

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.5-006.81.04:575.086

Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушникова А.А., Анурова О.А., Понкратова Д.А., Вихрова А.Н., Утяшев И.А.

МУТАНТНЫЙ СТАТУС И НЕКОТОРЫЕ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, г. Москва, Россия

Меланома кожи характеризуется молекулярной гетерогенностью. Работа посвящена анализу мутаций генов, активирующих МАРК-сигнальный путь (mitogen-activated protein kinase – митогенактивируемая протеинкиназа), в образцах первичной и метастатической меланомы кожи с целью определения чувствительности к препаратам таргетной терапии и выявления возможной ассоциации генетических данных с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками пациентов. Мутации генов BRAF, NRAS и KIT выявлены соответственно в 60,6; 13,8 и 1% случаев меланомы кожи. Мутантный статус меланомы различался в зависимости от локализации опухоли, хронической УФ-инсоляции и возраста пациента. Так, частота мутаций BRAF в меланоме туловища и конечностей (64,7%) выше, чем в меланоме лица и головы (42,8%). Показано, что частота мутации BRAF не зависит от пигментации и фазы роста меланомы. В то же время частота мутации NRAS ниже в беспигментных и выше в узловых меланомах, чем в пигментированных поверхностно-распространяющихся меланомах. Впервые показана ассоциация мутантного статуса с определенным гистологическим типом опухоли; наиболее высокая частота мутаций BRAF выявлена в эпителиоидноклеточной меланоме. Полученные результаты важны для лечения метастатической меланомы кожи, поскольку мутантный статус определяет чувствительность к таргетной терапии пациентов с мутациями BRAF, NRAS и KIT.

Ключевые слова: меланома кожи; первичная, метастатическая, беспигментная, узловая меланома; гистологические типы; мутации BRAF, NRAS, KIT.

Для цитирования: Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушникова А.А., Анурова О.А., Понкратова Д.А., Вихрова А.Н., Утяшев И.А. Мутантный статус и некоторые клинико-морфологические особенности меланомы кожи. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22 (2): 60–65. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-2-60-65>

Для корреспонденции: Мазуренко Наталья Николаевна, д-р биол. наук, проф., заведующая лабораторией онкогеномики НИИ канцерогенеза. E-mail: nnmazurenko@mail.ru.

Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A., Anurova O.A., Ponkratova D.A., Vikhrova A.N., Utyashev I.A.

MUTATIONAL STATUS AND SOME CLINICO-MORPHOLOGICAL FEATURES OF CUTANEOUS MELANOMA

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, 115478, Russian Federation

Cutaneous melanoma is characterized by molecular heterogeneity. The work is devoted to the analysis of mutational status of genes involved in MAPK signaling in primary and metastatic cutaneous melanoma for the detection of tumor sensitivity to the specific targeted therapy as well as possible links of genetic alterations in cutaneous melanoma with some clinical and morphological features. BRAF, NRAS and KIT mutations were found in 60.6%, 13.8% and 1% of cutaneous melanoma cases correspondingly. Mutational status of cutaneous melanoma is differed depending on tumor localization, chronic UV insolation and patients' age. Thus the rate of the BRAF mutation in melanomas of trunk and extremities (64.7%) was higher than in melanomas of face and head (42.8%). The rate of BRAF mutation was shown to be not associated with pigmentation and tumor growth while NRAS mutation frequency in amelanotic melanoma was lower and in nodule melanoma – higher if compared with pigmented cutaneous melanoma in the radial growth phase. The trend in the association of mutations with melanoma histological type was shown for the first time, the highest rate of BRAF mutation was found in epithelioid melanoma. The obtained results are important for the treatment of cutaneous melanoma as mutational status determines the sensitivity of metastatic melanoma to specific targeted therapy in patients with BRAF, NRAS and KIT mutations.

Key words: primary and metastatic melanoma; cutaneous melanoma; amelanotic; nodule melanoma; BRAF; NRAS and KIT mutations.

For citation: Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A., Anurova O.A., Ponkratova D.A., Vikhrova A.N., Utyashev I.A. Mutational status and some clinico-morphological features of cutaneous melanoma. *Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2017; 22(2): 60–65. (In Russ). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-2-60-65>

For correspondence: Natalia N. Mazurenko, PhD, Doctor of Biological Sciences, Prof., Head of Oncogenomics Laboratory of the Institute of Carcinogenesis; Moscow, 115478, Russian Federation. E-mail: nnmazurenko@mail.ru.

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

Acknowledgment. This work was supported by a grant of the Russian Scientific Foundation (№14-35-00107).

Received 25 November 2016

Accepted 22 December 2016

Меланома – наиболее опасное злокачественное заболевание кожи с высоким риском рецидивирования и метастазирования. Меланома составляет менее 10% среди злокачественных новообразований кожи, но ответственна за 80% смертей в этой группе заболеваний. Ежегодный прирост количества новых случаев в мире в течение последних 40 лет составил около 5%, и по прогнозу ВОЗ, заболеваемость меланомой в течение 10 лет вырастет на 25% [1, 2].

В России показатели заболеваемости меланомой ниже (3,8 случая на 100 тыс. мужчин и 4,2 случая на 100 тыс. женщин) [3], чем в Австралии, США и развитых странах Европы. В 2013 г. зарегистрированы 8974 новых случая меланомы, отмечен рост абсолютного числа заболевших меланомой по сравнению с 2008 г. на 16% [3]. Наиболее опасна метастатическая меланома, в России 25% вновь выявленных случаев представляют меланому на поздних стадиях. Часто обнаруживают метастатические узлы меланомы без выявленного первичного очага.

В последнее время достигнуты значительные успехи в понимании молекулярных механизмов возникновения и развития меланомы и наметился реальный прогресс в лечении пациентов с метастатической меланомой. Улучшение результатов лечения стало возможным, в частности благодаря ингибированию основных сигнальных путей, специфичных для меланомы, с помощью таргетной терапии [2, 4, 5].

Основная роль в патогенезе меланомы принадлежит MAPK-сигнальному пути (RAS/RAF/MEK/ERK) – ключевому регулятору клеточной пролиферации, дифференцировки, выживания и метастазирования. Гиперактивация MAPK-сигнального пути наблюдается в 80–90% случаев меланомы кожи, в первую очередь вследствие мутаций *BRAF* и *NRAS*, в 2% меланомы кожи встречаются мутации рецептора *KIT*, обладающего тирозинкиназной активностью [1, 2, 6]. Клинико-патологические характеристики меланомы с мутациями *BRAF* и *NRAS* различаются [7, 8].

Развитие меланомы – сложный процесс, в который вовлечены различные факторы. Главным внешним фактором, связанным с возникновением меланомы, является ультрафиолетовое (УФ) облучение. Хотя инсоляция является фактором риска, меланома кожи чаще появляется на участках тела, закрытых для хронического УФ-облучения. Более 60% случаев меланомы кожи возникают вследствие трансформации кожных меланоцитов, а остальные – из предсуществующих доброкачественных меланоцитарных невусов, многие из которых содержат мутантные гены *BRAF* или *NRAS* [9].

Начиная с 2011 г. для лечения меланомы с мутацией *BRAFV600E/K* применяют препараты вемурафениб и дабрафениб, которые ингибируют мутантный ген *BRAF* и передачу сигнала MAP-киназам MEK и ERK [1, 2, 4, 5]. Для больных с мутациями *NRAS* наиболее обещающим является применение препаратов, ингибирующих MEK (траметиниб, биниметиниб, кобиметиниб). В настоящее время наилучшие результаты при лечении метастатической меланомы кожи получают при комбинированном применении препаратов, ингибирующих *BRAF* и *MEK* (дабрафениб плюс траметиниб или вемурафениб плюс кобиметиниб) [10, 11]. В случае мутации рецепторной тирозинкиназы *KIT* эффект возможен при применении

тирозинкиназных ингибиторов иматиниба, дасатиниба, нилотиниба [1, 2].

Сегодня определение мутаций онкогенов в первичных опухолях или метастазах меланомы крайне важно для выбора тактики лечения больных и определения мишенной таргетной терапии. Ранее мы провели сравнительное изучение спектра и частоты мутаций онкогенов в меланоме кожи и слизистых оболочек [12]. В настоящей работе представлены результаты анализа мутаций генов *BRAF*, *NRAS* и *KIT* в образцах первичной и метастатической меланомы кожи от 203 пациентов с целью определения чувствительности к препаратам таргетной терапии и выявления возможной ассоциации генетических нарушений с некоторыми клинико-морфологическими характеристиками пациентов.

Материал и методы

В исследование включены препараты первичных опухолей и метастазов меланомы кожи от 203 пациентов, получавших лечение в ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2011–2016 гг. Для генетического исследования использовали образцы фиксированной опухолевой ткани в парафиновых блоках или свежие операционные биопсии. Морфологическая характеристика и гистологическая верификация опухолевой ткани проведены в отделении патологической анатомии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Характеристика материала. Большинство исследованных образцов ткани представляли собой метастазы меланомы, чаще всего в лимфоузлы, легкие, кожу, печень, мягкие ткани, головной мозг. Препараты первичной меланомы поступили только от 53 (26%) пациентов.

Среди пациентов мужчины и женщины представлены примерно в равной степени (107, или 51,4% женщин и 96, или 48,6% мужчин). Возраст пациентов варьировал в пределах от 14 до 87 лет, исключение составил мальчик в возрасте 4 мес с меланокитозом и меланомой на фоне врожденного невуса. Данные о наличии предшествовавшего меланоме невуса были получены в 29 случаях.

Локализация первичной опухоли была известна для 81% пациентов: меланома на спине возникла у 61 пациента, на груди и передней брюшной стенке – у 18 пациентов, на лице, шее и голове – у 14 человек, на коже верхних или нижних конечностей – у 71 пациента; 39 (19%) случаев представляли метастазы меланомы, первичная локализация которой осталась неизвестна (табл. 1). У 49 пациентов меланома была беспигментной или малопигментной. Узловой тип роста меланомы отмечен в 45 случаях.

Методы. Препараты ДНК получали из опухолевых клеток, собранных в результате макродиссекции депарафинизированных срезов опухолевых биопсий, а для выделения ДНК из свежемороженого биопсийного материала использовали набор «Ампли Прайм ДНК-сорб-В» (производитель ООО «НекстБио», Россия). Анализ мутаций онкогенов проводили методом ПЦР с праймерами к 15-му экзону *BRAF*, 2-му и 3-му экзонам *NRAS* и 11, 13 и 17-му экзонам *KIT*, как описано ранее [12]. После разделения в агарозном геле продукты ПЦР выделяли с помощью набора Wizard® PCR Preps DNA Purification

System («Promega», США), с последующим секвенированием на ABI PRISM 3100-Avant с помощью реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator Vol.3.1.

Результаты

Частота мутаций онкогенов в зависимости от локализации меланомы

Исследование мутаций в 203 образцах меланомы кожи позволило выявить мутации генов *BRAF* в 60,6% и *NRAS* в 13,8% случаев (см. табл. 1). Полученные данные совпадают с результатами многоцентрового исследования частоты мутаций *BRAF* более чем в 1000 случаев меланомы кожи из 47 медицинских учреждений России [13], что свидетельствует, что данная частота мутации *BRAF* характерна для меланомы кожи в российской популяции. Молекулярно-эпидемиологические исследования показали, что частота мутаций различается в зависимости от этнической принадлежности пациентов. У белых американцев гены *BRAF* и *NRAS* дикого типа присутствуют в 31,1% меланомы, тогда как у пациентов азиатского происхождения или афроамериканцев – в 61,1% [14]. В нашем исследовании гены *BRAF* и *NRAS* дикого типа обнаружены в меланоме у 25% пациентов.

Необходимо отметить, что большинство (150) опухолей представляли собой метастазы меланомы, и только у 53 пациентов исследована первичная меланома кожи. У 111 пациентов исследователи изучали метастазы меланомы известной локализации и у 39 – метастазы меланомы без известного первичного очага.

Частота мутаций *BRAF* и *NRAS* в первичной меланоме кожи у 53 больных составила соответственно 67,9 и 13,2%, тогда как при анализе 150 случаев метастазов меланомы частота мутаций оказалась ниже (*BRAF* 58% и *NRAS* 14%). Таким образом, выявленная частота мутаций при первичной меланоме выше, чем в группе метастазов меланомы от других больных (неконкордантных), что может быть связано с локализацией первичной опухоли или с гетерогенностью меланомы. Причем в 111 случаях метастазов меланомы кожи с известной первичной локализации частота мутаций *BRAF* и *NRAS* составила 60,4 и 15,3% соответственно, тогда как в 39 образцах метастазов меланомы без выявленного первичного очага частота мутаций онкогенов ниже (*BRAF* 51,3%

и *NRAS* 10,2%). Однако нельзя исключить, что не все метастазы меланомы без выявленного первичного очага являются метастазами меланомы кожи, возможно, некоторые из них являются метастазами меланомы других подтипов, которые, как известно, характеризуются более низкой частотой мутаций *BRAF* [1, 2, 6, 12].

Наиболее высокая частота мутаций *BRAF* (69,6%) отмечена в 79 образцах меланомы туловища: мутации выявлены в 68,8% случаев меланомы спины и 72,2% случаев меланомы груди или передней брюшной стенки. Достаточно высокая частота мутаций *BRAF* отмечена в образцах меланомы верхних (55,5%) и нижних конечностей (61,3%). Если суммировать эти данные, то мутация *BRAF* выявлена в 97 (64,7%) из 150 случаев меланомы туловища и конечностей. В то же время в 14 случаях меланомы кожи лица, шеи, головы мутации *BRAF* обнаружены только в 42,8% случаев. Полученные результаты свидетельствуют, что мутации *BRAF* характерны для меланомы кожи на участках, не подверженных хроническому солнечному облучению и повреждению, и реже встречаются на участках, открытых для УФ-облучения [1, 6–8].

Наиболее распространенная мутация в 15-м экзоне *BRAF* с 1799T>A (GTG>GAG) приводит к замене валина на глутаминовую кислоту (V600E) в киназном домене серинтреонинкиназы *BRAF* [15] и выявлена в 91% (112 из 123) случаев меланомы. Кроме того, обнаружены 6 опухолей с заменой валина на лизин V600K (4,9%), две меланомы с мутацией K601E и три меланомы с мутацией L597Q, причем меланомы с редкими мутациями возникли у пожилых людей. При редких мутациях L597R/S/Q и K601E активность протеинкиназы *BRAF* составляет лишь 30% от активности фермента с мутацией V600E [16]. Мутации K601E и L597Q нечувствительны к ингибиторам *BRAF*, но чувствительны к ингибиторам *MEK*, в частности траметинибу [17].

Мутации *NRAS* выявлены в 13,8% случаев меланомы кожи. При этом частота мутаций *NRAS* варьирует от 5,5% в опухолях на участках кожи груди и передней брюшной стенки до 18,2% в меланоме нижних конечностей и 28,6% в образцах меланомы кожи лица и головы (см. табл. 1). Таким образом, подтверждается, что мутации *NRAS* чаще встречаются в образцах меланомы на участках кожи с повреждениями, вызванными хронической инсоляцией [1, 4–6, 12].

Таблица 1

Частота мутаций в меланоме кожи различной локализации

Образцы ткани	Число образцов	Частота мутаций			
		<i>BRAF</i>	<i>NRAS</i>	<i>KIT</i>	<i>WT</i>
Меланома кожи спины	61	42 (68,8)	8 (13,1)	1 (1,6)	10 (16,4)
Меланома кожи груди, брюшной стенки	18	13 (72,2)	1 (5,5)	0	4 (22,2)
Меланома кожи лица, головы	14	6 (42,8)	4 (28,6)	1 (7,1)	3 (21,4)
Меланома кожи верхних конечностей	27	15 (55,5)	3 (11,1)	0	9 (33,3)
Меланома кожи нижних конечностей	44	27 (61,3)	8 (18,2)	0	9 (20,4)
Метастазы меланомы без выявленного первичного очага	39	20 (51,3)	4 (10,2)	0	15 (38,5)
Всего...	203	123 (60,6)	28 (13,8)	2 (1)	50 (24,6)

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4 в скобках процент.

Таблица 2

Частота мутаций в меланоме пациентов разного возраста

Мутации	Возрастные группы					
	< 30 лет (n = 22)	31–40 лет (n = 18)	41–50 лет (n = 33)	51–60 лет (n = 58)	61–70 лет (n = 36)	71–87 лет (n = 21)
<i>BRAF</i>	68,1%	38,8%	66,6%	65,5%	51,5%	61,9%
<i>NRAS</i>	18,2%	5,5%	12,1%	12,1%	18,1%	9,5%

Примечание. n – число пациентов

Замены в 3-м экзоне *NRAS* в кодоне 61 обнаружены в 86,7% (26 из 30) опухолей, такие мутации приводят к aberrантной форме белка, который не может гидролизовать RAS-ГТФ и остается гиперактивным [18]. В нашей выборке наиболее часто встречались мутации, приводящие к замене глутамин на лизин Q61K (40%) или аргинин Q61R (33%), также обнаружено по одному случаю замены глутамин на лейцин, пролин, гистидин или аспарагин (Q61L/P/H/N). Помимо этого, в 4 (13,3%) случаях первичной меланомы кожи выявлена мутация во 2-м экзоне *NRAS* в кодоне 12, приводящая к замене глицина на цистеин, G12C. Мутации в 2-м экзоне *NRAS* возникают на ранних стадиях и вовлечены в инициацию меланомы, тогда как мутации в экзоне 3 *NRAS* находят в опухолях на более поздних стадиях и предполагают, что они участвуют в метастазировании [19]. Получены экспериментальные доказательства мутагенного эффекта УФ-облучения при образовании мутаций Q61L/K, но не G12/G13 *NRAS* и *BRAF* [1, 19].

Хотя мутации *BRAF* и *NRAS* взаимоисключающие, у одной пациентки в метастазе меланомы без выявленного первичного очага обнаружены две мутации BRAFL597Q и NRASQ61R. Такие случаи одновременного присутствия слабой мутации *BRAF* (L597R) и мутации *NRAS* встречаются редко [1], вероятно, мутации присутствуют в разных клонах клеток опухоли.

Мутации в 11 экзоне *KIT* выявлены в 2 (1%) случаях меланомы кожи, что привело к замене V559A в белке KIT у пациентки с меланомой кожи нижней губы и делеции 556-557QW в белке KIT у пациента с меланомой надлопаточной области спины. Делеции в регуляторном домене рецепторной тирозинкиназы KIT в отличие от миссенс-мутации редко встречаются в образцах меланомы и могут быть выявлены только при секвенировании. Мутации *KIT* в мелано-

ме кожи выявляются на участках, открытых для хронического облучения [1, 6]. Нельзя исключить, что у данного больного надлопаточная область спины могла часто подвергаться облучению.

Частота мутаций *BRAF* и *NRAS* в меланоме у пациентов разного возраста

Представлялось интересным проанализировать частоту мутаций *BRAF* и *NRAS* в меланоме кожи в зависимости от возраста пациента. Результаты анализа указывают на два пика в частоте мутаций онкогенов: максимальная частота мутаций *BRAF* наблюдалась в возрастных группах до 30 лет (68,1%) и 41–60 лет (65,5%), а минимальная – у пациентов в возрасте 31–40 лет (38,8%) (табл. 2).

Для онкогена *NRAS* также можно выделить два возрастных интервала. Известно, что мутации *NRAS* характерны для меланомы пациентов старшего возраста, но также встречаются и во врожденных невусах [1, 18]. В нашей выборке высокая частота мутаций *NRAS* наблюдалась, помимо группы больных 61–70 лет (18,1%), у пациентов до 30 лет (у 4 из 22, или у 18,2%). Скорее всего, меланомы с мутациями *BRAF* или *NRAS* у молодых людей возникают при малигнизации невусов, возможно врожденных. Мы наблюдали два случая малигнизации невуса с мутацией *NRAS* на открытой поверхности кожи: у ребенка в возрасте 4 мес с врожденным невусом на шее и у женщины 22 лет с голубым невусом на виске.

Мутантный статус и клиничко-морфологические особенности

В табл. 3 представлены результаты анализа спектра мутаций онкогенов в 111 образцах меланомы с различным гистологическим типом клеток.

Среди исследованных опухолей преобладали эпителиоидноклеточные меланомы (62%). При этом

Таблица 3

Частота мутаций онкогенов в меланоме кожи различного гистогенеза

Гистологический тип клеток меланомы кожи	Количество образцов (всего 111)	Частота мутации			
		<i>BRAF</i>	<i>NRAS</i>	<i>KIT</i>	<i>WT</i>
Эпителиоидный	69 (62)	46 (66,7)	7 (10,1)	0	16 (23,2)
Веретенноклеточный	12 (11)	5 (41,6)	0	1 (8,3)	6 (50)
Невоидный	13 (12)	5 (38,5)	2 (15,4)	0	6 (46,1)
Эпителиоидный + веретенноклеточный	11 (10)	5 (45,4)	5 (45,4)	0	1 (9,1)
Эпителиоидный + невоидный	6 (4)	3 (50)	2 (33,3)	0	1 (16,7)

Таблица 4

Частота мутаций *BRAF*, *NRAS* и *KIT* в беспигментной, узловой меланоме и в меланоме, возникшей на фоне невуса

Меланома кожи	Количество образцов	Частота мутаций			
		<i>BRAF</i>	<i>NRAS</i>	<i>KIT</i>	<i>WT</i>
Беспигментная	49	31 (63,3)	4 (7)	0	14 (28,6)
Узловая	45	24 (53,3)	9 (20,0)	1 (2,2)	11 (24,4)
Меланома на фоне невуса	29	20 (69,0)	5 (17,2)	0	4 (13,8)

частота мутаций *BRAF* в эпителиоидноклеточных опухолях была выше (66,7%), чем в веретеноклеточных (41,6%) и невоидноклеточных (38,5%), а также в меланоме со смешанным фенотипом. Вместе с тем большинство меланом с невоидноклеточным и смешанным эпителиоидным и веретеноклеточным или невоидным гистологическим типом содержат гены *BRAF* и *NRAS* дикого типа. Таким образом, очевидна тенденция, что мутантный статус меланомы кожи ассоциирован с гистологическим типом опухоли. Однако ранее в литературе мы таких данных не встречали.

Большинство исследованных опухолей, как первичных так и метастатических, представлены пигментированной поверхностно-распространенной меланомой. Лишь у 49 (24%) пациентов выявлена беспигментная или малопигментная меланома. Мутации *BRAF* выявлены в 31 (63,3%) случае беспигментной меланомы, а *NRAS* – только в 4 (7%) (табл. 4), что значительно ниже средних значений по выборке меланомы кожи (см. табл. 1).

Известно, что узловые формы меланомы с вертикальным типом роста характеризуются высокой агрессивностью [1, 6]. Изучение частоты мутаций онкогенов в 45 образцах узловой меланомы показало, что нет существенных отличий в частоте мутаций *BRAF* (24 случая, или 53,3%), тогда как частота мутаций *NRAS* (9 случаев, или 20%) оказалась выше средних значений по выборке меланомы кожи (сравнить данные табл. 4 и табл. 1). Этот факт коррелирует с тем, что меланомы с мутацией *NRAS* отличаются большей толщиной, чем опухоли с мутацией *BRAF* или диким типом, и это, по-видимому, связано с вертикальной фазой роста меланомы. Трансфекция *RAS* в клеточные линии меланомы с эпителиоидноклеточной морфологией усиливает продукцию протеазы и клеточную подвижность – черты, характерные для фазы вертикального роста меланомы [19].

В 29 случаях меланомы, возникшей на фоне невусов, отмечена высокая частота мутаций *BRAF* (69%) и *NRAS* (17,2%). Как известно, значительная часть меланом кожи возникает при трансформации предсуществующих доброкачественных меланоцитарных невусов, многие из которых содержат мутантные *BRAF* или *NRAS*. Невусы могут десятилетиями оставаться без изменений, для их малигнизации нужны дополнительные генетические нарушения, в частности, активация PI3K-Akt-mTOR-пути, либо инактивация гена-супрессора CDKN2A/p16^{INK4a} [1].

Очевидно, для прогрессии невуса в меланому потребовались дополнительные события: у ряда молодых людей 14–35 лет причиной трансформации невуса было избыточное УФ-облучение, а у 50-летнего

ликвидатора чернобыльской аварии, возможно, радиоактивное облучение. Нередко прогрессия невуса может быть следствием травмирования, в том числе и одеждой. У пожилых пациентов злокачественной трансформации невуса могли способствовать накопление генетических нарушений либо травма.

Заключение

В работе проанализированы результаты изучения мутантного статуса образцов меланомы кожи с различными клинико-морфологическими характеристиками. Показано, что частота мутаций *BRAF* в первичной опухоли выше, чем в метастазах, что, вероятно, связано с гетерогенностью опухоли. Мутантный статус меланомы кожи различается в зависимости от локализации опухоли, ее хронической инсоляции и возраста пациента. Впервые показана ассоциация мутантного статуса меланомы кожи с определенным гистологическим типом опухоли. Полученные результаты важны для выбора тактики лечения различных вариантов меланомы и используются для назначения препаратов таргетной терапии. Тип мутации определяет возможность ингибирования роста метастатической меланомы кожи тем или иным препаратом таргетной терапии потенциально у 75% пациентов с мутациями *BRAF*, *NRAS* и *KIT*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 14-35-00107).

ЛИТЕРАТУРА

1. Мазуренко Н.Н. Молекулярно-генетические факторы и маркеры меланомы. В кн: Кушлинский Н.Е., Мазуренко Н.Н., Немцова М.В. (ред.) *Молекулярно-генетические маркеры опухолей*. М.: Издательство РАМН; 2016: 85–128.
2. Rajkumar S., Watson I.R. Molecular characterization of cutaneous melanoma: creating a framework for targeted and immune therapies. *Br. J. Cancer*. 2016; 115(2): 145–55.
3. *Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2013 году* / Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. М.; 2015: 217.
4. Chakraborty R., Wieland C.N., Comfere N.I. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmacogen. Person. Med*. 2013; 6: 49–56.
5. Grimaldi A.M., Simeone E., Festino L. et al. Novel mechanisms and therapeutic approaches in melanoma: targeting the MAPK pathway. *Discovery Med*. 2015; 19(107): 455–61.
6. Bello D.M., Ariyan C.E., Carvajal R.D. Melanoma mutagenesis and aberrant cell signaling. *Cancer Control*. 2013; 20(4): 261–81.

7. Platz A., Egyhazi S., Ringborg U., Hansson J. Human cutaneous melanoma; a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Mol. Oncol.* 2008; 1(4): 395–405.
8. Ellenhorst J., Greene V.R., Ekmekcioglu S., Warneke C.L., Johnson M.M., Xooor C.P. et al. Clinical correlations of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17(2): 229–35.
9. Tschandi P., Berghoff A.S., Preusser M., Burgstaller-Muehlbacher S., Pehamberger H., Okamoto I. et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One.* 2013; 8(7): e69639.
10. Ascierto P.A., McArthur G.A., Dréno B., Atkinson V., Liszkay G., Di Giacomo A.M. et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAF(V600)-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(9): 1248–60. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30122-X
11. Vennepureddy A., Thumallapally N., Motilal Nehru V., Atallah J.P., Terjanian T. Novel drugs and combination therapies for the treatment of metastatic melanoma. *J. Clin. Med. Res.* 2016; 8(2): 63–75. doi: 10.14740/jocmr2424w
12. Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушников А.А., Понкратова Д.А., Анурова О.А., Черемухин Е.А. и др. Спектр мутаций онкогенов различается в подтипах меланомы кожи. *Молекул. биол.* 2015; 59(6): 1022–9.
13. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Кекеева Т.В., Алексахина С.Н., Гарифуллина Т.Р., Иванцов О.А. и др. Первое Всероссийское молекулярно-эпидемиологическое исследование меланомы: результаты анализа мутаций в гене *BRAF*. *Apx. nam.* 2014, (3): 65–72.
14. Jakob J.A., Bassett R.L.Jr., Ng C.S., Curry J.L., Joseph R.W., Alvarado G.C. et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer.* 2012; 118(16): 4014–23.
15. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S. et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002; 417(6892): 949–54.
16. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M., Lee S., Niculescu-Duvaz D., Good V.M. et al. Cancer Genome Project. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell.* 2004; 116(6): 855–67.
17. Bowyer S.E., Rao A.D., Lyle M., Sandhu S., Long G.V., McArthur G.A. et al. Activity of trametinib in K601E and L597Q BRAF mutation-positive metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2014; 24(5): 504–8.
18. Ross A.L., Sanchez M.I., Grichnik J.M. Molecular nevogenesis. *Dermatol. Res. Pract.* 2011. 463184. doi: 10.1155/2011/463184.
19. Fedorenko I.V., Gibney G.T., Keiran S.M. NRAS mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management. *Oncogene.* 2013; 32(25): 3009–18.
- 2013 / Eds. M.I. Davydov, E.M. Aksel. Moscow; 2015: 217 (in Russian)
4. Chakraborty R., Wieland C.N., Comfere N.I. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmacogen. Person. Med.* 2013; 6: 49–56.
5. Grimaldi A.M., Simeone E., Festino L. et al. Novel mechanisms and therapeutic approaches in melanoma: targeting the MAPK pathway. *Discovery Med.* 2015; 19(107): 455–61.
6. Bello D.M., Ariyan C.E., Carvajal R.D. Melanoma mutagenesis and aberrant cell signaling. *Cancer Control.* 2013; 20(4): 261–81.
7. Platz A., Egyhazi S., Ringborg U., Hansson J. Human cutaneous melanoma; a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in relation to histogenetic subclass and body site. *Mol. Oncol.* 2008; 1(4): 395–405.
8. Ellenhorst J., Greene V.R., Ekmekcioglu S., Warneke C.L., Johnson M.M., Cooke C.P. et al., Clinical correlations of NRAS and BRAF mutations in primary human melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17(2): 229–35.
9. Tschandi P., Berghoff A.S., Preusser M., Burgstaller-Muehlbacher S., Pehamberger H., Okamoto I. et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One.* 2013; 8(7): e69639.
10. Ascierto P.A., McArthur G.A., Dréno B., Atkinson V., Liszkay G., Di Giacomo A.M. et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAF(V600)-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(9): 1248–60. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30122-X
11. Vennepureddy A., Thumallapally N., Motilal Nehru V., Atallah J.P., Terjanian T. I. Novel drugs and combination therapies for the treatment of metastatic melanoma. *J. Clin. Med. Res.* 2016; 8(2): 63–75. doi: 10.14740/jocmr2424w
12. Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A., Ponkratova D.A., Anurova O.A., Cheremushkin E.A. et al. The spectrum of oncogene mutations differs among melanoma subtypes. *Молекул. биол.* Pleiades Publishing, Inc. 2015; 59(6), 917–23.
13. Frank G.A., Zavalishina G.A., Kekeeva T.V., Aleksakhina S.N., Garifullina T.R., Ivantsov O.A. et al. The first Russian molecular-epidemiologic melanoma study: the results of BRAF mutations analysis. *Arkh. pat.* 2014, (3): 65–72 (in Russian)
14. Jakob J.A., Bassett R.L.Jr., Ng C.S., Curry J.L., Joseph R.W., Alvarado G.C. et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer.* 2012; 118(16): 4014–23.
15. Davies H., Bignell G.R., Cox C., Stephens P., Edkins S., Clegg S. et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002; 417(6892): 949–54.
16. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M., Lee S., Niculescu-Duvaz D., Good V.M. et al. Cancer Genome Project. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell.* 2004; 116(6): 855–67.
17. Bowyer S.E., Rao A.D., Lyle M., Sandhu S., Long G.V., McArthur G.A. et al. Activity of trametinib in K601E and L597Q BRAF mutation-positive metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2014; 24(5): 504–8.
18. Ross A.L., Sanchez M.I., Grichnik J.M. Molecular nevogenesis. *Dermatol. Res. Pract.* 2011; 463184. doi: 10.1155/2011/463184.
19. Fedorenko I.V., Gibney G.T., Keiran S.M. NRAS mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management. *Oncogene.* 2013; 32(25): 3009–18.

REFERENCES

Поступила 25.11.16
Принята к печати 22.12.16