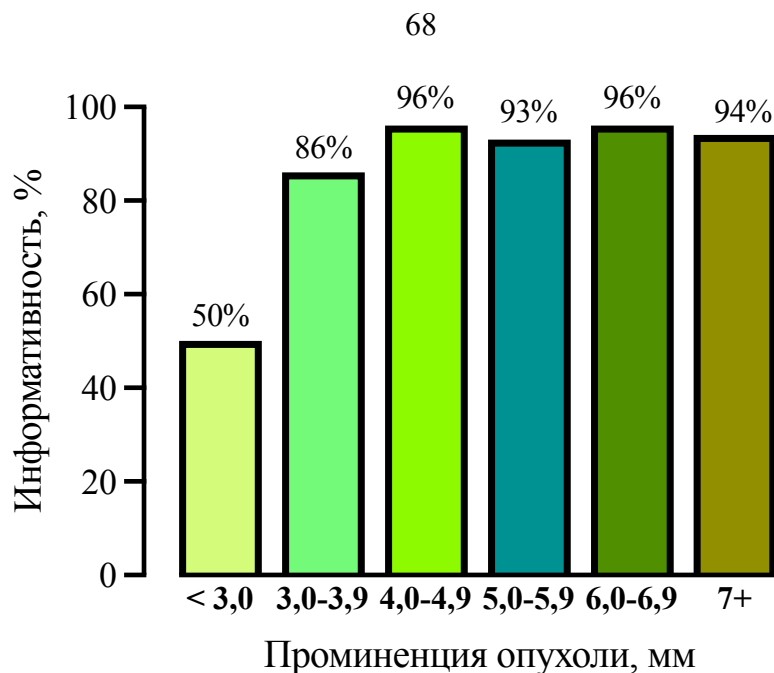


Рисунок 16 – Информативность материала ТИАБ в зависимости от проминенции опухоли

Информативность в зависимости от количества попыток получения материала составила: 93% при одной попытке, 80% при двух попытках и 67% при трех попытках; в зависимости от количества попыток информативность статистически значимо уменьшалась ( $p=0,03$  по критерию  $\chi^2$ ).

#### 4.2 Частота встречаемости морфологических и генетических прогностических факторов

Анализ мутаций методом высокочувствительной мутационно-специфической ПЦР-РВ на *GNAQ* и *GNA11* проводился 151 пациентом, *EIF1AX* и *SF3B1* – 144 и 142 пациентам, соответственно; количество копий генов *PPARG* и *MYC* оценивались у 121 и 122 пациентов, соответственно. Тесты на делецию гена *PPARG* использовали для оценки статуса короткого плеча хромосомы 3, тест на амплификацию гена *MYC* – для оценки статуса длинного плеча хромосомы 8 методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Также проводился цитологический анализ, по результатам которого определялся клеточный тип опухоли по классическому (веретенноклеточная, смешанноклеточная или эпителиоидноклеточная УМ) и бинарному (присутствие или отсутствие эпителиоидных клеток) принципам.

Встречаемость мутаций в информативных образцах составила 44% для гена *GNAQ* (n=61), 43% для гена *GNAI1* (n=59), 18% для гена *EIF1AX* (n=25) и 18% для гена *SF3B1* (n=25). В информативных образцах, в которых проводился соответствующий анализ на делецию гена *PPARG* и амплификацию гена *MYC*, встречаемость этих молекулярных нарушений составила 31% (n=36) и 54% (n=64), соответственно. Результаты оценки встречаемости молекулярно-генетических нарушений представлены на рисунке 17.

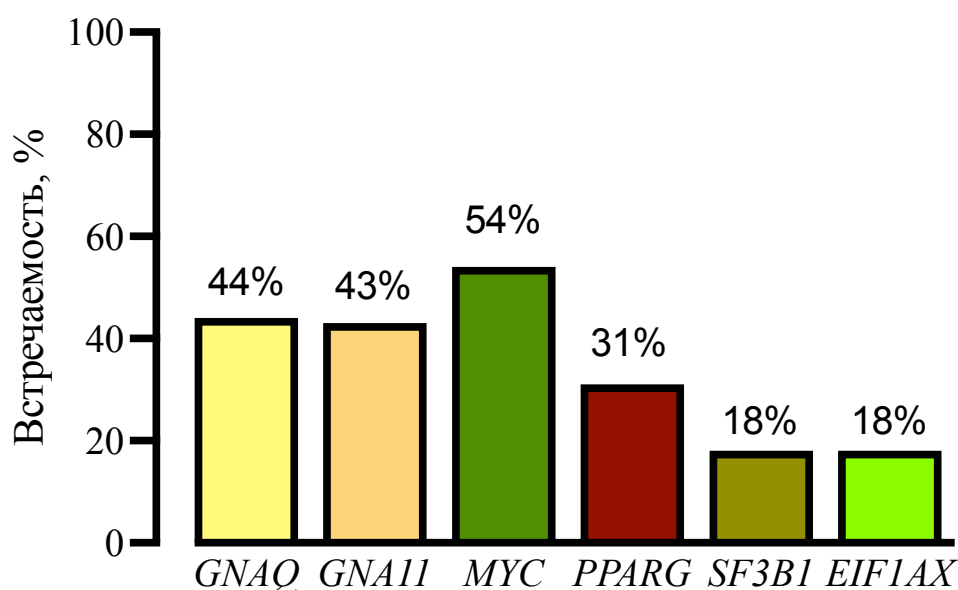


Рисунок 17 – Встречаемость молекулярно-генетических нарушений в информативных образцах

«Драйверные» мутации (в генах *GNAQ* или *GNAI1*) были обнаружены в 78% информативных образцов (n=108); в большинстве случаев они оказывались взаимоисключающими (в 5 случаях отмечались обе мутации). Результаты попарного анализа взаимовстречаемости молекулярных нарушений в информативных образцах УМ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Взаимовстречаемость молекулярных нарушений

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

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

Попарный анализ встречаемости молекулярных нарушений в исследованных образцах продемонстрировал статистически высокосignимые различия ( $p < 0,01$ ) при сравнении групп с мутациями в генах *GNAQ* и *GNA11*. Умеренные статистически значимые различия были обнаружены при сравнении образцов с мутацией *EIF1AX* с образцами с мутациями *GNAQ*, *SF3B1* и *PPARG* (показатель  $p$  составил 0,047, 0,03 и 0,03, соответственно), а также при сравнении образцов с мутациями *PPARG* и *MYC* ( $p = 0,02$ ). Анализ попарной встречаемости с мутацией *EIF1AX* показал целый ряд статистически значимых различий: они отмечались при сравнении с мутациями *GNAQ*, *EIF1AX* и *SF3B1*. В то же время сравнение образцов с мутациями *EIF1AX*, *PPARG* и *SF3B1* демонстрирует уверенные статистически значимые различия ( $p = 0,03$ ).

По результатам цитологического исследования, в 20% случаев не удалось определить клеточный тип опухоли. В оставшихся случаях встречаемость

веретенноклеточной меланомы составила 79%, эпителиоидноклеточной – 11% и смешанноклеточной – 10% (в соответствии с «классическим» принципом определения клеточного типа УМ), что представлено на рисунке 18. Согласно бинарному принципу определения клеточного типа, в соответствии с которым определяется наличие (>10% эпителиоидных клеток) или отсутствие (<10%) эпителиоидного компонента, встречаемость составила 30% и 70%, соответственно [13].

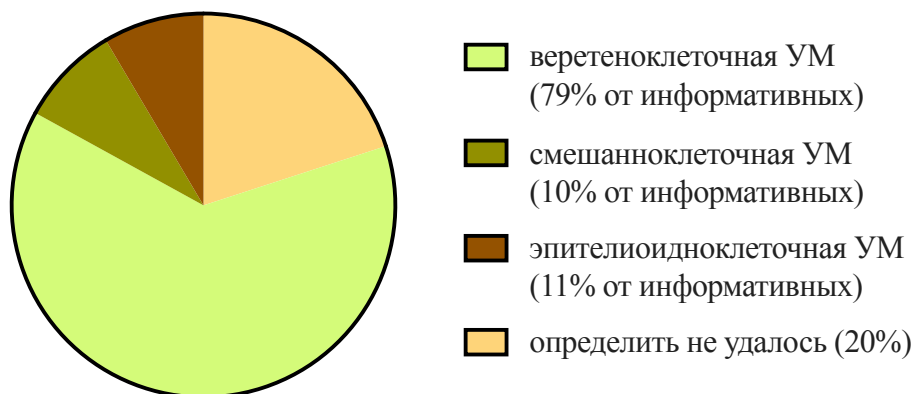


Рисунок 18 – Встречаемость клеточных типов УМ в информативных образцах

Результаты цитологического исследования по материалам ТИАБ сравнивались с гистологическим заключением по поводу энуклеации глаз, которым ранее проводилось органосохраняющее лечение (n=5). Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Анализ расхождения заключений по материалам цитологического и гистологического исследований

#	Цитологическое заключение	Гистологическое заключение	Результат
1	Веретенноклеточная УМ	Эпителиоидноклеточная УМ	Расхождение
2	Неинформативный материал	Веретенноклеточная УМ	-
3	Веретенноклеточная УМ	Хориоретинальный рубец	-
4	Эпителиоидноклеточная УМ	Некроз	-
5	Веретенноклеточная УМ	Смешанноклеточная УМ	Расхождение

Сравнительный анализ заключений удалось провести только в 2 случаях, где отмечалось расхождение заключений, причем в обоих случаях клеточный тип, определяемый по цитологическому заключению, расценивался как более благоприятный прогностический признак (веретенноклеточная УМ) в сравнении с результатами гистологии (эпителиоидноклеточная или смешанноклеточная УМ).

#### **4.3 Связь морфологических и генетических факторов с выживаемостью пациентов с увеальной меланомой**

Критерии включения пациентов из основной группы в анализ выживаемости в зависимости от молекулярно-генетических нарушений: наличие на момент исследования актуальной информации о пациентах в архиве учреждения (по данным диспансерного наблюдения или, при отсутствии актуальной информации, по заключениям врачей-офтальмологов, терапевтов, онкологов или патологоанатомов, полученных через органы здравоохранения по месту жительства). Критериями исключения являлись эндовитреальные вмешательства в течение всего срока наблюдения, наличие более одного опухолевого очага и билатеральная УМ. Группа пациентов, в которой проводился анализ выживаемости в соответствии с критериями включения и исключения, составила 133 участника. Средний срок наблюдения в ней составил 36 мес (медиана – 36 мес, минимум – 2 мес, максимум – 70 мес). За это время было отмечено 12 случаев метастазирования УМ (в печени – 9 случаях, в легких – 1 случай, множественные метастазы – в 2 случаях).

Риск развития метастазов в зависимости от наличия мутаций, ассоциированных с уровнем выживаемости, оценивался по типу «случай-контроль»: пациенты были разделены на 2 группы – с метастазами («случаи») и без («контроль») – и сравнивались на основе предполагаемого влияющего фактора (мутации в генах *GNAQ*, *GNA11*, *EIF1AX*, *SF3B1*, *PPARG*, *MYC* и клеточный тип) по критерию  $\chi^2$  (Пирсона).

Статистически значимые различия определялись при наличии делеции гена *PPARG*, ассоциированной с негативным прогнозом ( $p < 0,01$ ). Различия не

были статистически значимы для молекулярных нарушений в генах *GNAQ* ( $p = 0,99$ ), *GNAI1* ( $p = 0,31$ ) *EIF1AX* ( $p = 0,1$ ), *SF3B1* ( $p = 0,09$ ) и *MYC* ( $p = 0,44$ ).

Аналогичный анализ выживаемости проводился в зависимости от клеточного типа как по традиционной трехчастной классификации, так и по предложенной нами двухчастной; в обоих случаях статистически значимые различия не были выявлены ( $p = 0,27$  и  $0,62$ , соответственно).

По результатам анализа выживаемости по методу Каплана-Майера были получены схожие результаты: значительное влияние на выживаемость, как при оценке риска развития метастазов по типу «случай-контроль», так и по методу Каплана-Майера, показала делеция гена *PPARG* ( $p < 0,01$ ). Различия не были статистически значимы для молекулярных нарушений в генах *EIF1AX* ( $p=0,11$ ), *SF3B1* ( $p=0,10$ ), *MYC* ( $p=0,53$ ), *GNAQ* ( $p=0,93$ ) и *GNAI1* ( $p=0,22$ ) по логранговому критерию. График выживаемости по методу Каплана-Майера представлен на рисунке 19.

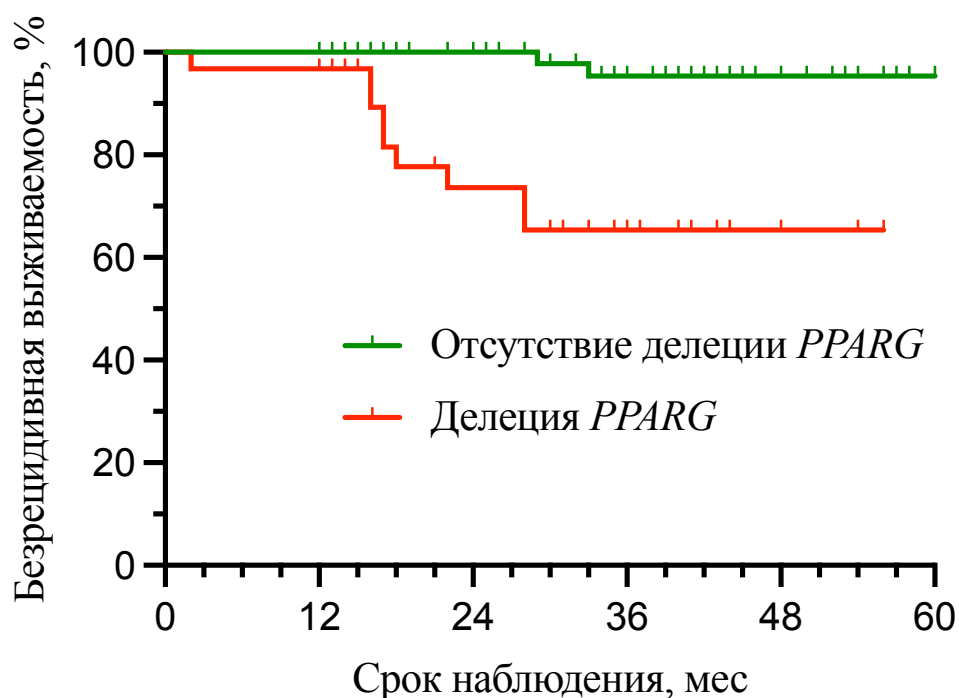


Рисунок 19 – Безрецидивная выживаемость в зависимости от наличия делеции гена *PPARG* по методу Каплана–Майера

Таким образом, информативность материала, полученного в результате оптимизированной ТИАБ, составила 91%. По данным макроскопической

оценки, в 63% случаях отмечалось «большое» количество материала, в 17% случаях «среднее» и в 20% – «малое»; при микроскопической оценке клеточности препаратов по категориям «высокая», «средняя» и «низкая или отсутствие» эти результаты представляли 41%, 22% и 37% случаев. Статистический анализ продемонстрировал высокий уровень соответствия между макро- и микроскопической оценками материала. С увеличением проминенции опухоли отмечались более высокие показатели информативности материала ТИАБ, однако при очагах более 4 мм этот показатель находится на примерно на одинаково высоком уровне (93-96%); самые низкие показатели информативности наблюдались у образований до 3 мм. Встречаемость молекулярно-генетических нарушений в информативных образцах составила: *GNAQ* – 44%, *GNA11* – 43%, *EIF1AX* – 18%, *SF3B1* – 18%, *PPARG* – 31%, *MYC* – 54%, веретенклеточный тип УМ – 79%, эпителиоидноклеточный – 11%, смешанноклеточный – 10%. Анализ встречаемости показал взаимоисключающую природу мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11*, а также мутации *EIF1AX* с другими «драйверными» мутациями. Впервые было показано статистически значимое влияние на выживаемость делеции гена *PPARG* ( $p < 0,01$ ).



## **ГЛАВА 5. АНАЛИЗ БЕЗОПАСНОСТИ ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ**

Целью данной главы стал анализ локальной и системной безопасности ТИАБ, т.е. оценки риска метастазирования опухоли.

Для выполнения этой цели потребовалось формирование основной и контрольной групп сравнения, стандартизированных по основным клиническим характеристикам, и сравнительный анализ частоты локальных осложнений (отслойка сетчатки, экстрасклеральный и продолженный рост опухоли, необходимость дополнительного лечения) и выживаемости пациентов.

### **5.1 Характеристика групп сравнения**

Для ретроспективного сравнительного анализа выживаемости и оценки риска метастазирования у пациентов с УМ при проведении ТИАБ были сформированы основная (БТ+ТИАБ) и контрольная (БТ) группы.

Критериями включения в исследование являлись клинически установленный диагноз УМ и проведенная БТ в качестве первичного метода лечения, наличие на момент исследования актуальной информации о пациентах в архиве учреждения (по данным диспансерного наблюдения или, при отсутствии актуальной информации, по заключениям офтальмологов, терапевтов, онкологов или патологоанатомов, полученных через органы здравоохранения по месту жительства).

Критериями исключения являлись установленная метастатическая болезнь до проведения локального лечения, УМ высотой менее 3 мм по данным В-сканирования (с целью стандартизации групп сравнения по данному параметру), срок наблюдения менее 6 мес, эндовитреальные вмешательства в течение всего срока наблюдения, наличие более одного опухолевого очага и билатеральная УМ.

В случае отсутствия актуальной информации о пациентах в архиве учреждения производились запросы к руководителям органов регионального здравоохранения (министерства, департаменты здравоохранения) со следующей формулировкой: «учитывая необходимость контроля пациентов со

злокачественными новообразованиями глаза, просим Вас предоставить информацию о состоянии здоровья (выписку офтальмолога, врачебное заключение об общем состоянии организма или посмертный эпикриз) пациентов, пролеченных в нашем лечебном учреждении и выбывших из-под диспансерного наблюдения (не явились на контрольные осмотры и не доступны по указанной контактной информации)» с приложением к письму информации о пациентах. Согласно Федеральному закону от 21.11.2011 N 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации", статья 13 (Соблюдение врачебной тайны), п. 4, предоставление сведений, составляющих врачебную тайну, без согласия гражданина или его законного представителя допускается при обмене информацией медицинскими организациями, в том числе размещенной в медицинских информационных системах, в целях оказания медицинской помощи с учетом требований законодательства РФ о персональных данных. Всего через отдел документационного обеспечения МНТК «Микрохирургия глаза» было отправлено 45 писем в 45 регионов РФ. Полученная в формате ответных писем информация позволила установить более детальную информацию о сроках наблюдения и статусах пациентов, которым проводилось лечение. Данная часть анализа выживаемости имела критически важное значение, поскольку вероятность обнаружения метастазов в группе пациентов, выбывших из-под диспансерного наблюдения, закономерно выше таковой у регулярно наблюдающихся в учреждении пациентов.

С учетом критериев включения и исключения, основная группа (БТ+ТИАБ) для сравнительного анализа составила 86 пациентов. Средняя МКОЗ пациентов на момент проведения лечения – 0,63 (min – светоощущение с правильной светопроекцией, max – 1,0). УМ локализовалась в хориоидее в 88% случаев, в хориоидее и цилиарном теле в 11%, в хориоидее, цилиарном теле и радужке в 1%. Экстрабульбарный рост отмечался в 1 случае. Остальные клинические характеристики представлены в таблице 5. Распределение количества пациентов по размерам опухоли представлено на рисунке 20.

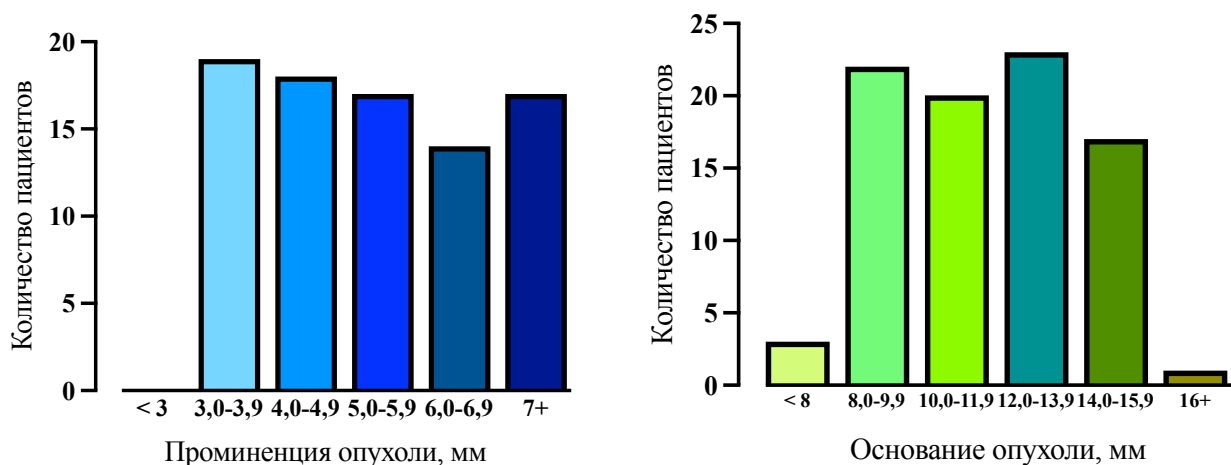


Рисунок 20 – Распределение пациентов основной группы сравнительного анализа по размерам опухоли с учетом критериев включения и исключения

Контрольная группа пациентов, которым проводилась только БТ, формировалась по материалам из медицинского архива «МНТК "Микрохирургия глаза" им. акад. Федорова» пациентов с УМ, пролеченных в период 2013-2016 гг. За указанный срок пациентам с УМ было проведено 552 курса БТ. БТ проводилась по стандартной хирургической технике с использованием офтальмоапликаторов с рутением-106, описанной ранее [16]. Сформированная в соответствии с критериями включения и исключения контрольная группа составила 150 пациентов. Средняя МКОЗ пациентов на момент проведения БТ – 0,53 (min – светоощущение с неправильной светопроекцией, max – 1,0). УМ локализовалась в хориоидее в 92% случаев, в хориоидее и цилиарном теле в 7%, в хориоидее, цилиарном теле и радужке в 1%. Экстрабульбарный рост отмечался в 1 случае. Остальные клинические характеристики представлены в таблице 5. Распределение количества пациентов контрольной группы по размеру опухоли представлено на рисунке 21.

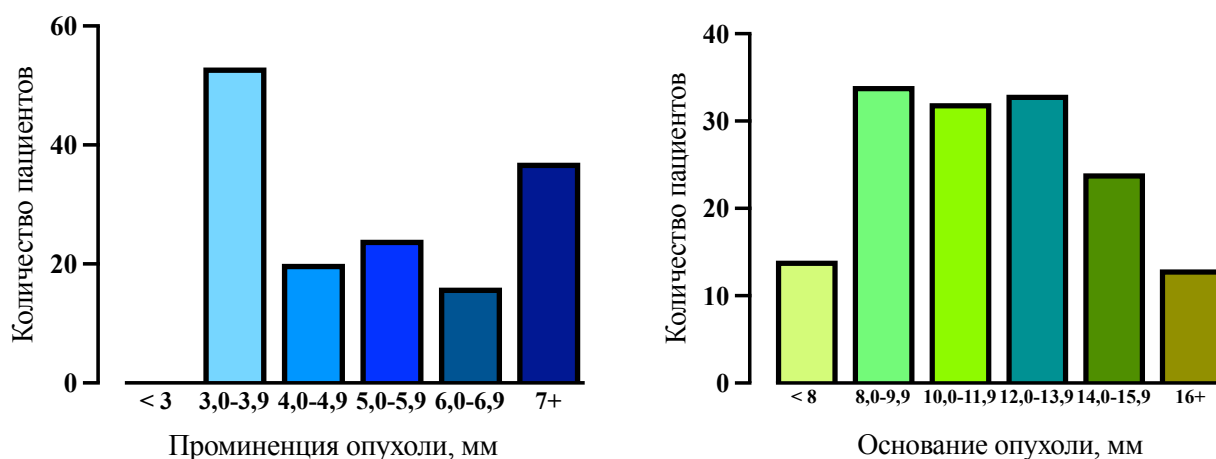


Рисунок 21 – Распределение пациентов контрольной группы сравнительного анализа по размерам опухоли с учетом критериев включения и исключения

Анализ статистической однородности исходных клинических характеристик проводился по основным клиническим параметрам, влияющим на развитие метастазов (возраст пациентов, высота и протяженность опухоли, юкстапапиллярная локализация, вовлечение цилиарного тела, экстрабульбарный рост). Статистическое тестирование по критериям нормальности Шапиро-Уилка, Д'Агостино, Колмогорова-Смирнова и Андерсона-Дарлинга показало, что количественные данные (возраст, высота и протяженность опухоли) не имеют нормального распределения (распределение Гаусса) ( $p < 0,01$ ). Это указывает на необходимость использования в анализе количественных данных непараметрических статистических критериев (критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова). Для сравнения качественных признаков (пол, вовлечение цилиарного тела, юкстапапиллярная локализация, экстрасклеральный рост) использовались критерий  $\chi^2$  и критерий Фишера.

Таблица 5 – Исходные клинические характеристики

Показатель (среднее, $\sigma$ , значения min и max)	БТ+ТИАБ (n=86)	БТ (n=150)	p
Возраст (минимальный и максимальный), лет	53±14 (10-81)	57±13 (19-83)	0,16*
Пол, % мужчин и женщин	28/72	39/61	0,12**

Вовлечение цилиарного тела	10 (13%)	12 (8%)	0,35**
Юкстапапиллярная локализация	13 (15%)	15 (10%)	0,3**
Экстрасклеральный рост	1	1	0,99**
Высота опухоли, мм	5,5±1,7 (3,0-9,3)	5,3±1,8 (3,0-9,7)	0,5*
Размер основания по наибольшему значению, мм	11,6±2,5 (6,1-16,0)	11,9±2,8 (7,3-18,5)	0,94*

*Примечание: \* – критерии Манна-Уитни*

*\*\* – критерии  $\chi^2$ , точный двусторонний Фишера*

Медиана срока наблюдения для группы БТ+ТИАБ 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). Учитывая различия в сроках наблюдения, обусловленные тем, что лечение пациентов из группы БТ+ТИАБ проводилось в период 2016-2020 гг, а пациентов из группы БТ в период 2013-2016 гг, анализ выживаемости проводили только в сроки 3 и 5 лет.

Общая медиана срока наблюдения составила 66 мес (среднее – 66 мес, min 9 мес, max 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 БТ+ТИАБ – 8 случаев (9%) – в 7 случаях в печени, в 1 случае множественные метастазы. Для мониторинга метастазов использовались МРТ или УЗИ ОБП и КТ ОГК.

## **5.2 Анализ локальных осложнений**

С целью оценки локальных осложнений был проанализирован 151 операционный протокол ТИАБ: 143 (95%) трансклеральных и 8 (5%) транссклеральных. При трансклеральных ТИАБ однократной пункции опухоли оказалось достаточно в 126 случаях (88%), двукратная пункция потребовалась в 15 случаях (10,5%) и трехкратная в 2 случаях (1,5%). При транссклеральных ТИАБ двукратная пункция проводилась в 1 случае, в 7 случаях – однократно. В

качестве биопсийных игл использовались иглы диаметром 25G, 27G и 30G при трансклериальных ТИАБ в 82 случаях (57%), 60 случаях (42%) и 1 случае (1%), соответственно; при транссклеральных ТИАБ в 2, 4 и 2 случаях, соответственно.

### Кровоизлияния

Геморрагические явления – наиболее частые и в то же время закономерные локальные реакции при проведении трансклериальной ТИАБ. Хотя сам термин гемофтальм подразумевает наличие крови в витреальной полости, небольшие кровоизлияния стоит расценивать как последствия травматизации опухоли, а не относить к осложнениям ТИАБ. Кровоизлияния, возникающие в результате ТИАБ, можно условно разделить на клинически значимые (рисунок 22) и клинически незначимые (рисунок 23) в зависимости от степени ухудшения визуализации опухоли в раннем послеоперационном периоде, что, в частности, может осложнить проведение ТТТ в рамках комбинированного лечения УМ. Частота геморрагических осложнений представлена в таблице 6.

Таблица 6 – Частота геморрагических осложнений у пациентов с ТИАБ

	Трансклериальная ТИАБ (n=143)	Транссклеральная ТИАБ (n=8)
Претуморальное кровоизлияние	55 (38%)	0
Субретинальное кровоизлияние	13 (9%)	1
Претуморальное и субретинальное кровоизлияние	6 (4%)	0
Субтотальный гемофтальм	10 (7%)	0
Отсутствие кровоизлияний или клинически незначимые кровоизлияния	61 (42%)	0

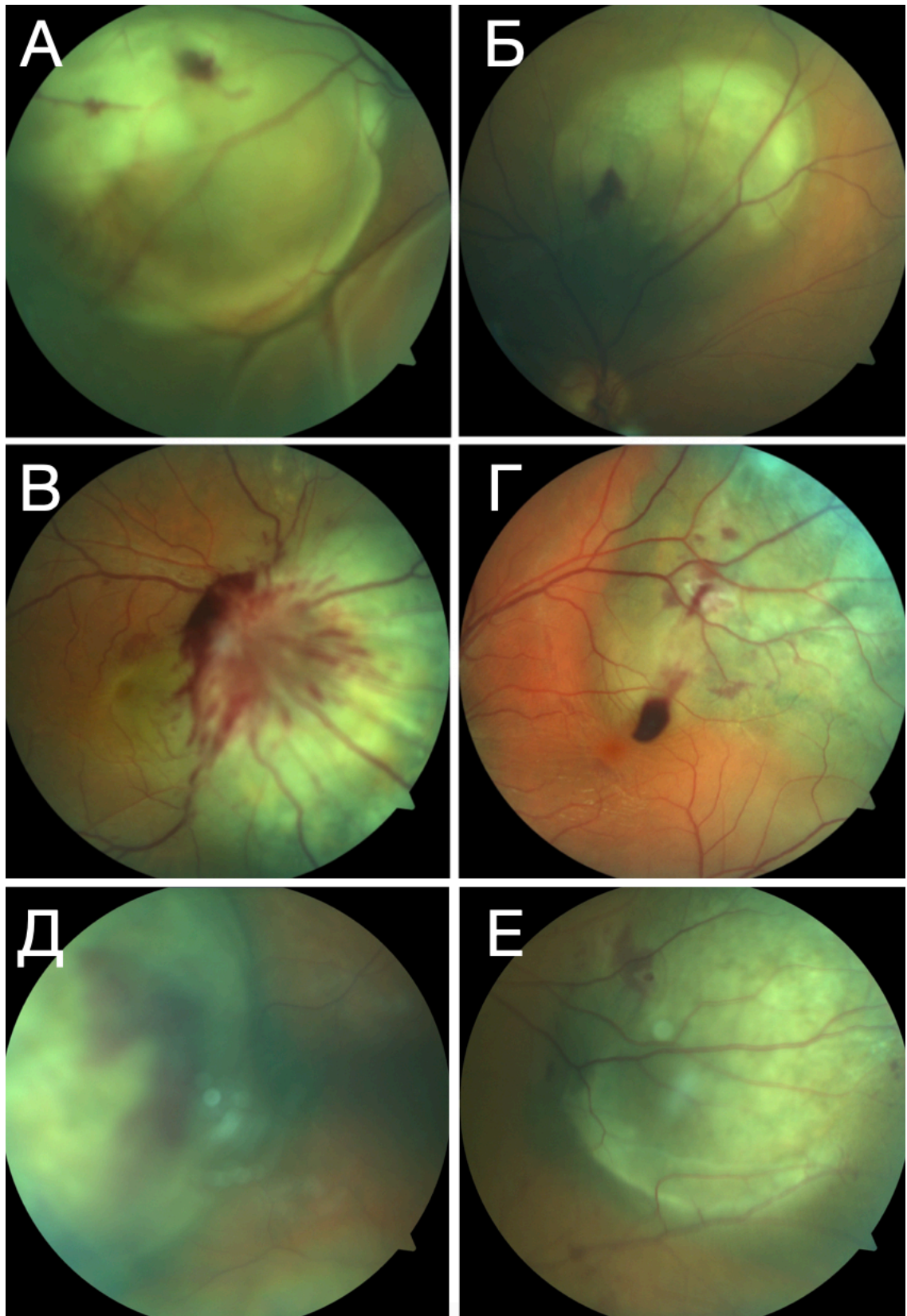


Рисунок 22 – Фото глазного дна с кровоизлияниями в результате ТИАБ, не затрудняющими визуализацию опухоли: А, Б, В – локальные претуморальные, Г – локальное витреальное, Д, Е – локальные субретинальные



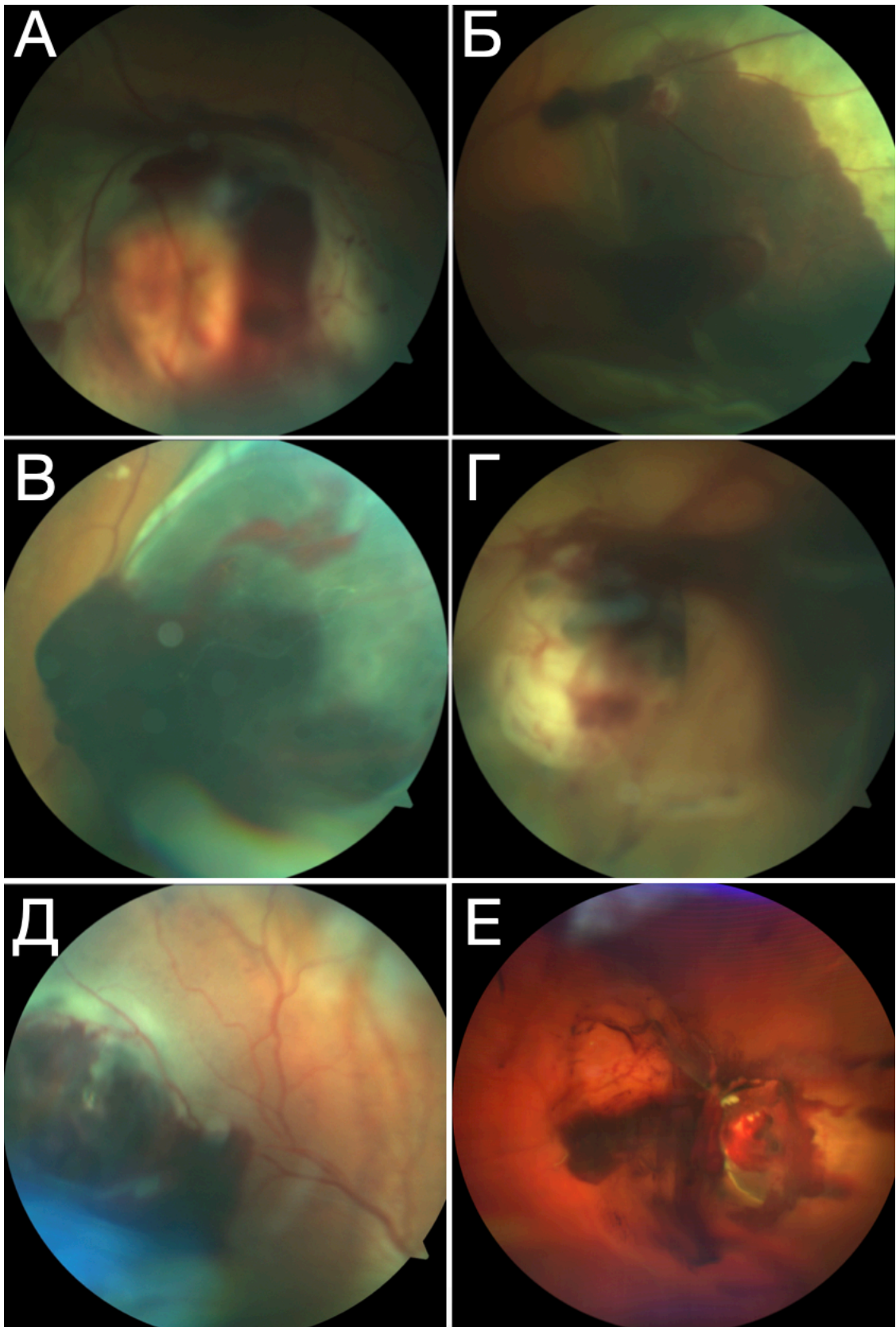


Рисунок 23 – Фото глазного дна с кровоизлияниями в результате ТИАБ, затрудняющими визуализацию опухоли:

А, В, Д – преимущественно субретинальные, Б, Г, Е – пре- и субретинальные



Был проведен анализ зависимости геморрагических явлений от размеров опухоли (по классификации COMS) и ее локализации, степени пигментации, а также используемого калибра биопсийной иглы при трансквитреальных ТИАБ (таблица 3).

Таблица 7 – Статистический анализ зависимости типа кровоизлияния с особенностями опухоли и ТИАБ

<i>p</i>	Размеры *	Степень пигментации **	Калибр биопсийной иглы **	Локализация
Кровоизлияние любого типа	0,13	0,99	0,23	0,48
Гемофтальм	0,91	0,99	0,99	0,27

*Примечание: \* – критерий  $\chi^2$  (Пирсона), \*\* – точный двусторонний Фишера*

Согласно полученным данным, вероятность развития кровоизлияния или гемофтальма не имеет статистически значимой связи ни с одним из проанализированных параметров.

В качестве медикаментозных методов борьбы с геморрагическими осложнениями с гемостатической целью использовались препараты этамзилата (раствор для внутривенного или внутримышечного введения, 12,5% (125 мг на 1 мл) 2-4 мл интраоперационно и при стационарном лечении (1-2 раза в день) или таблетированная форма (250 мг в 1 таб.) после выписки из стационара в амбулаторных условиях), аминокaproновая кислота (раствор для внутривенного введения, 5% (50 мг на 1 мл) интраоперационно и при стационарном лечении). Целесообразна рекомендация по сну на высокой подушке (для смещения кровоизлияния в нижние отделы витреальной полости под действием гравитационных сил). В случае приема пациентом антикоагулянтов и антиагрегантов, рекомендовалась отмена этих препаратов за 1-3 дней до

проведения ТИАБ по согласованию со специалистом соответствующего профиля и с последующим возвратом к приему после вмешательства.

При возникновении выраженного кровоизлияния проводилась тампонада зоны кровотечения путем создания временной офтальмогипертензии путем компрессии силиконовой контактной линзой и/или введения в витреальную полость стерильного ирригационного раствора BSS до легкого гипертонуса, определяемого пальпаторно.

Подавляющее большинство кровоизлияний резорбировалось на фоне наблюдения и/или консервативной терапии (99%). Отсроченная витрэктомия с целью удаления гемофтальма потребовалась в 3 случаях, причем гемофтальм в ранний послеоперационный период отмечался лишь в 1 из этих случаев, а у 2 оставшихся пациентов развивался на фоне поздних послеоперационных осложнений (тромбоз ветви центральной ветви сетчатки, гемофтальм), по-видимому, связанных с развитием постлучевой ретинопатии в результате брахитерапии. Витрэктомия проводилась по стандартной микроинвазивной трехпортовой технологии на фоне регрессии опухоли по данным В-сканирования; во всех случаях интраоперационно определялась девитализированная опухолевая ткань.

### **Отслойка сетчатки**

Поскольку первичный очаг УМ нередко вызывает вторичные явления в виде экссудативной отслойки сетчатки, а БТ в послеоперационный период может приводить к временному, а в ряде случаев и к хроническому увеличению отслойки сетчатки, анализ этого потенциального осложнения ТИАБ затруднен ввиду трудностей дифференцировки между регматогенным и экссудативным компонентами в генезе отслойки сетчатки. Для оценки влияния ТИАБ на развитие отслойки сетчатки был проведен сравнительный анализ по параметру максимальной высоты отслойки сетчатки по данным В-сканирования до первичного лечения и на момент последнего визита между стандартизированными группами БТ и БТ+ТИАБ. Картина глазного дна при вторичной отслойке сетчатки на фоне УМ представлена на рисунке 24.

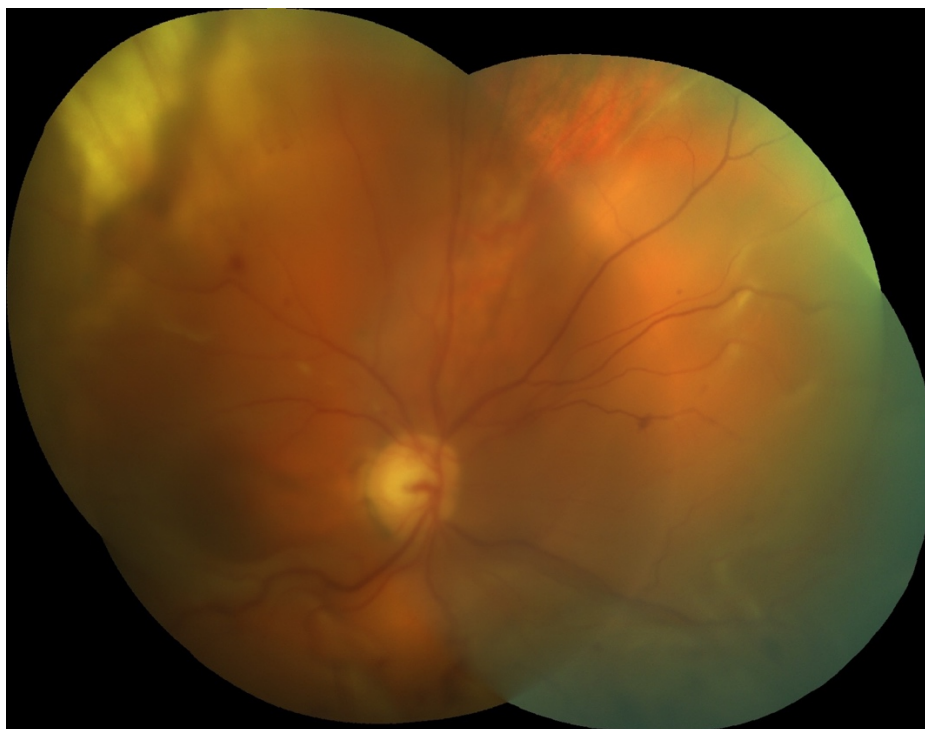


Рисунок 24 – Тотальная отслойка сетчатки через 4 месяца после лечения УМ (БТ+ТИАБ)

Данные по анализу вторичной отслойки сетчатки представлены в таблице 8. В группах не обнаружено статистически значимых различий по первоначальной ( $p=0,59$ ) и итоговой ( $p=0,48$ ) отслойке сетчатки, а также по ее динамике (разность между исходным и итоговым параметрами;  $p=0,31$ ) по критерию Манна-Уитни.

Таблица 8 – Данные об отслойке сетчатки в группах БТ+ТИАБ и БТ

	БТ+ТИАБ	БТ	$p$
Исходная высота отслойки сетчатки (среднее, $\sigma$ , min, max)	1,8±1,7 мм (0 – 10 мм)	1,8±2,1 мм (0 – 9)	0,59
Высота отслойки сетчатки на момент окончания срока наблюдения (среднее, $\sigma$ , min, max)	0,1±0,7 мм (0 – 6)	0,3±1,7 (0 – 14)	0,48
Динамика (разность между первоначальным и итоговым параметрами)	1,6±1,8 (0 – 10)	1,5±2,3 (0 – 9)	0,31

Несмотря на тот факт, что ТИАБ предполагает пункцию сетчатки в проекции опухоли, нарушение ее анатомической целостности впоследствии не имеет клинического значения и самопроизвольно тампонируется подлежащими тканями и фибрином в результате постлучевого локального воспаления и фиброза, что подтверждается данными ОКТ (рисунок 25). Учитывая эти данные, а также отсутствие статистически значимой разницы в итоговой высоте отслойки сетчатки по результатам проведенного анализа, можно предположить, что зона перфорации сетчатки не требует проведения дополнительных лечебных вмешательств, в т.ч. ограничительной лазерной коагуляции.

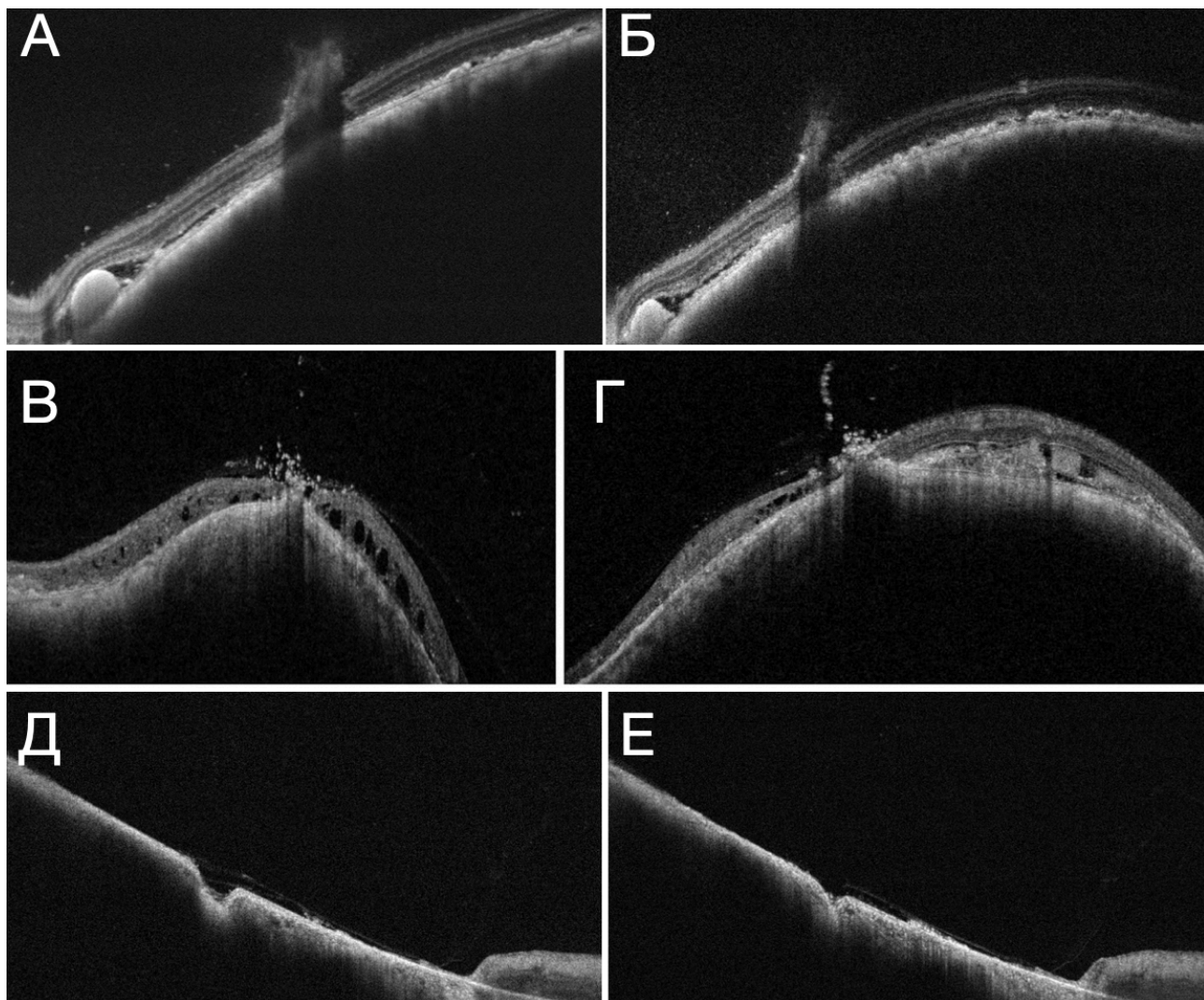


Рисунок 25 – ОКТ зоны ТИАБ: А, Б – через 1 день,  
В, Г – через 4 мес, Д, Е – через 21 мес

### Другие осложнения

В результате трансклеральной ТИАБ возможна диссеминация пигментированных элементов опухоли в витреальную полость – интраоперационно данное осложнение было отмечено в 11 случаях (8%), в послеоперационном периоде не отмечалось. Статистический анализ по сравнению групп пациентов со сроком наблюдения более 1 года, у которых в результате трансклеральной ТИАБ отмечалась диссеминация опухолевых элементов в витреальную полость (n=7) или такое осложнение отсутствовало (n=65), показал отсутствие статистически значимого влияния на необходимость дополнительного лечения (p=0,99), проведения энуклеации (p=0,99) или вероятность развития метастазов (p=0,58) по точному двустороннему критерию Фишера. При трансклеральных ТИАБ таких осложнений зафиксировано не было.

Единственный случай миграции пигментированных элементов опухоли в зону склерального канала был отмечен при проведении трансклеральной ТИАБ. Интраоперационно на зону ТИАБ была проведена криодеструкция в течение 60 сек с помощью аппарата «CryoStar», («DORC», Нидерланды) с последующим подшиванием бета-аппликатора в проекции опухоли. В срок наблюдения 60 мес у пациента не наблюдалось признаков экстрасклерального роста, в указанной зоне переднего отрезка глаза отмечалась незначительная субконъюнктивальная пигментация.

Дефект склерального канала, формируемого в ходе ТИАБ, в результате нормальных процессов регенерации и репарации подвергается полному или частичному закрытию (рисунок 26).

Случаи сквозной перфорации заднего отрезка склеры отсутствовали.

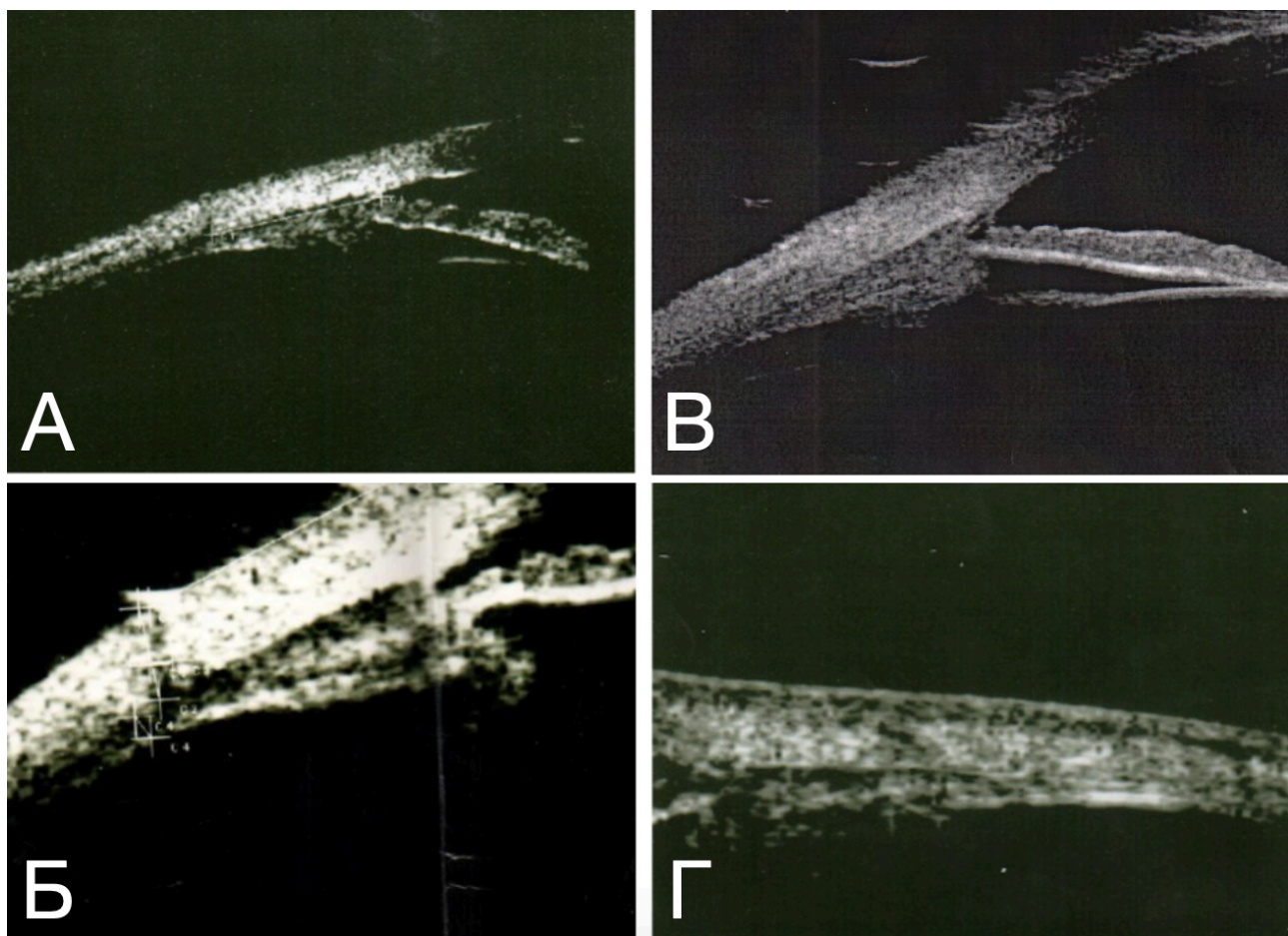


Рисунок 26 – Состояние склеральных каналов по УБМ в отсроченные сроки наблюдения (более 1 года): А, Б – локальные гипоехогенные зоны герметизированных дефектов склеры;  
В, Г – акустически неизменные зоны биопсии

Любое интраокулярное вмешательство связано с риском развития эндофтальмита. Это осложнение не встречалось ни в одном случае применения ТИАБ, что является закономерным следствием соблюдения основных принципов асептики и антисептики (периоперационные инстилляции антибиотиков, обработка хирургического поля антисептическими средствами), а также минимальной инвазивности процедуры.

#### **Экстрасклеральный рост и продолженный рост опухоли**

Продолженный рост опухоли и экстрасклеральный рост являются важными факторами, влияющими на вероятность метастазирования УМ, необходимость дополнительного лечения и сохранность глаз. Анализ частоты

этих осложнений осуществлялся путем сравнения клинических исходов в виде степени регрессии опухоли и частоты экстрасклерального роста между двумя статистически однородными по основным клиническим параметрам группам, которым проводилась БТ или БТ+ТИАБ (таблица 9). Статистическая значимость оценивалась по критерию Манна-Уитни.

Таблица 9 – Данные о динамике лечения опухоли в группах БТ+ТИАБ и БТ

	БТ+ТИАБ	БТ	<i>p</i>
Высота опухоли после лечения, мм (среднее, $\sigma$ )	2,5±1,5	2,3±1,3	0,52*
Степень регрессии, % (среднее, $\sigma$ )	54±20	55±22	0,50*
Экстрасклеральный рост	0	0	-

Статистически значимая разница в динамике регрессии опухоли между группами с биопсией и без нее отсутствовала ( $p=0,50$ ). Ни в одной группе не были зафиксированы случаи экстрасклерального роста опухоли.

Профилактика экстрасклерального роста опухоли по биопсийному каналу заключается в использовании витреоретинального порта-проводника.

#### **Необходимость дополнительного лечения и сохранность глаз**

Для анализа необходимости дополнительного лечения и сохранности глаз использовались данные стандартизированных групп БТ и БТ+ТИАБ.

За весь срок наблюдения дополнительное лечение по поводу опухоли (за исключением энуклеаций и интравитреального введения ингибиторов ангиогенеза) потребовалось в 49 случаях в группе БТ (среди них 32 ТТТ и 17 БТ) и в 23 случаях в группе БТ+ТИАБ (среди них 19 ТТТ и 4 БТ), что представлено на рисунке 27. Статистически значимая разница в необходимости дополнительного лечения, оцениваемая по точному критерию Фишера, отсутствовала ( $p = 0,3$ ), в частности для ТТТ ( $p = 0,99$ ) и БТ ( $p = 0,1$ ).



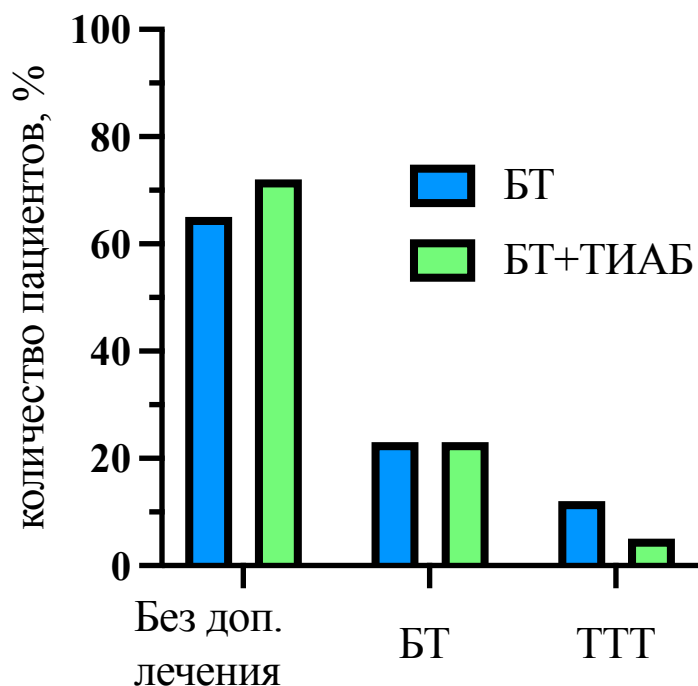


Рисунок 27 – Дополнительное лечение в группах БТ и БТ+ТИАБ

Всего было проведено 10 энуклеаций глаза в группе БТ и 5 энуклеаций в группе БТ+ТИАБ. Причины энуклеации и патогистологические заключения пациентов из группы БТ+ТИАБ представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Информация об энуклеированных глазах из группы БТ+ТИАБ

#	Причина энуклеации, срок сохранности глаза	Патогистологическое заключение
1	Рецидивирующий гемофтальм, вторичная глаукома, невозможность визуального контроля состояния опухоли. Срок сохранности глаза – 34 мес	Меланома хориоидеи пигментированная, смешанная эпителиоидноклеточная. В центре паренхимы фиброзно-рубцовая ткань. Общие признаки субатрофии внутренних оболочек глаза
2	Тотальная отслойка сетчатки и гемофтальм, вторичная компенсированная глаукома,	Меланома хориоидеи в хориоретинальном рубце, веретенноклеточная, с явлениями склерита. Иридоциклит с лимфоцитарным инфильтратом и признаками



	амавроз. Срок сохранности глаза – 25 мес	организовавшейся гифемы, фиброз стекловидного тела, плотный белковый экссудат субретинально и в витреальной полости, частичная атрофия зрительного нерва
3	Субатрофия глаза, амавроз. Срок сохранности глаза – 37 мес	Хориоретинальный пигментированный рубец с умеренным воспалением. Субатрофия глаза 2 степени, дистрофический кальциноз, атрофия зрительного нерва
4	Вторичная некомпенсированная глаукома, рубеоз. Срок сохранности глаза – 14 мес	Меланома хориоидеи, некроз очага, рубцово-фиброзные изменения прилегающих к опухоли структур. Частичная атрофия зрительного нерва. Хроническое продуктивное воспаление в склере с эпителиоидноклеточными элементами. Васкуляризация структур угла передней камеры и дренажной системы
5	Меланома хориоидеи, продолженный рост после брахитерапии и подозрение на экстрасклеральный рост. Срок сохранности глаза – 11 мес	Меланома хориоидеи и цилиарного тела, умереннопигментированная, смешанноклеточная, с признаками лечебного патоморфоза с очагами некроза и фиброзированная. Стафилломатоз склеры

Сохранность глаз оценивали по методу Каплана-Майера. 3-летняя сохранность глаз в группах БТ и БТ+ТИАБ составила 94% и 95% соответственно (рисунок 28). Статистически значимые различия в сохранности глаз между группами отсутствовали ( $p = 0,36$ ;  $HR 1,57$  (ДИ95% 0,56-4,34)).

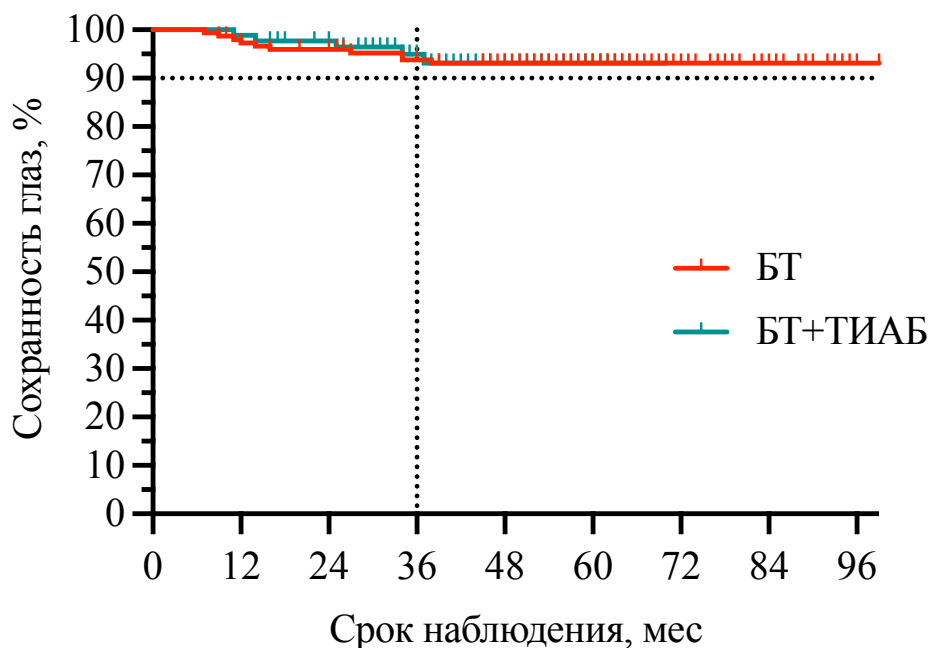


Рисунок 28 – Сохранность глаз у пациентов в группах БТ+ТИАБ и БТ

Таким образом, анализ локальной безопасности показал, что в 42% случаев ТИАБ сопровождается клинически незначимыми кровоизлияниями или их отсутствием, в 51% случаев приводит к претуморальному и/или субретинальному кровоизлиянию и в 7% случаев – к субтотальному гемофтальму; тип и вероятность кровоизлияния не 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; описаны особенности ведения пациентов для профилактики и лечения ТИАБ-ассоциированных кровоизлияний. В 7 случаях (5%) отмечалась диссеминация опухолевых элементов в витреальную полость, в 1 случае (<1%) в зону склерального канала, что в долгосрочной перспективе не требовало дополнительных вмешательств по этому поводу. На основании сравнительного анализа с контрольной группой было показано отсутствие статистически значимых различий по таким осложнениям как отслойка сетчатки ( $p=0,31$ ), экстрасклеральный (0 случаев) и продолженный рост ( $p=0,50$ ) опухоли, а также по необходимости дополнительного органосохраняющего лечения ( $p=0,30$ ) и/или энуклеации ( $p=0,36$ ).

### 5.3 Сравнительный анализ выживаемости

За указанный срок наблюдения было выявлено 26 случаев метастазирования: 8 в группе БТ+ТИАБ и 18 в группе БТ (в печени – в 21 случае (81%), в легких – в 2 случаях (8%), множественные метастазы – в 3 случаях (11%) (таблица 11).

Таблица 11 – Информация о пациентах с метастазами из группы БТ+ТИАБ

#	Пол, возраст, локализация и размер УМ, результаты молекулярно-генетического тестирования	Метастазы (локализация, сроки от первичного лечения)
1	ж., 74 года, меланома хориоидеи и цилиарного тела, 5,1*13,5 мм, T <sub>2b</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNA11</i> и <i>MYC</i> , категория В*, средний метастатический потенциал**	Печень, 29 мес
2	ж., 66 лет, меланома хориоидеи, 4,8*12,5 мм, T <sub>2a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNAQ</i> и <i>GNA11</i> , мутаций в генах-«модификаторах» не обнаружено	Множественные метастазы печени и легких, 33 мес
3	м., 61 год, меланома хориоидеи, 3,5*10,6 мм, T <sub>2a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNAQ</i> и <i>PPARG</i> , категория С*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 16 мес
4	м., 39 лет, меланома хориоидеи, 8,3*14,2 мм, T <sub>3a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNA11</i> , <i>PPARG</i> и <i>MYC</i> , категория D*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 17 мес
5	ж., 81 год, меланома хориоидеи, 7,3*14,2 мм, T <sub>3a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутация в <i>PPARG</i> , категория С*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 22 мес

6	ж., 65 лет, меланома хориоидеи, 4,8*11,7 мм, T <sub>2a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNAQ</i> , <i>PPARG</i> и <i>MYC</i> , категория D*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 28 мес
7	ж., 60 лет, меланома хориоидеи, 7,2*14,5 мм, T <sub>3a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNA11</i> и <i>PPARG</i> , категория C*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 16 мес
8	ж., 36 лет, меланома хориоидеи, 7,0*14,6 мм, T <sub>3a</sub> N <sub>0</sub> M <sub>1</sub> , мутации в <i>GNA11</i> и <i>PPARG</i> , категория C*, высокий метастатический потенциал**	Печень, 17 мес

*Примечание: \* – классификация по TCGA [147] и \*\* – классификация по метастатическому потенциалу [87]*

У пациентов после БТ+ТИАБ с метастазами УМ в 6 из 8 случаев отмечался высокий метастатический потенциал, в 1 случае – средний и в 1 случае в материале не были обнаружены мутации в генах-«модификаторах», что, однако, не исключает их наличия.

Безрецидивную выживаемость оценивали по методу Каплана-Майера (рисунок 29).

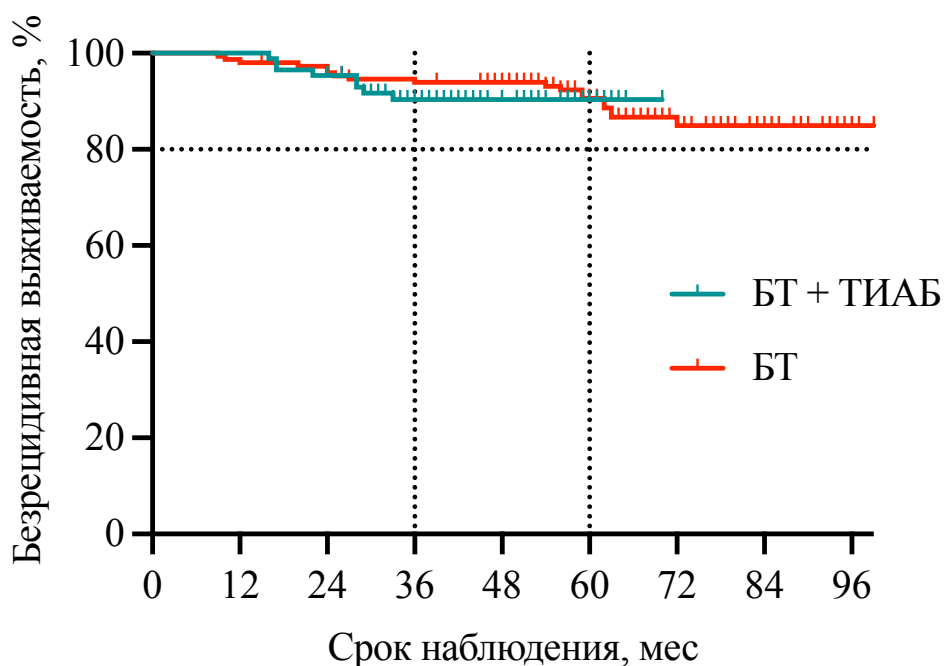


Рисунок 29 – Безрецидивная выживаемость пациентов с УМ в группах БТ и БТ+ТИАБ по методу Каплана-Майера (анализ выживаемости проводился в срок 36 и 60 мес)

Таким образом, по результатам анализа выживаемости пациентов из статистически однородных по основным клиническим параметрам групп БТ+ТИАБ 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 БТ+ТИАБ составила 93% и 88% соответственно, 5-летняя – 91% и 88% соответственно.

Проведенный анализ локальной и системной безопасности ТИАБ, проведенной по оптимизированной технологии, продемонстрировал, что пункция опухоли не приводит к развитию клинически значимых кровоизлияний, отслойки сетчатки, продолженному и экстрасклеральному росту опухоли, необходимости дополнительного лечения, в том числе энуклеации глаза, а также не связана с увеличением риска метастазирования увеальной меланомы.

## **ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОЙ СИСТЕМЫ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ**

Целью данной главы стало определение потребности пациентов с УМ в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования, определение показаний и противопоказаний к прогностической ТИАБ, а также разработка комплексной системы прогнозирования риска метастазирования УМ, учитывающей все ключевые прогностические факторы, такие как клинические, морфологические и молекулярно-генетические.

Для достижения поставленной цели потребовалось проведение анкетирования пациентов с УМ, которым было показано органосохраняющее лечение, с определением факторов, влияющих на желание пациентов быть информированными об индивидуальном прогнозе, а также факторов, влияющих на окончательное согласие на проведение процедуры прогностической ТИАБ с дальнейшим определением показаний и противопоказаний. Для разработки комплексной системы прогнозирования риска метастазирования УМ потребовался сбор максимально информативных данных о всех пациентах, которым проводилось прогностическое исследование, статистическая обработка этих данных с формированием прогностической системы, основанной на баллах, и определение ее состоятельности.

### **6.1 Анализ потребности пациентов в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования**

С целью анализа потребности в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования проводилось анкетирование 94 пациентов с УМ, проходивших лечение на базе отдела офтальмоонкологии и радиологии МНТК «Микрохирургия глаза» в период с марта по декабрь 2021 года. Всем пациентам проводилось органосохраняющее лечение (БТ в 95% случаев, n=90; СТРХ «Гамма-Нож» в 5%, n=4). По классификации TNM у 14% пациентов наблюдалась стадия T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>, у 72% – T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>, у 14% – T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>. У всех пациентов на момент

проведения лечения отсутствовали метастазы по данным МРТ органов брюшной полости и КТ органов грудной клетки.

Средний возраст пациентов составил  $60 \pm 13$  лет, 69% женщин и 31% мужчин. По данным анкет, высшее образование получили 46% опрошенных, среднее профессиональное – 45%, общее – 6%, 1 опрошенный сообщил о функциональной неграмотности (неспособность читать и писать на уровне, необходимом для заполнения формы). В городских населенных пунктах проживали 78% пациентов, в сельских – 22%.

Анкетирование проводилось анонимно после госпитализации для проведения стационарного лечения. Перед выдачей анкеты врачом-офтальмологом отделения проводилась дополнительная консультация и информирование пациентов о прогнозировании течения УМ и сути процедуры «прогностической» ТИАБ. Анкета включала социально-демографический блок вопросов (рисунок 30), общую справочную информацию (рисунок 31) и основной блок вопросов, сформированных по закрытому типу (таблица 12).

<i>Анкета носит анонимный характер</i>	
<b>Пол:</b>	<input type="checkbox"/> мужской; <input type="checkbox"/> женский. <b>Возраст:</b> _____ лет
<b>Образование:</b>	<input type="checkbox"/> высшее; <input type="checkbox"/> среднее профессиональное; <input type="checkbox"/> общее.
<b>Проживание:</b>	<input type="checkbox"/> городской населенный пункт (город, поселок городского типа); <input type="checkbox"/> сельский населенный пункт (село, поселок, хутор, станция, деревня и т.д.).

Рисунок 30 – Социально-демографический блок вопросов в анкете



### АНКЕТА ДЛЯ ПАЦИЕНТОВ С УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ

#### Общие сведения:

- увеальная меланома – редкое злокачественное новообразование сосудистой оболочки глаза;
- основная опасность заболевания заключается в риске развития метастазов в печени и легких;
- стандартные рекомендации по выявлению метастазов предполагают проведение регулярных обследований – магнитно-резонансной томографии печени (МРТ) 2 раза в год и компьютерной томографии (КТ) легких 1 раз в год;
- более точный прогноз заболевания (риск развития метастазов) возможно установить по результатам анализа биопсийного материала опухоли;
- сама процедура получения биопсийного материала оплачивается по системе ВМП, однако генетический анализ проводится на коммерческой основе.

Более подробную информацию о заболевании можно получить по ссылке:

<http://www.mntk.ru/files/upload/MNTK-Uveal-Melanoma.pdf>



*Наведите камеру телефона*

Рисунок 31 – Общая справочная информация в анкете для пациентов с УМ

Таблица 12 – Основной блок вопросов в анкете для пациентов с УМ

№	Вопрос
1	После выявления у Вас увеальной меланомы, нужна ли была Вам дополнительная информация из других источников? <ul style="list-style-type: none"> <li>• другие специалисты (получение второго мнения);</li> <li>• интернет и другие ресурсы;</li> <li>• нет;</li> <li>• другое.</li> </ul>
2	Есть ли у Вас потребность в общении с другими пациентами с УМ? <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>
3	Хотели бы Вы знать об индивидуальном риске развития метастазов УМ у Вас? <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>



4	<p>... если «да», то с какой целью?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• для ощущения контроля ситуации, проведения профилактических мер;</li> <li>• планирования дальнейшей жизни для себя и/или близких;</li> <li>• получения максимального количества информации о заболевании;</li> <li>• участия в программах лечения метастатической формы УМ;</li> <li>• другое</li> </ul>
5	<p>Как Вы считаете, Вы скорее оптимист или пессимист?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• оптимист / пессимист.</li> </ul>
6	<p>Если бы у Вас обнаружили высокий риск развития метастазов, то это...</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• привело бы к более настороженному отношению к своему здоровью;</li> <li>• ухудшило бы настрой и вызвало депрессивное состояние;</li> <li>• ничего бы не изменило, потому что я надеюсь, что все будет хорошо;</li> <li>• другое.</li> </ul>
7	<p>Была ли у Вас мысль отказаться от проведения биопсии только потому, что Вас страшит мысль о выявлении высокого риска развития метастазов?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>
8	<p>Как Вы считаете, понимание степени риска развития метастазов стабилизировало бы Ваше психологическое состояние?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>
9	<p>Сомневаетесь ли Вы в безопасности биопсии?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>
10	<p>Если бы генетический анализ выполнялся бесплатно, Вы бы согласились на его проведение?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• да / нет.</li> </ul>
11	<p>Если Вы считаете, что данное обследование слишком дорогое, какую стоимость Вы считаете приемлемой?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• до 50 000 р / 50 000 – 100 000 р / любая цена приемлема.</li> </ul>
12	<p>Какое решение Вы приняли?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• проводить биопсию / отказываюсь от проведения биопсии.</li> </ul>
13	<p>... если Вы отказываетесь, то какова основная причина отказа?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• обследование слишком дорогое;</li> <li>• считаю, что обследование нецелесообразно, потому что...</li> <li>• другое.</li> </ul>

По результатам анкетирования, дополнительная информация после впервые установленного диагноза УМ потребовалась 63% пациентам, из них 35% обращались за вторым мнением к другим специалистам, 45% искали информацию в интернете и других ресурсах и 20% искали информацию во всех возможных источниках (второе мнение, интернет, другие ресурсы). Дополнительной информации не потребовалось 37% пациентам. О потребности в общении с другими пациентами с УМ сообщили 52% респондентов, оставшиеся 48% в таком общении не нуждались.

Информацию об индивидуальном риске развития метастазов УМ хотели получить 77% опрошенных, 21% заявили об отсутствии таких намерений и 2% не смогли определиться с однозначным ответом, указав оба варианта. Среди основных мотивов для получения информации об индивидуальном риске метастазирования отмечались следующие: ощущение контроля ситуации и возможность проведения профилактических мер (78%), планирование дальнейшей жизни для себя и/или близких (47%), возможность участия в программах лечения метастатической формы УМ (35%), получение максимального количества информации о заболевании (28%).

81% респондентов считали себя оптимистами, 15% – пессимистами, 4% указали оба варианта. При этом в случае обнаружения высокого риска развития метастазов для большей части опрошенных пациентов (54%) такой результат «ничего бы не изменил», и они бы надеялись, что «все будет хорошо» (но 14% из них все же стали бы более настороженно относиться к своему здоровью), для 27% пациентов это бы означало только более настороженное отношение к своему здоровью и у 19% это ухудшило бы настрой и вызвало депрессивное состояние (но к более настороженному отношению это привело бы только у 28%).

Из-за страха, основанного на выявлении высокого риска развития метастазов, 25% пациентов были бы готовы отказаться от проведения ТИАБ. При этом понимание степени риска развития метастазов позволило бы стабилизировать психологическое состояние у 66% респондентов. В

безопасности процедуры сомневалось 34% пациентов. Статистический анализ с оценкой значимости по точному двустороннему критерию Фишера показал отсутствие достоверной разницы между сомневающимися и несомневающимися в безопасности по следующим факторам: взгляд на жизнь (оптимизм или пессимизм;  $p=0,34$ ), пол (мужской или женский;  $p=0,63$ ), тип населенного пункта (городской или сельский;  $p=0,99$ ) и тенденцию к достоверности по возрасту («чем старше, тем больше сомнений»;  $p=0,06$ ).

Положительное решение о проведении «прогностической» ТИАБ приняло 51% пациентов, отказалось – 49%. Среди основных причин отказа отмечались высокая стоимость исследования (76%), нецелесообразность (19%), опасение по поводу безопасности (5%). При этом 85% пациентов были бы готовы к проведению генетического анализа в том случае, если бы он проводился бесплатно. Приемлемую стоимость молекулярно-генетического анализа 79% респондентов оценивали в виде суммы до 50 000 р, 7% в диапазоне 50 000 – 100 000 руб. и 14% респондентов ответили, что для данного анализа приемлема любая цена.

Был проведен статистический анализ факторов, влияющих на вероятность желания быть информированными об индивидуальном риске, а также вероятность положительного решения о проведении ТИАБ (таблица 13). Категории возраста оценивались по классификации ВОЗ: молодой до 45 лет (15% пациентов), средний от 45 до 60 лет (23%), пожилой от 60 до 75 лет (53%), старческий от 75 до 90 лет (9%).

Таблица 13 – Статистический анализ факторов, влияющих на вероятность потребности в проведении ТИАБ и согласия на процедуру

Критерий	Желающие vs нежелающие знать риск (вопрос №3)		Согласные vs отказавшиеся проводить ТИАБ (вопрос №12)	
	$\chi^2$	$p$	$\chi^2$	$p$
Возраст (категории ВОЗ)	0,93	0,33	7,5	<b>&lt;0,01</b>

Образование	2,89	0,09	6,1	<b>0,01</b>
Пол *	-	0,99	-	0,82
Метод лечения *	-	0,58	-	<b>0,05</b>
Тип населенного пункта *	-	0,74	-	0,79
Взгляд на жизнь (оптимизм, пессимизм) * (вопрос №5)	-	0,15	-	0,99
Страх перед выявлением высокого риска развития метастазов * (вопрос 7)	-	<b>&lt;0,01</b>	-	<b>&lt;0,01</b>
Возможность стабилизации психологического состояния (вопрос №8)	-	<b>&lt;0,01</b>	-	0,26
Мнение о безопасности ТИАБ * (вопрос №9)	-	0,28	-	<b>&lt;0,01</b>

Дополнительно был проведен статистический анализ факторов, потенциально ассоциированных с пациентами «тревожного типа», т.е. среди тех, кто не имеет потребности в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования УМ из-за страха перед выявлением высокого риска развития метастазов и невозможности стабилизации психологического состояния при понимании степени риска (таблица 14).

Таблица 14 – Статистический анализ факторов, потенциально ассоциированных с пациентами «тревожного типа»

Критерий	При наличии vs отсутствии страха перед выявлением высокого риска (вопрос №7)		При возможности vs невозможности стабилизации психологического состояния при понимании степени риска (вопрос №8)	
	$\chi^2$	<i>p</i>	$\chi^2$	<i>p</i>
Возраст (категории ВОЗ)	2,29	0,13	0,001	0,97
Образование	5,42	<b>0,02</b>	0,088	0,77
Пол *	-	0,13	-	0,33

Тип населенного пункта *	-	1,0	-	1,0
Взгляд на жизнь (оптимизм, пессимизм) * (вопрос №5)	-	0,07	-	0,21
Мнение о безопасности ТИАБ * (вопрос №9)	-	<b>0,01</b>	-	0,1

## 6.2 Показания и противопоказания к прогностической ТИАБ

На основании проведенного анализа, показанием к прогностической ТИАБ является желание пациента иметь достоверную информацию об индивидуальном риске развития метастазов.

Относительными противопоказаниями к прогностической ТИАБ являются:

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

Абсолютными противопоказаниями являются:

- отсутствие желания пациента знать индивидуальный риск развития метастазов;
- острые инфекционные заболевания глаза;
- некомпенсированная офтальмогипертензия и глаукома.

## 6.3 Разработка комплексной прогностической системы с учетом данных клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов

С целью разработки комплексной прогностической системы, в которой учитывались бы не только данные молекулярно-генетического тестирования, но также клинические и морфологические факторы, был проведен анализ данных пациентов, которым проводилось молекулярно-генетическое тестирование вне зависимости от первичного метода лечения (энуклеация или органосохраняющее

лечение). За счет увеличения выборки и включения в нее пациентов с УМ больших размеров, которым заведомо невозможно проведение органосохраняющего лечения, возможно с большей точностью оценить влияние всех исследуемых прогностических факторов на риск метастазирования.

Критериями включения в исследование являлись клинически установленный диагноз УМ, наличие на момент исследования актуальных клиничко-инструментальных данных о пациентах в архиве учреждения (по данным диспансерного наблюдения или, при отсутствии актуальной информации, по заключениям офтальмологов, терапевтов, онкологов или патологоанатомов, полученных через органы здравоохранения по месту жительства) и информативных образцов материала опухоли, по которым проводилось молекулярно-генетическое и морфологическое исследования, а также срок наблюдения более 12 мес при отсутствии метастазов.

Всего были отобраны данные 202 пациентов. В качестве первичного метода лечения в 57% случаев проводилась энуклеация (n=115), в 38% случаях БТ (n=77) и в 5% СТРХ «Гамма-Нож» (n=10). Средний срок наблюдения составил 42 мес (медиана 35, min 1, max 182). В данный период было отмечено 78 случаев метастазирования (39%). Детальные характеристики пациентов, в том числе без метастазов (n=124) и с метастазами (n=78), представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Характеристики группы пациентов с результатами прогностического исследования

Срок наблюдения	Общий	Без метастазов	С метастазами	p
Возраст, лет средний / min / max	55 / 10 / 88	54 / 10 / 88	57 / 17 / 86	0,14
Пол, % мужчины / женщины	41 / 59	65 / 35	51 / 49	0,06
Срок наблюдения, мес средний / медиана min - max	42 / 35 1-182	53 / 44 12-182	24 / 18 1-129	<0,01

TNM, %	8 / 25	12 / 35	1 / 9	
T1 / T2	43 / 24	40 / 13	49 / 41	<0,01
T3 / T4				
Инвазия цилиарного тела, %	30	20	46	<0,01
Экстраокулярный рост, %	5	4	8	0,26
Клеточный тип (ВК / СК / ЭК), %	50 / 35 / 15	61 / 28 / 11	31 / 48 / 21	<0,01
Клеточный тип* (ВК / ЭК), %	50 / 50	61 / 39	31 / 69	<0,01
Мутация в гене <i>EIF1AX</i> , %	20 / 80	32 / 68	1 / 99	<0,01
Мутация в гене <i>SF3B1</i> , %	16 / 84	21 / 79	8 / 92	0,02
Делеция гена <i>PPARG</i> , %	43 / 57	29 / 71	64 / 36	<0,01
Амплификация гена <i>MYC</i> , %	63 / 33	57 / 43	75 / 25	0,01

*Примечания: статистически значимые различия оценивались между группами с метастазами и без метастазов; ВК – веретенноклеточная УМ, СК – смешанноклеточная УМ, ЭК – эпителиоидноклеточная УМ; клеточный тип\* – бинарная классификация*

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 классификациям), 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, пол, наличие экстраокулярного роста УМ статистически значимо не влияли на риск развития метастазов.

Для дополнительной оценки влияния прогностических факторов на риск метастазирования, был проведен анализ по методу Каплана-Майера с оценкой показателя HR с использованием логрангового критерия. Результаты анализа представлены в таблице 16 и на рисунках 32 и 33.

Таблица 16 – Результаты комплексного анализа прогностических факторов риска метастазирования с оценкой HR (hazard ratio)

	HR	95% ДИ	p
Возраст (по ВОЗ)	-	-	0,18
Пол	0,71	0,45 – 1,13	0,15
TNM	-	-	<0,01
T2 vs T1	2,08	0,43 – 10,01	0,36
T3 vs T1	2,87	1,25 – 6,58	0,01
T4 vs T1	3,54	1,61 – 7,81	<0,01
T3 vs T2	2,60	1,42 – 4,78	<0,01
T4 vs T3	1,44	0,88 – 2,35	0,15
Инвазия в цилиарное тело	2,44	1,49 – 4,01	<0,01
Экстраокулярный рост	1,87	0,66 – 5,31	0,16
Клеточный тип	-	-	<0,01
СК vs ВК	2,63	1,52 – 4,57	<0,01
ЭК vs ВК	3,19	1,45 – 7,03	<0,01
ЭК vs СК	1,04	0,56 – 1,93	0,91
Клеточный тип*	2,50	1,57 – 3,98	<0,01
Мутация в гене <i>EIF1AX</i>	0,26	0,15 – 0,42	<0,01
Мутация в гене <i>SF3B1</i>	1,81	0,97 – 3,37	0,06
Делеция гена <i>PPARG</i>	2,62	1,67 – 4,11	<0,01
Амплификация гена <i>MYC</i>	1,85	1,17 – 2,93	0,01

Примечания: статистическая значимость оценивалась по логранговому критерию (ячейки зеленого цвета в случае  $p < 0,05$  и белого цвета в случае  $p > 0,05$ ); HR – по критерию Мантеля-Хензеля; клеточный тип\* – бинарная классификация



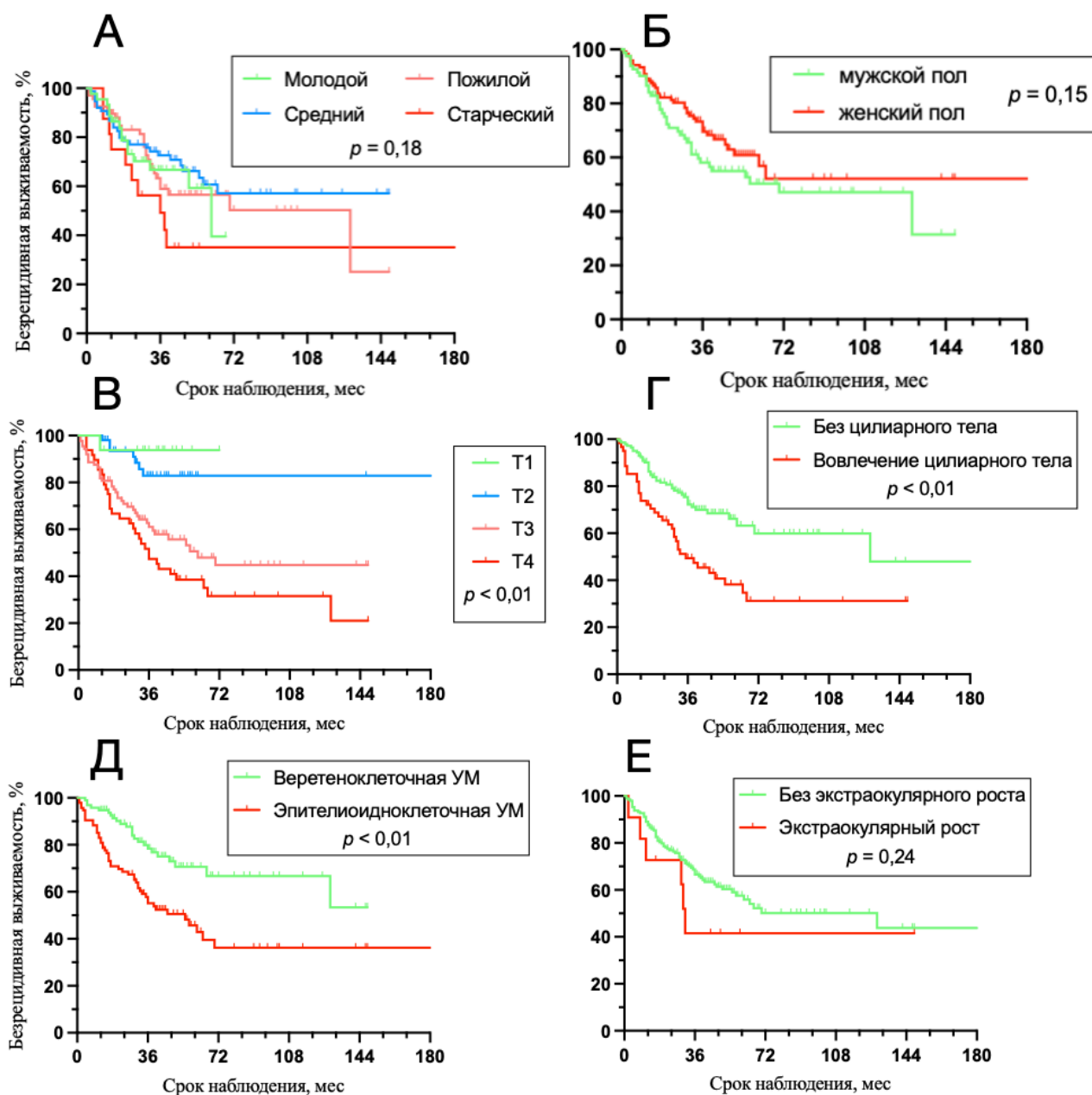


Рисунок 32 – Графики выживаемости пациентов с УМ

по методу Каплана-Майера в зависимости от:

А – возраста, Б – пола,

В – размеров опухоли по системе TNM, Г – инвазии цилиарного тела,

Д – клеточного типа, Е – экстраокулярного роста

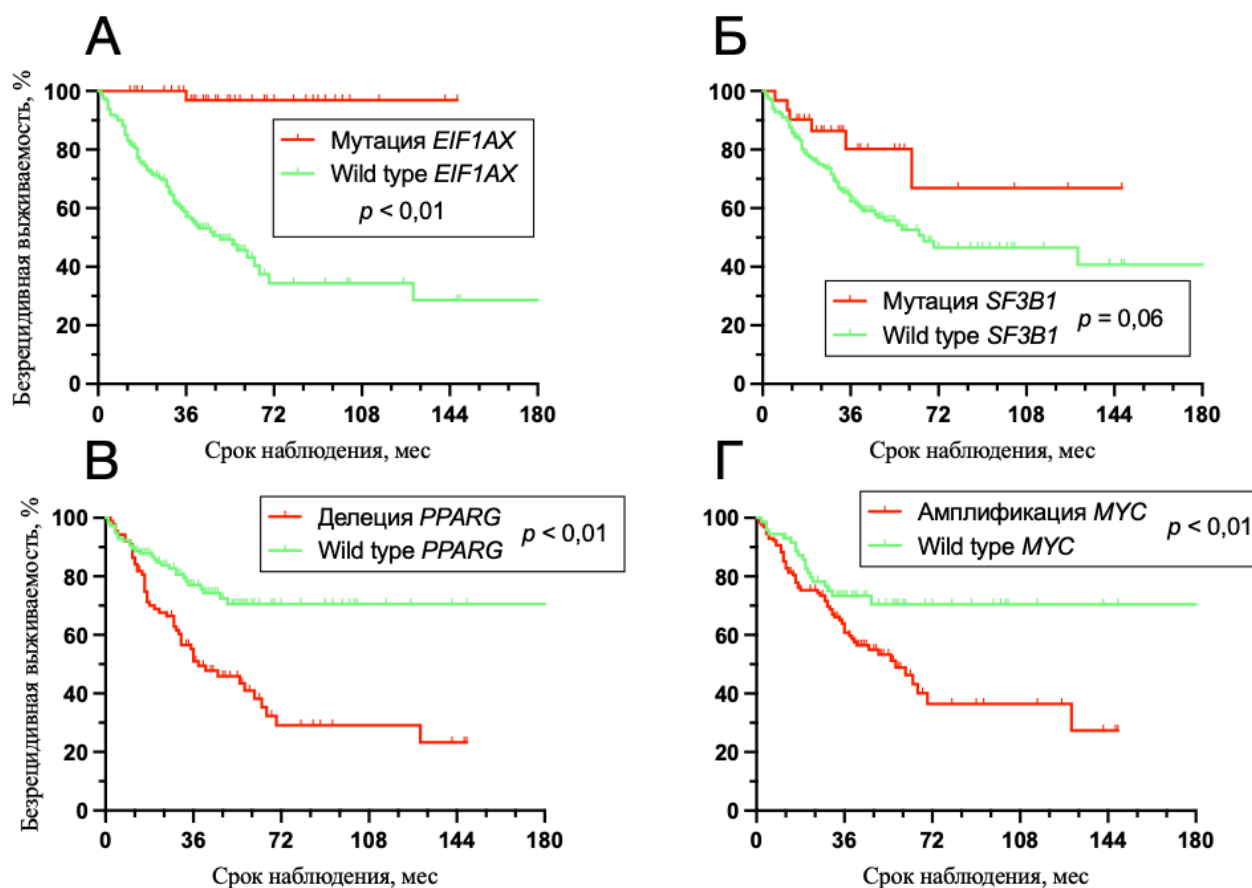


Рисунок 33 – Графики выживаемости пациентов с УМ по методу Каплана-Майера в зависимости от:

А – мутации в гене *EIF1AX*, Б – мутации в гене *SF3B1*,  
 В – делеции гена *PPARG*, Г – амплификации гена *MYC*

Среди клинических факторов статистически значимо влияли на риск метастазирования размер опухоли по системе TNM и вовлечение цилиарного тела. Клеточный тип опухоли продемонстрировал статистически значимое влияние на выживаемость как по стандартной трехчастной классификации, так и по упрощенной бинарной. Высокий уровень статистической значимости ( $p < 0,01$  во всех трех случаях) показали все проанализированные молекулярно-генетические факторы (мутация в гене *EIF1AX*, делеция гена *PPARG* и амплификация гена *MYC*) за исключением мутации в гене *SF3B1*, что можно объяснить отсутствием достаточного количества длительно наблюдающихся пациентов (со сроком наблюдения 7-10 и более лет), поскольку именно у них мутация в этом гене оказывает влияние на выживаемость.

Факторы, продемонстрировавшие статистическую значимость по результатам анализа выживаемости по методу Каплана-Майера, дополнительно анализировали по методу пропорциональной регрессии рисков Кокса. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты анализа пропорциональной регрессии рисков Кокса

	$\beta$	SE	Exp( $\beta$ 1)	95% ДИ
TNM	0,72	0,1886	2,05	1,43-3,00
Инвазия в цилиарное тело	-0,20	0,2726	0,82	0,48-1,39
Клеточный тип	0,73	0,2645	2,07	1,25-3,54
Мутация в гене <i>EIF1AX</i>	-2,99	1,015	0,05	0,01-0,23
Делеция гена <i>PPARG</i>	0,50	0,2734	1,65	0,97-2,86
Амплификация гена <i>MYC</i>	0,19	0,3430	1,21	0,63-2,46
Общая статистическая значимость модели, $p < 0,01$				

Показатель Exp( $\beta$ 1) является эквивалентным HR, что позволяет проводить их прямое сравнение при подсчете разными методами [19]. Статистически значимое влияние на выживаемость отмечалось в том случае, если у каждого отдельного прогностического фактора 95% доверительный интервал показателя Exp( $\beta$ 1) не включал единицу, и было продемонстрировано для размеров опухоли по системе TNM, клеточного типа опухоли и мутации в гене *EIF1AX*. Анализ по методу пропорциональной регрессии рисков Кокса предполагает отличную от метода Каплана-Майера систему расчета показателя HR, при этом заведомо бóльшая чувствительность этого метода не должна исключать статистически незначимые факторы для дальнейшего анализа, а полученные результаты не противоречат аналогичным данным по методу Каплана-Майера, но их дополняют.

С учетом данных, полученных в результате анализа выживаемости по методу Каплана-Майера и пропорциональной регрессии рисков Кокса, была предложена упрощенная схема прогнозирования по балльной системе, основанная на сравнении эквивалентных параметров HR и Exp( $\beta$ 1).

Стратификации риска в баллах проводилась по принципу расчета среднего арифметического и последующего округления до целых или полуторных значений параметров HR и Exp( $\beta$ 1). Оценка значимости факторов по параметрам HR и Exp( $\beta$ 1), а также расчет прогностических баллов отражены в таблице 18.

Таблица 18 – Стратификация факторов риска метастазирования УМ по баллам

	HR	Exp( $\beta$ 1)	Прогностический балл
T1	-	2,05	+1
T2	2,04	2,05	+2
T3	2,87	2,05	+2,5
T4	3,54	2,05	+3
Инвазия в цилиарное тело	2,44	0,82	+2
Экстраокулярный рост	1,87 (p=0,16)	-	+1
Эпителиоидноклеточный тип	2,50	2,07	+2
Мутация в гене <i>EIF1AX</i>	0,26	0,05	-4
Мутация в гене <i>SF3B1</i>	1,81 (p=0,06)	-	+1
Делеция гена <i>PPARG</i>	2,62	1,65	+2
Амплификация гена <i>MYC</i>	1,85	1,21	+1,5

Анализ был затруднен для фактора T1, поскольку этот показатель является минимальной базовой характеристикой размера опухоли, а также для прогностических факторов экстраокулярного роста и мутации в гене *SF3B1*, которые не продемонстрировали статистически значимого влияния на метастазирование при анализе выживаемости по методу Каплана-Майера, однако их неоднократно валидированная по данным других исследователей значимость позволяет установить этим факторам прогностическую ценность по меньшей мере эквивалентную 1 баллу. Мутация в гене *EIF1AX* обладает

парадоксальным обратным эффектом на риск метастазирования, что позволяет использовать ее в балльной системе в качестве отрицательного значения.

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 создания прогностической системы, включающей 3 категории прогнозов («благоприятный», «средний» и «неблагоприятный»), был проведен ROC-анализ данных прогностических баллов у пациентов с метастазами и без них. В рамках анализа оценивалась площадь под кривой (AUC) и статистическая значимость предложенной системы (рисунок 34). Для выбора двух значений прогностических баллов, формирующих границы трех прогностических категорий, были проанализированы данные чувствительности и специфичности (таблица 19).

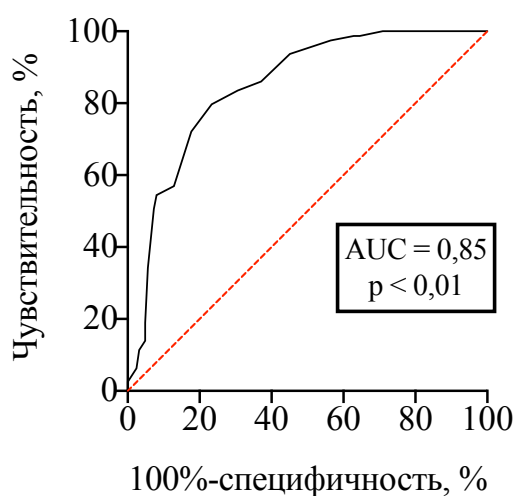


Рисунок 34 – ROC-кривая балльной системы у пациентов с метастазами и без метастазов

Таблица 19 – Данные чувствительности и специфичности ROC-анализа балльной системы у пациентов с метастазами и без метастазов

Баллы	Чувствительность, %	95% ДИ, %	Специфичность, %	95% ДИ, %	Коэфф-т вер-ти
> 1.25	100	95,36 - 100,0	23,39	16,81 - 31,57	1,305
> 2.25	100	95,36 - 100,0	29,03	21,77 - 37,56	1,409
> 3.25	98,73	93,17 - 99,94%	37,1	29,10 - 45,87	1,57
> 4.25	93,67	86,03 - 97,27%	54,84	46,07 - 63,32	2,074
> 5.25	83,54	73,85 - 90,12%	69,35	60,76 - 76,79	2,726
> 6.25	72,15	61,42 - 80,83	82,26	74,60 - 87,98	4,067
> 7.25	54,43	43,50 - 64,95	91,94	85,79 - 95,56	6,749
> 8.25	34,18	24,67 - 45,15	94,35	88,81 - 97,24	6,054
> 9.25	13,92	7,96 - 23,24	95,16	89,84 - 97,76	2,878
> 10.25	6,329	2,73 - 13,97	97,58	93,13 - 99,34	2,616

В качестве двух значений прогностических баллов, формирующих границы трех прогностических категорий, были выбраны интервалы «от 0 до 3», «от 4 до 6» и «от 7 до 12,5», что соответствует категориям «благоприятного», «среднего» и «неблагоприятного» прогнозов, соответственно. В дальнейшем система из трех прогностических категорий оценивалась по методу Каплана-Майера. Результаты представлены в таблице 20 и на рисунке 35.

Таблица 20 – Результаты сравнительного анализа между тремя прогностическими классами по методу Каплана-Майера

	HR	95% ДИ	p
«Благоприятный» vs «Средний»	4,91	2,49 – 9,70	<0,01
«Средний» vs «Неблагоприятный»	2,30	1,45 – 3,66	<0,01
«Благоприятный» vs «Неблагоприятный»	9,28	5,17 – 16,66	<0,01

Согласно полученным данным, статистически значимое влияние на выживаемость было продемонстрировано не только для кривой выживаемости в целом ( $p < 0,01$ ), но и при сравнении каждой из отдельно взятых категорий. В соответствии с этими данными были построены кривые выживаемости по методу Каплана-Майера.

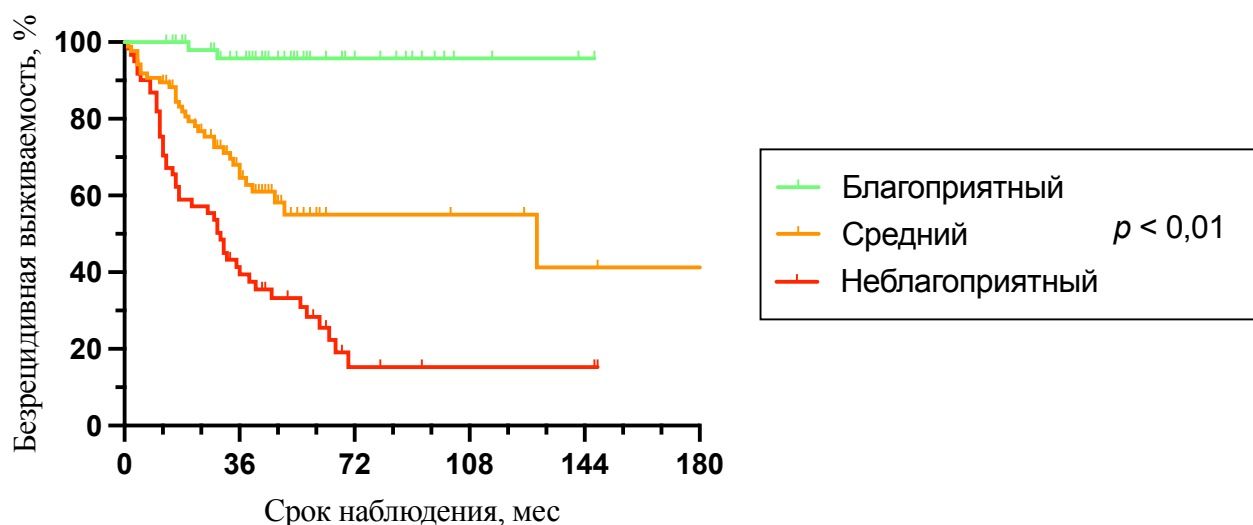


Рисунок 35 – Графики выживаемости пациентов с УМ по методу Каплана-Майера с благоприятным, средним и неблагоприятным прогнозами

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.

Таким образом, на основании анкетирования пациентов с УМ, которым показано органосохраняющее лечение, были определены факторы, статистически значимо влияющие на желание пациентов знать индивидуальный прогноз (страх перед выявлением высокого риска развития метастазов, возможность стабилизации психологического состояния) и 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 результатов анкетирования и общих клинических принципов, были определены абсолютные и относительные показания и противопоказания к прогностической ТИАБ. На основании результатов прогностического исследования 202 пациентов с УМ была разработана комплексная система прогнозирования риска метастазирования УМ, которая стратифицирует данные клинических, морфологических и молекулярно-генетических факторов по баллам, что позволило выделить три категории прогноза («неблагоприятный», «средний», «благоприятный»), продемонстрировавших состоятельность и достоверно различающихся между собой ( $p < 0,01$ ).



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

УМ – злокачественное новообразование сосудистой оболочки глаза, которое характеризуется высоким риском метастазирования вне зависимости от выбранного метода лечения [49]. Метастатическая форма заболевания развивается у 20-50% пациентов в течение 10 лет [50; 94; 96; 122]. За редким исключением, терапия метастатической болезни не улучшает драматически низкую выживаемость пациентов с УМ [38; 98].

Вероятность возникновения метастазов во многом определяется соотношением различных прогностических факторов опухоли – клинических, морфологических и молекулярно-генетических [13; 76; 160]. Оценка клинических факторов не требует инвазивной диагностики и доступна всем пациентам с УМ, однако не дает полного представления о риске метастазирования опухоли. Более весомый вклад в прогноз вносят морфологические и молекулярно-генетические особенности опухоли, анализ которых может осуществляться не только на операционном материале (в результате энуклеации или блокэксцизии), но и при проведении органосохраняющего лечения на материале ТИАБ [29; 62; 160].

С целью разработки целостной технологии и оценки результатов прогностической ТИАБ УМ, поставленные задачи исследования включали решение вопросов, связанных с хирургической техникой ТИАБ, интерпретацией данных цитологического и молекулярно-генетического исследований, безопасности процедуры, а также с комплексной прогностической системой индивидуальной стратификации риска метастазирования.

Для решения этих задач было проведено исследование, включавшее данные 470 пациентов с УМ, а также сформированы следующие подгруппы: основная ретроспективно-проспективная группа (n=156), у пациентов которой ТИАБ проводилась в сочетании с БТ или СТРХ «Гамма-Нож», контрольная ретроспективная группа (n=150), в которой проводилось лечение в виде БТ без ТИАБ и ретроспективная группа для разработки комплексной прогностической системы риска метастазирования (n=202), в которую были включены пациенты

с результатами прогностического тестирования вне зависимости от первичного метода лечения, а также группа пациентов для анализа потребности в индивидуальном риске метастазирования в формате анкетирования (n=94).

Среди многочисленных способов получения биопсийного материала именно ТИАБ получила наибольшую популярность ввиду относительной простоты и эффективности [29; 71; 106; 146; 162]. Хирургическая техника ТИАБ должна учитывать ряд особенностей, многие из которых не были описаны в контексте ее применения в клинической практике [108; 110; 162]. В связи с этим, первой задачей данного исследования стала разработка хирургического этапа оптимизированной технологии ТИАБ и апробация в клинической практике экспериментальных разработок, таких как использование витреоретинального порта в качестве проводника для биопсийной иглы и модифицированные тонкостенные иглы с различными углами заточки [12; 14]. В рамках решения этого вопроса было описано три хирургических доступа ТИАБ: трансовитреальный, транссклеральный и транскорнеальный. Трансовитреальный ТИАБ является наиболее универсальным доступом и в то же время наиболее целесообразным с точки зрения технической сложности и эргономики, в связи с чем этому методу отдавалось предпочтение в большинстве случаев, в том числе при опухолях с локализацией на крайней периферии за счет использования контактных линз для осмотра глазного дна с различными углами скоса, регулировки режимов освещения, положения оптической оси микроскопа и головы пациента, склерокомпрессии, а также эндовитреального инструментария при затрудненной визуализации опухоли. Транссклеральный доступ использовался при выраженной периферической локализации опухоли, в том числе с инвазией в цилиарное тело, и/или затрудненной визуализации, транскорнеальный – при УМ передней локализации (меланома радужки и/или цилиарного тела). Выбор хирургического доступа ТИАБ во многом обусловлен предпочтениями хирурга, в связи с чем в литературе встречаются исследования, где предпочтение может отдаваться любому из описанных способов [29; 106; 162]. В рамках данного исследования была показана возможность использования

всех трех хирургических доступов, однако описанные модификации хирургической техники позволяют рассматривать трансклереальную ТИАБ в качестве предпочтительного доступа.

Для повышения эффективности и безопасности ТИАБ также впервые были предложены следующие модификации: определена оптимальная зона наложения зажима на аспирационную трубку с помощью теоретического расчета по закону Пуазейля, а также описан способ тампонады интратуморального кровоизлияния сетчаткой. Поскольку применение ТИАБ в клинической практике подразумевает не только хирургическую технику, но и периоперационный период, был разработан целостный подход к ведению пациентов, которым выполняется эта процедура: определены показания и противопоказания, описаны алгоритмы периоперационного медикаментозного сопровождения и анестезиологическое пособие.

Оптимизация использования трансклереального подхода при ТИАБ позволила решить одну из проблем, связанных с неплотным контактом офтальмоапликатора с поверхностью склеры в ряде случаев при проведении БТ, что может приводить к неравномерному распределению дозы и, как следствие, неполному облучению опухоли и склерального канала ТИАБ с повышением риска эпибульбарной диссеминации. Для решения этой проблемы был предложен способ фиксации офтальмоапликатора с помощью инертного материала, позволяющий добиться более плотного контакта офтальмоапликатора со всей поверхностью склеры (заявка на изобретение № 2023103912). Такой способ, в отличие от ранее предложенных методов, подразумевает меньший уровень травматизации глаза и меньшую техническую сложность [57].

В литературе отсутствует информация об анализе материала СРЖ УМ. Разработанная технология получения СРЖ позволила получить информативный материал в 32% случаев в рамках эксперимента и была апробирована в клинической практике. Данная техника легла в основу способа биопсии внутриглазных новообразований (заявка на изобретение №2023103910).

Упоминания об исследованиях СРЖ при УМ в литературе отсутствуют, однако генетическое исследование влаги передней камеры при УМ задней или передней локализации позволило обнаружить специфические мутации в 0/11 и 6/8 случаях соответственно [85]. Полученные данные и информация из литературы указывают на необходимость дальнейших малоинвазивных исследований УМ.

Генетический анализ опухолевого материала является частью комплексного подхода к ведению пациентов с УМ [84; 87; 168]. В специализированных офтальмоонкологических центрах Европы и США такой анализ осуществляется не только на материале энуклеированных глаз, но и на материале ТИАБ, в то время как в отечественной практике прогнозирование на материале опухоли при проведении органосохраняющего лечения все еще не является общепризнанным.

По данным различных исследований, информативность ТИАБ зависит от размеров опухоли и техники получения биопсии (использование иглы или витреотома, а также диаметра инструмента) и варьирует от 40 до 100% [53; 71; 161]. Как правило, низкий уровень информативности может наблюдаться при биопсии опухолей небольшого размера [39; 42]. Согласно полученным данным, в 91% образцов вне зависимости от величины проминенции опухоли удалось провести молекулярно-генетический анализ с идентификацией специфичных для УМ мутаций, при опухолях с проминенцией более 4 мм – в 95%. Клеточный тип опухоли удалось определить в 80% образцов, что также в целом соответствует данным литературы.

По результатам предыдущих исследований, встречаемость мутаций *GNAQ* и *GNA11* составляет 57% и 41% соответственно, что соотносится с полученными данными: эти мутации обнаруживались в 44% и 43% случаях, соответственно [121; 173]. Мутации в генах *EIF1AX* и *SF3B1* и амплификация гена *MYC*, по данным литературы, встречаются в 8–21%, 10–24% и 70% соответственно [146; 173]. Представленная информация в целом соотносится с полученными результатами: встречаемость мутаций в гене *EIF1AX* в исследованной группе образцов составила 18%, мутаций в гене *SF3B1* – 18% и амплификации гена *MYC*

– 54%. Данных о частоте встречаемости делеции гена *PPARG* в литературе найти не удалось; проведенное исследование впервые определило этот показатель, частота встречаемости которого составила 31%. Анализ нарушений количества копий генов *PPARG* и *MYC* стал отличительной особенностью использованной прогностической панели, которая в своей основе использует многократно валидированные принципы прогностической классификации УМ, согласно которым, одними из основных прогностических факторов являются статусы хромосом 3 и 8 [6; 87; 135; 146; 160; 166; 168].

В рамках проведенного анализа взаимовстречаемости молекулярных нарушений было показано, что в большинстве случаев мутации *GNAQ* и *GNA11* являются взаимоисключающими ( $p < 0,01$ ), что полностью соответствует результатам предыдущих исследований [62; 128; 151]. Высокий уровень статистической значимости был продемонстрирован при анализе взаимовстречаемости молекулярных нарушений в генах *EIF1AX*, *PPARG* и *SF3B1*, что указывает на редкость сочетания этих мутаций, которые по своей прогностической сути во многом являются противоположными.

Значительное влияние на выживаемость, как при оценке риска развития метастазов по типу «случай–контроль», так и по методу Каплана-Майера, показала делеция гена *PPARG*. Высокая статистическая достоверность была ожидаемой ввиду тесной связи этой мутации с моносомией хромосомы 3, главного прогностического фактора УМ [166]. Полученные данные впервые продемонстрировали возможность использования этого молекулярного маркера для оценки прогноза пациентов с УМ.

По результатам анализа выживаемости пациентов с УМ, которым проводилась ТИАБ, было показано отсутствие значимого влияния мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11*, *EIF1AX*, *SF3B1* и амплификации гена *MYC* на безрецидивную выживаемость. С учетом данных предыдущих исследований, показавших исключительно иницирующую роль мутаций в генах *GNAQ* и *GNA11* в процессе онкогенеза УМ, полученные результаты по этим мутациям являются вполне ожидаемыми и соответствуют литературным данным [62; 128].

В рамках анализа выживаемости группы пациентов, которым проводилась ТИАБ, не удалось продемонстрировать прогностическую значимость мутаций в генах *EIF1AX* и *SF3B1* и амплификации *MYC*, что можно объяснить сроками наблюдения данного исследования (оценивалась только 3-летняя выживаемость, в то время как первое «плато» безрецидивной выживаемости отмечается в сроки после 5-6 лет), а в контексте анализа мутации *SF3B1* – после 7–10 лет [122; 160]. В то же время необходимо отметить полное отсутствие случаев метастазирования УМ у пациентов с мутацией в гене *EIF1AX*, что предварительно подтверждает потенциальную благоприятную прогностическую ценность этого молекулярно-генетического фактора. В подтверждение этому, в рамках анализа выживаемости всех пациентов, которым проводилось прогностическое исследование (n=202), отмечалось статистически значимое влияние на выживаемость мутаций в генах *EIF1AX* и *SF3B1*, а также амплификации гена *MYC*.

Согласно полученным данным, встречаемость веретенклеточной меланомы составила 79%, смешанноклеточной – 10% и эпителиоидноклеточной – 11%, что не в полной мере соответствует данным литературы: в других исследованиях, изучавших клеточный тип УМ на гистологическом материале энуклеированных глаз, веретенклеточная меланома обнаруживалась в 34–44% случаев, смешанноклеточная – в 35–62%, эпителиоидноклеточная – в 3–21% [13; 36; 120]. Представленную разницу во встречаемости веретенклеточной УМ, вероятно, можно объяснить определенной степенью клеточной гетерогенности опухоли, а также тем фактом, что цитологический анализ заведомо является более ограниченным в своих возможностях в сравнении с гистологическим [100; 152]. Анализ выживаемости в зависимости от клеточного типа опухоли продемонстрировал отсутствие статистически значимого влияния этого фактора, а также расхождения в заключениях при сравнении результатов цитологического анализа ТИАБ и гистологии впоследствии энуклеированных глаз. В то же время данные литературы указывают на высокую прогностическую значимость клеточного типа [41]. Различия в результатах можно объяснить как относительно

малыми сроками наблюдения в группе пациентов, которым проводилась ТИАБ, так и ограничениями метода, описанными выше [13; 36; 120; 152]. Также по результатам проведенного анализа представляется более целесообразным использование бинарной классификации в определении клеточного типа УМ, обусловленного выраженным сходством во влиянии на выживаемость смешанноклеточного и эпителиоидноклеточного типов УМ ( $p=0,91$ ), что соответствует выводу ранее проведенного исследования [13].

Технология ТИАБ широко применяется зарубежными офтальмоонкологами, однако так и не обрела должного признания в отечественной практике. В первую очередь это связано с опасениями по поводу потенциальной хирургической травмы, возникающей в результате пункции опухоли, а также риском системной диссеминации УМ [37; 68].

Клинические результаты прогностической ТИАБ оценивались с учетом различных типов кровоизлияний: претуморальных (38%), субретинальных (9%) и их комбинации (4%), а также субтотального гемофтальма (7%); в 42% случаев в результате ТИАБ интраоперационные кровотечения отсутствовали или имели характер клинически незначимых. Впервые было показано, что тип кровоизлияния не зависит ни от характеристик опухоли (размер и степень пигментации), ни от диаметра используемой биопсийной иглы. Детальный анализ типов кровоизлияний и факторов, влияющих на их возникновение, в литературе отсутствует. В ходе динамического наблюдения и консервативных методов лечения кровоизлияния резорбировались в 99% случаях, в 1 случае (<1%) потребовалась отсроченная витрэктомия с удалением гемофтальма, что соответствует данным предыдущих исследований, согласно которым необходимость хирургического удаления гемофтальма составляет до 3% [29; 71; 124]. По результатам сравнительного анализа параметров отслойки сетчатки, а также с учетом данных инструментальных исследований (ОКТ), было показано, что ТИАБ не осложняет течение вторичной отслойки сетчатки, что также соответствует данным литературы и позволяет сделать вывод об отсутствии

необходимости в дополнительных лечебных вмешательствах, таких как ограничительная лазерная коагуляция [71; 109].

В ходе сравнительного анализа также было показано отсутствие статистически значимой разницы в частоте экстрасклерального и продолженного роста, а также необходимости дополнительного лечения, в том числе энуклеации. Аналогичный анализ, по данным литературы, не проводился. Представленные данные дают основания утверждать, что использование оптимизированной хирургической техники ТИАБ опытными и специализированными офтальмологами не приводит к возникновению хирургической травмы глаза и не снижает эффективность органосохраняющего лечения УМ.

Одним из первых исследований, в которых ТИАБ проводилась с прогностической целью, стала работа Char D.H. et al., где аспирационный материал служил основой для определения клеточного типа УМ [41]. В этой работе авторы впервые провели анализ выживаемости пациентов, которым проводилась БТ с ТИАБ (в 90% случаев транссклерально) в сравнении с пациентами, которым проводилась только БТ при среднем сроке наблюдения 4 года. После стандартизации по возрасту, размерам и локализации опухоли относительный риск (RR, relative risk) составил  $0,988 \pm 0,255$ , что свидетельствовало об отсутствии влияния ТИАБ на возникновение метастазов УМ. В более поздней работе McCannel et al. сравнили выживаемость пациентов с УМ «средних» размеров (высота 3–8 мм), которым была проведена БТ и транссклеральная ТИАБ на базе их учреждения (Калифорнийский университет), с 5-летней выживаемостью пациентов с опухолями аналогичных размеров по результатам исследования COMS при среднем сроке наблюдения в  $31,7 \pm 15,0$  мес в изучаемой когорте — выживаемость составила 14% и 13%, соответственно [47; 106]. Наиболее актуальное исследование безопасности было проведено Bagger M.M. с выборкой в 1637 пациентов – согласно полученным данным, не было обнаружено статистически значимого увеличения отношения рисков (hazard ratio, HR) при анализе общей смертности (HR 1,07, ДИ 95% 0,89–1,26,



$p=0,47$ ) и специфической смертности (HR 1,11, ДИ 95% 0,89–1,39,  $p=0,35$ ) [29]. Хотя в рамках этих работ удалось продемонстрировать отсутствие риска системной диссеминации, ассоциированного с ТИАБ, дизайн исследований имеет общий принципиальный недостаток – отсутствие статистически однородных групп сравнения по основным клиническим параметрам. При проведении в рамках данного исследования сравнительного анализа выживаемости пациентов после брахитерапии с прогностической биопсией и группы пациентов, которым проводилась только брахитерапия, эта особенность дизайна была учтена – группы сравнения были стандартизированы по основным клиническим параметрам (возраст, пол, размер опухоли, инвазия в цилиарное тело, экстрасклеральный рост). Согласно полученным данным, уровень 3-летней выживаемости в группах составил 88% и 93% соответственно, 5-летней выживаемости – 88% и 91% соответственно, что не имеет статистически значимой разницы ( $p=0,34$  и  $p=0,51$  соответственно) и в целом соотносится с данными предыдущих исследований. Стоит отметить, что в группе БТ+ТИАБ по результатам молекулярно-генетического исследования пациентам с плохим прогнозом был рекомендован более частый режим мониторинга метастатической болезни посредством контрольных МРТ ОБП и КТ ОГК, что могло повлиять на более ранние сроки выявления метастазов в этой группе в сравнении с группой БТ. В то же время на протяжении первых лет наблюдения в обеих группах отмечались схожие показатели метастазирования, частоту которого, однако, можно было бы ожидать на более высоком уровне в том случае, если бы ТИАБ увеличивала риски диссеминации опухоли. Кроме того, пациенты, получившие дополнительную консультацию по прогнозу заболевания, вероятно, могут иметь более настороженное отношение к своему здоровью и чаще быть склонными следовать корректному протоколу мониторинга, что также могло повлиять на более частое выявление метастазов в этой группе пациентов.

Потребность в более детальном прогнозе связана с социально-экономическими факторами и личностными особенностями пациента, изучение

которых необходимо для улучшения уровня информированности и психологического состояния пациентов [7–9; 31; 52]. По данным двух исследований (из Великобритании и США), в которых изучалось желание пациентов с УМ знать индивидуальный прогноз своего заболевания по данным молекулярно-генетического тестирования, авторы сообщают о 97–98% желающих знать прогноз [31; 52]. По результатам проведенного анкетирования пациентов с УМ, о желании знать индивидуальный риск развития метастазов при проведении органосохраняющего лечения сообщили 77% пациентов. Представленную разницу можно объяснить различиями в менталитете пациентов и экономических условиях разных стран. Согласно полученным данным, наиболее важное значение имели ощущение контроля ситуации и возможность проведения профилактических мер, о чем заявили 78% опрошенных; для половины пациентов (47%) было важно планирование дальнейшей жизни для себя и/или близких; в меньшей мере (28%) опрошенных интересовало получение максимального количества информации о заболевании. Полученные результаты также расходятся с данными зарубежной литературы, в которой 64% пациентов в качестве мотивации указывали получение информации о заболевании, 45% — для планирования дальнейшей жизни для себя и 5% — для близких [31].

По результатам опроса, несмотря на достаточно высокое число желающих (77%), только половина (51% от всех) пациентов в конечном счете были согласны на проведение «прогностической» ТИАБ, что в первую очередь было обусловлено высокой стоимостью данного исследования (в 76% являлось основной причиной отказа). При проведении статистического анализа факторов, которые могут влиять на желание пациентов знать свой прогноз, было показано, что большинство социально-демографических и психологических факторов (возраст, образование, пол, метод лечения, тип населенного пункта, взгляд на жизнь (оптимизм или пессимизм), мнение о безопасности ТИАБ) не влияют на желание пациентов знать индивидуальный прогноз. Отсутствие желания знать свой прогноз в первую очередь обусловлено личными мотивами, связанными со

страхом перед выявлением высокого риска развития метастазов ( $p < 0,01$ ) и невозможностью стабилизации психологического состояния по результатам тестирования ( $p < 0,01$ ). По результатам статистического анализа, у таких пациентов «тревожного типа» страх перед выявлением высокого риска метастазирования ассоциирован с уровнем образования (чем выше уровень, тем больше беспокойства,  $p = 0,02$ ) и мнением об опасности процедуры биопсии (среди пациентов, испытывающих страх перед выявлением высокого риска, достоверно чаще встречаются те, кто сомневается в безопасности ТИАБ,  $p = 0,01$ ). В то же время меньшая часть пациентов (5%), отказавшихся от ТИАБ, указывала опасность в качестве основной причины отказа. Подобный анализ проводился впервые, аналогичные данные в литературе отсутствуют. На окончательное решение о проведении биопсии влияет ряд факторов, для которых были продемонстрированы статистически значимые различия в группах согласных и отказавшихся: возраст (чем моложе, тем больше согласных,  $p < 0,01$ ), уровень образования (чем выше уровень, тем больше согласных,  $p = 0,01$ ), метод проводимого лечения (пациенты, которым проводилась СТРХ «Гамма-Нож», соглашались чаще,  $p = 0,05$ ), а также мнение о том, что ТИАБ является потенциально опасной процедурой (сомневающиеся соглашались реже,  $p < 0,01$ ) — за исключением последнего, все указанные факторы имеют связь с уровнем доходов, на что указывают данные соответствующих отечественных исследований [2]. Это наглядно подтверждает тот факт, что большинство пациентов имеют потребность в индивидуальном прогнозировании риска метастазирования опухоли, однако в силу причин преимущественно материального характера могут не иметь такой возможности.

Разработка комплексной прогностической системы риска метастазирования УМ проводилась на данных всех пациентов с результатами прогностического тестирования и достаточными сроками наблюдения. За счет увеличения объема выборки и включения в нее в том числе пациентов с УМ «больших» размеров, которым была показана энуклеация, удалось сформировать репрезентативную выборку, в которой встречаются различные прогностические

факторы: размеры опухоли от T1 до T4, инвазия в цилиарное тело, экстраокулярный рост, различные виды клеточного типа и специфических мутаций в «генах-модификаторах» УМ. Статистический анализ проводился двумя методами (метод Каплана-Майера и пропорциональной регрессии рисков Кокса) для расширенной интерпретации прогностических данных, отношения рисков (HR) принимались эквивалентными к значениям  $\text{Exp}(\beta_1)$  [19]. Диапазон HR для размера опухоли по системе TNM по полученным данным составил 2,05-3,43, что в целом соответствует данным литературы: в анализе Shields C.L. et al. (2013) – 1,8-8,8, по данным Schmittel A. et al. (2004) – увеличение HR на 1,8 отмечалось на каждое увеличение размера УМ на 5 мм [129; 136]. Инвазия в цилиарное тело, согласно полученным данным, была ассоциирована с HR в 2,44, что также соответствует данным литературы: в исследовании Schmittel A. et al. – 3,1, в работе Seregard S. и Kock E. (2009) – 1,41; аналогичная тенденция прослеживается при анализе экстраокулярного роста – 1,87 в полученных данных, 2,5 в исследовании Schmittel A. et al. и 1,26 – из анализа Seregard S. и Kock E. [129; 132]. По результатам анализа HR для клеточного типа были получены показатели 2,10-2,31, частично соответствующие данным Seregard S. и Kock E. – 1,25, и данным Gambrelle J. et al. (2007) – 3,66 [75; 132]. Сравнительный изолированный анализ показателей HR для мутационных изменений затруднен, поскольку обычно молекулярно-генетические нарушения оцениваются в рамках общих классификационных подходов. По данным одного из наиболее крупных анализов генетических нарушений, HR для нарушений хромосомы 3 оценивался в диапазоне 2,84-6,68, для aberrаций хромосомы 8 – в 5,07-21,51; в собственном исследовании делеция гена PPARG, ассоциированная с изменениями в хромосоме 3, соответствовала HR 2,62, амплификация гена MYC, ассоциированного с изменениями в хромосоме 8, – с 1,86 [144]. Таким образом, представленные оценки в целом соответствовали данным других исследований, что позволило судить об их убедительности и возможности обоснованного использования в разработке комплексной прогностической системы риска метастазирования УМ.

Разработанная прогностическая система требует валидации на других данных пациентов с УМ и может потребовать определенной оптимизации. Также ее использование должно учитывать следующую особенность: отсутствие мутации в материале ТИАБ и соответствующее молекулярно-генетическое заключение не исключают наличия этой мутации в «нативной» опухоли. Такая особенность обусловлена опухолевой гетерогенностью, характерной для УМ, и требует дальнейшего всестороннего изучения [65; 97; 100; 110].

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали возможность получения информативного материала для проведения морфологического и молекулярно-генетического исследований при использовании оптимизированной технологии прогностической ТИАБ в клинической практике, доказали безопасность этого вмешательства и всесторонне обосновали важность прогнозирования риска метастазирования у пациентов с УМ.

## **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 веретенчаточного 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 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 PPARC, 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 (трансвitreальный, транссклеральный, 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 PPARC 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 СОКРАЩЕНИЙ**

БТ – брахитерапия

ВГД – внутриглазное давление

ДЗН – диск зрительного нерва

КТ – компьютерная томография

МКОЗ – максимально корригируемая острота зрения

МЗ – макулярная зона

МРТ – магнитно-резонансная томография

ОБП – органы брюшной полости

ОГК – органы грудной клетки

ОЗ – острота зрения

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

ТТТ – транспупиллярная термотерапия

СТРХ – стереотаксическая радиохирurgia

ТИАБ – тонкоигольная аспирационная биопсия

УЗИ – ультразвуковое исследование

УБМ – ультразвуковая биомикроскопия

УМ – увеальная меланома

ФАГ – флюоресцентная ангиография

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология: руководство для врачей / А. Ф. Бровкина, В. В. Вальский, Г. А. Гусев и др. – Москва : Медицина, 2002. – 424 р.
2. Гончарова К.С. Социально-демографические особенности региональной дифференциации доходов населения России / Гончарова К.С. // Вестник Научно-исследовательского центра корпоративного права, управления и венчурного инвестирования Сыктывкарского государственного университета. – 2019. – № 4. – С. 157-168.
3. Гришина Е.Е. Анализ офтальмоонкологической патологии у взрослого населения Москвы по данным МОКБ / Е.Е. Гришина, О.Ф. Федотова, В.М. Житнев // Опухоли и опухолеподобные заболевания органа зрения: Сб. науч. тр. научно-практической конференции. - М., 1998. - С. 23-24
4. Гришина Е.Е. Эпидемиология увеальной меланомы в г. Москве / Е. Е. Гришина, М. Ю. Лернер, Э. Г. Гемджян // Альманах клинической медицины. – 2017. – Т. 45. – № 4. – С. 321-325.
5. Гришина Е.Е. Диагностика метастатической увеальной меланомы. Что изменилось за 10 лет / Е. Е. Гришина, Е. А. Степанова, А. М. Богатырев // Альманах клинической медицины. – 2020. – Т. 47. – № 8. – С. 712-720.
6. Зарецкий А.Р. Опыт молекулярного тестирования увеальной меланомы I–III стадии при консервативном и хирургическом лечении / А. Р. Зарецкий, В. А. Яровая, Л. В. Чудакова и др. // Вопросы онкологии. – 2018. – Т. 5. – с. 625-632.
7. Миронова И.С. Качество жизни больных увеальной меланомой в зависимости от тактики лечебных мероприятий: дис. канд. мед. наук. – М., 2016 – 151 с.
8. Панова И.Е. Характеристика показателей качества жизни пациентов с меланомой хориоидеи при различных вариантах лечения / И. Е. Панова, А. С. Мочалова, Е. И. Гюнтнер и др. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – Т. 133. – № 14. – С. 288-291.
9. Саакян С.В. Анализ показателей качества жизни больных увеальной меланомой в отдаленном периоде в зависимости от возраста и вида лечения /

Саакян С.В., Амирян А.Г., Миронова И.С. // Российский офтальмологический журнал. – 2016. – Т. 9. – № 1. – С. 56-61.

10. Цыганков А.Ю. Прогностическая значимость диагностики молекулярно-генетических изменений и их корреляция с клинико-морфологическими характеристиками при увеальной меланоме: дис. канд. мед. наук. – М., 2015. – 135 с. / А. Ю. Цыганков.

11. Шишкин М.М., Резникова А.Б. Отдаленные результаты комбинированной эндорезекции больших меланом хориоидеи // Сб. тезисов научно-практической конференции “Современные технологии лечения витреоретинальной патологии”. М. - 2012. - С. 204-206

12. Яровая В.А. Прогностическая тонкоигольная аспирационная биопсия увеальной меланомы: дис. канд. мед. наук. – М., 2020. – 178 с.

13. Яровая В.А. Прогностическое значение клеточного типа увеальной меланомы / В. А. Яровая, А. В. Шацких, А. Р. Зарецкий и др. // Архив патологии. – 2021. – Т. 83. – № 4. – С. 14.

14. Яровая В.А. Оценка диссеминации увеальной меланомы по склеральному каналу при тонкоигольной аспирационной биопсии / В. А. Яровая, А. В. Шацких и др. // Офтальмохирургия. – 2020. – № 4. – С. 63-66.

15. Яровая В. А. Комплексный анализ прогностической значимости aberrаций хромосомы 8 у пациентов с увеальной меланомой / В. А. Яровая, А. А. Яровой, Л. В. Чудакова и др. // Advances in Molecular Oncology. – 2022. – Т. 9. – № 1. – С. 57-63.

16. Яровой А. А. Органосохраняющее и функционально-сберегающее лечение меланомы хориоидеи на основе брахитерапии с рутением-106 и лазерной транспупиллярной термотерапии: дис. докт. мед. наук. – М., 2010. – 362 с.

17. Яровой А.А. Стереотаксическая радиохирургия «Гамма-Нож» как альтернатива энуклеации у пациентов с увеальной меланомой (первые результаты) / А. А. Яровой, А. В. Голанов, С. Р. Ильялов и др. // Офтальмохирургия. – 2014. – № 2. – С. 74-80.

18. Яровой А.А. Эндовитреальное удаление увеальной меланомы: пятилетний

опыт //Эффективная фармакотерапия. – 2016. – №. 39. – С. 64-67. / А. А. Яровой, И. М. Горшков, О. В. Голубева. – 2016. – С. 64-67.

19. Abd ElHafeez S. Methods to Analyze Time-to-Event Data: The Cox Regression Analysis / S. Abd ElHafeez, G. D'Arrigo, D. Leonardis [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2021. – Vol. 2021. – P. 1-6.

20. Afshar A. R. Uveal melanoma: evidence for efficacy of therapy / A. R. Afshar, B. E. Damato // International Ophthalmology Clinics. – 2015. – Vol. 55. – № 1. – P. 23-43.

21. Akgul H. Intraocular biopsy using special forceps: a new instrument and refined surgical technique / H. Akgul, F. Otterbach, N. Bornfeld, B. Jurklies // British Journal of Ophthalmology. – 2011. – Vol. 95. – № 1. – P. 79-82.

22. Ali Z. Melanoma epidemiology, biology and prognosis. / Z. Ali, N. Yousaf, J. Larkin // EJC supplements : EJC : official journal of EORTC, European Organization for Research and Treatment of Cancer ... [et al.]. – 2013. – Vol. 11. – № 2. – P. 81-91.

23. Almony A. Tilting of Radioactive Plaques After Initial Accurate Placement for Treatment of Uveal Melanoma / A. Almony // Archives of Ophthalmology. – 2008. – Vol. 126. – № 1. – P. 65.

24. Amedee R. G. Fine-Needle Aspiration Biopsy / R. G. Amedee, N. R. Dhurandhar // The Laryngoscope. – 2001. – Vol. 111. – № 9. – P. 1551-1557.

25. Andreoli M. T. Epidemiological trends in uveal melanoma / M. T. Andreoli, W. F. Mieler, Y. I. Leiderman // British Journal of Ophthalmology. – 2015. – Vol. 99. – № 11. – P. 1550-1553.

26. Ardjomand N. Lymph node metastases arising from uveal melanoma / N. Ardjomand, P. Komericki, G. Langmann [et al.] // Wiener klinische Wochenschrift. – 2005. – Vol. 117. – № 11-12. – P. 433-435.

27. Augsburger J. Diagnostic transvitreal fine-needle aspiration biopsy of small melanocytic choroidal tumors in nevus versus melanoma category. / J. J. Augsburger, Z. M. Corrêa, S. Schneider [et al.] // Transactions of the American Ophthalmological Society. – 2002. – Vol. 100. – P. 225-32.

28. Avakyan K. The role of modern methods in early metastases diagnosis in

- patients with uveal melanoma / K. V. Avakyan, S. V. Saakyan, A. G. Amiryan [et al.] // Russian Electronic Journal of Radiology. – 2016. – Vol. 6. – № 4. – P. 8-18.
29. Bagger M. M. Intraocular biopsy of uveal melanoma Risk assessment and identification of genetic prognostic markers / M. M. Bagger // Acta Ophthalmologica. – 2018. – Vol. 96. – P. 1-28.
30. Balch C. Prognostic Factors Analysis of 17,600 Melanoma Patients: Validation of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging System / C. M. Balch, S.-J. Soong, J. E. Gershenwald [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2001. – Vol. 19. – № 16. – P. 3622-3634.
31. Beran T. Reactions to and Desire for Prognostic Testing in Choroidal Melanoma Patients / T. M. Beran, T. A. McCannel, A. L. Stanton [et al.] // Journal of Genetic Counseling. – 2009. – Vol. 18. – № 3. – P. 265-274.
32. Berus T. Clinical, Histopathological and Cytogenetic Prognosticators in Uveal Melanoma – A Comprehensive Review / T. Berus, A. Halon, A. Markiewicz [et al.] // Anticancer Research. – 2017. – Vol. 37. – № 12.
33. Brewington B. Brachytherapy for patients with uveal melanoma: historical perspectives and future treatment directions / B. Y. Brewington, Y. F. Shao, F. H. Davidorf, C. M. Cebulla // Clinical Ophthalmology. – 2018. – Vol. Volume 12. – P. 925-934.
34. Broggi G. Histopathology and Genetic Biomarkers of Choroidal Melanoma / G. Broggi, A. Russo, M. Reibaldi [et al.] // Applied Sciences. – 2020. – Vol. 10. – № 22. – P. 8081.
35. Bronkhorst I. H. G. Uveal Melanoma: The Inflammatory Microenvironment / I. H. G. Bronkhorst, M. J. Jager // Journal of Innate Immunity. – 2012. – Vol. 4. – № 5-6. – P. 454-462.
36. Callender Colonel G. R. Five Hundred Melanomas of the Choroid and Ciliary Body Followed Five Years Or Longer / G. R. Callender Colonel, H. C. Wilder, J. E. Ash // American Journal of Ophthalmology. – 1942. – Vol. 25. – № 8. – P. 962-967.
37. Caminal J. M. Epibulbar Seeding at the Site of a Transvitreal Fine-Needle Aspiration Biopsy / J. M. Caminal // Archives of Ophthalmology. – 2006. – Vol. 124.

– № 4. – P. 587.

38. Carvajal R. Metastatic disease from uveal melanoma: treatment options and future prospects / R. D. Carvajal, G. K. Schwartz, T. Tezel [et al.] // *British Journal of Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 101. – № 1. – P. 38-44.

39. Chang M. Y. Comparison of uveal melanoma cytopathologic sample retrieval in trans-scleral versus vitrectomy-assisted transvitreal fine needle aspiration biopsy / M. Y. Chang, T. A. McCannel // *British Journal of Ophthalmology*. – 2014. – Vol. 98. – № 12. – P. 1654-1658.

40. Char D. Iris ring melanoma: fine needle biopsy. / D. H. Char, A. E. Kemnitz, T. Miller, J. B. Crawford // *The British journal of ophthalmology*. – 2006. – Vol. 90. – № 4. – P. 420-2.

41. Char D. Irradiated Uveal Melanomas: Cytopathologic Correlation With Prognosis / D. H. Char, S. M. Kroll, T. Miller [et al.] // *American Journal of Ophthalmology*. – 1996. – Vol. 122. – № 4. – P. 509-513.

42. Cohen V. Transvitreal fine needle aspiration biopsy: The influence of intraocular lesion size on diagnostic biopsy result / V. M. L. Cohen, S. Dinakaran, M. A. Parsons, I. G. Rennie // *Eye*. – 2001. – Vol. 15. – № 2. – P. 143-147.

43. Coleman K. Prognostic Value of Morphometric Features and the Callender Classification in Uveal Melanomas / K. Coleman, J. P. A. Baak, P. J. van Diest, J. Mullaney // *Ophthalmology*. – 1996. – Vol. 103. – № 10. – P. 1634-1641.

44. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Assessment of Metastatic Disease Status at Death in 435 Patients With Large Choroidal Melanoma in the Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Archives of Ophthalmology*. – 2001. – Vol. 119. – № 5. – P. 670.

45. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Collaborative Ocular Oncology Group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Ophthalmology*. – 2012. – Vol. 8. – № 119. – P. 1596-603.

46. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Design and methods of a clinical trial for a rare condition: The collaborative ocular melanoma study / Collaborative

Ocular Melanoma Study Group // *Controlled Clinical Trials*. – 1993. – Vol. 14. – № 5. – P. 362-391.

47. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Development of Metastatic Disease After Enrollment in the COMS Trials for Treatment of Choroidal Melanoma / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Archives of Ophthalmology*. – 2005. – Vol. 123. – № 12. – P. 1639.

48. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. Screening for Metastasis From Choroidal Melanoma: The Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report 23 / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Journal of Clinical Oncology*. – 2004. – Vol. 22. – № 12. – P. 2438-2444.

49. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. The COMS Randomized Trial of Iodine 125 Brachytherapy for Choroidal Melanoma, III: Initial Mortality Findings / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Archives of Ophthalmology*. – 2001. – Vol. 119. – № 7. – P. 969.

50. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. The COMS Randomized Trial of Iodine 125 Brachytherapy for Choroidal Melanoma / Collaborative Ocular Melanoma Study Group // *Archives of Ophthalmology*. – 2006. – Vol. 124. – № 12. – P. 1684.

51. Collaborative Ocular Oncology Group Report Number 1: Prospective Validation of a Multi-Gene Prognostic Assay in Uveal Melanoma / M. D. Onken, L. A. Worley, D. H. Char [et al.] // *Ophthalmology*. – 2012. – Vol. 119. – № 8.

52. Cook S. Psychological aspects of cytogenetic testing of uveal melanoma: preliminary findings and directions for future research / S. A. Cook, B. Damato, E. Marshall, P. Salmon // *Eye*. – 2009. – Vol. 23. – № 3. – P. 581-585.

53. Correa Z. M. Sufficiency of FNAB aspirates of posterior uveal melanoma for cytologic versus GEP classification in 159 patients, and relative prognostic significance of these classifications / Z. M. Correa, J. J. Augsburger // *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2014. – Vol. 252. – № 1. – P. 131-135.

54. Coupland S. E. Routes of Extraocular Extension of Uveal Melanoma / S. E. Coupland, I. Campbell, B. Damato // *Ophthalmology*. – 2008. – Vol. 115. – № 10. –

P. 1778-1785.

55. Cunha Rola A. Multicenter External Validation of the Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online: An OOG Collaborative Study / A. Cunha Rola, A. Taktak, A. Eleuteri [et al.] // *Cancers*. – 2020. – Vol. 12. – № 2. – P. 477.
56. Damato B. Cytogenetics of Uveal Melanoma / B. Damato, C. Duke, S. E. Coupland [et al.] // *Ophthalmology*. – 2007. – Vol. 114. – № 10. – P. 1925-1931.e1.
57. Damato B. Local tumor control after <sup>106</sup>Ru brachytherapy of choroidal melanoma / B. Damato, I. Patel, I. R. Campbell [et al.] // *International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics*. – 2005. – Vol. 63. – № 2. – P. 385-391.
58. Decatur C. Driver Mutations in Uveal Melanoma / C. L. Decatur, E. Ong, N. Garg [et al.] // *JAMA Ophthalmology*. – 2016. – Vol. 134. – № 7. – P. 728.
59. Demirci H. Ring melanoma of the ciliary body: report on twenty-three patients / H. Demirci, C. L. Shields, J. A. Shields [et al.] // *Retina*. – 2002. – Vol. 22. – № 6. – P. 698-706.
60. DeParis S. External Validation of the Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online / S. W. DeParis, A. Taktak, A. Eleuteri [et al.] // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2016. – Vol. 57. – № 14. – P. 6116.
61. Diener-West M. A Review of Mortality From Choroidal Melanoma / M. Diener-West // *Archives of Ophthalmology*. – 1992. – Vol. 110. – № 2. – P. 245.
62. Dogrusöz M. Genetic prognostication in uveal melanoma / M. Dogrusöz, M. J. Jager // *Acta Ophthalmologica*. – 2018. – Vol. 96. – № 4. – P. 331-347.
63. Dogrusöz M. Uveal melanoma treatment and prognostication / M. Dogrusöz, M. J. Jager, B. Damato // *The Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 6. – № 2. – P. 186-196.
64. Dono M. Mutation frequencies of GNAQ, GNA11, BAP1, SF3B1, EIF1AX and TERT in uveal melanoma: detection of an activating mutation in the TERT gene promoter in a single case of uveal melanoma / M. Dono, G. Angelini, M. Cecconi [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2014. – Vol. 110. – № 4. – P. 1058-1065.
65. Durante M. Single-cell analysis reveals new evolutionary complexity in uveal melanoma / M. A. Durante, D. A. Rodriguez, S. Kurtenbach [et al.] // *Nature*



Communications. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 496.

66. Egan K. Epidemiologic aspects of uveal melanoma / K. M. Egan, J. M. Seddon, R. J. Glynn [et al.] // *Survey of Ophthalmology*. – 1988. – Vol. 32. – № 4. – P. 239-251.

67. Egger E. Maximizing local tumor control and survival after proton beam radiotherapy of uveal melanoma / E. Egger, A. Schalenbourg, L. Zografos [et al.] // *International Journal of Radiation Oncology\*Biography\*Physics*. – 2001. – Vol. 51. – № 1. – P. 138-147.

68. Eide N. Fine-needle aspiration biopsy and other biopsies in suspected intraocular malignant disease: a review / N. Eide, L. Walaas // *Acta Ophthalmologica*. – 2009. – Vol. 87. – № 6. – P. 588-601.

69. Eleuteri A. Enhancing survival prognostication in patients with choroidal melanoma by integrating pathologic, clinical and genetic predictors of metastasis / A. Eleuteri, B. Damato, S. E. Coupland, A. F. G. Taktak // *International Journal of Biomedical Engineering and Technology*. – 2012. – Vol. 8. – № 1. – P. 18.

70. Eskelin S. Tumor doubling times in metastatic malignant melanoma of the uvea Tumor progression before and after treatment / S. Eskelin // *Ophthalmology*. – 2000. – Vol. 107. – № 8. – P. 1443-1449.

71. Finn A. P. Choroidal tumor biopsy: A Review of the Current State and a Glance Into Future Techniques. / A. P. Finn, M. A. Materin, P. Mruthyunjaya // *Retina (Philadelphia, Pa.)*. – 2018. – Vol. 38 Suppl 1. – P. S79-S87.

72. Folberg R. The Prognostic Value of Tumor Blood Vessel Morphology in Primary Uveal Melanoma / R. Folberg, V. Rummelt, R. Parys-Van Ginderdeuren [et al.] // *Ophthalmology*. – 1993. – Vol. 100. – № 9. – P. 1389-1398.

73. Frizziero L. Uveal Melanoma Biopsy: A Review / L. Frizziero, E. Midenas, S. Trainiti [et al.] // *Cancers*. – 2019. – Vol. 11. – № 8. – P. 1075.

74. Furney S. SF3B1 mutations are associated with alternative splicing in uveal melanoma. / S. J. Furney, M. Pedersen, D. Gentien [et al.] // *Cancer discovery*. – 2013. – Vol. 3. – № 10. – P. 1122-1129.

75. Gambrelle J. Survival after primary enucleation for choroidal melanoma:

- changes induced by the introduction of conservative therapies / J. Gambrelle, J. D. Grange, M. Devouassoux Shisheboran [et al.] // Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2007. – Vol. 245. – № 5. – P. 657-663.
76. Gill H. S. Uveal melanoma prognostication: from lesion size and cell type to molecular class / H. S. Gill, D. H. Char // Canadian Journal of Ophthalmology. – 2012. – Vol. 47. – № 3. – P. 246-253.
77. Glasgow B. Quantitation of Tumor Seeding From Fine Needle Aspiration of Ocular Melanomas / B. J. Glasgow, H. H. Brown, A. Maria Zargoza, R. Y. Foos // American Journal of Ophthalmology. – 1988. – Vol. 105. – № 5. – P. 538-546.
78. Grewal D. S. Outcomes of 27-Gauge Vitrectomy-Assisted Choroidal and Subretinal Biopsy / D. S. Grewal, T. J. Cummings, P. Mruthyunjaya // Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina. – 2017. – Vol. 48. – № 5. – P. 406-415.
79. Group C.O.M.S. Accuracy of Diagnosis of Choroidal Melanomas in the Collaborative Ocular Melanoma Study / C. O. M. S. Group // Archives of Ophthalmology. – 1990. – Vol. 108. – № 9. – P. 1268.
80. Gunduz K. Exoresection and endoresection for uveal melanoma / K. Gunduz, N. Bechrakis // Middle East African Journal of Ophthalmology. – 2010. – Vol. 17. – № 3. – P. 210.
81. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions / D. Hanahan // Cancer Discovery. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 31-46.
82. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: The Next Generation / D. Hanahan, R. A. Weinberg // Cell. – 2011. – Vol. 144. – № 5. – P. 646-674.
83. Hanahan D. The Hallmarks of Cancer / D. Hanahan, R. A. Weinberg // Cell. – 2000. – Vol. 100. – № 1. – P. 57-70.
84. Hoiom V. The genetics of uveal melanoma: current insights / V. Hoiom, H. Helgadottir // The Application of Clinical Genetics. – 2016. – Vol. Volume 9. – P. 147-155.
85. Im D. Potential of Aqueous Humor as a Liquid Biopsy for Uveal Melanoma / D. H. Im, C.-C. Peng, L. Xu [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 11. – P. 6226.

86. Jager M. J. The Cancer Genome Atlas Project: An Integrated Molecular View of Uveal Melanoma / M. J. Jager, N. J. Brouwer, B. Esmali // *Ophthalmology*. – 2018. – Vol. 125. – № 8.
87. Jager M. Uveal melanoma / M. J. Jager, C. L. Shields, C. M. Cebulla [et al.] // *Nature Reviews Disease Primers*. – 2020. – Vol. 6. – № 1.
88. Jensen O. A. Malignant melanomas of the human uvea / O. A. Jensen // *Acta Ophthalmologica*. – 2009. – Vol. 48. – № 6. – P. 1113-1128.
89. Jensen O. A. Late complications of biopsy in intraocular tumors / O. A. Jensen, S. R. Andersen // *Acta Ophthalmologica*. – 2009. – Vol. 37. – № 5. – P. 568-575.
90. Jin E. Liquid Biopsy in Uveal Melanoma: Are We There Yet? / E. Jin, J. V. Burnier // *Ocular Oncology and Pathology*. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-16.
91. Johansson P. Deep sequencing of uveal melanoma identifies a recurrent mutation in *PLCB4* / P. Johansson, L. G. Aoude, K. Wadt [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 4.
92. Jovanovic P. Ocular melanoma: an overview of the current status. / P. Jovanovic, M. Mihajlovic, J. Djordjevic-Jocic [et al.] // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2013. – Vol. 6. – № 7. – P. 1230-44.
93. Kaliki S. Influence of Age on Prognosis of Young Patients with Uveal Melanoma: A Matched Retrospective Cohort Study / S. Kaliki, C. L. Shields, A. Mashayekhi [et al.] // *European Journal of Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 23. – № 2. – P. 208-216.
94. Kaliki S. Uveal melanoma: Estimating prognosis / S. Kaliki, C. Shields, J. Shields // *Indian Journal of Ophthalmology*. – 2015. – Vol. 63. – № 2. – P. 93.
95. Kim R. Histopathologic Analysis of Transvitreal Fine Needle Aspiration Biopsy Needle Tracts for Uveal Melanoma / R. S. Kim, P. Chevez-Barrios, M. E. Bretana [et al.] // *American Journal of Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 174. – P. 9-16.
96. Kujala E. Very Long-Term Prognosis of Patients with Malignant Uveal Melanoma / E. Kujala, T. Ma"kitie, T. Kivela" // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2003. – Vol. 44. – № 11. – P. 4651.
97. Lake S. Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Analysis of Uveal

- Melanoma with Extraocular Extension Demonstrates Heterogeneity of Gross Chromosomal Abnormalities / S. L. Lake, B. E. Damato, J. Dopierala [et al.] // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2011. – Vol. 52. – № 8. – P. 5559.
98. Lane A. M. Survival Rates in Patients After Treatment for Metastasis From Uveal Melanoma / A. M. Lane, I. K. Kim, E. S. Gragoudas // *JAMA Ophthalmology*. – 2018. – Vol. 136. – № 9. – P. 981.
99. Lange M. Digital PCR-Based T-cell Quantification–Assisted Deconvolution of the Microenvironment Reveals that Activated Macrophages Drive Tumor Inflammation in Uveal Melanoma / M. J. de Lange, R. J. Nell, R. N. Lalai [et al.] // *Molecular Cancer Research*. – 2018. – Vol. 16. – № 12. – P. 1902-1911.
100. Lange M. J. de. Scientific and clinical implications of genetic and cellular heterogeneity in uveal melanoma / M. J. de Lange, R. J. Nell, P. A. van der Velden // *Molecular Biomedicine*. – 2021. – Vol. 2. – № 1. – P. 25.
101. Mallet J. Implication of ultraviolet light in the etiology of uveal melanoma: A review / J. D. Mallet, S. P. Gendron, M.-C. Drigeard Desgarnier, P. J. Rochette // *Photochemistry and Photobiology*. – 2014. – Vol. 90. – № 1. – P. 15-21.
102. Margo C. E. The Collaborative Ocular Melanoma Study: An Overview / C. E. Margo // *Cancer Control*. – 2004. – Vol. 11. – № 5. – P. 304-309.
103. Martin M, Maßhöfer L, Temming P et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3. / et al. Martin M, Maßhöfer L, Temming P // *Nat Genet*. – 2013. – Vol. 45. – № 8. – P. 933-936.
104. Martin R. Is incisional biopsy of melanoma harmful? / R. C. G. Martin, C. R. Scoggins, M. I. Ross [et al.] // *The American Journal of Surgery*. – 2005. – Vol. 190. – № 6. – P. 927-932.
105. Mazloui M. Accuracy of The Cancer Genome Atlas Classification vs American Joint Committee on Cancer Classification for Prediction of Metastasis in Patients With Uveal Melanoma / M. Mazloui, P. Vichitvejpaisal, L. A. Dalvin, A. Yaghy // *JAMA Ophthalmology*. – 2020. – Vol. 138. – № 3. – P. 260.
106. McCannel T. A. Multi-Year Follow-up of Fine-Needle Aspiration Biopsy in

Choroidal Melanoma / T. A. McCannel, M. Y. Chang, B. L. Burgess // *Ophthalmology*. – 2012. – Vol. 119. – № 3. – P. 606-610.

107. McLean I. Modifications of Callender's Classification of Uveal Melanoma at the Armed Forces Institute of Pathology / I. W. McLean, W. D. Foster, L. E. Zimmerman, J. W. Gamel // *American Journal of Ophthalmology*. – 2018. – Vol. 195. – P. lvi-lx.

108. Medina C. Diagnostic Cytologic Features of Uveal Melanoma / C. A. Medina, C. V. Biscotti, N. Singh, A. D. Singh // *Ophthalmology*. – 2015. – Vol. 122. – № 8. – P. 1580-1584.

109. Miden E. Biopsies in Uveal Melanoma / E. Miden, R. Parrozzani // *Current Concepts in Uveal Melanoma*. – 2011. – P. 81-95.

110. Miller A. Uveal Melanoma with Histopathologic Intratumoral Heterogeneity Associated with Gene Expression Profile Discordance / A. K. Miller, M. J. Benage, D. J. Wilson, A. H. Skalet // *Ocular Oncology and Pathology*. – 2017. – Vol. 3. – № 2. – P. 156-160.

111. Modorati G. Gamma Knife Radiosurgery for Uveal Melanoma: A Retrospective Review of Clinical Complications in a Tertiary Referral Center / G. M. Modorati, R. Dagan, L. H. Mikkelsen [et al.] // *Ocular Oncology and Pathology*. – 2020. – Vol. 6. – № 2. – P. 115-122.

112. Molenkamp B. Non-Radical Diagnostic Biopsies Do Not Negatively Influence Melanoma Patient Survival / B. G. Molenkamp, B. J. R. Sluijter, B. Oosterhof [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2007. – Vol. 14. – № 4. – P. 1424-1430.

113. Moore A. Recurrent activating mutations of G-protein-coupled receptor *CYSLTR2* in uveal melanoma / A. R. Moore, E. Ceraudo, J. J. Sher [et al.] // *Nature Genetics*. – 2016. – Vol. 48. – № 6. – P. 675-680.

114. Nayman T. Uveal Melanoma Risk Factors: A Systematic Review of Meta-Analyses / T. Nayman, C. Bostan, P. Logan, M. N. Burnier // *Current Eye Research*. – 2017. – Vol. 42. – № 8. – P. 1085-1093.

115. Ndulue J. Ciliary Body Seeding after Pars Plana Transvitreal Fine-Needle Aspiration Biopsy of Choroidal Melanoma / J. Ndulue, A. Mashayekhi, C. L. Shields

// Journal of Ophthalmic and Vision Research. – 2020.

116. Olopade O. I. Cancer genetics in oncology practice / O. I. Olopade, G. Pichert // *Annals of Oncology*. – 2001. – Vol. 12. – № 7. – P. 895-908.
117. Pach J. Prognostic Factors in Choroidal and Ciliary Body Melanomas With Extrascleral Extension / J. M. Pach, D. M. Robertson, B. S. Taney [et al.] // *American Journal of Ophthalmology*. – 1986. – Vol. 101. – № 3. – P. 325-331.
118. Pandiani C. Focus on cutaneous and uveal melanoma specificities / C. Pandiani, G. E. Béranger, J. Leclerc [et al.] // *Genes & Development*. – 2017. – Vol. 31. – № 8. – P. 724-743.
119. Parrella P. Detection of c-myc amplification in uveal melanoma by fluorescent in situ hybridization / P. Parrella, O. L. Caballero, D. Sidransky, S. L. Merbs // *Investigative ophthalmology & visual science*. – 2001. – Vol. 42. – № 8. – P. 1679-84.
120. Paul E. V. Prognosis of malignant melanomas of the choroid and ciliary body / E. V. Paul, B. L. Parnell, M. Fraker // *International Ophthalmology Clinics*. – 1962. – Vol. 2. – № 2. – P. 387-402.
121. Prognosis of Uveal Melanoma in 500 Cases Using Genetic Testing of Fine-Needle Aspiration Biopsy Specimens / C. L. Shields, A. Ganguly, C. G. Bianciotto [et al.] // *Ophthalmology*. – 2011. – Vol. 118. – № 2. – P. 396-401.
122. Radivoyevitch T. Uveal melanoma: Long-term survival / T. Radivoyevitch, E. C. Zabor, A. D. Singh // *PLOS ONE*. – 2021. – Vol. 16. – № 5. – P. e0250939.
123. Raja V. Extraocular seeding of choroidal melanoma after a transretinal biopsy with a 25-gauge vitrector / V. Raja, A. Russo, S. Coupland [et al.] // *RETINAL Cases & Brief Reports*. – 2011. – Vol. 5. – № 3. – P. 194-196.
124. Reddy D. Vitrectomy and Vitrector Port Needle Biopsy of Choroidal Melanoma for Gene Expression Profile Testing Immediately before Brachytherapy / D. M. Reddy, L. B. Mason, J. O. Mason [et al.] // *Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 124. – № 9. – P. 1377-1382.
125. Reichstein D. New concepts in the molecular understanding of uveal melanoma / D. Reichstein // *Current Opinion in Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 28. – № 3. – P. 219-227.

126. Rietschel P. Variates of Survival in Metastatic Uveal Melanoma / P. Rietschel, K. S. Panageas, C. Hanlon [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23. – № 31. – P. 8076-8080.
127. Robertson A. Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma / A. G. Robertson, J. Shih, C. Yau [et al.] // *Cancer Cell*. – 2017. – Vol. 32. – № 2. – P. 204-220.e15.
128. Royer-Bertrand B. Comprehensive Genetic Landscape of Uveal Melanoma by Whole-Genome Sequencing / B. Royer-Bertrand, M. Torsello, D. Rimoldi [et al.] // *The American Journal of Human Genetics*. – 2016. – Vol. 99. – № 5. – P. 1190-1198.
129. Schmittel A. Independent prognostic factors for distant metastases and survival in patients with primary uveal melanoma / A. Schmittel, N. E. Bechrakis, P. Martus [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2004. – Vol. 40. – № 16. – P. 2389-2395.
130. Seddon J. A Prognostic Factor Study of Disease-Free Interval and Survival Following Enucleation for Uveal Melanoma / J. M. Seddon, D. M. Albert, P. T. Lavin, N. Robinson // *Archives of Ophthalmology*. – 1983. – Vol. 101. – № 12. – P. 1894-1899.
131. Seddon J. M. Death From Uveal Melanoma / J. M. Seddon // *Archives of Ophthalmology*. – 1987. – Vol. 105. – № 6. – P. 801.
132. Seregard S. Prognostic indicators following enucleation for posterior uveal melanoma / S. Seregard, E. Kock // *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. – 2009. – Vol. 73. – № 4. – P. 340-344.
133. Shah C. Intermittent and Chronic Ultraviolet Light Exposure and Uveal Melanoma / C. P. Shah, E. Weis, M. Lajous [et al.] // *Ophthalmology*. – 2005. – Vol. 112. – № 9. – P. 1599-1607.
134. Shain A. The genetic evolution of metastatic uveal melanoma / A. H. Shain, M. M. Bagger, R. Yu [et al.] // *Nature Genetics*. – 2019. – Vol. 51. – № 7. – P. 1123-1130.
135. Shain A. The genetic evolution of metastatic uveal melanoma / A. H. Shain, M. M. Bagger, R. Yu [et al.] // *Nature Genetics*. – 2019. – Vol. 51. – № 7. – P. 1123-1130.
136. Shields C. American Joint Committee on Cancer Classification of Posterior Uveal Melanoma (Tumor Size Category) Predicts Prognosis in 7731 Patients / C. L.

Shields, S. Kaliki, M. Furuta [et al.] // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120. – № 10. – P. 2066-2071.

137. Shields C. Choroidal melanoma: Clinical Features, Classification, and Top 10 Pseudomelanomas / C. L. Shields, J. Manalac, C. Das [et al.] // *Current Opinion in Ophthalmology*. – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 177-185.

138. Shields C. Clinical spectrum and prognosis of uveal melanoma based on age at presentation in 8,033 cases / C. L. Shields, S. Kaliki, M. Furuta [et al.] // *Retina*. – 2012. – Vol. 32. – № 7. – P. 1363-1372.

139. Shields C. Cytogenetic Abnormalities in Uveal Melanoma Based on Tumor Features and Size in 1059 Patients / C. L. Shields, E. A. T. Say, M. Hasanreisoglu [et al.] // *Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 124. – № 5.

140. Shields C. Diffuse versus nondiffuse small ( $\leq 3$  mm thickness) choroidal melanoma / C. L. Shields, S. Kaliki, M. Furuta, J. A. Shields // *Retina*. – 2013. – Vol. 33. – № 9. – P. 1763-1776.

141. Shields C. Iris melanoma / C. L. Shields, J. A. Shields, M. Materin [et al.] // *Ophthalmology*. – 2001. – Vol. 108. – № 1. – P. 172-178.

142. Shields C. L. Metastasis of Uveal Melanoma Millimeter-by-Millimeter in 8033 Consecutive Eyes / C. L. Shields // *Archives of Ophthalmology*. – 2009. – Vol. 127. – № 8. – P. 989.

143. Shields C. American joint committee on cancer staging of uveal melanoma / C. Shields, P. Mellen, S. Morton // *Oman Journal of Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 6. – № 2. – P. 116.

144. Shields C. Personalized Prognosis of Uveal Melanoma Based on Cytogenetic Profile in 1059 Patients over an 8-Year Period / C. L. Shields, E. A. T. Say, M. Hasanreisoglu [et al.] // *Ophthalmology*. – 2017. – Vol. 124. – № 10.

145. Shields C. Primary transpupillary thermotherapy for small choroidal melanoma in 256 consecutive cases: outcomes and limitations / C. L. Shields, J. A. Shields, N. Perez [et al.] // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 109. – № 2. – P. 225-234.

146. Shields C. Prognosis of Uveal Melanoma in 500 Cases Using Genetic Testing of Fine-Needle Aspiration Biopsy Specimens / C. L. Shields, A. Ganguly, C. G.



Bianciotto [et al.] // *Ophthalmology*. – 2011. – Vol. 118. – № 2.

147. Shields C. Prognostication of uveal melanoma is simple and highly predictive using The Cancer Genome Atlas (TCGA) classification: A review / C. Shields, L. Dalvin, P. Vichitvejpaisal [et al.] // *Indian Journal of Ophthalmology*. – 2019. – Vol. 67. – № 12. – P. 1959.

148. Shields C. Small Choroidal Melanoma with Chromosome 3 Monosomy on Fine-Needle Aspiration Biopsy / C. L. Shields, M. A. Materin, L. Teixeira [et al.] // *Ophthalmology*. – 2007. – Vol. 114. – № 10. – P. 1919-1924.

149. Shields J. The Differential Diagnosis of Posterior Uveal Melanoma / J. A. Shields, J. J. Augsburger, G. C. Brown, R. F. Stephens // *Ophthalmology*. – 1980. – Vol. 87. – № 6. – P. 518-522.

150. Shoushtari A. N. GNAQ and GNA11 mutations in uveal melanoma / A. N. Shoushtari, R. D. Carvajal // *Melanoma Research*. – 2014. – Vol. 24. – № 6. – P. 525-534.

151. Shoushtari A. N. GNAQ and GNA11 mutations in uveal melanoma / A. N. Shoushtari, R. D. Carvajal // *Melanoma Research*. – 2014. – Vol. 24. – № 6. – P. 525-534.

152. Sidawy M. K. Fine-needle aspiration of thyroid nodules / M. K. Sidawy, D. M. Del Vecchio, S. M. Knoll // *Cancer*. – 1997. – Vol. 81. – № 4. – P. 253-259.

153. Silva-Rodríguez P. GNAQ and GNA11 Genes: A Comprehensive Review on Oncogenesis, Prognosis and Therapeutic Opportunities in Uveal Melanoma / P. Silva-Rodríguez, D. Fernández-Díaz, M. Bande [et al.] // *Cancers*. – 2022. – Vol. 14. – № 13. – P. 3066.

154. Simpson E. The American Brachytherapy Society consensus guidelines for plaque brachytherapy of uveal melanoma and retinoblastoma / E. R. Simpson, B. Gallie, N. Laperriere [et al.] // *Brachytherapy*. – 2014. – Vol. 13. – № 1. – P. 1-14.

155. Singh A. Uveal Melanoma: Epidemiologic Aspects / A. Singh, L. Bergman, S. Seregard // *Ophthalmology Clinics of North America*. – 2005. – Vol. 18. – № 1. – P. 75-84.

156. Singh A. Chromosomal 3 and 8 status within hepatic metastasis of uveal

- melanoma / A. D. Singh, R. Tubbs, C. Biscotti [et al.] // Archives of pathology & laboratory medicine. – 2009. – Vol. 133. – № 8. – P. 1223-7.
157. Singh A. Congenital uveal melanoma? / A. D. Singh, L. A. Schoenfield, B. C. Bastian [et al.] // Survey of Ophthalmology. – 2016. – Vol. 61. – № 1. – P. 59-64.
158. Singh A. D. Prognostic factors in uveal melanoma / A. D. Singh, C. L. Shields, J. A. Shields // Melanoma Research. – 2001. – Vol. 11. – № 3. – P. 255-263.
159. Singh A. D. Uveal Melanoma: Trends in Incidence, Treatment, and Survival / A. D. Singh, M. E. Turell, A. K. Topham // Ophthalmology. – 2011. – Vol. 118. – № 9. – P. 1881-1885.
160. Singh A. D. Estimating Cured Fractions of Uveal Melanoma / A. D. Singh, E. C. Zabor, T. Radivoyevitch // JAMA Ophthalmology. – 2021. – Vol. 139. – № 2.
161. Singh A. Fine-needle aspiration biopsy of uveal melanoma: outcomes and complications / A. D. Singh, C. A. Medina, N. Singh [et al.] // British Journal of Ophthalmology. – 2016. – Vol. 100. – № 4. – P. 456-462.
162. Singh A. Fine Needle Aspiration Biopsy in Uveal Melanoma: Technique, Complications, and Outcomes / A. Sellam, L. Desjardins, R. Barnhill [et al.] // American Journal of Ophthalmology. – 2016. – Vol. 162. – P. 28-34.e1.
163. Singh A. The Collaborative Ocular Melanoma Study / A. Singh, T. Kivela // Ophthalmology Clinics of North America. – 2005. – Vol. 18. – № 1. – P. 129-142.
164. Singh A. Primary transpupillary thermotherapy of “small” choroidal melanoma: is it safe? / A. D. Singh, T. Kivela, S. Seregard [et al.] // British Journal of Ophthalmology. – 2008. – Vol. 92. – № 6. – P. 727-728.
165. Singh A. Uveal melanoma in young patients / A. D. Singh, C. L. Shields, J. A. Shields, T. Sato // Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960). – 2000. – Vol. 118. – № 7. – P. 918-23.
166. Souri Z. Loss of BAP1 Is Associated with Upregulation of the NFkB Pathway and Increased HLA Class I Expression in Uveal Melanoma / Z. Souri, A. P. A. Wierenga, C. van Weeghel [et al.] // Cancers. – 2019. – Vol. 11. – № 8. – P. 1102.
167. Trainee P. Biopsy with the New Essen Biopsy Forceps / P. G. Trainee, K. J. E. Schedler, M. G. S. Brusa, E. B. Rodrigues // Case Reports in Ophthalmological

Medicine. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-3.

168. Uveal melanoma: From diagnosis to treatment and the science in between / C. Chattopadhyay, D. W. Kim, D. S. Gombos [et al.] // *Cancer*. – 2016. – Vol. 122. – № 15. – P. 2299-2312.

169. Vichitvejpaisal P. Genetic Analysis of Uveal Melanoma in 658 Patients Using the Cancer Genome Atlas Classification of Uveal Melanoma as A, B, C, and D / P. Vichitvejpaisal, L. A. Dalvin, M. Mazloumi [et al.] // *Ophthalmology*. – 2019. – Vol. 126. – № 10.

170. Virgili G. Incidence of Uveal Melanoma in Europe / G. Virgili, G. Gatta, L. Ciccolallo [et al.] // *Ophthalmology*. – 2007. – Vol. 114. – № 12. – P. 2309-2315.e2.

171. Yang J. Treatment of uveal melanoma: where are we now? / J. Yang, D. K. Manson, B. P. Marr, R. D. Carvajal // *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. – 2018. – Vol. 10. – P. 175883401875717.

172. Yarovoy A. A. Which Choroidal Melanoma Should be Treated with Primary Transpupillary Thermotherapy? Our Experience from 78 Patients / A. A. Yarovoy, D. A. Magaramov, E. S. Bulgakova // *European Journal of Ophthalmology*. – 2010. – Vol. 20. – № 1. – P. 186-193.

173. Yavuzyigitoglu S. Uveal Melanomas with SF3B1 Mutations / S. Yavuzyigitoglu, A. E. Koopmans, R. M. Verdijk [et al.] // *Ophthalmology*. – 2016. – Vol. 123. – № 5. – P. 1118-1128.

174. Young T. Transscleral Fine-Needle Aspiration Biopsy of Macular Choroidal Melanoma / T. A. Young, B. L. Burgess, N. P. Rao [et al.] // *American Journal of Ophthalmology*. – 2008. – Vol. 145. – № 2. – P. 297-302.e1.

175. Zloto O. Gender Differences in Clinical Presentation and Prognosis of Uveal Melanoma / O. Zloto, J. Pe'er, S. Frenkel // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. – 2013. – Vol. 54. – № 1. – P. 652.