

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-4-61-66



# Иммуногистохимический анализ экспрессии белка PRAME как прогностический фактор у больных увеальной меланомой

С.В. Саакян<sup>1</sup>, А.Ю. Цыганков<sup>1</sup>, А.Г. Амирян<sup>1</sup>, М.Р. Хлгатын<sup>1</sup>, Д.А. Хоченков<sup>2</sup>, В.А. Мисюрин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России; Россия, 105062 Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 23

**Контакты:** Александр Юрьевич Цыганков [alextsygankov1986@yandex.ru](mailto:alextsygankov1986@yandex.ru)

**Цель исследования** – анализ прогностической значимости экспрессии белка PRAME у пациентов с увеальной меланомой с помощью иммуногистохимического исследования.

**Материалы и методы.** Были обследованы и пролечены 30 пациентов с увеальной меланомой, которым с марта по декабрь 2012 г. проведена терапия в стационаре Национального медицинского исследовательского центра глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России. Средний возраст больных на момент исследования составил  $51,3 \pm 11,8$  года. Во всех случаях по показаниям выполнена энуклеация. Проведены рутинное клинкоморфологическое, молекулярно-генетическое и иммуногистохимическое исследования ( $n = 29$ ). Иммуногистохимическое исследование выполнено с использованием антител к PRAME (клон 6H8, разведение 1 : 50). Медиана наблюдения составила  $86,3 \pm 2,9$  мес.

**Результаты.** Из 29 исследованных образцов увеальной меланомы окрашивание определено в 16 (55,2 %). Слабая интенсивность окрашивания 1+ (от 10 до 20 % опухолевых клеток) выявлена в 7 образцах, средняя интенсивность 2+ (от 10 до 20 % опухолевых клеток) – также в 7, сильная интенсивность 3+ (30 % опухолевых клеток) – в 2 образцах. При оценке 7-летней выживаемости накопленная доля выживших в группе без экспрессии PRAME составила 0,857, в то время как в группе с наличием экспрессии PRAME она была значимо ниже и составила 0,357 ( $p = 0,0001$ ). Показана значимая взаимосвязь экспрессии белка PRAME, эпителиоидноклеточного типа опухоли ( $p = 0,041$ ) и полной и частичной моносомии хромосомы 3 ( $p = 0,013$ ).

**Заключение.** В настоящей работе представлено первое в мировой практике исследование прогностической значимости экспрессии белка PRAME методом иммуногистохимического анализа у пациентов с увеальной меланомой. PRAME-положительный статус опухоли значимо ассоциирован с неблагоприятным витальным прогнозом.

**Ключевые слова:** увеальная меланома, иммуногистохимическое исследование, экспрессия, PRAME

**Для цитирования:** Саакян С.В., Цыганков А.Ю., Амирян А.Г. и др. Иммуногистохимический анализ экспрессии белка PRAME как прогностический фактор у больных увеальной меланомой. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(4):61–66. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-4-61-66.

## Immunohistochemical analysis of prame expression as a prognostic factor in uveal melanoma patients

S.V. Saakyan<sup>1</sup>, A.Yu. Tsygankov<sup>1</sup>, A.G. Amiryani<sup>1</sup>, M.R. Khlgatyan<sup>1</sup>, D.A. Khochenkov<sup>2</sup>, V.A. Misyurin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Ministry of Health of Russia; 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow 105062, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

**Contacts:** Alexander Yuryevich Tsygankov [alextsygankov1986@yandex.ru](mailto:alextsygankov1986@yandex.ru)

**The study objective** is to analyze the prognostic significance of PRAME protein expression in patients with uveal melanoma using immunohistochemical assay.

**Materials and methods.** A total of 30 patients with uveal melanoma were examined and treated. The average age of patients at the time of treatment was  $51.3 \pm 11.8$  years. In all cases, enucleation was performed according to the indications. A routine clinical-morphological, molecular-genetic, and immunohistochemical assay study was performed ( $n = 29$ ). The immunohistochemical study was performed using antibodies to PRAME (clone 6H8, dilution 1: 50). The median follow-up period was  $86.3 \pm 2.9$  months.

**Results.** Of the 29 samples studied, staining was determined in 16, which was 55.2 %. Weak intensity of 1+ staining (from 10 to 20 % of tumor cells) was detected in 7 uveal melanoma samples, medium intensity of 2+ (from 10 to 20 % of tumor cells) – also in 7, and strong intensity of 3+ (30 % of tumor cells) – in 2 tumor samples. When assessing the seven-year survival, the cumulative survival rate in the group without PRAME expression was 0.857, while in the group with PRAME expression it was significantly lower and amounted to 0.357 ( $p = 0.0001$ ). The PRAME protein expression was significantly correlated with the epithelioid cell type of the tumor ( $p = 0.041$ ) and with the total and partial monosomy of chromosome 3 ( $p = 0.013$ ).

**Conclusion.** This paper presents the world's first study of the prognostic significance of PRAME protein expression by immunohistochemical analysis in patients with uveal melanoma. A significant association of PRAME-positive patients with an unfavorable vital prognosis was shown.

**Key words:** uveal melanoma, immunohistochemistry assay, expression, PRAME

**For citation:** Saakyan S.V., Tsygankov A.Yu., Amiryan A.G. et al. Immunohistochemical analysis of prame expression as a prognostic factor in uveal melanoma patients. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(4):61–6. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-4-61-66.

## ВВЕДЕНИЕ

Уvealная меланома (УМ) – наиболее распространенная первичная внутриглазная злокачественная опухоль [1]. Частота встречаемости данной патологии составляет от 6 до 10 человек на 1 млн взрослого населения в год [2]. Эта опухоль ассоциирована с неблагоприятным витальным прогнозом: через 10 лет приводит к гибели 50 % больных (независимо от вида лечения) [3]. В литературе описаны клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические факторы риска неблагоприятного течения УМ (размеры, локализация в цилиарном теле, смешанноклеточный и эпителиоидноклеточный типы опухоли, наличие экстрабульбарного роста, большого количества митозов, тучных клеток в микроокружении опухоли, моносомия хромосомы 3 и ряд других генетических аберраций) [4–6].

В последние годы в онкологии особое внимание уделяется анализу экспрессии гена *PRAME* (preferentially expressed antigen in melanoma). Показано, что кодируемый данным геном раково-тестикулярный белок аберрантно экспрессируется при целом ряде опухолей, включая рак почки, молочной железы, опухоли головы и шеи, нейробластому, остеосаркому и меланому кожи [7]. В.А. Мисюрин и соавт. показали, что экспрессия гена *PRAME* увеличивает химиорезистентность клеток меланомы кожи, что создает дополнительные сложности в подборе химиотерапии [8].

Метаанализ, проведенный J. Li и соавт., продемонстрировал, что экспрессия *PRAME* значимо ассоциирована со стадией опухолевого процесса (отношение шансов (ОШ) 1,99; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,48–2,67;  $p < 0,001$ ) и метастазированием опухоли в лимфатические узлы (ОШ = 3,14; 95 % ДИ 1,99–4,97;  $p < 0,001$ ). Показана положительная корреляция гиперэкспрессии *PRAME* с низкой

выживаемостью без признаков заболевания (отношение рисков (ОР) 1,60; 95 % ДИ 1,36–1,88;  $p < 0,001$ ), беспрогрессивной выживаемостью (ОР 1,88; 95 % ДИ 1,02–3,46;  $p = 0,042$ ), выживаемостью без метастазов (ОР 1,86; 95 % ДИ 1,05–3,31;  $p = 0,034$ ) и общей выживаемостью (ОР 1,75; 95 % ДИ 1,53–1,99;  $p < 0,001$ ). Авторы делают вывод о значимой роли экспрессии *PRAME* в опухолевой прогрессии [9].

Первая работа, посвященная роли экспрессии гена *PRAME* в развитии УМ у пациентов с УМ, была опубликована в 2016 г. M.G. Field и соавт. проанализировали экспрессию матричной РНК (мРНК) *PRAME* в 389 образцах УМ и заключили, что наличие положительной экспрессии *PRAME* даже в опухолях, относящихся к классу I профиля экспрессии генов (GEP), увеличивает риск [10]. В дальнейшем эти же авторы показали, что данный ген можно оценивать как прогностический биомаркер и потенциальную мишень для иммунотерапии при УМ [11]. Крупное экспериментальное исследование, проведенное G. Gezgin и соавт., показало, что *PRAME* экспрессируется во многих первичных и метастатических УМ, а наличие *PRAME*-специфических Т-клеток может влиять на эффективность иммунотерапии у этой категории больных [12].

На сегодняшний день во всех описанных исследованиях анализ экспрессии гена *PRAME* [10–16] проводился методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с учетом разделения опухолей на прогностические классы с использованием панели, предложенной в 2014 г. W. Harbour [13]. В повседневной клинической практике применение данного теста имеет определенные ограничения, обусловленные его высокой стоимостью. В связи с потенциальной значимостью анализа экспрессии белка *PRAME* мы осуществили поиск возможных решений к выполнению данного метода исследования по приемлемой цене в рутинной практике.

**Цель исследования** — анализ прогностической значимости экспрессии белка PRAME у пациентов с увеальной меланомой с помощью иммуногистохимического исследования (ИГХ).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Клинические данные.** В рамках ретроспективного исследования были обследованы и пролечены 30 пациентов (12 мужчин и 18 женщин) с УМ, получавших терапию в стационаре Национального медицинского исследовательского центра глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России с марта по декабрь 2012 г. Средний возраст пациентов на момент исследования составил  $51,3 \pm 11,8$  года (от 23 до 83 лет).

Всем больным проведено комплексное стандартное и специальное офтальмологическое обследование. По данным эхографического исследования проминенция УМ составила в среднем  $8,6 \pm 2,9$  мм (от 2,6 до 13,8 мм), диаметр основания опухоли —  $15,1 \pm 3,4$  мм (от 8,2 до 21,9 мм). У 2 пациентов было заболевание стадии T1N0M0, у 11 — стадии T2N0M0, у 17 — стадии T3N0M0. По показаниям во всех случаях проведена энуклеация пораженного глаза с морфологическим и молекулярно-генетическим исследованиями.

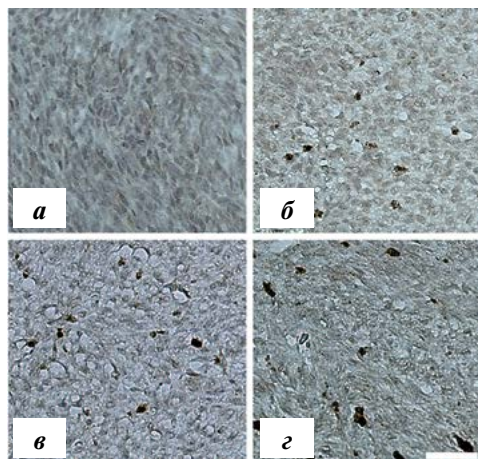
Критерием исключения из исследования было отсутствие данных динамического наблюдения за больными. Все клиничко-морфологические исследования проведены на базе Национального медицинского исследовательского центра глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России и кафедры глазных болезней факультета дополнительного профессионального образования ФГБУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. И.А. Евдокимова» Минздрава России, молекулярно-генетические — на базе лаборатории молекулярной диагностики и геномной дактилоскопии ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», иммуногистохимические — на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Срок наблюдения составил от 84 до 89 мес (медиана —  $86,3 \pm 2,9$  мес).

**Методика иммуногистохимического исследования.** Для проведения ИГХ-анализа были отобраны образцы опухолевой ткани УМ, имевшиеся в наличии в архиве отдела патологической анатомии и гистологии Национального медицинского исследовательского центра глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России в декабре 2019 г. ( $n = 29$ ). В работе использованы антитела к PRAME (клон 6N8, разведение 1 : 50; производитель — ООО «Генотехнология», Российская Федерация) в растворе для разведения антител (Abcam), аналогично описанным Ю.П. Финашутиной и соавт. [17].

Микросрезы УМ депарафинировали и регидратировали при последовательной обработке в ксилоле

и спирте. «Демаскировку» антигенов выполняли при нагревании срезов в течение 20 мин ( $95^\circ\text{C}$ ) в цитратном буфере (pH 6,0, Abcam), после чего охлаждали при комнатной температуре в течение 10 мин и 5 мин промывали в дистиллированной воде. Срезы обводили парафиновым карандашом Super PAP Pen (Invitrogen) и 5 мин промывали в фосфатно-солевом буфере. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы инкубировали в темноте в течение 5 мин с 3 %-ной перекисью водорода и промывали 5 мин в фосфатном буфере. Для блокирования неспецифического связывания антител срезы инкубировали 15 мин с 1 %-ным раствором бычьего сывороточного альбумина при комнатной температуре. После этого наносили первичные антитела к PRAME и инкубировали при  $+4^\circ\text{C}$  в течение 16 ч, а затем срезы промывали в фосфатно-солевом буфере (2 раза по 5 мин). Для проявки антител использовали набор REAL™ EnVision™ Detection System, Peroxidase/DAB+ Rabbit/Mouse (Dako). Срезы докрашивали гематоксилином Майера (Sigma), депарафинизировали при последовательной обработке в ксилоле и спирте и заключали под покровное стекло при помощи Shandon Mount solution (Thermo).

Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа Nikon Eclipse 50i ( $\times 200$ ). Для каждого маркера определяли локализацию и интенсивность окрашивания. Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество, далее нормировали полученные данные на  $1\text{ мм}^2$  площади препарата. Для всех маркеров оценивали интенсивность окрашивания (0 — отсутствие окрашивания, 1+ — слабая, 2+ — средняя и 3+ — сильная интенсивность окрашивания), которую выражали в баллах, и количество положительных клеток, выражаемое



**Рис. 1.** Иммуногистохимический анализ экспрессии белка PRAME при увеальной меланоме (окраска красителем DAB+): а — отсутствие окрашивания; б — слабая интенсивность окрашивания; в — средняя интенсивность окрашивания; г — сильная интенсивность окрашивания.  $\times 200$ . Шкала 50 мкм

**Fig. 1.** Immunohistochemical analysis expression of the PRAME protein in uveal melanoma (with DAB+ staininh): а — no staining; б — weak intensity of staining; в — moderate intensity of staining; г — high intensity of staining.  $\times 200$ . Scale 50  $\mu\text{m}$

в процентах (0–100 %) (рис. 1). В качестве положительного контроля использовали ИГХ-окрашивание клеток линии K562 с высокой экспрессией PRAME. В качестве отрицательного контроля использовали окрашивание срезов опухоли проявочными антителами без нанесения первичных антител.

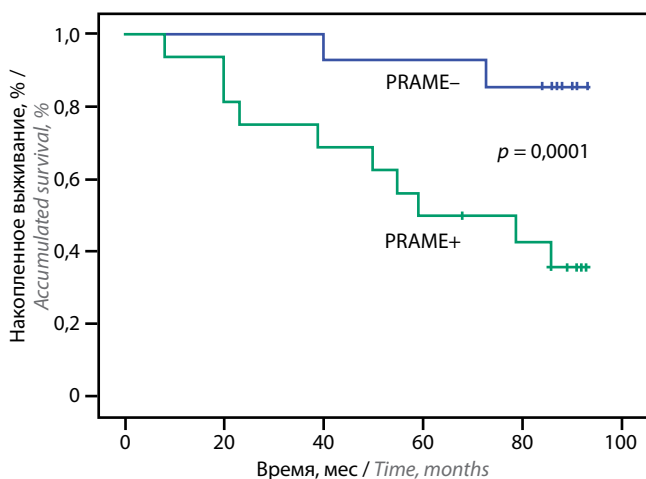
**Статистическая обработка результатов.** Статистическую обработку результатов исследования проводили методами вариационной статистики с определением средней арифметической ( $M$ ), минимальных ( $\min$ ) и максимальных ( $\max$ ) значений, стандартного отклонения ( $\sigma$ ) и медианы ( $Me$ ). Анализ качественных признаков в таблицах сопряженности выполняли с помощью критерия  $\chi^2$ , для малых выборок применялся точный критерий Фишера. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Для оценки выживаемости пациентов после лечения использовали статистический метод множительных оценок Каплана–Мейера. Расчеты проводили в пакетах программ для Windows (Microsoft Excel, IBM SPSS Statistics 23.0).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Окрашивание определено в 16 (55,2 %) из 29 исследованных образцов УМ. Слабая интенсивность окрашивания 1+ (от 10 до 20 % опухолевых клеток) выявлена в 7 образцах, средняя интенсивность 2+ (от 10 до 20 % опухолевых клеток) – в 7, сильная интенсивность 3+ (30 % опухолевых клеток) – в 2 образцах.

Семилетняя общая выживаемость пациентов составила 60 % (умерли в результате прогрессирования метастатической болезни 12 больных, живы на момент исследования или умерли по другим причинам 18 больных). Проведен анализ 7-летней выживаемости 29 пациентов в зависимости от наличия ИГХ-окрашивания образцов УМ (рис. 2).



**Рис. 2.** Взаимосвязь общей выживаемости пациентов с увеальной меланомой в зависимости от наличия (зеленая кривая) или отсутствия (синяя кривая) экспрессии белка PRAME

Fig. 2. Analysis of the relationship between the survival of patients with uveal melanoma depending on the presence (green curve) or absence (blue curve) of PRAME protein expression

Накопленная доля выживших в группе без экспрессии PRAME составила 0,857, в то время как в группе с наличием данной экспрессии она была значимо ниже – 0,357 ( $p = 0,0001$ ). Медиана общей выживаемости в группах с отсутствием и наличием экспрессии PRAME равна  $89,3 \pm 2,8$  мес (95 % ДИ 41,9–88,2) и  $36,3 \pm 5,1$  мес (95 % ДИ 10,9–86,4) соответственно (ОР 1,72; ОШ 1,98). Два пациента, у которых выявлена сильная степень окрашивания 3+ (30 % клеток), умерли от прогрессирования метастатической болезни. Таким образом, больные с PRAME-положительной УМ имеют значимо худший витальный прогноз при анализе 7-летней выживаемости.

Проведен анализ ассоциации наличия экспрессии белка PRAME с неблагоприятными клиническими, патоморфологическими и молекулярно-генетическими факторами. Выявлена ее значимая взаимосвязь с эпителиоидноклеточным типом опухоли ( $p = 0,041$ ) и полной моносомией хромосомы 3 ( $p = 0,013$ ). Ассоциации с другими прогностическими факторами (размерами опухоли, ее локализацией в цилиарном теле, наличием экстрабульбарного роста опухоли) выявить не удалось (см. таблицу).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Выявление новых прогностических факторов у пациентов с УМ остается одной из наиболее актуальных проблем в офтальмоонкологии в связи с неблагоприятным витальным прогнозом у более чем 50 % пациентов. А.С. Scheffler и соавт. изучили экспрессию мРНК PRAME и профиль экспрессии генов (GEP) у 148 больных УМ [15]. Согласно полученным данным, в 37 % случаев определен PRAME-положительный статус пациентов. В нашей работе ИГХ-экспрессию PRAME удалось выявить более чем в половине (55,2 %) случаев. А.С. Scheffler и соавт. не обнаружили значимых взаимосвязей экспрессии PRAME с возрастом, полом пациентов и толщиной опухоли. При этом диаметр основания УМ и более высокий GEP-класс были ассоциированы с PRAME-положительным статусом. Отсутствие взаимосвязи экспрессии PRAME с размерами опухоли (несмотря на высокую частоту PRAME-положительных пациентов в нашем исследовании) можно объяснить тем, что в работу включены больные, имевшие на момент обследования показания к удалению глаза (преимущественно заболевание стадии T3N0M0), в то время как в исследовании А.С. Scheffler и соавт. участвовали также пациенты с УМ стадии T1N0M0 (34,5 %) и T2N0M0 (22,3 %).

В нашей работе не проводили оценку профиля экспрессии генов у пациентов в связи с низкой доступностью данной методики в Российской Федерации, однако хромосомный анализ показал значимую ассоциацию PRAME-положительного статуса с полной и частичной делецией хромосомы 3 и неблагоприятным витальным прогнозом. Сходные данные о взаимосвязи профиля экспрессии генов и экспрессии мРНК

Клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с увеальной меланомой  
 Clinical, pathomorphological, and molecular genetic characteristics of patients with uveal melanoma

Показатель Parameter	PRAME+ (n = 16)	PRAME- (n = 13)	p
Средний возраст, лет Mean age, years	48,1 ± 13,3 (23–70)	56 ± 12,6 (27–72)	>0,05
Пол, абс.: Gender, abs.			
мужской males	9	3	>0,05
женский females	7	10	
Средняя высота опухоли, мм Mean tumor height, mm	8,4 ± 2,8 (4,3–13)	9,1 ± 3,3 (2,6–13,8)	>0,05
Средний диаметр основания опухоли, мм Mean diameter of the tumor base, mm	14,6 ± 3,6 (8,2–20,4)	15,3 ± 3,4 (10,4–21,9)	>0,05
Локализация опухоли в цилиарном теле, абс. Localization of the tumor in the ciliary body, abs.	3	5	>0,05
Экстрабульбарный рост опухоли, абс. Extrabulbar tumor growth, abs.	3	1	>0,05
Клеточный тип опухоли, абс.: cell type of tumor, abs.:			
веретоклеточный spindle cell	3	7	>0,05
смешанноклеточный mixed cell	4	3	>0,05
эпителиоидноклеточный epithelioid cell	9	2	<b>0,041</b>
Моносомия хромосомы 3, абс. Monosomy of chromosome 3, abs.	11	1	<b>0,013</b>

**Примечание.** Жирным начертанием выделены статистически значимые различия.

*Note.* Statistically significant differences are highlighted in bold.

PRAME представлены в работах L. Cai и соавт. [14] и Field M.G. и соавт. [10]. Мы проводили оценку экспрессии PRAME методом ИГХ, что позволило резко сократить стоимость исследования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе представлено первое в мировой практике исследование прогностической значимости экспрессии белка PRAME методом ИГХ у пациентов с УМ. PRAME-положительный статус

опухоли значимо ассоциирован с неблагоприятным витальным прогнозом, морфологическими и молекулярно-генетическими прогностическими факторами. Представленный метод определения экспрессии белка PRAME является недорогим, легко воспроизводимым и значимым в связи с импортозамещением технологий в Российской Федерации. Полученные результаты могут быть использованы для разработки подходов к таргетной и иммунной терапии распространенной УВ.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kaliki S., Shields C.L. Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer. *Eye (Lond)* 2017;31(2):241–57. DOI: 10.1038/eye.2016.275.
- Гришина Е.Е., Лернер М.Ю., Гемдзян Э.Г. Эпидемиология увеальной меланомы в г. Москве. *Альманах клинической медицины* 2017;45(4):321–5. [Grishina E.E., Lerner M.Yu., Gemdzhian E.G. Epidemiology of uveal melanomas in Moscow. *Al'manah klinicheskoy mediciny = Almanac of Clinical Medicine* 2017;45(4):321–5. (In Russ.)]. DOI: 10.18786/2072.
- Aronow M.E., Topham A.K., Singh A.D. Uveal melanoma: 5-year update on incidence, treatment, and survival (SEER 1973–2013). *Ocul Oncol Pathol* 2018;4(3):145–51. DOI: 10.1159/000480640.
- Саакян С.В., Захарова Г.П., Мякошина Е.Б. Тучные клетки в микроокружении увеальной меланомы. *Архив патологии* 2019;81(6):63–70. [Saakyan S.V., Zakharova G.P., Myakoshina E.B. Mast cells in the microenvironment of uveal melanoma. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology* 2019;81(6):63–70. (In Russ.)]. DOI: 10.17116/patol20198106163.
- Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. и др. Клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические особенности увеальной меланомы с высоким риском метастазирования. *Российский офтальмологический журнал* 2015;8(2):47–52. [Saakyan S.V., Amiryany A.G., Tsygankov A.Yu. et al. Clinical, pathological and molecular genetic features of uveal melanoma with a high risk of metastasis. *Rossiiskiy oftal'mologicheskij zhurnal = Russian Ophthalmological Journal* 2015;8(2):47–52. (In Russ.)].
- Нероев В.В., Саакян С.В., Амирян А.Г. и др. Выживаемость больных увеальной меланомой в отдаленные сроки после

- энуклеации в зависимости от молекулярно-генетических aberrаций. Альманах клинической медицины 2018;46(4):338–46. [Neroev V.V., Saakyan S.V., Amiryani A.G. et al. Long-term survival of uveal melanoma patients after enucleation, depending on molecular genetic aberrations. *Al'manah klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine* 2018;46(4):338–46. (In Russ.)]. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-338-346.
7. Мисюрин В.А. Прогностическое значение экспрессии гена PRAME при солидных опухолях. *Иммунология* 2018;39(1):67–73. [Misurin V.A. Prognostic value of prame's gene expression in solid tumors. *Immunologiya = Immunology* 2018;39(1):67–73. (In Russ.)]. DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-67-73.
8. Мисюрин В.А., Калениченко Д.В., Рудакова А.А. и др. Проблема химиорезистентности PRAME-экспрессирующей клетки меланомы и способ ее преодоления с помощью бортезомиба. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(4):131–4. [Misyurin V.A., Kalenichenko D.V., Rudakova A.A. et al. Chemoresistance of PRAME-expressing melanoma cell can be resolved with help of bortezomib. *Uspehi molekularnoy onkologii = Advances in molecular oncology* 2018;5(4):131–4. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-4-131-134.
9. Li J., Yin J., Zhong J. et al. Clinicopathological and prognostic significance of PRAME overexpression in human cancer: a meta-analysis. *Biomed Res Int* 2020;2020:8828579. DOI: 10.1155/2020/8828579.
10. Field M.G., Decatur C.L., Kurtenbach S. et al. PRAME as an independent biomarker for metastasis in uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2016;22(5):1234–42. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2071.
11. Field M.G., Durante M.A., Decatur C.L. et al. Epigenetic reprogramming and aberrant expression of PRAME are associated with increased metastatic risk in Class 1 and Class 2 uveal melanomas. *Oncotarget* 2016;7(37):59209–19. DOI: 10.18632/oncotarget.10962.
12. Gezgin G., Luk S.J., Cao J. et al. PRAME as a potential target for immunotherapy in metastatic uveal melanoma. *JAMA Ophthalmol* 2017;135(6):541–9. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2017.0729.
13. Harbour J.W. A prognostic test to predict the risk of metastasis in uveal melanoma based on a 15-gene expression profile. *Methods Mol Biol* 2014;1102:427–40. DOI: 10.1007/978-1-62703-727-3\_22.
14. Cai L., Paez-Escamilla M., Walter S.D. et al. Gene expression profiling and PRAME status versus tumor-node-metastasis staging for prognostication in uveal melanoma. *Am J Ophthalmol* 2018;195:154–60. DOI: 10.1016/j.ajo.2018.07.045.
15. Scheffler A.C., Koca E., Bernicker E.H., Correa Z.M. Relationship between clinical features, GEP class, and PRAME expression in uveal melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257(7):1541–5. DOI: 10.1007/s00417-019-04335-w.
16. Berkowitz S.T., Brock A.L., Reichstein D.A. An amelanotic choroidal melanoma arising in a young man with tattoo-associated sarcoidosis. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2020;18:100655. DOI: 10.1016/j.ajoc.2020.100655.
17. Финашутина Ю.П., Мисюрин А.В., Ахлынина Т.В. и др. Получение рекомбинантного раково-тестикулярного белка PRAME и моноклональных антител к нему. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(3):29–36. Finashutina Yu.P., Misyurin A.V., Akhlynina T.V. et al. Production of purified human recombinant antigen PRAME and specific monoclonal antibodies. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(3):29–36. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1726-9784-2015-14-3-29-36.

#### Вклад авторов

С.В. Саакян: разработка концепции и дизайна исследования, редактирование;  
 А.Ю. Цыганков: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных (в том числе статистическая), написание текста статьи;  
 А.Г. Амирян: сбор и обработка данных, редактирование;  
 М.Р. Хлгатын: сбор и обработка данных;  
 Д.А. Хоченков: сбор и обработка данных, написание текста статьи;  
 В.А. Мисюрин: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи.

#### Autors' contributions

S.V. Saakyan: development of the research concept and design, article editing;  
 A.Yu. Tsygankov: development of the research concept and design, obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, statistical data processing, article writing;  
 A.G. Amiryani: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article editing;  
 M.R. Khlgyan: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data;  
 D.A. Khochenkov: obtaining data for analysis, analysis of the obtaining data, article writing;  
 V.A. Misyurin: development of the research concept and design, article writing.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

С.В. Саакян / S.V. Saakyan: <https://orcid.org/0000-0001-8591-428X>  
 А.Ю. Цыганков / A.Yu. Tsygankov: <https://orcid.org/0000-0001-9475-3545>  
 А.Г. Амирян / A.G. Amiryani: <https://orcid.org/0000-0002-9284-4838>  
 М.Р. Хлгатын / M.R. Khlgyan: <https://orcid.org/0000-0001-7266-770X>  
 Д.А. Хоченков / D.A. Khochenkov: <https://orcid.org/0000-0002-5694-3492>  
 В.А. Мисюрин / V.A. Misyurin: <https://orcid.org/0000-0002-0762-5631>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

**Статья поступила:** 20.06.2021. **Принята к публикации:** 16.11.2021.

**Article submitted:** 20.06.2021. **Accepted for publication:** 16.11.2021.