

СРАВНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КЛАССИФИКАЦИЙ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

А. А. Яровой — ФГАУ «НМИЦ “МНТК ‘Микрохирургия глаза’ им. акад. С. Н. Федорова”» Минздрава России, заведующий отделом офтальмоонкологии и радиологии доктор медицинских наук; **В. А. Яровая** — ФГАУ «НМИЦ “МНТК ‘Микрохирургия глаза’ им. акад. С. Н. Федорова”» Минздрава России, врач-офтальмолог, аспирант отдела офтальмоонкологии и радиологии; **Л. В. Чудакова** — ООО «Евроген Лаб», сотрудник отдела молекулярной онкологии; **А. М. Чочаева** — ФГАУ «НМИЦ “МНТК ‘Микрохирургия глаза’ им. акад. С. Н. Федорова”» Минздрава России, ординатор отдела офтальмоонкологии и радиологии; **Р. А. Логинов** — ФГАУ «НМИЦ “МНТК ‘Микрохирургия глаза’ им. акад. С. Н. Федорова”» Минздрава России, врач-офтальмолог, аспирант отдела офтальмоонкологии и радиологии; **С. С. Клеянкина** — ФГАУ «НМИЦ “МНТК ‘Микрохирургия глаза’ им. акад. С. Н. Федорова”» Минздрава России, врач отделения офтальмоонкологии и радиологии; **А. Р. Зарецкий** — ООО «Евроген Лаб», руководитель отдела молекулярной онкологии компании.

COMPARISON OF UVEAL MELANOMA MOLECULAR CLASSIFICATION SYSTEMS

A. A. Yarovoy — S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Head of Department of Ocular Oncology and Radiology, DSc; **V. A. Yarovaia** — S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Postgraduate of Department of Ocular Oncology and Radiology, ophthalmologist; **L. V. Chudakova** — Evrogen Laboratory LLC, employee of Department of Molecular Oncology; **A. M. Chochaeva** — S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, fellow of Department of Ocular Oncology and Radiology; **R. A. Loginov** — S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Postgraduate of Department of Ocular Oncology and Radiology, ophthalmologist; **S. S. Kleyankina** — S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, oncologist of Department of Ocular Oncology and Radiology, PhD; **A. R. Zaretsky** — Evrogen Laboratory LLC, Head of Department of Molecular Oncology.

Дата поступления — 15.11.2018 г.

Дата принятия в печать — 06.12.2018 г.

Яровой А. А., Яровая В. А., Чудакова Л. В., Чочаева А. М., Логинов Р. А., Клеянкина С. С., Зарецкий А. Р. Сравнение молекулярных классификаций увеальной меланомы. Саратовский научно-медицинский журнал 2018; 14 (4): 898–900.

Цель: провести комплексный анализ увеальной меланомы (УМ) со сравнением цитогенетической и мутационной классификаций. **Материал и методы.** За период с 2016 по 2018 г. генетический анализ УМ выполнен у 154 пациентов как при проведении органосохраняющего лечения (n=100), так и при энуклеации (n=54). Выполнен анализ моносомии хромосомы 3, уровень экспрессии белка BAP1, мутации в генах GNAQ, GNA11, EIF1AX, SF3B1 и TERT в ДНК, определяли амплификацию гена MYC и делецию гена PPARG. В группе из 66 пациентов проведен анализ соотношения молекулярно-генетической и цитогенетической классификации. **Результаты.** Совпадение двух классификаций зафиксировано лишь в 21% случаев. Кроме того, выявлены сочетания нарушений, считающиеся взаимоисключающими. **Заключение.** Прогностическое значение несовпадения двух классификаций и сочетание взаимоисключающих нарушений в настоящее время неизвестно. Для выяснения прогностической роли выявленных феноменов необходимы последующие исследования.

Ключевые слова: Увеальная меланома, тонкоигольная аспирационная биопсия, генетические тесты, прогностическая биопсия, мутации.

Yarovoy AA, Yarovaia VA, Chudakova LV, Chochaeva AM, Loginov RA, Kleyankina SS, Zaretsky AR. Comparison of uveal melanoma molecular classification systems. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2018; 14 (4): 898–900.

Purpose: to compare cytogenetic and mutational classifications of uveal melanoma (UM) in comprehensive analysis. **Material and Methods.** UM tissue from 154 eyes treated by enucleation or eye-sparing treatment was analyzed. Analysis included FISH for monosomy 3 and 8q gain, PCR for GNAQ, GNA11, EIF1AX and SF3B1 mutations and immunohistochemistry for BAP1. The group of 66 patients was used to compare cytogenetic and mutational classifications of uveal melanoma. **Results.** Discrepancy between cytogenetic and mutational classifications was revealed in 79% of cases. Unusual combination of EIF1AX mutation with monosomy 3 or BAP1 inactivation was seen. **Conclusion.** Prognostic significance of the discrepancy between the two UM classifications is currently unknown. Further research is needed.

Key words: Uveal melanoma, fine needle aspiration biopsy, genetic testing, prognostic biopsy, mutations.

Введение. Увеальная меланома (УМ) — наиболее часто встречающаяся внутриглазная злокачественная опухоль у взрослых.

Риск развития метастазов при увеальной меланоме (УМ) вне зависимости от метода лечения составляет 30–50% в течение 10 лет [1–3]. При появлении метастазов УМ остается инкурабельным заболеванием: лишь 15% пациентов переживают период в 1 год [1, 2]. В связи с этим наиболее актуальным направлением в изучении УМ является поиск методов раннего выявления небольших метастатических очагов и разработка эффективной адъювантной терапии, для чего требуется поиск пациентов с высоким риском развития метастатической болезни.

В последнее десятилетие основным фактором риска развития метастатической болезни при УМ признан генетический, основанный на анализе молекулярных нарушений в ткани опухоли [4, 5].

Существование трех классификаций определения риска развития метастатической болезни (цитогенетическая [6, 7], молекулярно-генетическая (мутационная) [8, 9] и экспрессионная [10, 11] (таблица))

было доказано различными авторами в независимых исследованиях [12]. Выделяют «хороший», «средний», «плохой» и «очень плохой» прогноз при УМ на основании выявляемых нарушений [5]. Однако маркеры молекулярных классов известных классификаций существенно отличаются, что обуславливает необходимость сравнения прогностической ценности различных молекулярных классификаций УМ. По данным литературы, сравнение цитогенетической и молекулярно-генетической классификаций не проводилось.

Цель: провести комплексный анализ увеальной меланомы со сравнением цитогенетической и мутационной классификаций.

Материал и методы. За период с 2016 по 2018 г. у 154 пациентов осуществлен генетический анализ УМ при проведении энуклеации (n=54), а также при проведении органосохраняющего лечения (n=100). При органосохраняющем лечении у 83 пациентов материал опухоли получали методом тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) перед брахитерапией.

Ответственный автор — Яровая Вера Андреевна
Тел.: +7 (916) 2344552
E-mail: verandreevna@gmail.com

Основные молекулярные классы увеальной меланомы и их прогностическая значимость

Метод	Маркеры молекулярных классов при увеальной меланоме			
	Тип I: благоприятный прогноз		Тип II: неблагоприятный прогноз	
	Класс 1 [IA]: «хороший» прогноз	Класс 2 [IB]: «средний» прогноз	Класс 3 [IIA]: «плохой» прогноз	Класс 4 [IIB]: «очень плохой» прогноз
Цито-генетический	Дисомия по хромосоме 3		Потеря хромосомы 3	
	Дисомия по хромосоме 8	Аберрации хромосомы 8 (8q↑ ± 8p↓)	Дисомия по хромосоме 8	Аберрации хромосомы 8 (8q↑ ± 8p↓)
Мутационный	Отсутствие инактивации гена <i>BAP1</i>		Инактивация гена <i>BAP1</i>	
	Мутации в гене <i>EIF1AX</i>	Мутации в гене <i>SF3B1</i> или <i>SRSF2</i>	–	Мутации в гене <i>SF3B1</i> или <i>SRSF2</i>
Экспрессионный	Экспрессионный тип 1		Экспрессионный тип 2	
	Отсутствие экспрессии гена <i>PRAME</i>	Экспрессия гена <i>PRAME</i>	Отсутствие экспрессии гена <i>PRAME</i>	Экспрессия гена <i>PRAME</i>

Примечание: 8q↑ — увеличение количества копий длинного плеча хромосомы 8 (8q), 8p↓ — уменьшение количества копий короткого плеча хромосомы 8 (8p); экспрессионные типы 1 и 2 — многокомпонентные маркеры: принадлежность образца УМ к одному из них определяется по специальному алгоритму с использованием данных об уровне экспрессии мРНК 15 генов в опухолевых клетках.

ей (БТ), у 2 пациентов — перед стереотаксическим облучением на установке «Гамма-нож». Эндорезекция опухоли выполнена у 12 пациентов, блокэкзцизия у трех. Средний возраст пациентов составил 53,6 года. Мужчин было 52 (44%), женщин 102 (66%). Средняя высота опухоли составила 7,5±2,4 мм (от 1,4 до 19,5 мм), протяженность 13,2±3,2 мм (от 2,1 до 20,6 мм). ТИАБ выполняли по ранее описанной методике [13]: опухоли преэкваториальной локализации пунктировали транссклерально короткой иглой 30G, трансвентральный доступ через pars plana с применением длинной иглы 25G или 27G использовали при постэкваториальном расположении опухолей. Предложенные тонкостенные иглы позволяли получать увеличенный объем опухолевого материала, достаточный для проведения всех необходимых исследований. После хирургического удаления опухоли использовали парафиновые блоки с фиксированной формалином опухолевой тканью.

Цитогенетическая классификация основывалась на тестировании образцов на потерю одной из копий хромосомы 3 и увеличение количества копий длинного плеча хромосомы 8 с определением методом FISH амплификации региона 8q24.21 (MYC) и делеции региона 3p25.2 (PPARG).

Для построения молекулярно-генетической классификации исследуемые образцы тестировали на мутации в «горячих точках» генов *EIF1AX* (экзоны 1 и 2) и *SF3B1* (экзон 14) и на инактивацию гена *BAP1*. Анализ мутаций в генах *GNAQ* (экзон 5), *GNA11* (экзон 5), *EIF1AX* (экзоны 1, 2 и 6), *SF3B1* (экзоны 14 и 15) и *TERT* (промоторная область) в ДНК проводили методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР. Иммуноцитохимическим или иммуногистохимическим методом оценивали уровень экспрессии белка *BAP1*.

Результаты. Сравнение молекулярно-генетической и цитогенетической классификаций проведено в группе из 66 образцов. Совпадение молекулярно-генетического и цитогенетического профиля выявлено лишь в 14 (21%) случаях. Еще в 9 (14%) случаях цитогенетическая классификация «ухудшила» прогноз относительно молекулярно-генетической, в 8 (12%) случаях, наоборот, прогноз «ухудшила» мо-

лекулярно-генетическая классификация. Кроме того, 32 (48%) случая по молекулярно-генетической классификации отнесены к классу 0: не имеет прогностической интерпретации в настоящее время. Проведенное исследование выявило в 5 случаях феномен одновременного сочетания мутаций в гене *EIF1AX* с моносомией 3 (n=3) или с инактивацией гена *BAP1* (n=2), которые считаются взаимоисключающими. Еще в одном случае отмечено одновременное сочетание мутации гена *EIF1AX*, инактивации гена *BAP1* и моносомии 3.

Обсуждение. Выявленное в нашем исследовании несоответствие цитогенетической и молекулярно-генетической классификаций и существование нестандартных мутационных профилей требует дальнейшего изучения и интерпретации, в том числе с определением их прогностических значений. В работе М.А. Klufas et al. (2017) [14] продемонстрированы данные о существенном проценте расхождений между цитогенетической и экспрессионной классификациями УМ, но также без оценки прогностической значимости этих расхождений [15]. Для выяснения природы выявленных различий и их прогностической роли необходимы дальнейшие исследования.

Выводы:

1. Объем тканевого материала УМ, получаемого при ТИАБ при проведении органосохраняющего лечения, позволяет выполнять полноценное мультимаркерное лабораторное тестирование.

2. Впервые проведен сравнительный анализ молекулярно-генетической и цитогенетической классификаций, по результатам которого соответствие между ними выявлено лишь в 21% случаев.

3. Обнаружен феномен одновременного сочетания нарушений в опухоли, традиционно считающихся взаимоисключающими, что требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов не заявляется.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — А.А. Яровой, А.Р. Зарецкий; получение и обработка данных — А.А. Яровой, С.С. Клеянкина, Р.А. Логинов, А.Р. Зарецкий, В.А. Яровая; анализ и интерпретация — В.А. Яровая, Л.В. Чудакова, А.М. Чочаева, А.А. Яровой, А.Р. Зарецкий; написа-

ние статьи — В. А. Яровая, А. М. Чочаева, Л. В. Чудачкова, Р. А. Логинов; утверждение рукописи для публикации — А. А. Яровой.

References (Литература)

1. Damato BE, Heimann H, Kalirai H, et al. Age, survival predictors, and metastatic death in patients with choroidal melanoma: tentative evidence of a therapeutic effect on survival. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132 (5): 605–13.
2. Nathan P, Cohen V, Coupland S, et al. Uveal melanoma UK national guidelines. *European Journal of Cancer* 2016; 51 (16): 2404–12.
3. Yang J, Manson DK, Marr BP, et al. Treatment of uveal melanoma: where are we now. *Ther Adv Med Oncol* 2018; 10: 1758834018757175.
4. Yarovaya VA, Kleyankina SS, Golubeva OV, et al. Prognostic molecular "portrait" of uveal melanoma. *Sovremennye tekhnologii v ophthalmologii* 2017; (4): 215–8. (Яровая В. А., Клейанкина С. С., Голубева О. В., и др. Прогностический молекулярно-генетический «портрет» увеальной меланомы. *Современные технологии в офтальмологии* 2017; (4): 215–8).
5. Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, et al. The biology of uveal melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36 (1): 109–40.
6. Sisley K, Rennie IG, Parsons MA, et al. Abnormalities of chromosomes 3 and 8 in posterior uveal melanoma correlate with prognosis. *Genes, Chromosomes & Cancer* 1997; 19 (1): 22–8.
7. Van den Bosch T, van Beek JG, Vaarwater J, et al. Higher percentage of FISH-determined monosomy 3 and 8q amplification in uveal melanoma cells relate to poor patient prognosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2012; 53 (6): 2668–74.
8. Martin M, Masshofer L, Temming P, et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and

SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3. *Nature Genetics* 2013; 45 (8): 933–6.

9. Yavuziyigitoglu S, Koopmans AE, Verdijk RM, et al. Uveal melanomas with SF3B1 mutations: a distinct subclass associated with late-onset metastases. *Ophthalmology* 2016; 123 (5): 1118–28.
10. Onken MD, Worley LA, Ehlers JP, et al. Gene expression profiling in uveal melanoma reveals two molecular classes and predicts metastatic death. *Cancer Research* 2004; 64 (20): 7205–9.
11. Onken MD, Worley LA, Char DH, et al. Collaborative Ocular Oncology Group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma. *Ophthalmology* 2012; 119 (8): 1596–603.
12. Yarovaya VA, Yarovoy AA, Kleyankina SS, et al. Uveal melanoma molecular testing: findings. *Sovremennye tekhnologii v ophthalmologii* 2018; (4): 297–9. (Яровая В. А., Яровой А. А., Клейанкина С. С., и др. Молекулярное тестирование увеальной меланомы: Находки. *Современные технологии в офтальмологии* 2018; (4): 297–9).
13. Yarovaya VA, Kleyankina SS, Yarovoy AA, et al. Prognostic biopsy of uveal melanoma: technique, pathology and genetic testing. *Sovremennye tekhnologii v ophthalmologii* 2017; (1): 375–7. (Яровая В. А., Клейанкина С. С., Яровой А. А., и др. «Прогностическая» биопсия меланомы хориоидеи: техника, морфологическая и молекулярно-генетическая диагностика. *Современные технологии в офтальмологии* 2017; (1): 375–7).
14. Klufas MA, Richter E, Itty S, et al. Comparison of Gene Expression Profiling and Chromosome 3 Analysis by Fluorescent in situ Hybridization and Multiplex Ligation Probe Amplification in Fine-Needle Aspiration Biopsy Specimens of Uveal Melanoma. *Ocul Oncol Pathol* 2017; 4 (1): 16–20.
15. Bellerive C, Grossniklaus HE, Singh AD. Prognostication for Uveal Melanoma: Are Two Tests Better than One? *Ocul Oncol Pathol* 2017; 3 (4): 301–3.

УДК 617.723:616–006.81

Оригинальная статья

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ БИОМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ЛОКАЛИЗАЦИИ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ ПО ДАННЫМ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ДУПЛЕКСНОГО СКАНИРОВАНИЯ ОРБИТЫ

Б. М. Азнабаев — ФГБОУ ВО «Башкирский ГМУ» Минздрава России, заведующий кафедрой офтальмологии с курсом ИДПО, профессор, доктор медицинских наук; **А. А. Александров** — ФГБОУ ВО «Башкирский ГМУ» Минздрава России, доцент кафедры офтальмологии БГМУ с курсом ИДПО, кандидат медицинских наук; **А. М. Ишбулатова** — ФГБОУ ВО «Башкирский ГМУ» Минздрава России, студент.

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF BIOMETRIC CHARACTERISTICS AND LOCALIZATION OF UVEAL MELANOMA ACCORDING TO DUPLEX ULTRASOUND SCANNING DATA

B. M. Aznabaev — Bashkir State Medical University, Head of the Department of Ophthalmology, Professor, DSc; **A. A. Alexandrov** — Bashkir State Medical University, Associate Professor of the Department of Ophthalmology, PhD; **A. M. Ishbulatova** — Bashkir State Medical University, student.

Дата поступления — 15.11.2018 г.

Дата принятия в печать — 06.12.2018 г.

Азнабаев Б. М., Александров А. А., Ишбулатова А. М. Ретроспективный анализ биометрических характеристик и локализации увеальной меланомы по данным ультразвукового дуплексного сканирования орбиты. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2018; 14 (4): 900–902.

Цель: провести ретроспективный анализ биометрических характеристик и локализации увеальной меланомы по данным ультразвукового дуплексного сканирования орбиты. **Материал и методы.** В Центре лазерного восстановления зрения «Оптимед» г. Уфы за 2017–2018 гг. исследованы 22 пациента с объемным образованием сосудистой оболочки глаза — меланомой. Соотношение больных мужчин и женщин 1:1 (11 мужчин и 11 женщин). Возраст обследованных пациентов варьировался от 46 до 89 лет. **Результаты.** По данным проведенных ультразвуковых дуплексных сканирований орбиты чаще отмечалась парамакулярная локализация опухоли (72,2%). Высота проминенции объемных образований в среднем составила 7,6±4,6 мм, ширина основания 10,1±4,1 мм. У 20 пациентов (90,9%) определялся кровоток над объемным образованием. В 54,5% случаев наблюдалась вторичная отслойка сетчатки. **Заключение.** Ультразвуковое дуплексное сканирование орбиты является информативным неинвазивным инструментально-диагностическим методом, позволяющим выявлять увеальную меланому на ранней стадии.

Ключевые слова: увеальная меланома, ультразвуковое дуплексное сканирование орбиты, офтальмоонкология.