

МИКРОРНК В УТОЧНЁННОЙ ДИАГНОСТИКЕ МЕЛАНОМЫ ХОРИОИДЕИ

**Бровкина А.Ф.,
Цыбикова Н.Д.**

ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, Россия) Московский городской офтальмологический центр ГБУЗ ГKB им. С.П. Боткина ДЗМ (125284, г. Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5, корп. 19, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бровкина Алевтина Фёдоровна,
e-mail: anab@list.ru

РЕЗЮМЕ

Эпигенетические исследования уровня микроРНК в онкогенезе человека показывают, что они принимают участие практически во всех клеточных процессах, в том числе в развитии и росте опухолей разного генеза. Первые работы о роли микроРНК у больных увеальной меланомой появились в 2008 г.

Цель работы: проанализировать уровень экспрессии микро-126 и микро-223 в плазме крови больных и определить их значимость в уточнённой диагностике меланомы хориоидеи.

Материалы и методы исследования. Обследовано 84 больных монолатеральной меланомой хориоидеи (МХ), средний возраст – $63,4 \pm 1,2$ года (35–86 лет), проминенция МХ – $0,77–17,19$ мм. Контрольную группу составили 28 волонтеров в возрасте $62,9 \pm 1,42$ года (45–78 лет). Уровни экспрессии микроРНК в плазме крови определяли методом ПЦР в режиме реального времени.

Результаты. Подтверждено увеличение уровня экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126 в плазме крови у всех 84 больных МХ N_0M_0 (сравнение с контрольной группой). Доказано увеличение экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126, коррелирующих с проминенцией опухоли.

Заключение. Полученные результаты повышения экспрессии микроРНК-223 свидетельствуют не только об усилении клеточной пролиферации, но и об активизации опухолевого ангиогенеза по увеличению экспрессии микроРНК-126. Сказанное позволяет рекомендовать исследование уровня микроРНК-223 и микроРНК-126 для уточнённой диагностики начальных МХ в случаях сложности дифференциальной диагностики с другими опухолеподобными заболеваниями хориоидеи и предопределения возможности существования скрытых метастазов.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, увеальная меланома, ангиогенез, микроРНК-223, микроРНК-126, биомаркер

Статья получена: 10.09.2021
Статья принята: 27.10.2021
Статья опубликована: 28.12.2021

Для цитирования: Бровкина А.Ф., Цыбикова Н.Д. МикроРНК в уточнённой диагностике меланомы хориоидеи. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-1): 65-73. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-1.8

MICRORNA IN REFINED DIAGNOSIS OF CHOROIDAL MELANOMA

**Brovkina A.F.,
Tsybikova N.D.**

Russian Medical Academy
of Continuous Professional Education
(Barrikadnaya str. 2/1, Moscow 123995,
Russian Federation)
Moscow Ophthalmological Centre,
Botkin Hospital (2nd Botkinsky dr.
5 build 19, Moscow 125284,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alevtina F. Brovkina,
e-mail: anab@list.ru

ABSTRACT

Epigenetic studies of the level of microRNAs in human oncogenesis indicate their significant role in the development and growth of malignant tumors of various origins. The first works on the role of microRNAs in patients with uveal melanoma appeared in 2008.

The aim: to analyze the expression level of miRNA-126 and miRNA-223 in the plasma blood of patients and to determine their significance in the refined diagnosis of choroidal melanoma.

Materials and methods. We examined 84 patients with choroidal melanoma (CM), mean age – 63.4 ± 1.2 (35–86 y.o.). Localization – a single CM node with a thickness of 0.77–17.19 mm. The control group consisted of 28 volunteers, age – 62.9 ± 1.42 (45–78 y.o.). Plasma miRNA expression levels were determined by real-time PCR.

Results. An increase in the level of expression of miRNA-223 and miRNA-126 in blood plasma was confirmed in all 84 patients with choroidal melanoma N_0M_0 compared with the control group. An increase in the expression of miRNA-223 and miRNA-126 was proved with an increase in tumor prominence.

Conclusion. The obtained results of an increase in the expression of miRNA-223 indicate an increase in cell proliferation, and an increase in the expression of miRNA-126 on the activation of angiogenesis in a growing tumor, which makes it possible to recommend a study of the level of miRNA-223 and miRNA-126 for a more accurate diagnosis of small CM in cases of difficulty of differential diagnosis with other tumor-like diseases of the choroid.

Key words: choroidal melanoma, uveal melanoma, angiogenesis, miRNA-223, miRNA-126, biomarker

Received: 10.09.2021

Accepted: 27.10.2021

Published: 28.12.2021

For citation: Brovkina A.F., Tsybikova N.D. MicroRNA in refined diagnosis of choroidal melanoma. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-1): 65-73. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-1.8

В последние два десятилетия в литературе публикуются сведения о важной роли микроРНК в жизнедеятельности человека. Из зарегистрированных 38 589 микроРНК к 2020 г. изучено и полностью аннотировано в геноме человека 2654 микроРНК [1–3]. Они участвуют практически во всех клеточных процессах (от развития до дифференцировки и гомеостаза). Для микроРНК характерен плейотропизм: одна и та же микроРНК способна активизировать клеточную пролиферацию или подавлять её в зависимости от характера нарушения регуляции биологического процесса в конкретной ткани [4, 5]. Почти 50 % аннотированных микроРНК регулируют опухолевые участки генома, исполняя роль онкогенов или генов-супрессоров опухоли. Такие микроРНК распознают и связываются с молекулами-мишенями, действуя как посттранскрипционные регуляторы, блокируя синтез белков и/или индуцируя деградацию мРНК (матричной РНК). МикроРНК регулируют дифференцировку клеток, клеточный цикл, пролиферацию и апоптоз [6].

О возможности использования микроРНК в качестве прогностического биомаркера метастатического риска увеальной меланомы (УМ) впервые сообщил L.A. Worley et al. в 2008 г. [7]. Из метастазов УМ в печень авторы выделили 11 микроРНК [8]. К 2021 г. в ткани метастатической УМ выделено 24 микроРНК, потенциально связанных с её прогрессированием и метастатическим риском [9]. МикроРНК попадают в жидкости организма, в том числе и в плазму крови, пассивным высвобождением или активной секрецией. Разрушенные и апоптотически изменённые клетки могут выделять микроРНК, пассивно попадают в жидкости организма, не являясь исключением и плазма крови [10, 11].

К 2016 г. в плазме крови больных УМ, подвергшихся энуклеации, было идентифицировано 8 дифференцированно экспрессируемых микроРНК: микроРНК-146а, микроРНК-523, микроРНК-19а, микроРНК-518f, микроРНК-127, микроРНК-1274В, микроРНК-30d и микроРНК-451 [12]. Часть из них принимали участие в активации онкогенеза, часть – в его подавлении. Несмотря на проведённые исследования, диагностическая и прогностическая роль микроРНК, связанных с меланомой хориоидеи (МХ), остаётся мало изученной. Публикаций, посвящённых ответственности микроРНК, их комбинаций у больных именно МХ, мало. Обсуждаются результаты по УМ в целом, однако МХ имеет свои особенности, не только клинические, но и метрические, и отличается по характеру течения. Всё это расценивают как факторы, определяющие витальный прогноз. Да и результа-

ты исследования по некоторым микроРНК противоречивы. Не исключено, что такие расхождения обусловлены разными классификациями, различными критериями по качеству образцов ткани опухоли, степени её распространения, используемыми в каждом исследовании разными вариациями обработки образцов, предшествующей цитотоксической терапии, неоднородностью опухоли и недооценкой гипоксии и инфекции в предоперационном периоде [13].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Проанализировать уровень экспрессии микро-126 и микро-223 в плазме крови больных и определить их значимость в уточнённой диагностике меланомы хориоидеи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 84 больных монолатеральной МХ, средний возраст – 63,4 ± 1,2 года (35–86 лет), женщин – 41, мужчин – 43 человека. Локализация – одиночный узел МХ толщиной 0,77–17,19 мм. С учётом значительной вариации размеров опухоли и установившегося мнения об их роли в гематогенном метастазировании все МХ разделили на три группы: начальные, средние и большие (табл. 1). В основу деления принята метрическая характеристика J.A. Shields (1983), согласно которой МХ, имеющие проминенцию до 3 мм включительно, относят к начальным (маленьким), к средним относят меланомы с проминенцией более 3 мм, но до 5 мм включительно, к большим – меланомы с проминенцией более 5 мм.

Всем больным в процессе обследования проведены МРТ или КТ печени, органов грудной клетки. Это обусловлено тем, что именно для УМ таргетные органы гематогенного метастазирования – печень (92 %) и лёгкие (28 %) [14, 15]. Офтальмологическое обследование больных проводили по общепринятой схеме, проминенцию опухоли определяли эхобиометрически (ультразвуковой аппарат «A/B Scan Tomey UD 6000», Япония). Проминенцию начальных меланом дополнительно контролировали с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ) (аппарат «Heidelberg Engineering», Германия). Описание офтальмоскопической картины дополняли цифровым фотографированием глазного дна и анализом ОКТ. Наи-

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ С УЧЁТОМ ПРОМИНЕНЦИИ
МЕЛАНОМЫ В ИССЛЕДУЕМОЙ ГРУППЕ

Группа	Проминенция МХ, мм	Количество больных
Начальные МХ	2,09 ± 0,15 (0,77–2,8)	16
Средние МХ	4,35 ± 0,19 (3,11–4,99)	13
Большие МХ	9,38 ± 0,41 (5,03–17,19)	55

TABLE 1
DISTRIBUTION OF PATIENTS TAKING INTO ACCOUNT
PROMINENCE OF MELANOMA IN THE STUDY GROUP

большие трудности в уточнённой диагностике представляли опухоли небольших размеров, особенно имеющие слабовыраженную пигментацию. После подтверждения локальности новообразования в хориоиде (N₀M₀) с целью выявления значимости экспрессии уровня микроРНК и роли её в уточнённой диагностике МХ у всех пациентов с их предварительного согласия проводили забор венозной крови (объёмом 4 мл). Образцы крови собирали в одноразовые вакутайнеры (4 мл), содержащие антикоагулянт этилендиаминуксусную кислоту (ЭДТА). Для получения плазмы и отделения клеточной фракции кровь центрифугировали в течение 10 мин при 2000 об./мин. По окончании центрифугирования плазму объёмом 2 мл переносили в стерильные пробирки. Выделение суммарной РНК, включая микроРНК, проводили с использованием реагента Qiazol и набора miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия). Концентрацию и чистоту полученной РНК оценивали на спектрофотометре для микрообъёмов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора MiScript II RT Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с рекомендованным протоколом. ПЦР в реальном времени проводили на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). В качестве экзогенного контроля эффективности выделения РНК, синтеза комплиментарной ДНК (кДНК) и количественной ПЦР в режиме реального времени использовали cel-miR-39-3p. Экспрессию микроРНК фиксировали в относительных единицах, равных $2^{-\Delta Ct}$, где ΔCt – рабочие значения изменения цикла получения продукта относительно внутреннего контроля экспрессии микроРНК cel-miR-39-3p [16].

Группа сравнения – 28 волонтеров в возрасте $62,9 \pm 1,42$ года (45–78 лет), не имеющих ни опухолевых, ни хронических аутоиммунных заболеваний. Энуклеация как метод лечения проведена у 55 больных. Диагноз МХ, её морфологическая структура подтверждены во всех случаях.

Обработку полученных результатов проводили с помощью стандартных методов статистической обработки с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США) и пакета прикладных программ Statistica v.13.0 (StatSoft Inc., США). Критический уровень значимости принимали равным 5 %, отвергая нулевую гипотезу при $p < 0,05$. Уровень экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126 рассчитывали в процентах по отношению к контролю для каждой микроРНК в каждом конкретном случае.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе анализа полученных результатов возникли вопросы, на которые предстояло ответить:

- меняется ли экспрессия микроРНК-126 и микроРНК-223 у больных МХ T₁₋₂N₀M₀;
- влияют ли размеры опухоли на уровень экспрессии микроРНК-126 и микроРНК-223;
- существует ли корреляция уровня микроРНК-126 и микроРНК-223 с клеточным составом МХ.

Анализ характера изменения экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126 в плазме крови больных МХ свидетельствует об их увеличении. Но обращает на себя внимание резкий градиент подъёма уровня микроРНК-223 по сравнению с микроРНК-126 (рис. 1).



РИС. 1.

Уровни экспрессии микроРНК у больных МХ в процентном отношении по сравнению с контрольной группой

FIG. 1.

Levels of microRNA expression in patients with CM as a percentage compared with the control group

Уровень экспрессии микроРНК-223 в плазме крови всех обследуемых больных оказался выше более чем в 3 раза, в то время как экспрессия микроРНК-126 увеличилась чуть более чем в 1,25 раза. Имеющиеся в литературе сведения относительно значимости микроРНК-223 как биомаркера злокачественных опухолей достаточно разноречивы. Во многих работах представлены показатели, свидетельствующие об увеличении экспрессии микроРНК-223 в плазме крови у больных раком желудка [17, 18]. Показано, что высокие уровни микроРНК-223 усиливают пролиферацию и миграцию клеток рака желудка [19]; высокий уровень микроРНК-223 выявлен и у больных аденокарциномой пищевода [20]. В то же время на фоне гепатоцеллюлярного рака в плазме крови обнаружено снижение уровня микроРНК-223 [21–23]. Нарушение регуляции экспрессии и функции микроРНК-223 наблюдается при многих других типах рака (карцинома яичников, рак шейки матки, опухоли головы и шеи) [20, 24]. Считают, что в подобных случаях микроРНК-223 работает в противоположных направлениях: микроРНК-223 может играть роль активатора пролиферации или подавлять иммунный надзор за опухолью. Что касается УМ, то привлекает исследование S. Achberger et al., показавших увеличение уровня микроРНК-223 в плазме крови у 6 больных УМ и продолжающийся рост экспрессии микроРНК-223 на фоне её метастазирования. Все случаи метастазов в печень верифицированы [25]. Таким образом приведённые данные литературы и полученные нами результаты позволя-

ют высказать суждение о том, что сверхэкспрессия микроРНК в плазме крови у больных МХ $T_{1-3}M_0N_0$ – свидетельство скрытого метастазирования.

В последние годы появилась информация, что микроРНК могут быть биомаркерами формирующегося ангиогенеза опухоли [26]. В качестве примера можно рассматривать УМ. Так, Р. Triozzi et al. показали, что из 9 исследованных микроРНК идентифицирована именно микроРНК-126, ограниченная эндотелиальными клетками и регулирующая ряд генов-мишеней, вовлечённых в ангиогенез и ответственных за целостность сосудов [27]. Не исключено, что меньшая степень экспрессии микроРНК-126 в плазме крови больных МХ обследованной нами группы связана именно со стадией формирования ангиогенеза.

На рисунке 2 представлена офтальмоскопическая картина меланомы начальной, средней и большой.

На рисунке 3 представлен график распределения экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126 с учётом размеров опухоли (рис. 3).

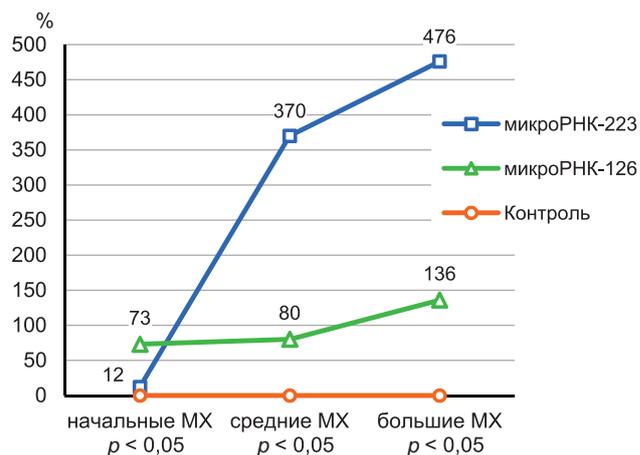


РИС. 3.

Уровень экспрессии микроРНК с учётом размеров МХ в процентном отношении в сравнении с контрольной группой

FIG. 3.

The level of expression of microRNAs taking into account the size of the CM as a percentage in comparison with the control group

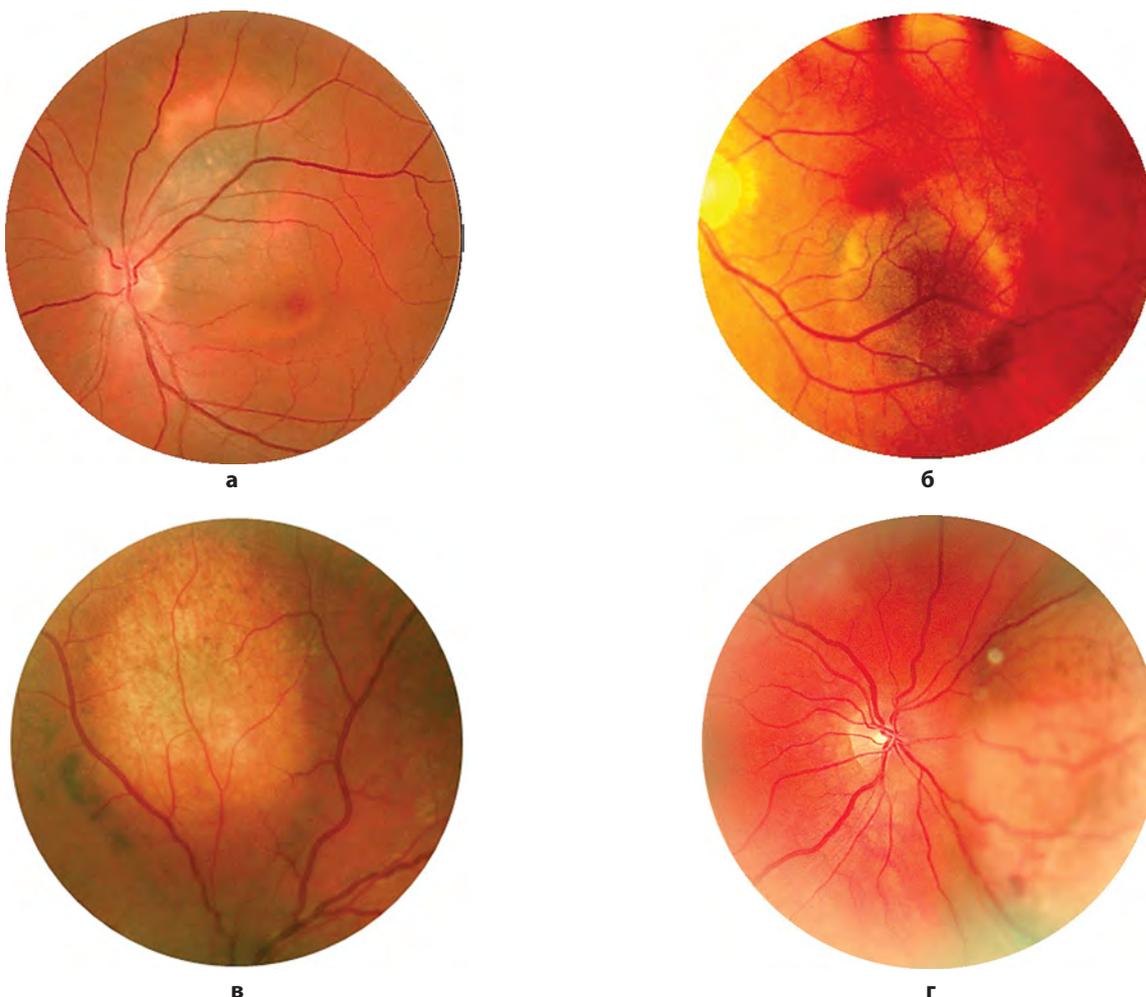


РИС. 2.

а – начальная МХ с проминенцией 1,2 мм; **б** – начальная МХ с проминенцией 1,4 мм; **в** – средняя МХ с проминенцией 4,1 мм; **г** – большая МХ с проминенцией 6,7 мм

FIG. 2.

а – small CM with 1.2 mm prominence; **б** – small CM with 1.4 mm prominence; **в** – medium CM with 4.1 mm prominence; **г** – large CM with 6.7 mm prominence

Как показывают расчёты, в группе больных с начальными МХ уровень микроРНК-223 характеризуется небольшим подъёмом – всего 12 % ($p < 0,05$), но он резко увеличивается при толщине опухоли от 5 мм и выше. Имеет право быть следующий вывод: микроРНК-223 в своём действии направлена на усиление пролиферации опухолевых клеток (активизацию онкогенеза). Об этом же свидетельствуют и данные литературы. Так J. Li et al. показали, что сверхэкспрессия микроРНК-223 чаще характерна для метастатического рака желудка, связана с плохой выживаемостью [28]. Экспрессия микроРНК-126, напротив, увеличивается на 73 % (по сравнению с контрольной группой) уже при маленьких МХ и, постепенно нарастая, увеличивается в группе больших МХ. По данным литературы известно, что визуализация новообразованных опухолевых сосудов МХ на фоне флюоресцентной ангиографии начинается при толщине МХ от 1,5–2,0 мм [29]. Скорее всего, подобное раннее быстрое увеличение экспрессии микроРНК-126 и связано с активизацией опухолевого ангиогенеза. В дальнейшем по мере активизации пролиферации опухолевых клеток увеличение толщины МХ всегда превалирует над ростом собственных сосудов, что может сопровождаться некрозом меланомы с соответствующими клиническими признаками.

В Московском регионе по морфологическим признакам МХ подразделяют на веретенноклеточную МХ (63 %), эпителиоидноклеточную МХ (5 %) и смешанно-клеточную МХ (27 %) [30]. Превалируют смешанные и веретенноклеточные МХ (75 %), а в смешанных преобладают веретеннообразные опухолевые клетки. Именно с этим связано большее количество больных веретенноклеточной и смешанной формами МХ (41 глаз). Эпителиоидноклеточная МХ диагностирована в 4 глазах. На рисунке 3 представлено распределение микроРНК-223 и микроРНК-126 с учётом их морфологического строения (рис. 4).

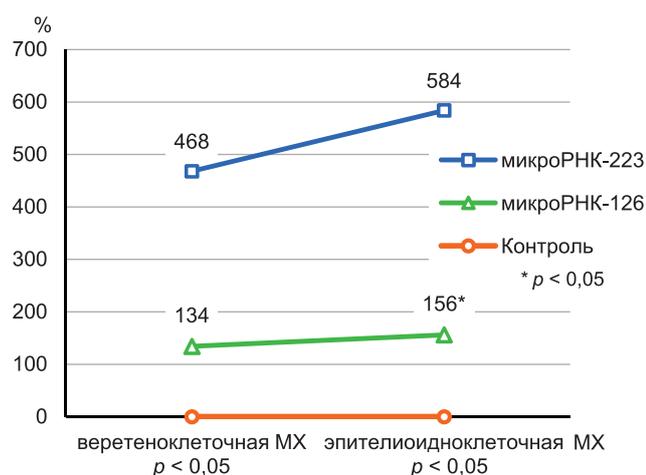


РИС. 4.
Экспрессия микроРНК с учётом морфологического типа меланомы (процентное соотношение к контрольной группе)

FIG. 4.
Expression of miRNAs considering the morphological type of melanoma (percentage to the control group)

Представленный график демонстрирует увеличение экспрессии микроРНК-223 и микроРНК-126 в обеих группах, но зафиксирована тенденция к большей экспрессии микроРНК-223 в группе эпителиоидноклеточной МХ: разница в показателях этих морфологических форм опухоли МХ достигает 116 %. Известно, что эпителиоидноклеточная МХ характеризуется худшим витальным прогнозом на фоне раннего метастазирования. Есть основание полагать, что сверхэкспрессия микроРНК-223 – свидетельство более агрессивного прогрессирования и метастазирования МХ с наихудшим витальным прогнозом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпигенетические исследования уровня микроРНК в онкогенезе человека свидетельствуют о значимой их роли в развитии и росте злокачественных опухолей разного генеза. Среди большого количества аннотированных в онкологической практике микроРНК в последние годы уделено внимание микроРНК-223, характеризующейся плеiotропным действием (онкогенез, иммуносупрессия). Речь идёт, как правило, об опухолях гематологического и эпителиального генеза. На достаточном количестве наблюдений (84 больных) показано участие микроРНК-223 в онкогенезе МХ, статистически подтверждено увеличение её экспрессии в процессе увеличения размеров опухолевого узла. С учётом имеющихся данных литературы о появлении сверхэкспрессии микроРНК-123 на фоне метастазирующих раков эпителиального генеза есть основания полагать, что сверхэкспрессия микроРНК в плазме крови у больных МХ $T_{1-3}M_0N_0$ – свидетельство скрытого метастазирования. Резкий подъём уровня экспрессии микроРНК-126 при начальных МХ (в 6 раз) по сравнению с микроРНК-223 можно расценивать как дополнительный объективный признак дифференциальной диагностики начальных МХ.

Финансирование

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006; 34(Database issue): D140-D144. doi: 10.1093/nar/gkj112
2. Shrivastava S, Steele R, Ray R, Ray RB. MicroRNAs: Role in hepatitis C virus pathogenesis. *Genes Dis.* 2015; 2(1): 35-45. doi: 10.1016/j.gendis.2015.01.001
3. Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: From microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(D1): D155-D162. doi: 10.1093/nar/gky1141

4. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2016; 1: 15004. doi: 10.1038/sigtrans.2015.4
5. Favero A, Segatto I, Perin T, Belletti B. The many facets of miR-223 in cancer: Oncosuppressor, oncogenic driver, therapeutic target, and biomarker of response. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2021; 12(6): e1659. doi: 10.1002/wrna.1659
6. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(9): 2999-3004. doi: 10.1073/pnas.0307323101
7. Worley LA, Long MD, Onken MD, Harbour JW. Micro-RNAs associated with metastasis in uveal melanoma identified by multiplexed microarray profiling. *Melanoma Res.* 2008; 18(3): 184-190. doi: 10.1097/CMR.0b013e3282feeac6
8. Radhakrishnan A, Badhrinarayanan N, Biswas J, Krishnakumar S. Analysis of chromosomal aberration (1, 3, and 8) and association of microRNAs in uveal melanoma. *Mol Vis.* 2009; 15: 2146-2154.
9. Aughton K, Kalirai H, Coupland SE. MicroRNAs and uveal melanoma: Understanding the diverse role of these small molecular regulators. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16): 5648. doi: 10.3390/ijms21165648
10. Turchinovich A, Weiz L, Burwinkel B. Extracellular miRNAs: The mystery of their origin and function. *Trends Biochem Sci.* 2012; 37(11): 460-465. doi: 10.1016/j.tibs.2012.08.003
11. Simons M, Raposo G. Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol.* 2009; 21(4): 575-581. doi: 10.1016/j.ceb.2009.03.007
12. Russo A, Caltabiano R, Longo A, Avitabile T, Franco LM, Bonfiglio V, et al. Increased levels of miRNA-146a in serum and histologic samples of patients with uveal melanoma. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 424. doi: 10.3389/fphar.2016.00424
13. Rodríguez MFB, Fernandez MB, Baameiro LN, Santiago-Varela M, Silva-Rodríguez P, Blanco-Teijeiro MJ, et al. Blood biomarkers of uveal melanoma: Current Perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2020; 14: 157-169. doi: 10.2147/OPHTH.S199064
14. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliaro DJ, Caldwell R, Cumming K, Earle JD, et al. Development of metastatic disease after enrollment in the COMS trials for treatment of choroidal melanoma: Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26. *Arch Ophthalmol.* 2005; 123(12): 1639-1643. doi: 10.1001/archophth.123.12.1639
15. Саакян С.В., Пантелеева О.Г., Ширина Т.В. Особенности метастатического поражения и выживаемости больных с увеальной меланомой в зависимости от метода проведённого лечения. *Российский офтальмологический журнал.* 2012; 5(2): 55-58.
16. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008; 3(6): 1101-1108. doi: 10.1038/nprot.2008.73
17. Li BS, Zhao YL, Guo G, Li W, Zhu ED, Luo X, et al. Plasma microRNAs, miR-223, miR-21 and miR-218, as novel potential biomarkers for gastric cancer detection. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41629. doi: 10.1371/journal.pone.0041629.
18. Sierzega M, Kaczor M, Kolodziejczyk P, Kulig J, Sanak M, Richter P. Evaluation of serum microRNA biomarkers for gastric cancer based on blood and tissue pools profiling: The importance of miR-21 and miR-331. *Br J Cancer.* 2017; 117(2): 266-273. doi: 10.1038/bjc.2017.190
19. Yang F, Xu Y, Liu C, Ma C, Zou S, Xu X, et al. NF- κ B/miR-223-3p/ARID1A axis is involved in helicobacter pylori CagA-induced gastric carcinogenesis and progression. *Cell Death Dis.* 2018; 9(1): 12. doi: 10.1038/s41419-017-0020-9
20. Fassan M, Saraggi D, Balsamo L, Realdon S, Scarpa M, Castoro C, et al. Early miR-223 upregulation in gastroesophageal carcinogenesis. *Am J Clin Pathol.* 2017; 147(3): 301-308. doi: 10.1093/ajcp/aqx004
21. Bhattacharya S, Steele R, Shrivastava S, Chakraborty S, Di Bisceglie AM, Ray RB. Serum miR-30e and miR-223 as novel noninvasive biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol.* 2016; 186(2): 242-247. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.10.003
22. Khairy A, Hamza I, Shaker O, Yosry A. Serum miRNA panel in Egyptian patients with chronic hepatitis C related hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17(5): 2699-2703.
23. Bao S, Zheng J, Li N, Huang C, Chen M, Cheng Q, et al. Serum microRNA levels as a noninvasive diagnostic biomarker for the early diagnosis of hepatitis B virus-related liver fibrosis. *Gut Liver.* 2017; 11(6): 860-869. doi: 10.5009/gnl16560
24. Wu L, Li H, Jia CY, Cheng W, Yu M, Peng M, et al. MicroRNA-223 regulates FOXO1 expression and cell proliferation. *FEBS Lett.* 2012; 586(7): 1038-1043. doi: 10.1016/j.febslet.2012.02.050
25. Achberger S, Aldrich W, Tubbs R, Crabb JW, Singh AD, Triozzi PL. Circulating immune cell and microRNA in patients with uveal melanoma developing metastatic disease. *Mol Immunol.* 2014; 58(2): 182-186. doi: 10.1016/j.molimm.2013.11.018
26. Yang W, Lee DY, Ben-David Y. The roles of microRNAs in tumorigenesis and angiogenesis. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2011; 3(2): 140-155.
27. Triozzi PL, Achberger S, Aldrich W, Crabb JW, Sauntharajah Y, Singh AD. Association of tumor and plasma microRNA expression with tumor monosomy-3 in patients with uveal melanoma. *Clin Epigenetics.* 2016; 8: 80. doi: 10.1186/s13148-016-0243-0
28. Li J, Guo Y, Liang X, Sun M, Wang G, De W, et al. MicroRNA-223 functions as an oncogene in human gastric cancer by targeting FBXW7/hCdc4. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012; 138(5): 763-774. doi: 10.1007/s00432-012-1154-x
29. Бровкина А.Ф., Склярова Н.В., Юровская Н.Н. Флюоресцентная ангиография в диагностике беспигментных меланом хориоидеи. *Вестник офтальмологии.* 2004; 120(6): 8-11.
30. Гришина Е.Е., Давыдов Д.В., Стоюхина А.С. Энуклеации при увеальной меланоме (анализ архивного материала). *Вестник офтальмологии.* 2010; 126(2): 30-34.

REFERENCES

1. Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Bateman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 2006; 34(Database issue): D140-D144. doi: 10.1093/nar/gkj112
2. Shrivastava S, Steele R, Ray R, Ray RB. MicroRNAs: Role in hepatitis C virus pathogenesis. *Genes Dis.* 2015; 2(1): 35-45. doi: 10.1016/j.gendis.2015.01.001
3. Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: From microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(D1): D155-D162. doi: 10.1093/nar/gky1141

4. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2016; 1: 15004. doi: 10.1038/sigtrans.2015.4
5. Favero A, Segatto I, Perin T, Belletti B. The many facets of miR-223 in cancer: Oncosuppressor, oncogenic driver, therapeutic target, and biomarker of response. *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2021; 12(6): e1659. doi: 10.1002/wrna.1659
6. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(9): 2999-3004. doi: 10.1073/pnas.0307323101
7. Worley LA, Long MD, Onken MD, Harbour JW. Micro-RNAs associated with metastasis in uveal melanoma identified by multiplexed microarray profiling. *Melanoma Res.* 2008; 18(3): 184-190. doi: 10.1097/CMR.0b013e3282feec6
8. Radhakrishnan A, Badhrinarayanan N, Biswas J, Krishnakumar S. Analysis of chromosomal aberration (1, 3, and 8) and association of microRNAs in uveal melanoma. *Mol Vis.* 2009; 15: 2146-2154.
9. Aughton K, Kalirai H, Coupland SE. MicroRNAs and uveal melanoma: Understanding the diverse role of these small molecular regulators. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(16): 5648. doi: 10.3390/ijms21165648
10. Turchinovich A, Weiz L, Burwinkel B. Extracellular miRNAs: The mystery of their origin and function. *Trends Biochem Sci.* 2012; 37(11): 460-465. doi: 10.1016/j.tibs.2012.08.003
11. Simons M, Raposo G. Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication. *Curr Opin Cell Biol.* 2009; 21(4): 575-581. doi: 10.1016/j.ceb.2009.03.007
12. Russo A, Caltabiano R, Longo A, Avitabile T, Franco LM, Bonfiglio V, et al. Increased levels of miRNA-146a in serum and histologic samples of patients with uveal melanoma. *Front Pharmacol.* 2016; 7: 424. doi: 10.3389/fphar.2016.00424
13. Rodríguez MFB, Fernandez MB, Baameiro LN, Santiago-Varela M, Silva-Rodríguez P, Blanco-Teijeiro MJ, et al. Blood biomarkers of uveal melanoma: Current Perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2020; 14: 157-169. doi: 10.2147/OPHTH.S199064
14. Diener-West M, Reynolds SM, Agugliari DJ, Caldwell R, Cumming K, Earle JD, et al. Development of metastatic disease after enrollment in the COMS trials for treatment of choroidal melanoma: Collaborative Ocular Melanoma Study Group Report No. 26. *Arch Ophthalmol.* 2005; 123(12): 1639-1643. doi: 10.1001/archophth.123.12.1639
15. Saakyan SV, Panteleeva OG, Shirina TV. Metastatic disease characteristics and survival of patients with uveal melanoma depending on the method of treatment of the primary tumor. *Russian Ophthalmological Journal.* 2012; 5(2): 55-58. (In Russ.).
16. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008; 3(6): 1101-1108. doi: 10.1038/nprot.2008.73
17. Li BS, Zhao YL, Guo G, Li W, Zhu ED, Luo X, et al. Plasma microRNAs, miR-223, miR-21 and miR-218, as novel potential biomarkers for gastric cancer detection. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41629. doi: 10.1371/journal.pone.0041629.
18. Sierzega M, Kaczor M, Kolodziejczyk P, Kulig J, Sanak M, Richter P. Evaluation of serum microRNA biomarkers for gastric cancer based on blood and tissue pools profiling: The importance of miR-21 and miR-331. *Br J Cancer.* 2017; 117(2): 266-273. doi: 10.1038/bjc.2017.190
19. Yang F, Xu Y, Liu C, Ma C, Zou S, Xu X, et al. NF- κ B/miR-223-3p/ARID1A axis is involved in helicobacter pylori CagA-induced gastric carcinogenesis and progression. *Cell Death Dis.* 2018; 9(1): 12. doi: 10.1038/s41419-017-0020-9
20. Fassan M, Saraggi D, Balsamo L, Realdon S, Scarpa M, Castoro C, et al. Early miR-223 upregulation in gastroesophageal carcinogenesis. *Am J Clin Pathol.* 2017; 147(3): 301-308. doi: 10.1093/ajcp/aqx004
21. Bhattacharya S, Steele R, Shrivastava S, Chakraborty S, Di Bisceglie AM, Ray RB. Serum miR-30e and miR-223 as novel noninvasive biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol.* 2016; 186(2): 242-247. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.10.003
22. Khairy A, Hamza I, Shaker O, Yosry A. Serum miRNA panel in Egyptian patients with chronic hepatitis C related hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016; 17(5): 2699-2703.
23. Bao S, Zheng J, Li N, Huang C, Chen M, Cheng Q, et al. Serum microRNA levels as a noninvasive diagnostic biomarker for the early diagnosis of hepatitis B virus-related liver fibrosis. *Gut Liver.* 2017; 11(6): 860-869. doi: 10.5009/gnl16560
24. Wu L, Li H, Jia CY, Cheng W, Yu M, Peng M, et al. MicroRNA-223 regulates FOXO1 expression and cell proliferation. *FEBS Lett.* 2012; 586(7): 1038-1043. doi: 10.1016/j.febslet.2012.02.050
25. Achberger S, Aldrich W, Tubbs R, Crabb JW, Singh AD, Triozzi PL. Circulating immune cell and microRNA in patients with uveal melanoma developing metastatic disease. *Mol Immunol.* 2014; 58(2): 182-186. doi: 10.1016/j.molimm.2013.11.018
26. Yang W, Lee DY, Ben-David Y. The roles of microRNAs in tumorigenesis and angiogenesis. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2011; 3(2): 140-155.
27. Triozzi PL, Achberger S, Aldrich W, Crabb JW, Sauntharajah Y, Singh AD. Association of tumor and plasma microRNA expression with tumor monosomy-3 in patients with uveal melanoma. *Clin Epigenetics.* 2016; 8: 80. doi: 10.1186/s13148-016-0243-0
28. Li J, Guo Y, Liang X, Sun M, Wang G, De W, et al. MicroRNA-223 functions as an oncogene in human gastric cancer by targeting FBXW7/hCdc4. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012; 138(5): 763-774. doi: 10.1007/s00432-012-1154-x
29. Brovkina AF, Sklyarova NV, Yurovskaya NN. Fluorescein angiography in the diagnosis of amelanotic choroidal melanomas. *The Russian Annals of Ophthalmology.* 2004; 120(6): 8-11. (In Russ.).
30. Grishina EE, Davydov DV, Stoyukhina AS. Eucleations in uveal melanoma (analysis of archival records). *The Russian Annals of Ophthalmology.* 2010; 126(2): 30-34. (In Russ.).

Сведения об авторах

Бровкина Алеетина Федоровна – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, профессор кафедры офтальмологии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; врач-офтальмолог онкологического отделения, Московский городской офтальмологический центр ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ, e-mail: anab@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6870-1952>

Цыбикова Наталья Дашаззбэевна – аспирант кафедры офтальмологии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; врач-офтальмолог поликлинического отделения № 2, Московский городской офтальмологический центр ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ, e-mail: natashatd@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2525-3082>

Information about the authors

Alevtina F. Brovkina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Professor at the Department of Ophthalmology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; Ophthalmologist at the Oncology Department, Moscow Ophthalmological Centre, Botkin Hospital, e-mail: anab@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6870-1952>

Natalia D. Tsybikova – Postgraduate at the Department of Ophthalmology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; Ophthalmologist at the Polyclinic Department No. 2, Moscow Ophthalmological Centre, Botkin Hospital, e-mail: natashatd@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2525-3082>

Статья опубликована в рамках Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «VIII Байкальские офтальмологические чтения «Визуализация в офтальмологии. Настоящее и будущее».