

Генетические особенности и маркеры меланомы кожи

Н. Н. Мазуренко

НИИ канцерогенеза ФГБНУ «РОИЦ им. Н. Н. Блохина», Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Наталья Николаевна Мазуренко nnmazurenko@mail.ru

Меланома — наиболее опасное злокачественное заболевание кожи человека с высоким риском метастазирования. Метастазирующая меланома прогностически крайне неблагоприятна и резистентна ко всем видам традиционной химиотерапии и биологическим препаратам. В последнее время достигнуты значительные успехи в понимании патогенеза и лечении меланомы. В развитие меланомы вовлечены как внешние (ультрафиолетовое облучение), так и внутренние (наследственные генетические) факторы. В 5–14 % случаев меланома кожи является наследственным заболеванием, обусловленным изменениями в генах предрасположенности. Факторами риска развития семейной меланомы являются герминальные мутации в генах регуляции клеточного цикла *CDKN2A* и *CDK4*, гене гомеостаза меланоцитов *MITF*, а также однонуклеотидные полиморфизмы ряда низкопенетрантных генов, в частности гена *MC1R*. В патогенез меланомы вовлечены онкогены и гены-супрессоры, входящие в состав различных сигнальных каскадов. В 75 % случаев меланомы кожи наблюдается гиперактивация сигнального пути *RAS/RAF/MEK/ERK*. Важнейшим генетическим событием в меланоме является активация сигнального пути *PI3K–AKT–mTOR*, причем уровень активации повышается с увеличением стадийности меланомы. Меланома представляет собой генетически и фенотипически гетерогенную группу опухолей. Спектр хромосомных нарушений и активирующих мутаций, формирующих различные молекулярные портреты опухоли, отличается в меланоме различной локализации. В меланоме поверхности кожи доминируют мутации в генах *BRAF* (50 %), *NRAS* (20 %), причем мутации *NRAS* характерны для опухолей на участках кожи, подверженных инсоляции. Активирующие мутации *KIT* выявляют в 20–30 % случаев меланомы акральной или мукозальной локализации, а также в меланоме, возникшей в результате ультрафиолетового повреждения кожи. В 25 % случаев меланома кожи развивается из предсуществующего невуса, в обзоре обсуждаются молекулярные механизмы малигнизации невусов. Использование полноэкзомного секвенирования меланомы позволило обнаружить новые гены, нарушения в которых связаны с повреждающим действием ультрафиолета: *PPP6C*, *RAC1*, *SNX31*, *TACC1* и *STK19*. Успехи в изучении меланомы привели к положительным результатам в ее лечении, особенно с помощью таргетной терапии. В обзоре рассмотрены молекулярные мишени и перспективы таргетной терапии метастатической меланомы кожи.

Ключевые слова: меланома кожи, акральная, мукозальная, метастазирующая меланома, наследственные факторы риска меланомы, гены *MC1R*, *CDKN2A*, *CDK4*, *MITF*, мутации генов *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, гены *PPP6C*, *RAC1*, *TACC1*, малигнизация невусов, таргетная терапия меланомы

Genetic alterations and markers of melanoma

N. N. Mazurenko

Scientific Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russia, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24

Melanoma remains the most deadly form of malignant skin disease with high risk of metastases. Metastatic melanoma is prognostic highly unfavorable and resistant to traditional chemotherapy and biologic treatment. There is a great progress in understanding of the molecular mechanisms underlying melanoma initiation and progression. The external (ultraviolet irradiation) and internal (genetic) factors are involved in melanoma genesis. 5–14 % of melanoma cases occur in familial context due to genetic predisposition risk factors. Among them rare germinal mutations in the cell cycle genes regulators *CDKN2A* and *CDK4* and in the master gene of melanocyte homeostasis *MITF*, as well as single nucleotide polymorphisms of several low-penetrated genes, namely *MC1R*, have been identified. The main cell signaling pathways and oncogene driver mutations are involved in melanoma pathogenesis. *RAS/RAF/MEK/ERK* cascade is hyperactivated in 75 % of cutaneous melanoma cases. Activation of *PI3K/AKT/mTOR* signaling pathway is important for melanoma progression. Recent studies revealed that melanomas are genetically and phenotypically heterogeneous tumors. Spectrum of chromosomal alterations and activating mutations corresponding to tumor molecular portraits varies in melanomas of different location. Most of cutaneous melanomas contain *BRAF* (50 %) or *NRAS* (20 %) mutations, and *NRAS* mutations occur on chronically sun-exposed skin. Activating *KIT* mutations have been reported in approximately 20–30 % of certain subtypes of melanoma, including acral and mucosal, and melanoma that develop on photodamaged skin. Cutaneous metastatic melanoma derive from preexisting nevi in 25 % of cases, molecular mechanisms of nevi malignization are discussed. Deepsequencing approaches of melanoma samples of different melanoma types highlighted new melanoma driver genes, that are damaged due to tumorigenic effects of ultraviolet: *PPP6C*, *RAC1*, *SNX31*, *TACC1* and *STK19*. The progress in melanoma studies allow to receive the positive results in melanoma treatment in particularly with targeted therapy. The molecular targets and future perspectives for targeted therapy of metastatic skin melanoma are discussed.

Key words: cutaneous melanoma, acral, mucosal, metastatic melanoma, genetic predisposition melanoma risk factors, genes *MC1R*, *CDKN2A*, *CDK4*, *MITF*, “driver” genes *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, genes *PPP6C*, *RAC1*, *TACC*, nevi malignization, melanoma targeted therapy

Меланома — наиболее опасное злокачественное заболевание кожи человека с высоким риском рецидивирования и метастазирования. Метастазирующая меланома прогностически крайне неблагоприятна и резистентна ко всем видам традиционной химиотерапии и биологическим препаратам, однако в последнее время улучшение результатов лечения стало возможным благодаря выявлению потенциальных онкогенов — мишеней таргетной терапии.

Заболеваемость меланомой составляет менее 2 % от общего числа онкозаболеваний: в 2012 г. в мире зарегистрировано 232 130 случаев меланомы и 14,1 млн вновь выявленных онкологических больных. Однако рост заболеваемости меланомой отмечен почти во всех странах мира и за 40 лет составил примерно 5 % в год [1]. По прогнозу Всемирной организации здравоохранения, заболеваемость меланомой в мире в течение ближайших 10 лет вырастет на 25 %.

В России в 2012 г. зарегистрировано 8723 новых случая меланомы при общем числе новых онкозаболеваний 525 931 [2]. С 2007 по 2012 г. в России прирост абсолютного числа заболевших меланомой составил 23,3 % у мужчин и 15,6 % у женщин. Заболеваемость меланомой в России (3,8 на 100 000 мужчин и 4,2 на 100 000 женщин) [2] и странах Восточной Европы (3 случая на 100 000 населения) ниже, чем в западноевропейских странах, США и Австралии (10–20, 20–30 и 54 случая на 100 000 населения соответственно) [3].

Составляя структурно не более 10 % злокачественных новообразований кожи, меланома ответственна за 80 % смертей от заболеваний этой группы [1]. В России в 2012 г. умерло от меланомы 3419 человек, что составляет 67 % от числа смертей от всех новообразований кожи, причем отмечен рост смертности мужчин при меланоме кожи на 5,9 % с 2007 по 2012 г. [2].

В 2013 г. в США заболело меланомой 76 690 человек и умерло 9480 [4]. В США смертность от меланомы занимает 5-е место у мужчин и 6-е у женщин среди пациентов с онкологическими заболеваниями, заболеваемость значительно выше у белого населения, чем у афроамериканцев [5]. В странах с высокой заболеваемостью меланома кожи — одна из самых частых злокачественных опухолей у молодых пациентов. Она является основной причиной смерти от злокачественных опухолей женщин в возрасте 25–30 лет в США и в возрасте 30–35 лет — в Австралии [4].

Развитие меланомы — сложный процесс, в который вовлечены различные факторы [6].

Эпидемиологические данные свидетельствуют, что ультрафиолетовое (УФ) облучение является главным внешним фактором, связанным с возникновением меланомы. Персональный риск развития меланомы удваивается при наличии пяти случаев солнечного ожога, особенно в детском и юношеском возрасте [3]. Хотя фактором риска для меланомы является инсоляция, меланома кожи чаще возникает на закрытых участках тела [6].

В 75 % случаев меланома кожи возникает из отдельных кожных меланоцитов, а в 25 % — из предсуществующих невусов [1]. Важным экзогенным фактором появления меланомы является травма пигментных невусов, часто одеждой или обувью.

Основные типы злокачественной меланомы кожи классифицируются в зависимости от локализации и прохождения определенной фазы роста [7].

Поверхностно-распространенная меланома составляет 80 % случаев меланомы кожи, характеризуется наличием микроинвазии, состоит из крупных эпителиоидных неопластических меланоцитов. Одинаково часто встречается у мужчин и женщин, чаще возникает на коже спины у мужчин и коже бедер и голени у женщин.

Злокачественное лентиго составляет 10–13 % случаев меланомы, представляет собой большое асимметричное пигментное поражение открытых частей кожи с увеличенным количеством атипичных меланоцитов в базальном слое эпидермиса, преимущественно локализуется на коже головы, шеи, тыльных частей конечностей.

Акрально-лентигинозная меланома составляет 8 % случаев меланомы, состоит из атипичных неопластических меланоцитов в базальном слое в акральном эпидермисе, встречается на стопе, ладонной поверхности кисти, под ногтями.

Лентигинозная меланома слизистых оболочек (мукозальная) составляет 1,2 % случаев меланомы, представлена опухолями синоназального тракта, гениталий женщин, аноректальной области. Крайне редко встречается меланома слизистых дыхательного и желудочно-кишечного трактов [8].

Узловая меланома встречается в 15–30 % всех случаев меланомы, возникает из эпидермальных меланоцитов в виде опухолевого узла в результате вертикального роста клеток в дерму, через все слои, и в подлежащую жировую клетчатку. Клинически имеет форму узла темно-синего или черного цвета, характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом.

Часто меланома является беспигментной (не содержит меланин), что затрудняет диагностику. Иногда клиническая картина обусловлена именно наличием метастазов, а первичную локализацию меланомы установить невозможно, поскольку первичная опухоль может подвергаться обратному развитию, вплоть до полного исчезновения. Меланома кожи метастазирует гематогенным и лимфогенным путем и инвазирует в кожу, регионарные лимфоузлы, подкожные ткани, легкие, печень, головной мозг и кости [9]. В США 10–15 % вновь выявленных случаев меланомы имеют метастазы [5], в России частота выявления меланомы на поздних стадиях в два раза выше (25 %).

Наследственные факторы возникновения меланомы

В 5–14 % случаев меланома кожи является наследственным заболеванием, обусловленным герми-

нальными мутациями в генах предрасположенности [10, 11]. Риск возникновения меланомы повышен в 8 раз в семьях, члены которых страдали меланомой. Риск развития второй первичной опухоли у пациентов с меланомой в 9 раз выше, чем в популяции [12].

Гены *CDKN2A* и *CDK4* ассоциированы с риском развития семейной меланомы. Ген-супрессор *CDKN2A* локализован на хромосоме 9p21 и кодирует белки p16^{INK4a} и p14^{ARF} [13]. Мутации гена *CDKN2A* обнаруживают в 20–40 % случаев семейной меланомы [14]. Мутации p16^{INK4a} являются причиной возникновения 1400–2800 новых случаев меланомы в США ежегодно [15], что составляет 2–4 % от числа заболевших [16]. Мутация *CDKN2A* (дупликация кодона R112), затрагивающая оба белка – p16^{INK4a} и p14^{ARF}, доминирует у носителей наследственной меланомы в шведских семьях, причем в 95 % случаев имеется мутация в 61-м кодоне гена *NRAS* [17]. Авторы считают, что мутация *CDKN2A* у носителей наследственной меланомы в шведских семьях связана с повышенным риском развития онкологических заболеваний у курильщиков [18]. Мутации p14^{ARF} приводят к недостатку p53, который контролирует целостность и репарацию ДНК [13].

Помимо наследственных мутаций в образцах меланомы встречаются соматические генетические и эпигенетические изменения *CDKN2A/p16^{INK4a}*. В 50 % случаев меланомы происходит инактивация p16^{INK4a} либо за счет мутации, либо за счет гиперметилирования промотора (10 % меланом). Инактивация p16^{INK4a} приводит к активации sucln D/CDK4 и фосфорилированию pRB1, что ведет к активации клеточного цикла и пролиферации клеток [13]. Низкая экспрессия p16^{INK4a} коррелирует с прогрессией заболевания, усилением пролиферации и плохим прогнозом при спорадической меланоме.

Нарушения гена *CDK4* (кодирует циклинзависимую киназу CDK4, входящую в комплекс CDK4/6), так же как и нарушения гена *CDKN2A*, ведут к усилению риска развития меланомы кожи [14]. Наследственные активирующие мутации гена *CDK4* (R24C и R24H) делают комплекс CDK4/6 устойчивым к ингибированию p16^{INK4a}. Активирующие мутации *CDK* связаны с небольшим процентом случаев меланомы у детей. Амплификация *CDK4* больше характерна для акральная и мукозальная меланомы и не встречается в меланоме с гомозиготной потерей p16^{INK4a}.

Ген *CCND1* кодирует циклин D1, который в комплексе с CDK4/6 регулирует переход из фазы G1 клеточного цикла в S-фазу. Во всех случаях амплификации гена *CCND1* при меланоме наблюдается гиперэкспрессия белка и ген *CCND1* рассматривают в качестве онкогена. Амплификация *CCND1*, как и *CDK4*, характерна для акральная меланомы.

Аллельные герминальные варианты генов *MC1R*, *ASIP*, *MTAP*, *MATP* и *Casp8* рассматривают как гены низкого риска или модификаторы генов высокого риска [19, 20].

Ген *MC1R* является важным фактором риска развития меланомы. Рецептор меланокортина 1 (MC1R) относится к трансмембранным G-белковым рецепторам и экспрессируется на поверхности эпидермальных меланоцитов. MC1R активирует аденилатциклазу и cAMP/PKA/CREB каскад через меланоцитстимулирующий гормон α -MSH и адренкортикотропный гормон [21]. Потеря функций MC1R ответственна за определенный фенотип у представителей населения Северной Европы, главным образом у людей с рыжим цветом волос, светлой кожей, веснушками и плохой способностью к загару [22]. Генетические вариации (однонуклеотидные полиморфизмы, SNP) локуса *MC1R* являются фактором риска развития меланомы. Наиболее частыми SNP-вариантами являются V60L, D84E, R151C, R160W и R163Q. Наличие одной структурно-функциональной перестройки гена *MC1R* увеличивает риск развития меланомы в 2,2–4,8 раза [23]. Присутствие SNP-варианта *MC1R* в дополнение к мутации *CDKN2A* значительно усиливает риск возникновения меланомы по сравнению с наличием только мутантного *CDKN2A*. Пациенты с вариантами *MC1R* имеют в 5–15 раз больший риск развития меланомы с мутацией *BRAF* независимо от УФ-инсоляции [20].

Ген *MITF*. Герминальные мутации важного гена гомеостаза меланоцитов *MITF* усиливают риск развития меланомы и рака почек. *MITF* регулирует гены, участвующие в пролиферации (*CDK2*), дифференцировке, выживании (*BCL2*, *BCL2A1*, *ML-IAP*, *MET*, *APE1* и *HIF1A*) и выработке пигмента. Часто в меланоме ген *MITF* амплифицирован либо мутирован [24]. MITF вовлечен в антиоксидантную защиту меланоцитов, и мутация E318K усиливает связывание *MITF* с промотором гена *HIF1A* [25]. Мутация также уменьшает сумоилирование белка MITF. Экспрессия мутантного *MITF* усиливает миграцию и инвазивные свойства клеток меланомы [26]. *MITF* является ценным диагностическим иммуногистохимическим маркером для обнаружения метастатической меланомы, негативной по другим маркерам [27]. Его специфичность зависит от типа меланомы, она ниже для веретенчатой и десмопластической меланомы [28].

Генетическая нестабильность и хромосомные нарушения в гистологических субтипах меланомы

Меланома кожи демонстрирует повышенный уровень мутаций по сравнению с другими солидными опухолями в основном за счет усиления транзиций цитозина на тимин (C > T), характерных для мутаций, вызванных УФ-облучением [29, 30]. При полногеномном секвенировании 105 образцов меланомы выявлено 86 813 кодирующих мутаций, что гораздо больше, чем при других опухолях. В 20 % опухолей мутировали 78 генов, при этом 85 % мутаций возникли за счет транзиции C > T, что указывает на эффект УФ-облучения [29, 31]. Однако эффект УФ на возникновение мутаций не однозначен, так как наиболее частые

мутации генов *BRAF* и *NRAS* не вызваны С > Т транзициями. Наблюдаемая негативная корреляция между экспрессией и частотой мутации гена подтверждает, что гены с низким уровнем экспрессии имеют тенденцию к повышенной скорости возникновения соматических мутаций [30, 32].

Молекулярный генетический анализ подтверждает гетерогенность меланомы наличием различных генетических нарушений в меланомах отдельных гистологических субтипов и локализаций. В образцах первичной меланомы с мутацией *BRAF* чаще выявляют потери на 10q23–26 и амплификацию ДНК на хромосоме 7 и 1q23–25 по сравнению со случаями меланомы с мутацией *NRAS*. Потери на 11q23–25 в основном присутствуют в образцах меланомы с мутацией *NRAS*. В образцах первичной меланомы с диким типом *BRAF* и *NRAS* чаще обнаруживают изменения на хромосомах 17 и 4 [33].

В образцах меланомы на участках кожи, облучаемых солнцем, часто выявляют потери хромосом 17p и 13q. При этом обнаружено значительно меньше мутаций в области гена *BRAF* по сравнению с меланомой, возникающей на коже в отсутствие постоянного воздействия солнца. Это подтверждает, что два наиболее распространенных типа меланомы различаются генетически и биологически.

Акральная и мукозальная меланомы имеют большее число генетических изменений, чем меланома кожи на участках, как подверженных, так и не подверженных инсоляции. Амплификации выявлены в 89 % случаев акральной и 85 % мукозальной меланомы, при этом вовлечены разные хромосомные районы [6].

В акральной меланоме существуют нарушения локусов 11q13, 22q11–13 и 5p15 и характерна точечная амплификация генов, которая возникает на самых ранних этапах опухолевой прогрессии. В частности, локус 11q13 содержит гены *CCND1*, *FGF3* и *FGF4*.

В мукозальной меланоме повышена частота мутаций *KIT* и снижена частота мутаций *BRAF* и *NRAS* по сравнению с меланомой кожи [34]. Для меланомы слизистой оболочки носа и околоносовых пазух по сравнению с другими субтипами меланомы в высоком проценте случаев обнаружено увеличение копий плеча 1q, а также амплификация 6p и 8q, причем мутации гена *BRAF* очень редки, что позволяет отличать этот тип меланомы от других.

Нарушения генов и сигнальных путей, ассоциированных с возникновением и прогрессией меланомы

Сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK. В патогенез меланомы кожи вовлечены онкогены и гены-супрессоры, входящие в состав различных сигнальных каскадов. Основная роль принадлежит сигнальному пути RAS–MAPK (RAS/RAF/MEK/ERK) – ключевому регулятору клеточной пролиферации, дифференцировки, выживания и метастазирования, гиперакти-

вация которого наблюдается в 75 % случаев меланомы кожи [35, 36].

Ген BRAF (7q34) кодирует серин-треониновую киназу, мутации в активирующем домене которой вызывают стабильную каскадную гиперактивацию митоген-активированных протеинкиназ MEK и ERK [37]. Каталитические функции BRAF регулируются через димеризацию киназного домена, при этом активен только один из участников гомо- или гетеродимера. В качестве партнера при димеризации могут выступать белки CRAF, BRAF или RAF-родственные псевдокиназные репрессоры RAS [38].

Активирующие мутации *BRAF* обнаруживают в 50–60 % случаев меланомы кожи. В 80 % случаев выявляется нуклеотидная замена T1799A в 15-м экзоне *BRAF*, приводящая к замене валина на глутаминовую кислоту в кодоне 600 (V600E) [39]. В 20 % случаев мутации кодона 600 представлены заменой V600K, редко встречаются замены V600R/D/M [37, 40]. Мутации в киназном домене приводят к конформационным изменениям и повышению активности киназы до 480 раз *in vitro* или 70–130 раз *in vivo* [41]. Мутантный белок BRAF способствует не только гиперактивации каскада MAPK, но и выживанию меланомы, регулируя экспрессию и функционирование проапоптотических и антиапоптотических белков семейства Bcl-2 (BIM, BAX, BAD) и MCL-1. Миграция клеток меланомы и их инвазия также усиливаются при мутации V600E BRAF.

При других мутациях в 15-м экзоне (D594V, L597R/S/Q, K601) или 14-м экзоне (G464E, G466V, G469E/R/S) активность белка BRAF составляет лишь 30 % активности мутантного V600E BRAF [42].

Активирующие мутации *BRAF* находят в 59 % случаев меланомы кожи, не подверженной хроническому солнечному повреждению, тогда как при меланоме с хронической инсоляцией – в 11 %, при акральной меланоме – в 23 %, при меланоме слизистых оболочек – в 11 % случаев [43]. Примечательно, что мутации *BRAF* обнаруживают в 70 % случаев беспигментной меланомы, причем в 89 % из них опухоль имеет толщину менее 1 мм.

Новые мутантные продукты BRAF открыты с помощью секвенирования нового поколения: получены данные об образовании слитных белков в результате хромосомных транслокаций, включающих ген *BRAF*. Слитные химерные белки PAPSS1–BRAF, TRIM24–BRAF и др. содержат серин-треонинкиназный домен и обладают киназной активностью белка BRAF. Такие белки находят в 4–8 % меланом с ранее неизвестным «драйверным» геном (pan-negative). BRAF-химерные белки выявлены во многих опухолях: раке предстательной железы, желудка, астроцитоме, меланоме и др. Меланома с BRAF-химерными белками нечувствительна к ингибиторам BRAF, но чувствительна к ингибиторам MEK [44].

Ген NRAS является вторым геном, наиболее часто мутирующим в меланоме. Малый гуанозинтрифосфат-

связывающий (ГТФ-связывающий) белок *NRAS* является регулятором ответа на внеклеточные стимулы, включая ростовые факторы, и активирует основные сигнальные пути, включая *RAF*–*MEK*–*ERK*, *Ral*–*GDS*, *PI3K*–*AKT*–*mTOR* и *PLC*–*PKC* [45].

Мутации *NRAS* выявлены в 15–20 % случаев меланомы кожи [46]. Большинство мутаций *NRAS* (80 %) – замены в кодоне 61 экзона 3 (Q61K и Q61R), приводящие к образованию aberrантной формы белка, который не может гидролизовать *RAS*-ГТФ и остается гиперактивным [47]. Мутации во 2-м экзоне гена *NRAS* (чаще в кодоне G12, чем G13) находят на ранних стадиях заболевания, и поэтому считается, что они вовлечены в инициацию меланомы. Мутации в 3-м экзоне *NRAS* обнаруживают на более поздних этапах и, скорее всего, они участвуют в метастазировании меланомы [45].

Мутации *NRAS* чаще присутствуют в меланоме, связанной с хроническим солнечным повреждением [6]. Мутантный *NRAS* часто выявляют в мукозальной меланоме, особенно в синоназальной [48, 49]. В этой группе опухолей наблюдалась амплификация и повышенная экспрессия циклина D1 (62,5 %). В акральной и мукозальной меланомах с генами *BRAF* и *NRAS* дикого типа амплифицированы гены *CDK4* и *CCND1* (циклин D1).

Биологические последствия мутаций генов *BRAF* и *NRAS* отличаются, потому что при мутации *RAS* клетки используют скорее *CRAF* (*Raf-1*), чем *BRAF*, для активации пути *MEK*–*ERK* [50]. Поэтому *CRAF* может быть терапевтической мишенью в опухолях, в которых *RAS* является «драйвером».

Экспрессия мутантного *BRAF* недостаточна для трансформации иммортализованных меланоцитов человека [51], и поэтому мутантный V600E *BRAF* считается более слабым онкогеном, чем *NRAS* с мутацией в кодоне 61 [17]. Экспрессия мутантного *BRAF* в меланоцитах при экспрессии нормального p16^{INK4a} не ведет к пролиферации до тех пор, пока инактивация *CDKN2A* не нарушит регуляцию клеточного цикла [52]. Причем клетки с мутантным *BRAF* нуждаются в инактивации p16^{INK4a} в большей степени, чем клетки с мутантным *NRAS*.

Варианты меланомы с мутациями *BRAF* и *NRAS* отличаются по клиническому и патологическому поведению. Мутации *BRAF* ассоциированы с более ранней постановкой диагноза, чем *NRAS*. Пациенты с меланомой и мутациями *BRAF* значительно моложе (49,8 года), чем с мутациями *NRAS* (55,7 года) или диким типом (59,5 года), и это отличие статистически достоверно [40, 53]. Наличие мутаций гена *BRAF* ассоциировано с более частыми изъязвлениями, а также более частым развитием местных рецидивов и поражением регионарных лимфатических узлов, частота *BRAF*-мутаций выше у пациентов с выживаемостью менее 5 лет.

Меланома с мутацией *NRAS* отличается большей толщиной, чем опухоли с мутацией *BRAF* или диким

типом, что, 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 [45]. Меланома с мутацией *NRAS* чаще имеет больший размер и более высокий митотический индекс и связана с низкой общей выживаемостью. Показано, что мутации *NRAS* являются независимым признаком более короткого периода выживания у пациентов с меланомой IV стадии [53].

Активация сигнального пути PI3K–AKT–mTOR является важнейшим генетическим событием в меланоме, причем уровень активности АКТ3 повышается с увеличением стадийности заболевания [54]. Активация серин-треониновой протеинкиназы АКТ3 отмечена в 60 % случаев sporadic меланомы, в 35 % случаев за счет амплификации гена *AKT3*, а в 5 % – за счет мутации гена *PI3KCA* [55]. Мутация *AKT3* E17K встречается в культурах клеток и первичной меланоме [56].

В 40–60 % случаев меланомы инактивирована фосфатаза *PTEN*, которая негативно регулирует *PI3K*–*AKT*-сигналинг [54]. *PTEN* почти всегда экспрессируется в цитоплазме доброкачественных и диспластических невусов [57], но отсутствует в большинстве образцов меланомы [58]. Утрата экспрессии *PTEN* происходит в результате мутации, потери гетерозиготности или утраты хромосомы, либо в результате эпигенетических нарушений транскрипции за счет метилирования или микроРНК-регуляции [59]. Утрата *PTEN* вследствие мутации наблюдается в 37 % случаев меланомы, причем не характерна для опухолей с мутацией *NRAS* [54].

Малигнизация невусов. Мутации *BRAF* и *NRAS* являются ранним событием и выявляются в доброкачественных меланоцитарных образованиях – невусах. Онкогенные мутации *BRAF* распространены в диспластических, конгенитальных, обычных и особенно в растущих невусах. Так, в 81 % конгенитальных меланоцитарных невусов находят мутации *NRAS* Q61K/R, а в 82 % приобретенных невусов выявляют мутацию *BRAF* V600E [60]. Мутации *NRAS* обнаруживают в 94,7 % случаев врожденных меланоцитарных невусов, которые характеризуются повышенным риском трансформации в меланому.

При использовании лазерной микродиссекции и антител к мутантному белку *BRAF* V600E мутации выявлены иммуногистохимически в 63 % случаев меланомы, в 65 % ассоциированных невусов и в 50 % контрольных невусов [61]. Считают, что диспластический, или атипический, невус является недостающим звеном между доброкачественным и злокачественным меланоцитарным поражением. С другой стороны, диспластические невусы десятилетиями остаются без изменений, и, по-видимому, для их малигнизации нужны дополнительные генетические нарушения [61].

Усиленная экспрессия онкогенных *NRAS* или *BRAF* в нормальных меланоцитах запускает фенотип сенесценции/апоптоза и арест пролиферации и недостаточна для трансформации меланоцитов.

Для прогрессирования невуса в меланому важна активация пути *PI3K*–*AKT* [62]. Так, недостаток *PTEN* и/или усиление активации протеинкиназы *AKT* снижает сенесценцию, вызываемую мутацией *BRAF* V600E в фибробластах и меланоцитах. Усиление активности *AKT* наблюдается в 17 % доброкачественных невусов, в 43 % диспластических невусов, в 49 % образцов первичной меланомы и в 77 % – метастатической меланомы [63]. Мутации *NRAS* и пути *PI3K*–*AKT* одновременно присутствуют в 9 % случаев меланомы, а мутации *BRAF* и *PTEN* – в 17 % [6]. Совместная кооперация *AKT3* и *BRAF* V600E выявлена при трансформации мышинных меланоцитов *in vitro*, при этом *AKT3* фосфорилирует *BRAF* V600E [62]. С другой стороны, белок *BRAF* с мутацией V600E является негативным регулятором *AKT*-пути: присутствие мутации V600E снижает фосфорилирование *AKT* и дальнейшую активацию передачи сигнала, подавляемую ингибиторами *MEK* или *mTOR* [62].

Ген *KIT*. Среди генов, которые активированы в меланоме, – ген *KIT*, частота мутаций которого колеблется от 2 до 45 %. Тирозинкиназный рецептор *KIT* фактора роста стволовых клеток (*SCF*) активирует несколько сигнальных путей, в том числе каскады *RAS*–*MAPK* и *PI3K*–*AKT*, влияя на клеточный рост, пролиферацию, инвазию, метастазирование и ингибируя апоптоз. Рецептор *KIT* и его лиганд *SCF* играют ключевую роль в эмбриогенезе меланоцитов, их дифференцировке и пролиферации [1].

Рецептор *KIT* экспрессируется на ранних стадиях более чем в половине случаев меланомы [63]. Однако по мере прогрессирования меланомы, перехода в инвазивные стадии и метастазирование, экспрессия *KIT* утрачивается, что предполагает наличие у него неких супрессорных функций [64]. Действительно, трансфекция гена *KIT* в высокометастатическую линию меланомы A375SM ведет к уменьшению роста опухоли и метастазов при введении этих клеток мышам. Введение лиганда *SCF* приводит к высокому уровню апоптоза в *KIT*-позитивной линии клеток меланомы. Другие работы показали, что потеря экспрессии *KIT* коррелирует со злокачественной трансформацией меланоцитов, инвазией и метастазированием. В небольшом проценте образцов меланомы кожи с диким типом *BRAF* и *NRAS* выявлены опухоли с гиперэкспрессией *KIT* и *CDK4* [65].

Мутации *KIT* наиболее часто выявляют в меланоме участков кожи, подверженных хроническому УФ-облучению. Мутации *KIT* не встречаются одновременно с мутациями *NRAS* и *BRAF*. Активация *KIT* за счет мутации имеет место только в 2–6 % случаев поверхностной меланомы кожи, но мутации и амплификацию *KIT* выявляют с частотой 23–36 % при ак-

ральной, 15–39 % – при мукозальной и 28 % – при вызванной инсоляцией меланоме [66, 67]. Мутации гена *KIT* являются специфичными для мукозальной и акральной меланом, которые наиболее распространены в азиатской популяции [68]. Мутации *KIT* чаще встречаются в мукозальной меланоме гениталий и аноректальной области [66, 69], тогда как в синоназальной меланоме преобладают мутации *NRAS* [48, 49].

Большинство мутаций *KIT* представлено точечными заменами в экзоне 11, кодирующем регуляторный подмембранный домен рецептора: K558R, T574A, L576P и V559A. Такие мутации обеспечивают чувствительность опухолевых клеток к ингибитору тирозинкиназ иматинибу. Реже встречаются замены в 17-м (N822K) и 13-м (N655K) экзонах, при которых опухоли устойчивы к иматинибу [68, 70]. Имеются данные, что в меланоме встречаются также мутации в 9-м и 18-м экзонах *KIT* [16], в частности, в акральной меланоме выявлена новая мутация N505I в 9-м экзоне, повышающая чувствительность к иматинибу [71].

Нами проведен анализ мутаций генов *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *PDGFRA* в 116 образцах меланомы, в том числе в 99 случаях – локализованной на поверхности кожи, в 8 – акральной и в 9 – мукозальной [72, 73]. Мутации *BRAF* выявлены в 56 % случаев меланомы поверхности кожи, помимо мутации V600E *BRAF* (93 %) обнаружены замены V600K (5 %), K601E и I592M. Мутации гена *NRAS* (Q61R/K) выявлены в 9,5 % случаев меланомы поверхности кожи. Мутации *BRAF* и *NRAS* обнаружены в 2 из 8 случаев акральной меланомы (по 25 % каждая) и в 1 из 9 случаев мукозальной меланомы (по 11 % каждая). Средний возраст пациентов с мутацией *BRAF* был достоверно ниже (51,6 года), чем с мутацией *NRAS* (64,6 года). Активирующие мутации *KIT* выявлены в 1 % меланомы кожи и 33 % случаев мукозальной меланомы. Все мутации представляли собой точечные замены в 11-м экзоне: L576P, V599A, Q556H. В акральной меланоме мутации *KIT* не обнаружены, что необычно и, возможно, связано с малой выборкой. В 2 случаях эпителиоидной беспигментной акральной и мукозальной меланомы впервые обнаружена silent-мутация гена *PDGFRA* V824V [72, 73].

Появились данные, что редкие SNIP гена *KIT*, в частности rs2237028, могут предрасполагать к развитию меланомы. Авторы предполагают, что 6 вариантов замен в гене *KIT* могут быть ответственны за развитие невуса и меланомы [74].

Ген *p53*. Анализ гена *p53* в меланоме выявил низкую частоту мутаций (0–10 %) или потери гетерозиготности, причем значительная часть мутаций *p53* возникает в результате УФ-облучения. Анализ экспрессии белка *p53* показал, что интенсивность окрашивания и число позитивных клеток в опухоли увеличиваются с прогрессией заболевания. Позитивными по *p53* являются 33 % невусов, 35 % случаев первичной меланомы и 70 % – метастатической меланомы [75]. Стабильный уровень белка *p53* дикого типа связан с длительным

безрецидивным периодом и более высокой выживаемостью.

Другие генетические нарушения. Использование полноэкзомного секвенирования меланомы позволило помимо «драйверных» генов: *BRAF*, *NRAS*, *PTEN*, *TP53*, *CDKN2A/p16^{INK4a}* и *MAP2K1* обнаружить новые гены, нарушения в которых связаны с повреждающим действием УФ и являются статистически значимыми: *PPP6C*, *RAC1*, *SNX31*, *TACCC1* и *STK19* [31, 76, 77]. Большинство генов вовлечено в RAS- и PI3K-сигнальные пути.

Мутации гена *RAC1*, кодирующего RAS-родственный белок Rho – суперсемейства ГТФаз выявлены при меланоме в 5–9,2 % случаев. Считают, что мутация *RAC1* занимает 3-е место по частоте встречаемости после *BRAF* и *NRAS*. Чаще других обнаруживается мутация P29S, которая поддерживает *RAC1* в активном ГТФ-связанном состоянии. Эти данные позволяют рассматривать *RAC1* как мишень для таргетной терапии меланомы [76].

В 7 % случаев меланомы обнаружены мутации гена *TACCC1*, гиперэкспрессия которого вызывает трансформацию *in vitro*. Ген *TACCC1* кодирует белок, который взаимодействует с киназой *AurA* и стимулирует RAS- и PI3K-сигнальные пути [31].

В 5 % случаев выявлены мутации гена *STK19* (D89N, P90L) [31], кодирующего киназу, свойства которой пока изучены недостаточно.

Высокая частота мутаций отмечена в генах фосфатаз *PPP6C*, *PTPRK*, *PTPRD*, которые не связаны с сигнальными путями MAPK и АКТ. Серин-треониновая фосфатаза *PPP6C* имеет функции супрессора и выполняет важную роль в регуляции клеточного цикла и митоза: негативно регулирует уровень циклина D1 и дефосфорилирует киназу *AurA*. Мутации *PPP6C* (R264C, S270L, P259S) обнаружены в 9–12 % случаев меланомы, подверженной инсоляции и имеющих мутации *BRAF* и *NRAS* [31]. Высокая частота мутаций обнаружена и в генах, кодирующих фосфатазы *PTPRK*, *PTPRD*. Так, мутации в гене *PTPRK* нарушают супрессивное действие TGF- β [76].

Мутационный статус генов *RAC1*, *PPP6C* и *STK19* позволяет рассматривать их как потенциальные мишени для таргетной терапии меланомы [31].

Молекулярные мишени таргетной терапии метастатической меланомы

Своевременная диагностика на ранних стадиях заболевания и удаление очага в полном объеме – определяющие факторы, которые позволяют сделать лечение меланомы максимально успешным. Меланома может быть излечена хирургическим путем при 0/1 стадии, и при этом 5-летняя выживаемость составляет 90–100 % [1]. Однако прогноз ухудшается при поражении более глубоких слоев кожи, что связано с инвазией и метастазированием: 5-летняя выживаемость на III стадии с метастазами в регионарных лимфоуз-

лах – 20–70 %, на IV стадии – менее 10 %. Общая 5-летняя выживаемость пациентов с метастатической болезнью составляет 10 %, а 10-летняя – 2–5 % [4].

Меланома – чрезвычайно агрессивное заболевание с высокой устойчивостью к цитотоксическим агентам. Химиотерапевтические препараты остаются стандартом терапии метастатической и неоперабельной меланомы. Лечение метастатических форм и заболевания на III–IV стадии включает системную терапию препаратами дакарбазин и темодал, производными нитрозомочевины (ломустин, фотемустин), препаратами платины (цисплатин и карбоплатин), таксанами (паклитаксел) или их комбинациями. Высокодозная терапия интерлейкином-2 дает длительные полные ремиссии у небольшого числа больных с легочными метастазами, но ее применение ограничено из-за высокой токсичности [78].

Успехи в изучении молекулярных механизмов возникновения и прогрессии меланомы инициировали попытки ингибирования сигнального пути MAPK [16, 79]. Идентификация мутаций *BRAF* привела к использованию ингибитора протеинкиназ – сорафениба для лечения меланомы, но оказалось, что он неэффективен у больных с активирующей мутацией V600E. Предполагают, что эффект может иметь комбинация препаратов сорафениба и лонафарниба – ингибитора фарнезилирования и «заякоривания» RAS на мембране клетки [5].

С 2011 г. альтернативой химиотерапии для пациентов с метастатической меланомой кожи с мутациями *BRAF* V600E является препарат вемурафениб (зелбораф). В основе его действия лежит ингибирование димеризации *BRAF*, поскольку при мутации V600E происходит усиление сигналинга ERK в результате димеризации мутантной киназы [79]. В I фазе испытаний ответ на вемурафениб был получен у 81 % больных меланомой с мутацией V600E (уменьшение в диаметре всех опухолевых узлов на 30 %) [80]. В III фазе испытаний общая выживаемость в течение 6 мес отмечена у 84 % пациентов с метастатической меланомой, выживаемость без прогрессирования составила 5–7 мес [32]. Однако у 20–30 % пациентов, получающих вемурафениб, наблюдаются побочные эффекты: малигнизация доброкачественных поражений и появление плоскоклеточного рака кожи, что связывают с активацией пути MAPK через мутации RAS при подавлении RAF. У некоторых пациентов при лечении возникают новые очаги меланомы с диким типом *BRAF* [5].

В январе 2014 г. зарегистрирован новый таргетный препарат дабрафениб для лечения меланомы с мутацией в 600-м кодоне *BRAF* [81]. В отличие от вемурафениба дабрафениб действует не только при замене V600E, но и при мутации V600K. Оба ингибитора *BRAF* были первыми препаратами, которые имели эффект у пациентов с метастазами в мозг [82].

К сожалению, практически у всех пациентов, ответивших на вемурафениб, с течением времени появ-

ляется устойчивостью к терапии. Вторичная резистентность связана с развитием сложной компенсаторной активации многочисленных компонентов MAPK-пути. Ингибиторы BRAF вызывают парадоксальную активацию MEK, появляются мутации NRAS и MEK (MEK1) [83, 84], нарушается регуляция рецепторных тирозинкиназ PDGFR- β и IGFR, что усиливает фосфорилирование ERK1/2 [5].

Резистентность к ингибиторам BRAF может быть также связана с образованием мутантного гена *BRAF* с делецией 4–8 экзонов, который кодирует белок в 61 кДа, утративший RAS-связывающий домен. Показана усиленная димеризация белка p61 BRAF V600E в культурах клеток меланомы с низким уровнем активации RAS по сравнению с клетками с цельным белком BRAF V600E, что приводит к устойчивости к ингибиторам BRAF. Мутации, элиминирующие димеризацию p61 BRAF, восстанавливают чувствительность к ингибиторам BRAF. Сплайс-варианты BRAF, утратившие RAS-связывающий домен, идентифицированы в опухолях 6 (33 %) из 19 пациентов с приобретенной устойчивостью к ингибиторам BRAF [85].

Поиск и создание новых препаратов показали, что монотерапия ингибиторами MEK неэффективна при меланоме с мутацией BRAF V600E [86], однако результаты использования ингибиторов MEK в сочетании с другими таргетными агентами обнадеживают. Проводятся испытания комбинаций ингибиторов BRAF и/или MEK с ипилимумабом, а также ингибитора BRAF вемурафениба с различными ингибиторами PI3K и ингибитора MEK селуметиниба с ингибиторами АКТ [87].

Ингибиторы MEK траметиниб и селуметиниб улучшают общее выживание пациентов с мутациями V600E/K

в комбинации с ингибиторами BRAF. При применении дабрафениба и траметиниба не только повышается выживаемость, но и уменьшается частота вторичных карцином кожи, а также улучшается переносимость лечения [80]. К ингибитору MEK траметинибу чувствительны некоторые мутации BRAF, устойчивые к вемурафенибу, например L597R и K601E [88, 89].

Предложено использовать ингибиторы MEK в комбинациях для лечения меланомы с мутацией *NRAS* и получены предварительные положительные результаты [90].

Тирозинкиназный ингибитор иматиниба мезилат эффективен при лечении акральной, мукозальной и УФ-сенсibilизированной меланомы кожи с чувствительными к нему мутациями в 11-м или 13-м экзонах *KIT* [5].

Заключение

За последнее десятилетие, начиная с 2002 г., когда была открыта мутация BRAF V600E [39], достигнут значительный прогресс в изучении молекулярных механизмов канцерогенеза меланомы. Это привело к созданию принципиально новых лекарственных веществ, молекулярно-направленных (таргетных) препаратов, которые в последние годы стали применять для лечения больных меланомой. Однако проблема не решена, и успех в этом направлении может быть связан с дальнейшим изучением молекулярно-генетических процессов малигнизации. Не менее важны для лечения ранняя диагностика заболевания и его профилактика, связанная с ограничением УФ-облучения молодежи и населения в целом.

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

ЛИТЕРАТУРА

- Bertolotto C. Melanoma: from melanocyte to genetic alterations and clinical options. *Scientifica* 2013;2013:635203.
- Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 году. Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. М., 2014. 226 с. [Statistics of malignant neoplasms in Russia and the CIS countries in 2012. M.I. Davydov, E.M. Axel (eds.). Moscow, 2014. 226 p. (In Russ.)]
- MacKie R.M., Hauschild A., Eggermont A.M. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol* 2009;20 Suppl 6:vi1–7.
- Trotter S.C., Sroa N., Winkelmann R.R. et al. A Global Review of Melanoma Follow-up Guidelines. *J Clin Aesthet Dermatol* 2013;6(9):18–26.
- Chakraborty R., Wieland C.N., Comfere N.I. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. *Pharmgenomics Pers Med* 2013;6:49–56.
- Curtin J.A., Fridlyand J., Kageshita T. et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005;353(20):2135–47.
- Гребенникова О.П., Прилепо В.Н. Меланома. Онкология для практикующих врачей. Под ред. С.С. Чистякова. М., 2009. С. 548–63. [Grebennikova O.P., Prilepo V.N., Melanoma. Oncology for practicing clinicians. S.S. Chistyakov (ed.). Moscow, 2009. Pp. 548–63. (In Russ.)]
- Mihajlovic M., Vljakovic S., Jovanovic P., Stefanovic V. Primary mucosal melanomas: a comprehensive review. *Int J Clin Exp Pathol* 2012;5(8):739–53.
- van den Bosch T., Kilic E., Paridaens D., de Klein A. Genetics of uveal melanoma and cutaneous melanoma: two of a kind? *Dermatol Res Pract* 2010;2010:360136. doi: 10.1155/2010/360136.
- Goldstein A.M., Tucker M.A. Genetic epidemiology of cutaneous melanoma. *Arch Dermatol* 2001;137(11):1493–6.
- Hansson J. Familial cutaneous melanoma. *Adv Exp Med Biol* 2010;685:134–45.
- Bradford P.T., Freedman D.M., Goldstein A.M., Tucker M.A. Increased risk of second primary cancers after a diagnosis of melanoma. *Arch Dermatol* 2010;146(3):265–72.
- Sekulic A., Haluska P.Jr., Miller A.J. et al.; Melanoma Study Group of Mayo Clinic Cancer Center. Malignant melanoma in the 21st century: the emerging molecular landscape. *Mayo Clin Proc* 2008;83(7):825–46.
- Hayward N.K. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene* 2003;22(20):3053–62.
- Bennett D.C. How to make a melanoma: what do we know of the primary clonal events? *Pigment Cell Melanoma Res* 2008;21(1):27–38.
- Bello D.M., Ariyan C.E., Carvajal R.D. Melanoma mutagenesis and aberrant cell signaling. *Cancer Control* 2013;20(4):261–81.

17. 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.
18. Helgadottir H., Höiom V., Jönsson G. et al. High risk of tobacco-related cancers in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J Med Genet* 2014;51(8):545–52.
19. Bressac-de-Paillerets B., Avril M.F., Chompret A., Demenais F. Genetic and environmental factors in cutaneous malignant melanoma. *Biochimie* 2002;84(1):67–74.
20. Fargnoli M.C., Gandini S., Peris K. et al. MC1R variants increase melanoma risk in families with CDKN2A mutations: a meta-analysis. *Eur J Cancer* 2010;46(8):1413–20.
21. Kennedy C., ter Huurne J., Berkhout M. et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R) gene variants are associated with an increased risk for cutaneous melanoma which is largely independent of skin type and hair color. *J Invest Dermatol* 2001;117(2):294–300.
22. Palmer J.S., Duffy D.L., Box N.F. et al. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? *Am J Hum Genet* 2000;66(1):176–86.
23. Williams P.F., Olsen C.M., Hayward N.K., Whiteman D.C. Melanocortin 1 receptor and risk of cutaneous melanoma: a meta-analysis and estimates of population burden. *Int J Cancer* 2011;129(7):1730–40.
24. Yokoyama S., Woods S.L., Boyle G.M. et al. A novel recurrent mutation in MITF predisposes to familial and sporadic melanoma. *Nature* 2011;480(7375):99–103.
25. Vachtenheim J., Borovanský J. Microphthalmia transcription factor: a specific marker for malignant melanoma. *Prague Med Rep* 2004;105(3):318–24.
26. Bertolotto C., Lesueur F., Giuliano S. et al. A SUMOylation-defective MITF germline mutation predisposes to melanoma and renal carcinoma. *Nature* 2011;480(7375):94–8.
27. Guo R., Franco-Palacios M., Russell M. et al. Microphthalmia transcription factor (MITF) as a diagnostic marker for metastatic melanomas negative for other melanoma markers. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6(8):1658–64.
28. Shen J., Lei Q., Chen X. et al. Diagnostic performance of microphthalmia transcription factor for melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2014;18(6):798–805.
29. Berger M., Hodis E., Heffernan T. et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations. *Nature* 2012;485(7399):502–6.
30. Pleasance E.D., Cheetham R.K., Stephens P.J. et al. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature* 2010;463(7278):191–6.
31. Hodis E., Watson I.R., Kryukov G.V. et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell* 2012;150(2):251–63.
32. Chapman P.B., Hauschild A., Robert C. et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364(26):2507–16.
33. Lázár V., Ecsedi S., Vízkeleti L. et al. Marked genetic differences between BRAF and NRAS mutated primary melanomas as revealed by array comparative genomic hybridization. *Melanoma Res* 2012;22(3):202–14.
34. Smalley K.S., Sondak V.K., Weber J.S. C-KIT signaling as the driving oncogenic event in sub-groups of melanomas. *Histol Histopathol* 2009;24(5):643–50.
35. Miller A.J., Mihm M.C. Melanoma. *N Engl J Med* 2006;355(1):51–65.
36. Berger M.F., Garraway L.A. Applications of genomics in melanoma oncogene discovery. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(3):397–414.
37. Long G.V., Menzies A.M., Nargial A.M. et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011;29(10):1239–46.
38. Rajakulendran T., Sahmi M., Lefrançois M. et al. A dimerization-dependent mechanism drives RAF catalytic activation. *Nature* 2009;461(7263):542–5.
39. Davies H., Bignell G.R., Cox C. et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417(6892):949–54.
40. Lovly C.M., Dablan K.B., Fobn L.E. et al. Routine multiplex mutational profiling of melanomas enables enrollment in genotype – driven therapeutic trials. *PLoS One* 2012;7(4):e35309.
41. Lin K., Baritaki S., Militello L. et al. The role of B-RAF mutations in melanoma and the induction of EMT via dysregulation of the NF-KB/Snail/RKIP/PTEN circuit. *Genes Cancer* 2010;1(5):409–20.
42. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M. et al. Mechanism of activation of the RAF–ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell* 2004;116(6):855–67.
43. Davies M.A., Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene* 2010;29(41):5545–55.
44. Hutchinson K.E., Lipson D., Stephens P.J. et al. BRAF fusions define a distinct molecular subset of melanomas with potential sensitivity to MEK inhibition. *Clin Cancer Res* 2013;19(24):6696–702.
45. 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.
46. Kelleher F.C., McArthur G.A. Targeting NRAS in melanoma. *Cancer J* 2012;18(2):132–6.
47. Ross A.L., Sanchez M.I., Grichnik J.M. Molecular neovogenesis. *Dermatol Res Pract* 2011;2011:463184. doi: 10.1155/2011/463184.
48. Chraybi M., Alsamad I.A., Copie-Bergman C. et al. Oncogene abnormalities in a series of primary melanomas of the sinonasal tract: NRAS mutations and cyclin D1 amplification are more frequent than KIT or BRAF mutations. *Hum Pathol* 2013;44(9):1902–11.
49. Zebary A., Jangard M., Omholt K. et al. KIT, NRAS and BRAF mutations in sinonasal mucosal melanoma: a study of 56 cases. *Br J Cancer* 2013;109(3):559–64.
50. Dumaz N. Mechanism of RAF isoform switching induced by oncogenic RAS in melanoma. *Small GTPases* 2011;2(5):289–92.
51. Chudnovsky Y., Adams A.E., Robbins P.B. et al. Use of human tissue to assess the oncogenic activity of melanoma-associated mutations. *Nat Genet* 2005;37(7):745–9.
52. Michaloglou C., Vredeveld L.C., Soengas M.S. et al. BRAFE600-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature* 2005;436(7051):720–4.
53. Jakob J.A., Bassett R.L. Jr., Ng C.S. et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer* 2012;118(16):4014–23.
54. Stahl J.M., Sharma A., Cheung M. et al. Deregulated Akt3 activity promotes development of malignant melanoma. *Cancer Res* 2004;64(19):7002–10.
55. Stahl J.M., Cheung M., Sharma A. et al. Loss of PTEN promotes tumor development in malignant melanoma. *Cancer Res* 2003;63(11):2881–90.
56. Davies M.A., Stemke-Hale K., Tellez C. et al. A novel AKT3 mutation in melanoma tumours and cell lines. *Br J Cancer* 2008;99(8):1265–8.
57. Tsao H., Mihm M.C. Jr., Sheehan C. PTEN expression in normal skin, acquired melanocytic nevi, and cutaneous melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2003;49(5):865–72.
58. Wu H., Goel V., Haluska F.G. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003;22(20):3113–22.
59. Dadras S.S. Molecular diagnostics in melanoma: current status and perspectives. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135(7):860–9.
60. Tschandi P., Berghoff A.S., Preusser M. et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One* 2013;8(7):e69639.
61. Vredeveld L.C., Possik P.A., Smit M.A. et al. Abrogation of BRAFV600E-induced senescence by PI3K pathway activation contributes to melanomagenesis. *Genes Dev* 2012;26(10):1055–69.
62. Dai D.L., Martinka M., Li G. Prognostic significance of activated Akt expression in melanoma: A clinicopathologic study of 292 cases. *J Clin Oncol* 2005;23(7):1473–82.
63. Janku F., Novotny J., Julis I. et al. KIT receptor is expressed in more than 50 % of early-stage malignant melanoma: a retrospective study of 261 patients. *Melanoma Res* 2005;15(4):251–6.
64. Mobley A.K., Brauer R.R., Kamiya T. et al. Driving transcriptional regulators in

- melanoma metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2012;31(3–4):621–32.
65. Willmore-Payne C., Holden J.A., Hirschowitz S., Layfield L.J. BRAF and c-kit gene copy number in mutation positive malignant melanoma. *Hum Pathol* 2006;37(5):520–7.
66. Curtin J.A., Busam K., Pinkel D., Bastian B.C. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006;24(26):4340–6.
67. Beadling C., Jacobson-Dunlop E., Hodi F.S. et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res* 2008;14(21):6821–8.
68. Dai B., Cai X., Kong Y.Y. et al. Analysis of KIT expression and gene mutation in human acral melanoma: with a comparison between primary tumors and corresponding metastases/recurrences. *Hum Pathol* 2013;44(8):1472–8.
69. Antonescu C.R., Busam K.J., Francone T.D. et al. L576P KIT mutation in anal melanomas correlates with KIT protein expression and is sensitive to specific kinase inhibition. *Int J Cancer* 2007;121(2):257–64.
70. Yun J., Lee J., Jang J. et al. KIT amplification and gene mutations in acral/mucosal melanoma in Korea. *APMIS* 2011;119(6):330–5.
71. Allegra M., Giaccherio D., Segalen C., Dumaz N. A new KIT mutation (N505I) in acral melanoma confers constitutive signaling, favors tumorigenic properties, and is sensitive to imatinib. *J Invest Dermatol* 2014;134(5):1473–6.
72. Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Герасимова Н.П. и др. Гетерогенность мишеней таргетной терапии различных субтипов меланомы. *Евразийский онкологический журнал* 2013;3(03):106. [Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Gerasimova N.P. et al. Heterogeneity of targeted therapy targets of different subtypes of melanoma. *Evraziyskiy onkol-ogicheskiy zhurnal = Eurasian Oncology Journal* 2013;3(03):106. (In Russ.)]
73. Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A. et al. Spectrum of driver mutations in melanoma subtypes. *Drug Metabol Drug Interact* 2014;29(3):75.
74. Bourillon A., Hu H.H., Hetet G. et al. Genetic variation at KIT locus may predispose to melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013;26(1):88–96.
75. Sparrow L.E., Soong R., Dawkins H.J. et al. p53 gene mutation and expression in naevi and melanomas. *Melanoma Res* 1995;5(2):93–100.
76. Krauthammer M., Kong Y., Ha B.H. et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma. *Nat Genet* 2012;44(9):1006–14.
77. Xia J., Jia P., Hutchinson K.E. et al. A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance. *Mol Cancer Ther* 2014;13(7):1918–28.
78. Демидов Л.В., Утяшев И.А., Харкевич Г.Ю. Роль вемурафениба в лечении диссеминированной меланомы кожи. *Современная онкология* 2013;15(2):58–61. [Demidov L.V., Utyashev I.A., Kharkevich G.Yu. Role of vemurafenib in therapy of disseminated melanoma. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2013;15(2):58–61. (In Russ.)]
79. Wellbrock C., Hurlstone A. BRAF as therapeutic target in melanoma. *Biochem Pharmacol* 2010;80(5):561–7.
80. Flaherty K.T., Puzanov I., Kim K.B. et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363(9):809–19.
81. Hauschild A., Grob J.J., Demidov L.V. et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380(9839):358–65.
82. Kirkwood J.M., Long G.V., Trefzer U. et al. Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(11):1087–95.
83. Trunzer K., Pavlick A.C., Schuchter L. et al. Pharmacodynamic effects and mechanisms of resistance to vemurafenib in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2013;31(14):1767–74.
84. Van Allen E.M., Wagle N., Sucker A. et al.; Dermatologic Cooperative Oncology Group of Germany(DeCOG). The genetic landscape of clinical resistance to RAF inhibition in metastatic melanoma. *Cancer Discov* 2014;4(1):94–109.
85. Poulikakos P.I., Persaud Y., Janakiraman M. et al. RAF inhibitor resistance is mediated by dimerization of aberrantly spliced BRAF(V600E). *Nature* 2011;480(7377):387–90.
86. Akinleye A., Furqan M., Mukhi N. et al. MEK and the inhibitors: from bench to bedside. *J Hematol Oncol* 2013;6:27. doi: 10.1186/1756-8722-6-27.
87. Voskoboynik M., Arkenau H.T. Combination therapies for the treatment of advanced melanoma: a review of current evidence. *Biochem Res Int* 2014;2014:307059. doi: 10.1155/2014/307059.
88. Dahlman K.B., Xia J., Hutchinson K. et al. BRAF (L597) mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. *Cancer Discov* 2012;2(9):791–7.
89. Bowyer S.E., Rao A.D., Lyle M. et al. Activity of trametinib in K601E and L597Q BRAF mutation-positive metastatic melanoma. *Melanoma Res* 2014;24(5):504–8.
90. Johnson D.B., Flaherty K.T., Weber J.S. et al. Combined BRAF (Dabrafenib) and MEK Inhibition (Trametinib) in patients with BRAF V600-mutant melanoma experiencing progression with single-agent BRAF inhibitor. *J Clin Oncol* 2014. pii: JCO. 2014.57.3535.