

CAPÍTULO
4.10

Melanoma uveal. Factores pronósticos

Julia V. Burnier, Alexandre N. Odashiro, Rubens N. Belfort, Miguel N. Burnier

INTRODUCCIÓN

Los melanomas malignos intraoculares surgen de los melanocitos del tracto uveal (iris, cuerpo ciliar y coroides). El melanoma uveal (MU) es la neoplasia maligna intraocular primaria más frecuente en Estados Unidos, Canadá y Europa occidental, pero los melanomas intraoculares, al igual que los cutáneos, son raros en África y Asia. Estos tumores se diagnostican clínicamente mediante examen oftalmoscópico y métodos ultrasonográficos, y rara vez se realizan biopsias. Según el informe publicado por el Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) Group, el diagnóstico clínico de los melanomas coroides tiene una precisión superior al 95% (fig. 1)(1).

Los métodos actuales de tratamiento de los MU incluyen la braquiterapia con placas (I-125, Ru) en particular para los tumores de menos de 8-10 mm de espesor. Los tratamientos quirúrgicos (enucleación, exenteración y resección tumoral) se reservan en función de la localización del tumor y de la disminución de la agudeza visual del paciente. Se ha demostrado que los tratamientos conservadores tienen los mismos resultados de supervivencia que los tratamientos quirúrgicos (2). La enucleación es

el tratamiento de elección cuando hay pocas posibilidades de salvar la visión, que suele ser el caso de MU grandes y avanzados, tumores situados alrededor del disco óptico, tumores que cursan con hemorragia extensa o desprendimiento de retina, o hemorragia vítrea (3).

HISTOPATOLOGIA Y CRECIMIENTO DEL MELANOMA UVEAL

La patología ha desempeñado un papel importante en la comprensión del MU, su comportamiento clínico, y factores pronósticos. En el laboratorio de patología, los ojos con sospecha de MU deben transiluminarse en una zona oscura con una fuente de luz focal para documentar la localización del tumor intraocular. Además, la esclerótica adyacente y el tejido muscular y conjuntivo contiguo deben examinarse cuidadosamente para detectar indicios de extensión tumoral extraocular. A diferencia del retinoblastoma, el MU suele extenderse a través de los canales emisarios esclerales, pero rara vez a través del nervio óptico. Suele ser un tumor solitario, discreto y unilateral que contiene cantidades varia-

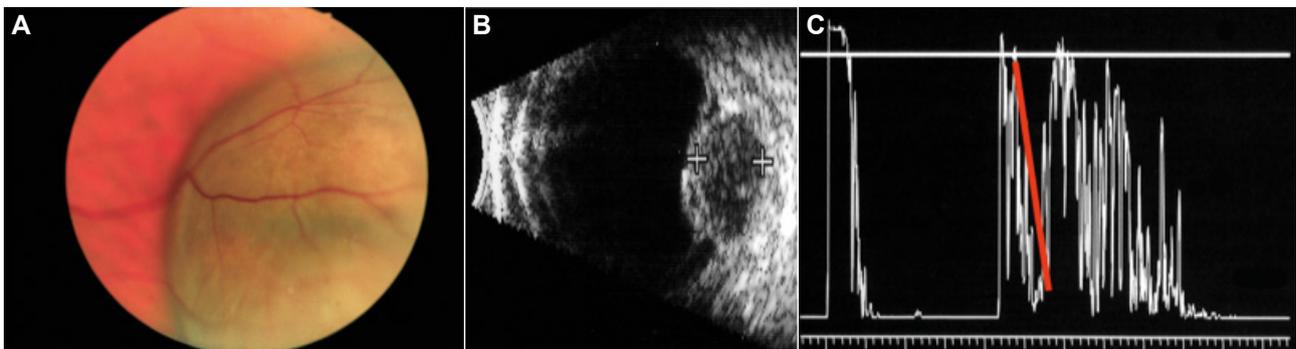


Fig. 1: Diagnóstico clínico del melanoma uveal. **A.** Oftalmoscopia, masa corioidea pigmentada. **B.** Ecografía modo B con vacío ecogénico y excavación corioidea. **C.** Ecografía modo A con presencia de ángulo kappa (línea roja).

bles de pigmentación marrón oscura a negra, pero puede ser amelanótico (fig. 2)(4,5).

Los tumores coroideos son los más frecuentes, seguidos del cuerpo ciliar y el iris. Existen diferentes clasificaciones que utilizan el tamaño como característica pronóstica del MU. Se puede utilizar tanto el diámetro como la altura del tumor o sólo la mayor dimensión tumoral para clasificar mejor este proceso neoplásico. Así pues, los melanomas de corooides y cuerpo ciliar se dividen en tres grupos, según la mayor dimensión tumoral: pequeños (10 mm o menos), medianos (11-15 mm) y grandes (>15 mm). La mayoría de los melanomas coroideos pequeños son tumores discoides, confinados en el tracto uveal. La esclerótica impide la expansión del tumor al exterior. Debido al hecho de que la membrana de Bruch es relativamente débil, este tumor crece, la membrana de Bruch se estira sobre el tumor y finalmente se rompe. El tumor se hernia a través de la ruptura y entra en el espacio subretiniano, dándole una configuración de champiñón. La retina que recubre el MU, suele sufrir atrofia o degeneración cistoide y la que rodea al tumor se desprende por la acumulación de exudados entre la retina y el epitelio pigmentario (fig. 3). El tipo de melanoma coroideo infiltrativo difuso es una variante poco frecuente del patrón de crecimiento habitual. Estos tumores crecen lateralmente en la coroides sin producir mucho engrosamiento. Es más probable que invadan a través de la esclerótica que los melanomas discoides o en forma de champiñón y pueden producir una masa orbitaria incluso mayor que el tumor intraocular.

Los melanomas del cuerpo ciliar son menos frecuentes que los de la coroides. Tienden a ser más pequeños y a tener forma esférica. Es frecuente la invasión anterior que afecta a la raíz del iris, las estructuras angulares y la cámara anterior. Clínicamente, la extensión anterior puede ser percibida por el paciente como un pequeño tumor del iris que puede representar sólo una pequeña porción del tumor (la punta del iceberg). La dilatación y tortuosidad de los vasos sanguíneos episclerales, los denominados vasos centinela, son un signo clínico importante de un melanoma subyacente. Pueden invadir la cámara posterior e indentar el cristalino, creando una muesca lenticular. El tipo difuso también aparece en el cuerpo ciliar y el tumor tiende a crecer circunferencialmente en forma de anillo.

Los melanomas del iris son los menos comunes de estos tumores uveales. Estos tumores tienden a ser más pequeños, por lo que tienen mejor pronóstico en comparación con los melanomas de corooides y cuerpo ciliar (4,5). Los márgenes quirúrgicos y el tipo celular son los factores pronósticos más importantes de los melanomas del iris. En el iris, los melanomas de tipo celular epitelioides suelen crecer más rápidamente. Están compuestos por células que carecen de cohesividad, por lo que este tipo de tumor desprende células que se siembran por toda la cámara anterior, obstruyen la malla trabecular y elevan la presión intraocular. Estos tumores se extienden a través del estroma del iris y siembran la cámara anterior causando heterocromía, sin producir una masa.

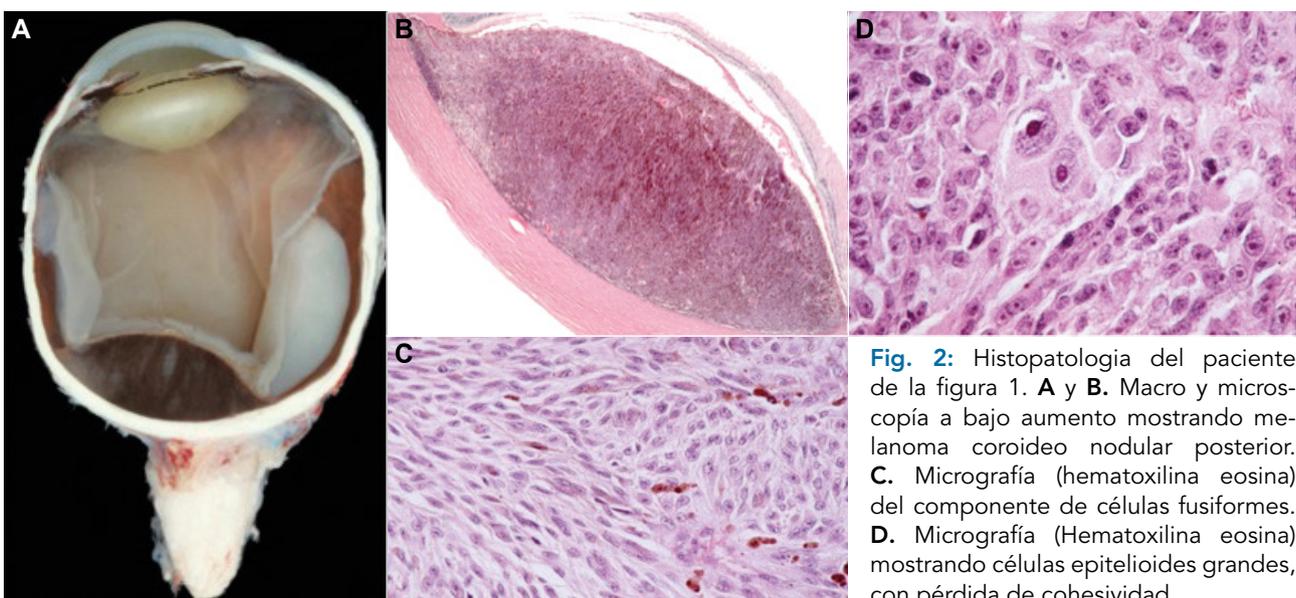


Fig. 2: Histopatología del paciente de la figura 1. **A y B.** Macro y microscopía a bajo aumento mostrando melanoma coroideo nodular posterior. **C.** Micrografía (hematoxilina eosina) del componente de células fusiformes. **D.** Micrografía (Hematoxilina eosina) mostrando células epitelioides grandes, con pérdida de cohesividad.

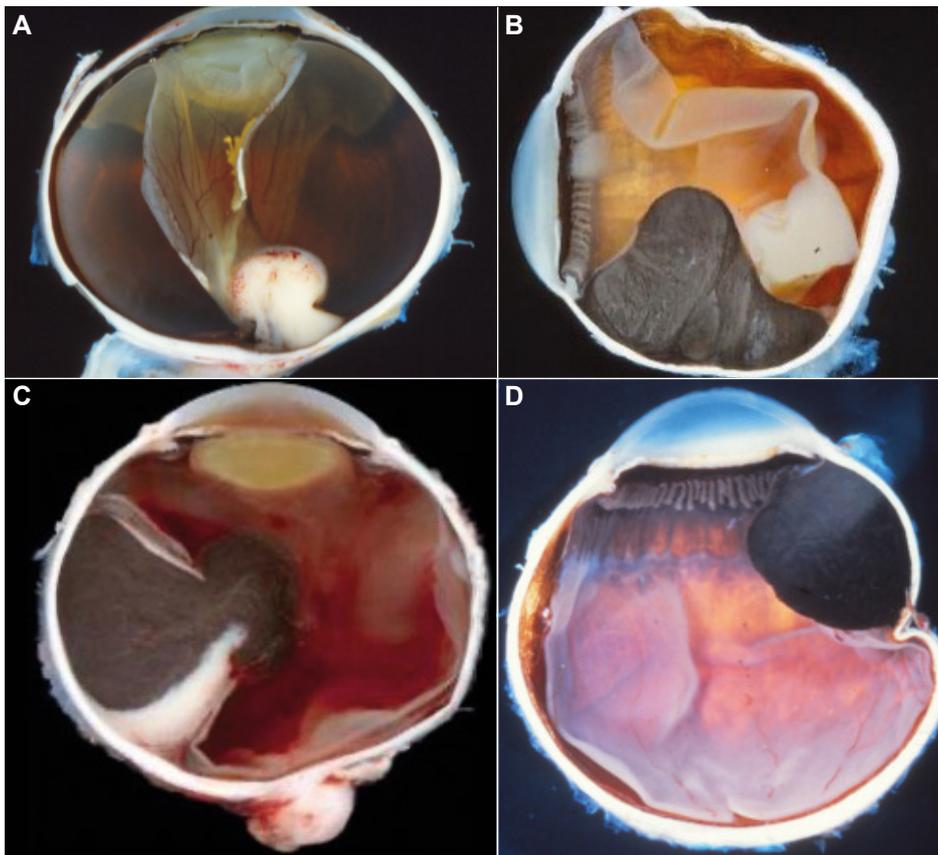


Fig. 3: Melanoma uveal. Imágenes macroscópicas e histopatológicas (hematoxilina eosina). **A, B y C.** Melanomas en forma de champiñón amelanóticos y pigmentados. **D.** melanoma de cuerpo ciliar.

CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA Y FACTORES PRONÓSTICOS

En 1931, Callender propuso una clasificación de los melanomas malignos uveales basada en la citología y las características histopatológicas. Callender dividió básicamente las células de los MU en dos tipos citológicos principales: fusiformes y epitelioides. También identificó dos subtipos de células fusiformes basándose en las características nucleares. El subtipo A tiene un núcleo delgado con cromatina fina y un nucléolo indistinto. Característicamente, las células del tipo fusiforme A suelen tener un pliegue longitudinal en la envoltura nuclear que da el aspecto de una veta de cromatina (grano de café). El subtipo B tiene un núcleo más grande, una cromatina más gruesa y un nucléolo más prominente y más eosinófilo. Las células de tipo epitelioides son más grandes y pleomórficas que las de tipo fusiforme. Suelen tener abundante citoplasma y un borde celular diferenciado, a menudo con espacio extracelular entre las células adyacentes. La falta de cohesividad

es una de las características más importantes de las células de tipo epitelioides y uno de los rasgos que las distinguen de las células fusiformes (fig. 2).

Callender y cols. clasifican los UM en seis grupos. Cuatro de ellos se basaban en la composición citológica de los tumores: Fusiforme A, Fusiforme B, tipo celular mixto y tipo celular epitelioides. Una revisión de la clasificación de Callender reconoce ahora tres tipos distintos dentro de estos tumores: (5) melanoma de células fusiformes (>90% de células fusiformes), melanoma de células mixtas (>10% de células epitelioides y <90% de células fusiformes) y melanoma de células epitelioides (>90% de células epitelioides). La mayoría de los MU contienen un número variable de células fusiformes y epitelioides. Los tumores compuestos en su totalidad por células epitelioides sólo representan alrededor del 3% de todos los melanomas intraoculares. En los melanomas uveales se identifican, en raras ocasiones, necrosis y células tumorales que contienen abundantes lípidos citoplasmáticos «degeneración baloniforme».

El pronóstico del UM está relacionado con varios factores, como la citopatología y la citomorfometría, el tamaño del tumor (mayor diámetro basal y mayor grosor), la edad, la extensión extraocular, la actividad mitótica, los linfocitos infiltrantes del tumor, el patrón vascular (asas fibrovasculares) y el perfil genético (3,6-8).

1. Las **características citopatológicas y citomorfométricas** combinadas son uno de los factores pronósticos más fiables. La citomorfometría añade objetividad a la clasificación citológica del MU. Varios autores miden el área, la circunferencia, la anchura y la longitud de los núcleos y nucléolos de las células y calculan la media y la desviación estándar de estas medidas en cincuenta tumores diferentes estudiando su valor pronóstico. Las medidas del tamaño nucleolar fueron mejores predictores del desenlace que las del tamaño nuclear. Por lo tanto, los patólogos deberían poner un mayor énfasis en el tamaño nucleolar combinado con los resultados de la clasificación citológica para una mejor predicción del pronóstico del paciente. Curiosamente, Burnier Pereira y sus colegas analizaron los núcleos y nucléolos más grandes de 58 melanomas cutáneos y concluyeron que estas características también se asociaban significativamente con la metástasis en pacientes con melanomas cutáneos (9).

2. **El tamaño del tumor** es casi tan importante como **el tipo celular** existiendo una correlación directa entre ambos. Cuanto mayor es el tamaño del tumor, más probabilidades hay de que sean de la variante celular mixta o epitelioides y peor es el pronóstico.

La tasa de mortalidad a 10 años de los pacientes con tumores intraoculares pequeños (<11 mm) es inferior a la observada con tumores más grandes (>15 mm) (19% y 65% respectivamente). La asociación del perfil genético del tumor con el tamaño tumoral parece mejorar la discriminación pronóstica del paciente (10). La mortalidad de los pacientes también varía en función del tipo celular. La tasa de mortalidad a 15 años de los melanomas de células fusiformes, es del 20%; melanomas de células mixtas, 60%; y los raros melanomas epitelioides puros, alrededor del 75%. Incluso unas pocas células epitelioides en un melanoma compuesto predominantemente por células B fusiformes indican un curso más desfavorable que el observado en un melanoma compuesto en su totalidad por células fusiformes (fig. 3).

3. **La extensión extraocular**, como cabría esperar, tiene una mayor incidencia de recurrencia orbitaria que los tumores restringidos al interior del ojo. La esclerótica constituye una barrera para la salida del tumor y la extensión suele producirse a través de los canales emisarios. La mayoría de los MU con extensión extraocular son grandes y se producen en pacientes con un diagnóstico tardío. Ocasionalmente, las células neoplásicas pueden invadir la luz de las venas vorticosas, representando una fuente común de metástasis hematogena (fig. 4).

4. La **actividad mitótica** tiene un valor pronóstico en el MU y suele estar asociada al tipo celular epitelioides. Estos tumores suelen contener pocas figuras mitóticas y se recomienda explorar un mínimo de 40 campos de gran aumento.

5. **Linfocitos infiltrantes tumorales (TIL)**: los mecanismos primarios del huésped contra el cáncer son probablemente inmunológicos y los TIL representan un componente importante de la respuesta inmunitaria del huésped a un tumor maligno. Whelchel y sus colegas descubrieron que en el 74% de los tumores, los linfocitos infiltrantes eran predominantemente células T y se asocian con altas tasas de mortalidad. Debido al hecho de que el ojo es un sitio inmune privilegiado, los linfocitos T tienen que ser atraídos a los tejidos intraoculares por células malignas circulantes, por lo tanto, los TIL intratumorales se asocian con un alto número de células malignas circulantes. Los macrófagos infiltrantes tumorales se han estudiado en melanomas coroideos primarios, de forma similar a los TIL, y pueden considerarse un factor pronóstico independiente (6).

6. **Patrones vasculares** (asas fibrovasculares): La neovascularización es tanto una respuesta del huésped al tumor como un paso necesario en el proceso de diseminación hematogena. Los pacientes cuyos tumores presentan asas fibrovasculares mostraron una tasa de supervivencia de alrededor del 40% en comparación con el 80% de las tasas de supervivencia en pacientes cuyos tumores no presentaban este patrón vascular. McLean y Burnier describieron tres categorías de vascularización en la UM: presencia de asas vasculares, presencia de asas equívocas y ausencia de asas, y descubrieron que la presencia de asas vasculares se asociaba significativamente con la muerte relacionada con el tumor tanto en el análisis univariante como en el multivariante (7).

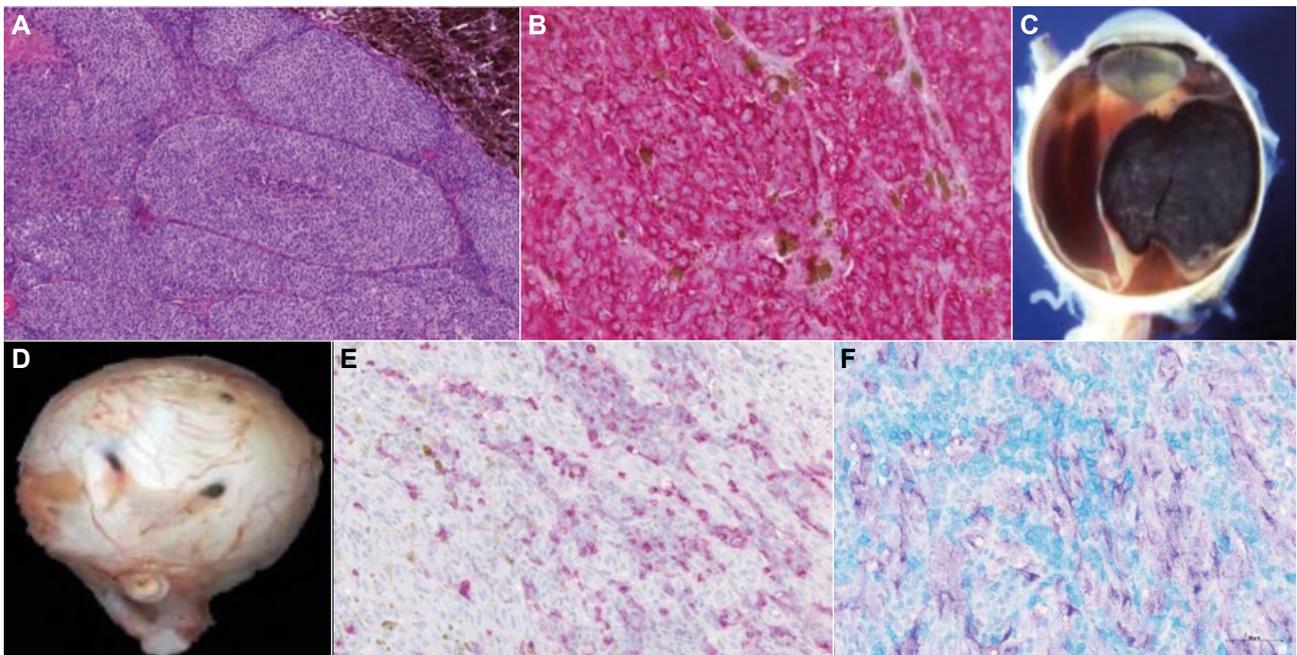


Figure 4: **A.** Micrografía mostrando asas vasculares (PAS). **B.** Micrografía mostrando positividad intensa para HMB-45 (rojo). **C y D.** Macroscopia de melanoma de coroides en champiñón mostrando invasión macroscópica de venas vorticosas. **E.** Micrografía mostrando infiltración linfocítica marcada con CD45. **F.** Doble marcado CD45 y HMB-45 mostrando células de naturaleza dual (DNCs).

7. Perfil genético: Los análisis genéticos han demostrado que la pérdida de una copia del cromosoma 3 (monosomía 3) es un marcador de importancia pronóstica en el MU. Estos pacientes presentan una elevada tasa metastásica y de mortalidad. La tasa de mortalidad es mucho peor cuando la pérdida del cromosoma 3 se acompaña de ganancia del cromosoma 8, lo que ocurre con frecuencia. Asimismo, la ganancia del cromosoma 6 y la pérdida del cromosoma 1p parecen estar relacionadas con el pronóstico del MU (11,12). Además, se ha demostrado que la mutación de la proteína 1 asociada a BRCA1 (BAP1) (gen supresor de tumores) o del factor de splicing SF3B1 está relacionada con la aparición de metástasis (13,14). La amplificación del cromosoma 7 que alberga c-Met también se ha identificado como de valor pronóstico. C-Met está controlada por una proteína llamada NM-23 que puede verse afectada por la cantidad de COX-2 dentro del tumor primario. Varias publicaciones han mostrado la relevancia de la medicación anti-COX-2 para intentar prolongar la duración entre el diagnóstico del tumor primario y la metástasis hepática (tiempo de supervivencia libre de enfermedad).

Según el perfil de expresión génica basado en microarrays, los MU pueden clasificarse en dos clases. La discriminación la clase 1 (bajo grado) de la

clase 2 (alto grado) se basa en grupos altamente significativos de genes regulados a la baja en los cromosomas 3 y genes regulados al alza en el cromosoma 8q. Los pacientes con MU de clase 2 tienen un pronóstico significativamente peor que los pacientes con UM de clase 1. Dado que la enucleación no es el tratamiento de elección para la mayoría de los MU, se ha propuesto la realización de biopsias por aspiración con aguja fina (BAAF) para obtener material para análisis genéticos de valor pronóstico (15). Las mutaciones en el GNAQ y el GNA11 parecen ser un evento precoz en este tumor.

DIAGNÓSTICO COMBINADO CON FACTORES PRONÓSTICOS: EL NOVEDOSO USO DE LAS BIOPSIAS LÍQUIDAS EN EL MELANOMA UVEAL

Recientemente, la biopsia líquida en el MU ha aportado una gran cantidad de conocimientos para el diagnóstico y pronóstico de este tumor en particular. Partiendo de la base de que el MU es ya una enfermedad sistémica en el momento del diagnóstico ocular, las células tumorales circulantes (CTC) están presentes en la sangre de la gran mayoría de los pacientes (16,17). Para que la infiltración linfocítica sea un fuerte signo de peor pronóstico,

es necesario que las CTC interactúen con el sistema inmunológico para llevar linfocitos (linfocitos T) al tumor uveal. El ojo no tiene linfáticos dentro de las estructuras intraoculares y ese hecho explica la singular interacción inmunológica entre el MU y el sistema inmunológico (linfocitos T). La biopsia líquida es una alternativa sencilla y no invasiva a las biopsias quirúrgicas que nos permite descubrir información sobre un tumor a través de una simple muestra de sangre. Además de las CTC, también podrían identificarse en la sangre, mediante biopsias líquidas, los ácidos nucleicos circulantes, que son pequeños fragmentos de ácidos nucleicos liberados en la sangre (por ejemplo, ctADN) y los exosomas (vesículas intracitoplasmáticas), que son pequeñas vesículas derivadas de membranas que contienen biomoléculas funcionales que reflejan su célula de origen. Recientemente, los exosomas se han utilizado para diferenciar los nevus de los melanomas. En los melanomas uveales, el número y el tamaño de los exosomas también son característicos de esta neoplasia en particular (18-20).

El uso de la biopsia líquida aportó un nuevo concepto de células híbridas circulantes (CHC). Se trata de una población de células neoplásicas circulantes que coexpresan antígenos neoplásicos y leucocitarios. En otros tipos de cáncer, las CHC son más numerosas y predicen mejor los resultados oncológicos que las CTC. La detección de CHCs es altamente sensible en el MU independientemente del estadio de la enfermedad. Los CHC se consideran un biomarcador de pronóstico novedoso y prometedor en el cáncer de mama (21). Datos no publicados de nuestro grupo también han demostrado un tipo de células híbridas denominadas células de naturaleza dual (DNC) en el tumor primario. Son, al igual que las células híbridas, una combinación de leucocitos del paciente y células neoplásicas. El análisis de 28 ojos enucleados de pacientes con melanoma coroideo mostró DNCs en el 79% de ellos (fig. 4). La importancia de las DNCs en el tumor primario y en la sangre de los pacientes, está siendo actualmente investigada en mayor profundidad por nuestro grupo (22).

RECIDIVA Y METÁSTASIS

La relación entre extensión extraocular, recidiva orbitaria y metástasis no es tan importante en los casos de MU como en los de retinoblastoma,

teniendo un valor pronóstico menor en el MU. Su importancia está en correlación con otras características del tumor, en particular con tumores de gran tamaño y de tipo celular epitelioide en pacientes con un diagnóstico tardío. En la mayoría de los casos fatales de extensión extraocular, la causa de la muerte es la metástasis hematógena concomitante del tumor. El lugar más frecuente de metástasis es el hígado (92%), seguido del pulmón (30%), los huesos (23%) y la piel (17%)(11). Los ganglios linfáticos abdominales y axilares pueden verse afectados con poca frecuencia de forma secundaria a metástasis hepáticas y pulmonares. Sólo hay unos pocos casos de diseminación del melanoma a los ganglios linfáticos regionales y en ningún caso los pacientes fallecen por extensión local. Todos estos hallazgos sugieren que la biología de la metástasis del MU no incluye frecuentemente la invasión local y la diseminación a los ganglios linfáticos regionales. En su lugar, la diseminación hematógena con la consiguiente metástasis hepática es la causa más frecuente de muerte en estos pacientes. La alta prevalencia de metástasis hepáticas no puede explicarse por la circulación sanguínea. De hecho, el proceso incluye una selección del hígado por parte de las células neoplásicas diseminadas. Los modelos animales que utilizan células humanas de MU han demostrado que las metástasis hepáticas son consecuencia de un proceso de selección por parte de las células tumorales diseminadas (23). Como se ha mencionado anteriormente, la diseminación sanguínea se encuentra en la gran mayoría de los pacientes y los melanocitos malignos circulantes probablemente desarrollan una atracción hacia el hígado debido a la formación de células de naturaleza dual.

La mediana de supervivencia tras una metástasis hepática es de 4 a 6 meses, con una supervivencia a 1 año del 10%-15%, en comparación con una mediana de supervivencia de 19 a 28 meses, con una supervivencia a 1 año de aproximadamente el 76% en pacientes con metástasis que no afectan al hígado. A pesar de la identificación de las mutaciones impulsoras tempranas durante el desarrollo de esta patología, el proceso de las metástasis del MU todavía no se conoce completamente. Una mejor comprensión de los factores genéticos, moleculares y ambientales que participan en la propagación y crecimiento de las metástasis podrá proporcionar nuevas orientaciones terapéuticas para el tratamiento del MU (12).

MENSAJES CLAVE A RECORDAR

- En el momento del diagnóstico, la mayoría de los pacientes con melanoma uveal, ya tienen células malignas circulantes. Este hecho explica la infiltración linfocítica que se produce en este tumor y que representa un peor pronóstico, al contrario que en los melanomas cutáneos.
- Otros factores pronósticos, como el tamaño, el tipo celular, la extensión extraocular, la infiltración linfocítica, las asas vasculares y la monosomía del cromosoma 3, son importantes para predecir el pronóstico de los pacientes con este tumor.
- Las biopsias líquidas constituyen un enfoque novedoso para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con melanoma uveal y para predecir el posible desarrollo de metástasis hepáticas.
- Recientemente se han descrito células de naturaleza dual (DNC) en la sangre de pacientes con melanoma uveal (biopsias líquidas) y en el tumor primario (células doblemente marcadas - HMB-45 y CD45) y se está investigando más a fondo su valor pronóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Collaborative Ocular Melanoma Study Group. The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma: V Twelve-year mortality rates and prognostic factors: COMS report no. 28. *Arch Ophthalmol*. 2006; 124: 1684-93.
2. Puusaari I, Heikkonen J, Summanen P, Tarkkanen A, Kivela T. Iodine brachytherapy as an alternative to enucleation for large uveal melanomas. *Ophthalmology*. 2003; 110: 2223-34.
3. McLean IW, Saraiva VS, Burnier MN Jr. Pathological and prognostic features of uveal melanomas. *Can J Ophthalmol*. 2004; 39: 343-50.
4. Font RL, Croxatto JO, Rao NA. AFIP Atlas of Tumor Pathology. Tumors of the Eye and Ocular Adnexa. Fourth series, fascicle 5. American Registry of Pathology. 2006.
5. Grossniklaus HE, Finger PT, Harbour JW, et al. Protocol for the Examination of Specimens from Patients with Uveal Melanoma. College of American Pathologists. 2017.
6. Whelchel JC, Farah SE, McLean IW, Burnier MN. Immunohistochemistry of infiltrating lymphocytes in uveal malignant melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993; 34(8): 2603-6.
7. McLean IW, Keefe KS, Burnier MN. Uveal melanoma. Comparison of the prognostic value of fibrovascular loops, mean of the ten largest nucleoli, cell type, and tumor size. *Ophthalmology*. 1997; 104(5): 777-80.
8. Binkley EM, Bena JF, Davanzo JM, Hinz C, Boldt HC, Singh AD. Gene expression. Profiling prognostication of posterior uveal melanoma. Does size matter? *Ophthalmol Retina*. 2020; 4: 620-9.
9. Burnier Pereira F, Burnier MN Jr., Shibata H, Wang B, Carey W. Cytomorphometric parameters and the metastatic potential of cutaneous and uveal melanoma: A comparison with prognostic factors. *Am J Dermatopathol*. 2001; 23: 304-7.
10. Singh M, Durairaj P, Yeung J. Uveal Melanoma: A review of the literature. *Oncol Ther*. 2018; 6: 87-104.
11. Bustamante P, Piquet L, Landreville S, Burnier JV. Uveal melanoma pathobiology: metastasis to the liver. *Semin Cancer Biol*. 2020; 22: S1044-579X(20)30099-7.
12. Woodman SE. Metastatic uveal melanoma: biology and emerging treatments. *Cancer J*. 2012; 18: 148-152.
13. Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, et al. The biology of uveal melanoma. *Cancer Metastasis Rev*. 2017; 36: 109-40.
14. Damato B, Dopierala JA, Coupland SE. Genotypic profiling of 452 choroidal melanomas with multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Cancer Res*. 2010; 16: 6083-92.
15. Harbour JW, Chen R. The decision Dx-UM gene expression profile test provides risk stratification and individualized patient care in Uveal Melanoma. *PLoS Curr*. 2013; 9: 5.
16. Callejo SA, Anteckka E, Blanco PL, Edelstein C, Burnier Jr MN. Identification of circulating malignant cells and its correlation with prognostic factors and treatment in uveal melanoma. A prospective longitudinal study. *Eye*. 2006: 1-8.
17. Fernandes BF, Belfort RN, Di Cesare S, Burnier MN. CJO Editorial. Circulating uveal melanoma cells: should we test for them? *CJO*. 2008: 43:155-8.
18. Pessuti CL, Costa DF, Ribeiro KS, Abdouh M, Tsering T, Nascimento H, Commodaro AG, Marcos AAA, Torrecilhas AC, Belfort RN, Belfort Jr R, Burnier JV. Characterization of extracellular vesicles isolated from different liquid biopsies of uveal melanoma patients. *J Circ Biomark*. 2022; 11: 36-47.
19. Bustamante P, Tsering T, Coblenz J, Mastromonaco C, Abdouh M, Fonseca C, Proenca RP, Blanchard N, Duge CL, Andujar RAS, Youhnovska E, Burnier MN, Callejo SA, Burnier JV. Circulating tumor DNA tracking through driver mutations as a liquid biopsy-based biomarker for uveal melanoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021; 40(1): 196.
20. Jin E, Burnier JV. Liquid biopsy in Uveal Melanoma: Are we there yet? *Ocul Oncol Pathol*. 2021; 7(1): 1-16.
21. Parappilly MS, Chin Y, Whalen RM, Anderson AN, Robinson TS, Strgar L, Sutton TL, Conley P, Klocke C, Gibbs SL, Chang YH, Wu G, Wong MH, Skalet AH. Circulating neoplastic-immune hybrid cells predict metastatic progression in uveal melanoma. *Cancers*. 2022; 14(19): 4617.
22. Unpublished data: Marcotte E, Burnier JV, Lopez D, Burnier MN. Discovering the pathogenesis of cancer dissemination: The role of dual nature – hybrid cells in Uveal Melanoma. Keynote Lecture, SPO 2022, Coimbra, Portugal. December 3, 2022.
23. Blanco P., Marshall J.C., Anteckka E., Pessoa de Souza J., Saraiva V., Burnier M.N. Jr. : Characterization of Ocular and Metastatic Uveal Melanoma in an Animal Model. *IOVS*. 2005; 10-14.