

Анастасия Ильинична Сендерович¹, Анна Михайловна Строганова²,
Аполлон Иродиюнович Карселадзе³

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МЕЛАНОЦИТАРНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЧЕЛОВЕКА

¹ Младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной патологии, отделение патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

² Научный сотрудник, лаборатория молекулярной патологии, отделение патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

³ Профессор, д. м. н., заведующий, отделение патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24)

Адрес для переписки: 115478, РФ, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, лаборатория молекулярной патологии, отделение патологической анатомии опухолей человека НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Сендерович Анастасия Ильинична; e-mail: a.senderovich@mail.ru

Меланома кожи — одно из наиболее злокачественных новообразований человека. В последнее время много исследований посвящено изучению молекулярно-генетических нарушений при меланоцитарных поражениях кожи. В обзоре приводятся последние данные литературы о наиболее важных нарушениях при этой разновидности новообразований. Было установлено, что достаточно часто встречаются потеря участков 9p и 10q, а также появление дополнительного генетического материала в области 1q, 6p, 7q и 8q. Кроме того, были отмечены аберрации хромосом 11, 17 и 20. При этом затронуты такие гены, как *p53*, *p[16.sup.INK4]*, *p[15.sup.INK4B]* — гены — супрессоры опухолевого роста, онкогены *c-MYC*, циклин D1 и ген каталитической субъединицы теломеразы (*hTERT*). Набор специфических генетических повреждений при меланоме может служить в качестве диагностического теста для меланоцитарных поражений неясного злокачественного потенциала. Осуществить повседневную диагностику такого рода поражений можно с помощью реакции флуоресцентной гибридизации *in situ*, которая в настоящее время является оптимальным методом визуализации нарушений генома.

Ключевые слова: меланома, меланоцитарные поражения кожи, хромосомные аберрации, сравнительная геномная гибридизация, флуоресцентная гибридизация *in situ*.

Меланома кожи (МК) — одно из наиболее злокачественных новообразований человека. В современных эпидемиологических исследованиях четко выявлен стремительный рост заболеваемости МК; за год темп прироста заболеваемости увеличился с 3 до 7%. Это самый быстрый темп прироста, который был отмечен среди основных форм рака. Данная ситуация наблюдается в разных странах, в том числе в России, что позволяет рассматривать это как общую тенденцию в мире. В 2002 г. приблизительно у 79 000 мужчин и 81 000 женщин по всему миру была констатирована меланома, из них 80% составляет население с белой кожей, проживающее в Северной Америке, Австралии, Новой Зеландии и Европе (преимущественно в северо-западной ее ча-

сти). По данным мировой статистики, меланома по заболеваемости занимает 16-е место среди мужчин и 15-е среди женщин и наиболее часто диагностируется в Австралии и Новой Зеландии (4-е место среди мужчин, 3-е — среди женщин), в Северной Америке (6-е место среди мужчин, 5-е — среди женщин) и Европе (16-е место среди мужчин, 8-е — среди женщин). В 2002 г. по всему миру от меланомы умерли около 22 000 мужчин и 19 000 женщин.

Наиболее важным внешним фактором риска развития меланомы для представителей европеоидной расы является инсоляция. Наиболее высокая заболеваемость отмечена в Австралии, где большинство жителей являются выходцами из Северной Европы. В Западной Европе отмечено некоторое расхождение частоты развития меланомы: она выше у жителей Северной Европы (расположенной более удаленно от экватора), чем у жителей Южной Европы.

Одним из основных пусковых механизмов, лежащих в основе роста заболеваемости меланомой, считается произошедшее за последнее время по различным причинам увеличение суммарного времени воздействия ультрафиолетовой части спектра естественного солнечного света на кожу человека, не всегда подготовленную к этому генетически. Избыточная инсоляция не только приводит к повреждению кератино- и меланоцитов, но и вызывает специфическую иммуносупрессию, связанную с нарушением функции естественных клеток-киллеров, что сопровождается повышенным риском развития меланомы. Среди других факторов риска развития меланомы в настоящее время выделяют фототип кожи I—II (склонность к солнечным ожогам кожи, рыжие волосы, голубые глаза, светлая кожа), общее число доброкачественных меланоцитарных невусов на коже индивидуума, наличие лентиго и веснушек, наличие 3 атипичных меланоцитарных невусов и более, 3 эпизода тяжелых солнечных ожогов кожи в течение жизни и более, а также семейное накопление случаев меланомы у близких родственников [1].

Проблема лекарственной профилактики метастазов МК после хирургического лечения у больных с неблагоприятным прогнозом заболевания продолжает оставаться актуальной, поскольку, как и 15—20 лет назад, несмотря на огромное количество проведенных исследований, не существует общепринятой эффективной тактики лечения больных этой категорией, кроме хирургической [2].

Новые познания в биологии опухолей приводят к разработке новых подходов к лечению меланомы. В настоящее время проводятся крупные исследования по оценке возможностей генной терапии, вакцинотерапии, антиангиогенной терапии, моноклональных антител и др., однако пока получены предварительные результаты.

ПРОБЛЕМЫ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ МЕЛАНОЦИТАРНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Как известно, из меланоцитов могут развиваться как доброкачественные, так и злокачественные новообразования. Доброкачественные меланоцитарные опухоли называются меланоцитарными невусами, а злокачественные опухоли — меланомами. Гистологическое исследование в данный момент является «золотым стандартом» для диагностической классификации меланоцитарных новообразований. Однако, несмотря на то что гистологические критерии позволяют отнести большинство меланоцитарных опухолей либо к невусу, либо к меланоме, существуют так называемые неясные случаи [3—5]. Ошибочный диагноз меланоцитарных новообразований достаточно распространен и может привести к неправильному лечению больного [6; 7].

Кроме проблемы классификации меланоцитарных поражений в целом на доброкачественные и злокачественные обсуждается вопрос, является ли меланома гомогенной болезнью или состоит из различных биологических и гистологических подтипов. Давно отмечено, что меланома разных локализаций может значительно различаться по клиническим проявлениям и гистологической структуре [8]. Так, для меланомы глаза характерна стереотипная модель метастазирования в печень и частые абберации хромосомы 3, что отличает ее от МК.

Среди меланом, поражающих кожу, отмечены вариации гистологических и клинических характеристик, что частично зависит от анатомической области поражения и степени воздействия солнца. Поэтому было предложено деление меланомы на несколько гистогенетических типов [9]. Однако до настоящего времени является спорным, отражают ли клиничко-патологические варианты МК истинные биологические различия, или это разнообразие зависит от строения кожи в различных анатомических областях [10].

Для постановки правильного диагноза необходимо установить причины возникновения меланомы, но, к сожалению, многие вопросы этиологии до сих пор разработаны не полностью.

В свете молекулярно-генетической теории в основе злокачественного роста лежат необратимые повреждения гено типа нормальной клетки под воздействием физических, химических и биологических канцерогенных факторов. Эти нарушения могут иметь как генетический (генные мутации, хромосомные абберации, изменения целостности хромосом и количества генов), так и эпигенетический, обменный характер (например, нарушения в ферментной системе ДНК) [11]. Результатом данных нарушений является потеря генов — супрессоров опухоли или активация онкогенов, что приводит к перерождению нормальных клеток в опухолевые, возникновению различий между ними. У большинства солидных опухолей эти различия проявляются в структурных поломках хромосом. Только незначительное количество солидных опухолей развивается в отсутствие достоверной хромосомной нестабильности [12; 13]. Наиболее ярким примером является наследственный неполипозный колоректальный рак, в котором нарушение геномной целостности проявляется в виде формирования микросателлитной нестабильности, вызванной изменениями в мисматч-системе репарирования вместо частых хромосомных перестановок. В меланоме нестабильность генома возникает преимущественно на хромосомном уровне, более чем у 95% первичных меланом показаны увеличение или потери участков хромосом [8; 14]. В отличие от этого, у большинства меланоцитарных невусов существует контроль над геномной целостностью, а потому их можно отличить от меланомы путем обнаружения увеличения или потери молекул ДНК [8].

Методом, позволяющим установить изменение копияности ДНК в геноме, является сравнительная геномная гибридизация (СГГ). Она сравнивает геном опухоли с геномом нормальной клетки и позволяет обнаруживать и картировать геномные абберации, которые приводят к изменению числа копий ДНК [15].

ХРОМОСОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ ПРИ МЕЛАНОМЕ

С помощью СГГ исследователи Калифорнийского университета (B. Bastian, P. E. LeBoit и др.) проанализировали несколько сотен злокачественных меланом и невусов. Хромосомные абберации были обнаружены у большинства меланом, а в группе невусов они практически отсутствовали [16]. В то время как при врожденном и голубом невусах генетических поломок выявлено не было, в подгруппе невуса Шпица (около 20%) обнаружено изолированное увеличение копияности генов на

участке 11p [17]. В недавно проведенных исследованиях было показано, что это увеличение возникает в результате присутствия многочисленных копий изохромосомы 11p у данного типа невуса [14]. Примечательно, что подобного рода аберрации в меланоме отсутствуют. Гистологическая картина при невусе Шпица может в значительной степени совпадать с таковой меланомы, что приводит к ошибочному диагнозу [18]. Четкое различие между набором аберраций при невусе — отсутствие нарушений или наличие изохромосомы 11p — в отличие от многочисленных хромосомных поломок при меланоме, которые наблюдаются более чем в 95% случаев, — дает основания предположить, что хромосомный анализ может оказать помощь при классификации меланоцитарных поражений, пограничных по гистологии. Этот аспект имеет большое клиническое значение, поскольку методы, применяемые при классификации пограничных меланоцитарных поражений, ограничены [3; 5].

Таким образом, в результате применения метода СГГ было обнаружено, что наиболее часто генетические нарушения при меланоме встречаются в хромосомах 1, 6, 7, 9 и 10 [19; 20]. Эти данные были также подтверждены учеными в различных лабораториях США, Австралии и Европы [21—34].

Рассмотрим хромосомные аберрации в зависимости от их частоты при меланоме. Многие исследователи отмечают высокий процент уменьшения копийности хромосом 9 и 10 [19; 31; 34—37]. С большой частотой оба эти нарушения встречаются как при первичной, так и при метастатической меланоме. Причем потеря области 9p чаще наблюдается в поверхностно распространяющихся меланомах, а утрата хромосомы 10 — в узловой меланоме [38]. В хромосоме 9 наиболее значимыми являются нарушения в области локуса 9p21—22, который кодирует гены — супрессоры опухолевого роста *p[16.sup.INK4]*, *p[15.sup.INK4B]* [34; 39—44]. Считается, что эти гены изменяются на ранней стадии развития меланомы, поскольку: а) поломки встречаются примерно одинаково часто как в тонких, так и в толстых меланомах; б) присутствуют в фазе радиального роста опухоли, в то время как другие аберрации имелись в узловой составляющей опухоли; в) было показано, что некоторые хромосомные нарушения, такие, как увеличение числа хромосомы 7, возникают только в присутствии потерь хромосомы 9 [19; 39].

Участие хромосомы 9 на ранних стадиях онкогенеза меланомы подтверждено результатами предыдущих исследований, в которых выявлены потери хромосомы 9 в диспластических невусах [45]. Кроме того, потеря гетерозиготности 8 или более микросателлитных маркеров, расположенных на 9p, является надежным прогностическим фактором в плане появления метастазов в ближайшие 4,4—6,3 года от начала заболевания [46]. При СГГ злокачественной меланомы, проведенной М. Balazs, выявлено, что частота потерь 9p значительно ниже [35], чем по данным В. Bastian, Р. Е. LeBoit [19; 20]. Расхождение между результатами СГГ возможно из-за того, что изучаемые образцы опухоли принадлежат к разным гистологическим подтипам и стадиям ее развития [35].

Потеря хромосомы 10 часто связана с прогрессирующим меланомой [34], что вызвано потерей гена *NMA*,

расположенного на 10p11.2—p12.3, который является ингибитором метастатической активности [47; 48]. В то же время в других обзорах было показано, что потеря терминальной области 10q происходит на ранних стадиях развития меланомы. Причем последний из этих двух регионов потерян или вовлечен в транслокации [49]. Кроме того, была отмечена потеря гетерозиготности на хромосоме 10q [50; 51].

В хромосоме 6 наиболее часто обнаруживали увеличение региона 6p, нерцепирующие транслокации или делеции, затрагивающие участки 6q11—6q24 [21; 27; 28; 31], а также потерю гетерозиготности локуса 6q [52—54]. При стандартном цитогенетическом исследовании увеличение локуса 6p обычно связано с потерей локуса 6q. Это может быть результатом образования изохромосом или неоднократных структурных перестроек [55], что подтверждено и другими работами [19; 20; 35]. Высокая частота увеличения локуса 6p предполагает, что один или более онкогенов могут располагаться на коротком плече хромосомы 6, однако ни один из известных онкогенов, участвующих в развитии меланомы, в данной области не отображен [56; 57]. J. M. Fung и соавт. выявили, что в области 6q21 располагается неизвестный пока еще ген-супрессор *PDSS2*, играющий значительную роль в развитии злокачественной меланомы [58]. Кроме того, обнаружена корреляция между наличием аберраций в области хромосомы 6 и низким уровнем выживаемости [59]. F. H. Thompson и соавт., используя хромосомный анализ в группе метастатической меланомы, сообщили о высоком уровне изменений в области хромосомы 6 [31]. Ими, в отличие от СГГ, проведенной М. Balazs и соавт. [35], было показано, что потеря локуса 6q встречается чаще, чем увеличение локуса 6p. Подобные расхождения в данных также были отмечены в случаях меланомы, в которых увеличение локуса 6p обнаруживается с помощью СГГ чаще, чем с помощью хромосомного анализа [60].

Дополнительный генетический материал на хромосоме 7 появляется в половине изучаемых случаев. Обнаружение целого комплекса повреждений свидетельствует о том, что в данной хромосоме задействовано несколько регионов. Например, один из них затрагивает дистальный участок длинного плеча (7q), что проявляется в виде амплификации [19; 26; 31; 34; 38]. Другая область увеличения генетического материала сосредоточена в области центромеры [19]. Помимо этого было установлено, что существует связь между увеличением копийности хромосомы 7 при меланоме и гиперэкспрессией эпидермального фактора роста, расположенного на 7p12—13, однако данных о распространенности амплификации гена эпидермального фактора роста при меланоме пока не представлено [61; 62]. То, что увеличение числа копий хромосомы 7 чаще всего наблюдается в толстых меланомах и при этом сочетается с другими нарушениями, свидетельствует об их возникновении в поздний период опухолевой прогрессии [28; 33]. При этом данный вид нарушений характерен для первичной опухоли в большей степени, чем для метастазов [35].

С помощью СГГ было установлено, что в области хромосомы 8 чаще всего затронуто длинное плечо, а именно 8q23-qter, на котором располагается ген *c-MYC*.

С помощью реакции флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) было подтверждено наличие амплификации *c-MYC* как в первичных, так и в метастатических опухолях [35; 63; 64]. При иммуногистохимическом исследовании обнаружено увеличение экспрессии *c-MYC* в процессе онкогенеза меланомы [65]. Однако роль повреждений в области этого онкогена в патогенезе МК не доказана. Увеличение числа хромосомы 8 нередко сочетается с увеличением *6p*, *7* и *1q*. Появление этого набора повреждений, возможно, играет одну из главных ролей при агрессивном росте меланомы. Накопление данных генетических изменений служит селективным преимуществом для клеточного клона при переходе от первичной формы опухоли к метастатической [35].

Для хромосомы 1 наиболее характерны структурные перестройки, такие, как транслокации или делеции участков *1p12—22* [21], амплификация участков *1p12—21* и *1p22—31* [35], а также потеря гетерозиготности *1p* [21; 66] и делеция участка *1p36* [21; 38], в котором, по-видимому, находится ген — супрессор опухолевого роста. Следует отметить, что делеция *1p36* характерна для случаев с высоким уровнем инвазии по Кларку [21; 38]. Кроме того, довольно часто встречается увеличение числа хромосомы 1, точнее ее длинного плеча (*1q*). Сведения о том, что увеличение копийности *1q* часто происходит одновременно с увеличением числа локуса *6p* и потерей хромосомы 10, согласуется с результатами большого цитогенетического исследования метастазов меланомы [31].

Увеличение числа копий хромосомы 20, зафиксированное с помощью FISH, позволило сделать вывод о том, что ген или гены, располагающиеся на этой хромосоме, играют важную роль при развитии меланомы. В результате другого исследования с помощью СГГ показано, что чаще всего генетические нарушения встречаются в локусе *20q13.1-qter* [67].

В более поздних исследованиях были обнаружены поломки и в других хромосомах. Так, показано, что при меланоме наблюдается амплификация таких онкогенов, как циклин D1 (*CCND1*)/*PRAD1*, ген фактора роста фибробластов 3 (*FGF3*) и фактора роста фибробластов 4 (*FGF4*), которые располагаются в области *11q13* [68]. При этом с абберациями в хромосоме 11, а также в хромосоме 7, возможно, связана низкая выживаемость пациентов с меланомой [34].

Отмечено также увеличение копийности таких регионов, как *3q26* и *5p15.33*, содержащих 2 основных гена фермента теломеразы: ген каталитической субъединицы теломеразы (*hTERT*) на *5p15.33* и ген РНК-компонента на *3q26*. С помощью FISH-реакции и метода Саузерн-блоттинга выявлено, что амплификация *hTERT* широко представлена при поверхностно распространяющейся меланоме, подкожных метастазах и злокачественных клетках, полученных из выпотов, но совершенно отсутствует или встречается очень редко при первичной узловой меланоме, а также при метастазах в головной мозг, в костный мозг и лимфатические узлы [69].

Цитогенетические исследования показали, что чаще всего наблюдается уменьшение числа хромосомы 17 [35]. Некоторые авторы рассматривают ген фактора роста нервов, находящийся в области *17q21—22*, экспрессия

которого значительно выражена при метастатической меланоме, в качестве онкогена [70].

РОЛЬ ГЕНА *p53* И ЕГО ПРОДУКТА В ПАТОГЕНЕЗЕ МЕЛАНОМЫ

Ведутся исследования по определению роли гена *p53* в патогенезе меланомы, поскольку известно, что мутации в области этого гена напрямую связаны с развитием опухоли и их роль уже доказана приблизительно для 50% форм рака [71]. Ген *p53* — это ген — супрессор опухолевого роста, расположен в области *17p11—13* и в нормальном состоянии контролирует пролиферацию клеток. Продукт гена *p53* является транскрипционным фактором, который при повреждении генома вызывает задержку клеточного цикла в фазе G1 и способствует апоптозу (рис. 1) [72].

В опухолевых клетках в результате мутаций в области этого гена программа апоптоза переключается на программу неограниченной пролиферации.

Большинство опухолевых супрессоров выключаются в результате миссенс-мутаций или мутаций сдвига рамки считывания. Мутации *p53* — это миссенс-мутации (80% опухолей), в результате которых образуется аномальный белок с увеличенным периодом полураспада. Кроме того, эти мутации ведут к появлению доминантного негативного и/или усиленного фенотипов, которые ассоциированы с опухолевой прогрессией и метастазированием. Меланома относится к такому типу опухолей, в котором ген *p53* остается «диким», указывая на то, что какие-то другие события участвуют в его инактивации [73].

Различные независимые исследовательские группы в США, Швейцарии и Германии произвели мутационный анализ гена *p53* в меланоме. В результате была выявлена низкая частота мутаций гена *p53* (0—10%) или потеря гетерозиготности [74—76]. Позднее учеными Бостонского университета (штат Массачусетс, США) было показано, что значительная часть этих мутаций возникает в результате ультрафиолетового облучения [77; 78]. Данные исследования позволили выявить частую экспрессию белка *p53* при меланоме, которую можно обнаружить с помощью иммуногистохимического окрашивания, при этом интенсивность окрашивания и число позитивных клеток увеличиваются вместе с прогрессией опухоли. В работе L. E. Sparrow позитивными по *p53* оказались 33% невусов, 35% первичных меланом и 70% метастатических меланом [79].

Другими авторами описана аналогичная или более низкая частота экспрессии белка *p53* в клетках меланомы человека [74; 80]. В результате исследований, проведенных в Калифорнии, отмечены высокие уровни мРНК гена *p53*, и можно предположить, что сверхрегуляция экспрессии *p53* может быть одним из механизмов повышения уровня белка [81]. Однако из-за низкой частоты этого события следует прогнозировать, что наиболее важным механизмом является стабилизация белка [13].

Стабильный уровень белка *p53* дикого типа связан с благоприятным прогнозом. Так, в случаях, когда у пациентов с поверхностно распространяющейся меланомой был обнаружен *p53*, отмечены более длительный безрецидивный период и более высокая выживаемость [80]. Однако существует и противоречащее этим данным со-

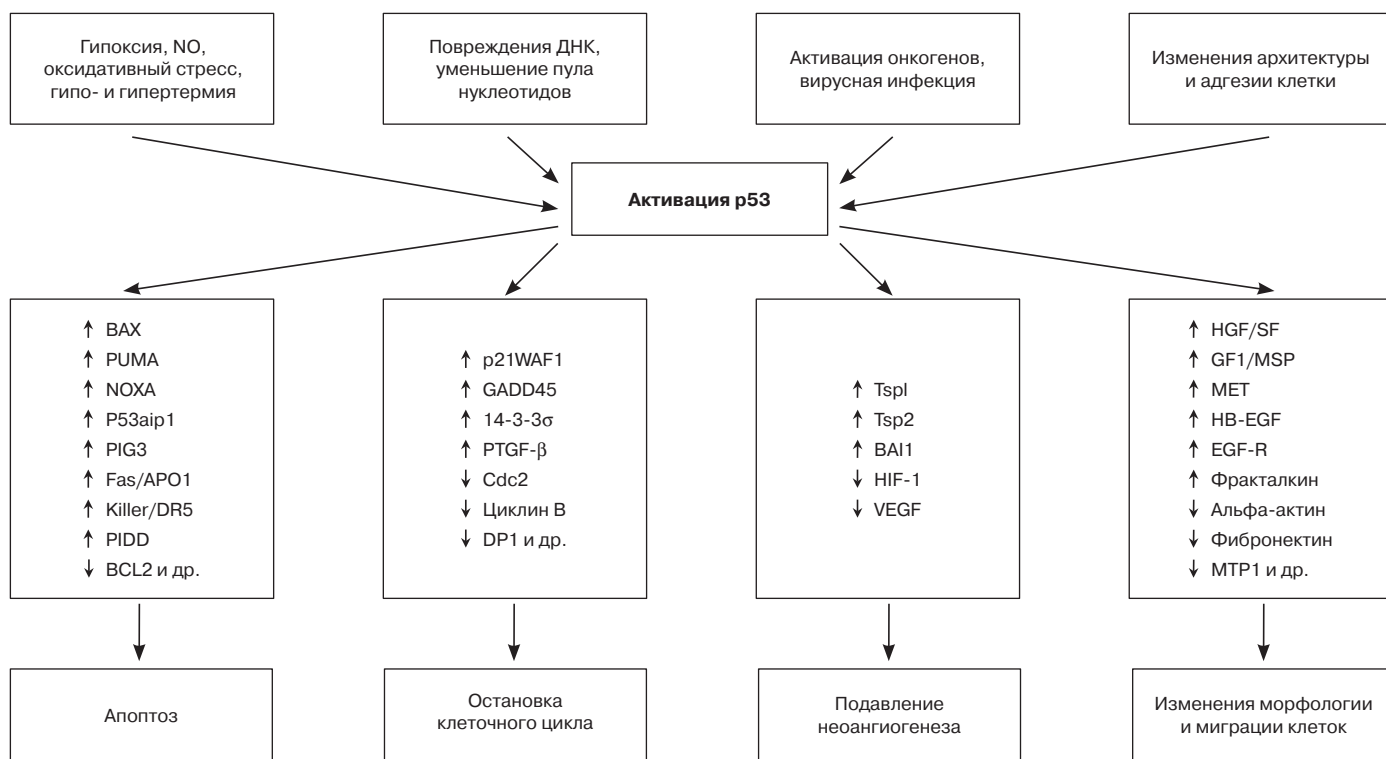


Рисунок 1. Охранные функции p53. Факторы, вызывающие транскрипционную активацию p53, гены-мишени активированного p53 и вызываемые изменениями их экспрессии биологические эффекты.

общение о том, что гиперэкспрессия p53 связана с неблагоприятным прогнозом [82].

Повышение уровня p53 при меланоме может иметь некоторые функциональные последствия. Поскольку ген *p53* является многофункциональным опухолевым супрессором, то в результате его усиленной экспрессии при прогрессировании опухоли, как правило, увеличивается экспрессия белка p21. *BAX*, являясь проапоптотической мишенью p53, также обладает p53-подобной экспрессией при опухолевой прогрессии, однако опухоли с высоким уровнем *BAX* устойчивы к апоптозу, следовательно, остальные проапоптотические мишени p53 подавляют последствия экспрессии *BAX*.

В качестве другого возможного механизма ослабления активности гена *p53* в клетках меланомы может служить экспрессия изоформ p53 малой молекулярной массы во время меланоцитарной трансформации. Малые изоформы могут выступать в роли ингибиторов транскрипции p53, и отношение малых изоформ к полноразмерному белку может потенциально регулировать ответ опухолевых клеток на апоптоз, вызванный лекарственными препаратами, такими, как цисплатин [73].

Существует соответствие между возрастом пациента и общим числом aberrаций. В то время как частота спорадических хромосомных aberrаций в нормальных клетках повышается с увеличением возраста, это вряд ли может быть источником возрастного эффекта при меланоме, так как aberrации, найденные в опухолях у взрослых больных, распределены по геному не случайно, а затрагивают несколько определенных локусов. Меланома

у пожилых людей, как правило, клинически протекает более длительно, чем у молодых пациентов, что может служить доказательством длительной опухолевой прогрессии в этом возрасте. По-видимому, это означает, что существуют два отдельных пути клинического проявления опухоли: 1) один, состоящий из набора мелких событий и поэтому занимающий много времени; 2) более быстрый, включающий в себя лишь несколько основных этапов [19].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МЕЛАНОМЫ

Подтверждением того, что меланома является не гомогенным заболеванием, а состоит из нескольких подтипов, может служить установление различных генетических нарушений для разных типов меланом. Так, для акральных меланом, располагающихся на коже ладоней, подошв и под ногтями, характерна точечная амплификация генов, которая возникает на самых ранних этапах опухолевой прогрессии и может быть обнаружена на стадии *in situ*.

В акральной меланоме существует молекулярный дефект регионов 11q13, 22q11—13 и 5p15; помимо этого затронуты хромосома 15 и длинное плечо 12q. В меланомах, возникающих на участках кожи, часто облучаемых солнцем, обычно (но не исключительно) принадлежащих к типу злокачественный лентиго) выявлены более частые потери хромосом 17p и 13q [20]. При этом у меланом, возникающих на участках кожи, которые часто облучаются солнцем, обнаружено значительно меньше мутаций в области гена *BRAF* по сравнению с меланома-

ми, возникающими на коже в отсутствие постоянного воздействия солнца. Эти заметные различия по частоте мутации в области гена *BRAF* наряду с различиями в характере хромосомных aberrаций свидетельствуют о том, что указанные два общих типа меланомы генетически и биологически различны [12; 83].

При СГГ меланом слизистой оболочки носа и околоносовых пазух выявлены частое увеличение числа копий плеча 1q, а также амплификация 6p и 8q. Данные aberrации были обнаружены в достоверно высоком проценте случаев по сравнению с меланомами других типов. Это позволяет предполагать, что меланома слизистой оболочки — другой, отличный подтип опухоли. Мутации гена *BRAF* также редки для меланомы слизистых оболочек [84]. Такие значительные различия в генетическом составе меланомы большей частью зависят от анатомического расположения и степени воздействия солнца, что определяет разные мишени для терапевтических воздействий [12; 83].

ЗНАЧЕНИЕ ТЕЛОМЕРНОГО КРИЗИСА В ПАТОГЕНЕЗЕ МЕЛАНОМЫ

При сравнении группы невусов с группой меланом было установлено, что это две когорты, обладающие двумя различными, почти непересекающимися наборами генетических поломок. В то время как в 96,2% меланом имелась по крайней мере одна aberrация, у большинства доброкачественных невусов не было никаких генетических поломок. Четкие различия между невусом и меланомой могут означать, что общее количество хромосомных aberrаций является важным свойством большинства меланом. Одним из возможных механизмов появления генетических поломок в меланоме является теломерный кризис [12].

Когда клетки в культуре приближаются к пределу Хейфлика (граница количества делений соматических клеток), они перестают размножаться и останавливаются преимущественно в фазе G1 клеточного цикла. Очень редко (примерно в одной клетке из нескольких миллионов) происходят спонтанные мутации, отменяющие остановку клеточного цикла. Однако потомки этой клетки делятся еще около 10 раз и снова останавливают свое размножение, а затем постепенно гибнут. Первая остановка клеточного цикла получила название «ранний кризис», или стадия M1, а вторая остановка и гибель клеток стали определяться термином «кризис», или стадия M2 репликативного старения. Если же какие-то клетки избегают кризиса, то они могут размножаться бесконечно долго. Это свойство получило название «иммортизация» клеток, т. е. приобретение бессмертия.

В основе счетно-ограничительного механизма, детерминирующего репликативное старение клеток, лежит прогрессивное укорочение теломер (концевых участков хромосом) по мере деления клеток. ДНК теломер, представляющая собой более тысячи повторов гексануклеотида TTAGGG, в силу известной проблемы репликации концов линейной ДНК синтезируется не полностью, т. е. после каждого клеточного деления теломеры укорачиваются. Согласно теломерной гипотезе прогрессивное укорочение теломер приводит к тому, что они достигают критической минимальной длины, когда сенсорные системы

начинают распознавать их как аномальные структуры ДНК и индуцировать остановку клеточного цикла подобно тому, как это происходит при ДНК-повреждающих воздействиях. Именно это, как сейчас предполагается, и вызывает фазу M1 репликативного старения (ранний кризис). При нарушениях в сигнальных системах, детерминирующих остановку клеточного цикла, клетки с укороченными теломерами будут продолжать делиться, пока теломеры практически не исчезнут и перестанут выполнять свои функции, т. е. предотвращать рекомбинации и слипание хромосом. Тогда хромосомы потеряют свою целостность и наступит так называемая генетическая катастрофа, или стадия M2 репликативного старения (рис. 2) [85].

Отсутствие в опухолевых клетках человека репликативного старения (иммортизация) связано с включением специального механизма. В его основе лежит способность специфического фермента теломеразы достраивать недореплицированные теломерные повторы и поддерживать таким образом их постоянную длину.

Теломераза состоит из нескольких субъединиц, включая РНК-матрицу и TERT (Telomerase Reverse Transcriptase), представляющую собой обратную транскриптазу, синтезирующую ДНК повторов гексануклеотида TTAGGG с РНК-матрицы. Включение экспрессии TERT — каталитической субъединицы теломеразы, индуцируется изменением экспрессии определенных онкогенов, например активация *MYC*, или опухолевых супрессоров, например инактивация *p53*.

Большинство опухолей, в том числе меланома, стабилизируют свои теломеры путем экспрессирования теломеразы (активация TERT); другие используют иной механизм стабилизации теломер, называемый ALT (альтернативное удлинение теломер, alternative lengthening of telomeres), основанный на гомологичной рекомбинации ДНК теломер [85].

В результате исследований, проведенных В. Bastian и соавт., установлено, что меланомами, обладающими хромосомными aberrациями, переживают теломерный кризис, в то время как невусы — нет [14]. Это подтверждается данными других авторов [86]. Роль теломерного кризиса подтверждает то, что, в отличие от меланоцитарных невусов, инвазивные первичные меланомы обладают активированной теломеразой. Можно предположить, что меланоцитарные невусы прекращают пролиферацию и подвергаются репликативному старению, когда их теломеры сокращены до определенного уровня, в то время как в меланоме этого не наблюдается. Прогрессивным истощением теломер со слиянием хроматид конец-в-конец во время кризиса могут объясняться частые aberrации при меланоме. Предполагается, что в репликативном старении в невусе играют роль размер новообразования и возраст, в котором оно возникло. Только невусы, приобретенные внутриутробно, могут достигнуть очень больших размеров, тогда как невусы, приобретенные после рождения, никогда не достигают размеров более нескольких сантиметров [14].

Помимо этого в меланоме во время опухолевой прогрессии часто происходит потеря *p16*, о чем свидетельствуют потери с участием хромосомы 9p в качестве наиболее часто встречаемой aberrации при меланоме.

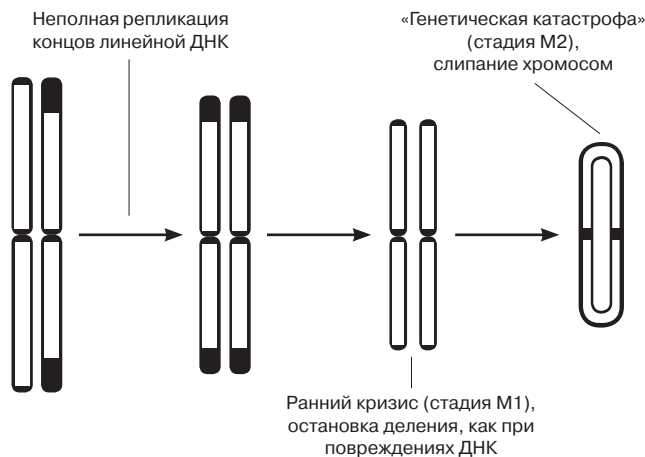


Рисунок 2. Теломерный механизм репликативного старения клеток человека.

Результатом потери функции p16 является отсутствие неповрежденного чекпойнта G1/S клеточного цикла, что позволяет клетке неограниченно размножаться в ответ на мутацию в области онкогенов, таких, как *RAS*.

Бесконтрольная пролиферация вследствие этого может привести к прогрессирующему истощению теломер с последующей нестабильностью генома и увеличением или уменьшением числа хромосом. Эта модель правдоподобно объясняет, почему типичный меланоцитарный невус и меланома отличаются друг от друга по наличию или отсутствию хромосомных aberrаций. Меланома проходит сквозь теломерный кризис, в то время как у типичного меланоцитарного невуса вход в кризис предотвращен неповрежденным чекпойнтом клеточного цикла, что предотвращает критическое сокращение теломер. Поскольку теломерный кризис, как полагают, неизменно проявляется в виде перестроек в кариотипе, наличие хромосомных aberrаций может быть использовано для определения посткризисной ситуации, т. е. наличия рака [14].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МЕЛАОЦИТАРНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Как отмечалось ранее, периодическая амплификация гена может помочь в определении соответствующих онкогенов для конкретного вида рака. Приблизительно для 40% акральных меланом выявлена амплификация 11q13 — локуса, содержащего несколько онкогенов, включая *CCND1*, *FGF3* и *FGF4*. Как известно, ген *CCND1* кодирует циклин D1, который в комплексе с циклинзависимыми киназами 4,6 (Cdk 4,6) регулирует переход из фазы G1 клеточного цикла в фазу S. При сравнении числа копий *CCND1* и экспрессии белка среди 137 случаев первичной инвазивной МК с помощью реакции FISH и иммуногистохимического исследования обнаружена частая амплификация *CCND1* в акральной меланоме (44,4%), в меланоме по типу злокачественного лентигио (10,5%) и поверхностно распространяющейся меланоме (5,6%). Циклин D1 был гиперэкспрессирован во всех случаях с амплификацией гена, а также в 20% случаев без амплификации.

Значение гиперэкспрессии циклина D1 для роста и выживания клеток меланомы подтверждено с помощью антисенсной таргетной терапии к циклину D1 на 2 линиях клеток меланомы. Клетки обеих линий экспрессировали высокий уровень циклина D1, в одной из них наблюдалась амплификация гена *CCND1*. Нарушение функции клеток с помощью антисенс-опосредованного воздействия циклина D1 не влияло на рост нормальных меланоцитов. Эти данные убедительно свидетельствуют о том, что циклин D1 может выступать в качестве онкогена при меланоме [12].

В заключение следует отметить, что СГТ — мощный метод обнаружения и картирования изменений числа копий ДНК. То, что меланома и невус значительно отличаются друг от друга по набору изменений в области ДНК, является полезным диагностическим инструментом, а также может помочь в установлении генетических механизмов прогрессирования меланомы [15].

Для применения полученных с помощью СГТ данных в клинической практике предложена реакция FISH. В качестве флуоресцентной пробы используется зонд, в котором флуорофором окрашены гены, значение которых доказано для развития меланоцитарной неоплазии, а также гены, ответственные за злокачественную трансформацию клеток: *RREB1* (6p25), *MYB* (6q23), *CCND1* (11q13).

RREB1 (Ras Responsive Element Binding Protein 1) — ген, расположенный в 6p25, на коротком плече хромосомы 6. Белок RREB1 является транскрипционным фактором, который вовлечен в RAS/RAF-опосредованную дифференцировку клеток. Участвует в регуляции транскрипции p53 в ответ на повреждение ДНК. Показано, что «молчание» гена *RREB1* снижает экспрессию p53 как на уровне мРНК, так и на уровне белка [87].

Ретровирус-ассоциированная последовательность ДНК (*v-myb*) изначально была выделена из птичьих вирусов миелобластома и E26 лейкемии. Протоонкоген *c-myb* кодирует ядерный белок, вовлеченный в регуляцию транскрипции, и играет важную роль в пролиферации гематопозитических клеток. Высказано предположение, что *c-myb* может играть важную роль в онкогенезе меланомы, поскольку отмечена высокая экспрессия данного гена *in vitro* [115]. Ген *MYB* человека расположен в локусе 6q22-23 на длинном плече хромосомы 6 [88]. Кроме генов при изготовлении флуоресцентного зонда флуорофором был окрашен альфа-сателлит ДНК *CER6*, локализованный на центромере хромосомы (6p11.1-q11.1).

Таким образом, с помощью флуоресцентной пробы LSI RREB1/LSI MYB/LSI CCND1/CER6 предполагается не только диагностировать меланому на молекулярно-генетическом уровне, используя реакцию FISH, но и производить дифференциальную диагностику между невусом и меланомой, а также судить о прогнозе заболевания [89].

В результате крупных исследований в области меланоцитарных поражений с помощью СГТ было установлено, что меланома значительно отличается от невуса по количеству и характеру хромосомных aberrаций. Наиболее часто генетическим повреждениям подвержены хромосомы 1, 6, 7, 9 и 10. Необходимо также отметить роль опухолевого супрессора *p53*, расположенного на 17p. Набор специфических генетических повреждений при мела-

номе может служить в качестве диагностического теста для меланоцитарных поражений, которые на данный момент считаются пограничными. Осуществить рутинную диагностику такого рода повреждений можно с помощью реакции FISH, которая в настоящее время является оптимальным методом визуализации нарушений генома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sarasin A. Melanocytic Tumors // Pathology and Genetic of Skin Tumors / LeBoit P. E., Burg G., Weedon D., Sarasin A. (eds.). — Lyon: World Health Organization, 2006. — P. 49—65.
2. Носов А. А. Лекарственное лечение диссеминированной меланомы // Прак. онкол. — 2001. — Т. 4, № 8. — С. 50—57.
3. Farmer E. R., Gonin R., Hanna M. P. Discordance in the histopathologic diagnosis of melanoma and melanocytic nevi between expert pathologists // Hum. Pathol. — 1996. — Vol. 27. — P. 528—531.
4. Melanoma in childhood: an EORTC-MCG multicenter study on the clinico-pathological aspects / Spatz A., Ruiter D., Hardmeier T., Renard N., Wechsler J., Bailly C., Avril M. F., Kwee H., Bastian B. C., Hill C., De Potter C., Prade M. // Int. J. Cancer. — 1996. — Vol. 68. — P. 317—324.
5. Quality assessment by expert opinion in melanoma pathology: experience of the pathology panel of the Dutch Melanoma Working Party / Veenhuizen K. C., De Wit P. E., Mooi W. J., Scheffer E., Verbeek A. L., Ruiter D. J. // J. Pathol. — 1997. — Vol. 182. — P. 266—272.
6. Troxel D. B., Sabella J. D. Problem areas in pathology practice. Uncovered by a review of malpractice claims // Am. J. Surg. Pathol. — 1994. — Vol. 18. — P. 821—831.
7. Jackson R. Malignant melanoma: a review of 75 malpractice cases // Int. J. Dermatol. — 1997. — Vol. 36. — P. 497—498.
8. Classifying melanocytic tumors based on DNA copy number changes / Bastian B. C., Olshen A. B., LeBoit P. E., Pinkel D. // Am. J. Pathol. — 2003. — Vol. 163. — P. 1765—1770.
9. Clark W. H. Jr., Elder D. E., Van Horn M. The biologic forms of malignant melanoma // Hum. Pathol. — 1986. — Vol. 17. — P. 443—450.
10. Ackerman A. B., David K. M. A unifying concept of malignant melanoma: biologic aspects // Hum. Pathol. — 1986. — Vol. 17. — P. 438—440.
11. Лемехов В. Г. Эпидемиология, факторы риска, скрининг меланомы кожи // Прак. онкол. — 2001. — № 8. — С. 3—11.
12. Bauer J., Bastian B. C. Distinguishing melanocytic nevi from melanoma by DNA copy number changes: comparative genomic hybridization as a research and diagnostic tool // Dermatol. Ther. — 2006. — Vol. 19. — P. 40—49.
13. Hussein M. R. Genetic pathways to melanoma tumorigenesis // J. Clin. Pathol. — 2004. — Vol. 57. — P. 797—801.
14. Bastian B. C. Understanding the progression of melanocytic neoplasia using genomic analysis: from fields to cancer // Oncogene. — 2003. — Vol. 22. — P. 3081—3086.
15. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors / Kallioniemi A., Kallioniemi O. P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J. W., Waldman F., Pinkel D. // Science. — 1992. — Vol. 258. — P. 818—821.
16. Genetic changes in neoplasms arising in congenital melanocytic nevi: differences between nodular proliferations and melanomas / Bastian B. C., Xiong J., Frieden I. J., Williams M. L., Chou P., Busam K., Pinkel D., LeBoit P. E. // Am. J. Pathol. — 2002. — Vol. 161. — P. 1163—1169.
17. Molecular cytogenetic analysis of Spitz nevi shows clear differences to melanoma / Bastian B. C., Wesselmann U., Pinkel D., LeBoit P. E. // J. Invest. Dermatol. — 1999. — Vol. 113. — P. 1065—1069.
18. Atypical Spitz nevi/tumors: lack of consensus for diagnosis, discrimination from melanoma, and prediction of outcome / Barnhill R. L., Argenyi Z. B., From L., Glass L. F., Maize J. C., Mihm M. C. Jr., Rabin M. S., Ronan S. G., White W. L., Piepkorn M. // Hum. Pathol. — 1999. — Vol. 30. — P. 513—520.
19. Chromosomal gains and losses in primary cutaneous melanomas detected by comparative genomic hybridization / Bastian B. C., LeBoit P. E., Hamm H., Bocker E. B., Pinkel D. // Cancer Res. — 1998. — Vol. 58. — P. 2170—2175.
20. Gene amplifications characterize acral melanoma and permit the detection of occult tumor cells in the surrounding skin / Bastian B. C., Kashani-Sabet M., Hamm H., Godfrey T., Moore D. H. 2nd, Bocker E. B., LeBoit P. E., Pinkel D. // Cancer Res. — 2000. — Vol. 60. — P. 1968—1973.
21. Sauter E. R., Herlyn M. Molecular biology of human melanoma development and progression // Mol. Carcinog. — 1998. — Vol. 23. — P. 132—143.
22. Halpern A. C., Altman J. F. Genetic predisposition to skin cancer // Curr. Opin. Oncol. — 1999. — Vol. 11. — P. 132—138.
23. The pathogenesis of melanoma induced by ultraviolet radiation / Gilchrist B. A., Eller M. S., Geller A. C., Yaar M. // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 340. — P. 1341—1348.
24. Molecular pathology of malignant melanoma / Slominski A., Wortsman J., Nickoloff B., McClatchey K., Mihm M. C., Ross J. S. // Am. J. Clin. Pathol. — 1998. — Vol. 110. — P. 788—794.
25. Elder D. E. Skin cancer. Melanoma and other specific nonmelanoma skin cancers // Cancer. — 1995. — Vol. 75. — P. 245—256.
26. Parmer A. H., Nowell P. C. Cytogenetics of melanocytic tumors // J. Invest. Dermatol. — 1993. — Vol. 100. — P. 254S—258S.
27. Su Y. A., Trent J. M. Genetics of Cutaneous Malignant Melanoma // Cancer Control. — 1995. — Vol. 2. — P. 392—397.
28. Genetics of melanoma / Fountain J. W., Bale S. J., Housman D. E., Dracopoli N. C. // Cancer Surv. — 1990. — Vol. 9. — P. 645—671.
29. Loss of the p16INK4a and p15INK4b genes, as well as neighboring 9p21 markers, in sporadic melanoma / Flores J. F., Walker G. J., Glendening J. M., Haluska F. G., Castresana J. S., Rubio M. P., Pastoride G. C., Boyer L. A., Kao W. H., Bulyk M. L., Barnhill R. L., Hayward N. K., Housman D. E., Fountain J. W. // Cancer Res. — 1996. — Vol. 56. — P. 5023—5032.
30. Loss of heterozygosity and homozygous deletions on 9p21—22 in melanoma / Holland E. A., Beaton S. C., Edwards B. G., Kefford R. F., Mann G. J. // Oncogene. — 1994. — Vol. 9. — P. 1361—1365.
31. Cytogenetics of 158 patients with regional or disseminated melanoma. Subset analysis of near-diploid and simple karyotypes / Thompson F. H., Emerson J., Olson S., Weinstein R., Leavitt S. A., Leong S. P., Emerson S., Trent J. M., Nelson M. A., Salmon S. E., et al. // Cancer Genet. Cytogenet. — 1995. — Vol. 83. — P. 93—104.
32. Robertson G., Coleman A., Lugo T. G. A malignant melanoma tumor suppressor on human chromosome 11 // Cancer Res. — 1996. — Vol. 56. — P. 4487—4492.
33. Direct visualization of the clonal progression of primary cutaneous melanoma: application of tissue microdissection and comparative genomic hybridization / Wiltshire R. N., Duray P., Bittner M. L., Visakorpi T., Meltzer P. S., Tuthill R. J., Liotta L. A., Trent J. M. // Cancer Res. — 1995. — Vol. 55. — P. 3954—3957.
34. Malignant melanoma / Slominski A., Wortsman J., Carlson A. J., Matsuka L. Y., Balch C. M., Mihm M. C. // Arch. Pathol. Lab. Med. — 2001. — Vol. 125. — P. 1295—1306.
35. Chromosomal imbalances in primary and metastatic melanomas revealed by comparative genomic hybridization / Balazs M., Adam Z., Treszl A., Begany A., Hunyadi J., Adany R. // Cytometry. — 2001. — Vol. 46. — P. 222—232.
36. Rates of p16 (MTS1) mutations in primary tumors with 9p loss / Cairns P., Mao L., Merlo A., Lee D. J., Schwab D., Eby Y., Tokino K., van der Riet P., Blaugrund J. E., Sidransky D. // Science. — 1994. — Vol. 265. — P. 415—417.
37. Functional evidence of novel tumor suppressor genes for cutaneous malignant melanoma / Parris C. N., Harris J. D., Griffin D. K., Cuthbert A. P., Silver A. J., Newbold R. F. // Cancer Res. — 1999. — Vol. 59. — P. 516—520.
38. Differences in chromosomal aberrations between nodular and superficial spreading malignant melanoma detected by interphase cytogenetics / Poetsch M., Woenckhaus C., Dittberner T., Pambor M., Lorenz G., Herrmann F. H. // Lab. Invest. — 1998. — Vol. 78. — P. 883—888.
39. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types / Kamb A., Gruis N. A., Weaver-Feldhaus J., Liu Q., Harshman K., Tavtigian S. V., Stockert E., Day R. S. 3rd, Johnson B. E., Skolnick M. H. // Science. — 1994. — Vol. 264. — P. 436—440.
40. Naylor M. F., Everett M. A. Involvement of the p16INK4 (CDKN2) gene in familial melanoma // Melanoma Res. — 1996. — Vol. 6. — P. 139—145.
41. Novel germline p16 mutation in familial malignant melanoma in southern Sweden / Borg A., Johannsson U., Johannsson O., Hakansson S., Westerlund J., Masback A., Olsson H., Ingvar C. // Cancer Res. — 1996. — Vol. 56. — P. 2497—2500.
42. Deletion mapping of chromosome region 9p21—p22 surrounding the CDKN2 locus in melanoma / Ohta M., Berd D., Shimizu M., Nagai H.,

- Cotticelli M. G., Mastrangelo M., Shields J. A., Shields C. L., Croce C. M., Huebner K. // *Int. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 65. — P. 762—767.
43. Analysis of the p16 gene, CDKN2, in 17 Australian melanoma kindreds / Holland E. A., Beaton S. C., Becker T. M., Grulet O. M., Peters B. A., Rizos H., Kefford R. F., Mann G. J. // *Oncogene*. — 1995. — Vol. 11. — P. 2289—2294.
44. Homozygous loss of the p15INK4B gene (and not the p16INK4 gene) during tumor progression in a sporadic melanoma patient / Glendening J. M., Flores J. F., Walker G. J., Stone S., Albino A. P., Fountain J. W. // *Cancer Res.* — 1995. — Vol. 55. — P. 5531—5535.
45. Cowan J. M., Halaban R., Francke U. Cytogenetic analysis of melanocytes from premalignant nevi and melanomas // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1988. — Vol. 80. — P. 1159—1164.
46. Large deletions of chromosome 9p in cutaneous malignant melanoma identify patients with a high risk of developing metastases. Hospital Clinic Malignant Melanoma Group, University of Barcelona / Puig S., Castro J., Ventura P. J., Ruiz A., Ascaso C., Malveyh J., Estivill X., Mascaro J. M., Lecha M., Castel T. // *Melanoma Res.* — 2000. — Vol. 10. — P. 231—236.
47. Expression of nma, a novel gene, inversely correlates with the metastatic potential of human melanoma cell lines and xenografts / Degen W. G., Weterman M. A., van Groningen J. J., Cornelissen I. M., Lemmers J. P., Agterbos M. A., Geurts van Kessel A., Swart G. W., Bloemers H. P. // *Int. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 65. — P. 460—465.
48. Expression of NM23 in human melanoma progression and metastasis / Easty D. J., Maung K., Lascu I., Veron M., Fallowfield M. E., Hart I. R., Bennett D. C. // *Br. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 74. — P. 109—114.
49. Parmiter A. H., Nowell P. C. The cytogenetics of human malignant melanoma and premalignant lesions // *Cancer Treat. Res.* — 1988. — Vol. 43. — P. 47—61.
50. Chromosome 10 allelic loss in malignant melanoma / Isshiki K., Elder D. E., Guerry D., Linnenbach A. J. // *Gen. Chromosom. Cancer*. — 1993. — Vol. 8. — P. 178—184.
51. Loss of heterozygosity for 10q22—10qter in malignant melanoma progression / Herbst R. A., Weiss J., Ehnis A., Caveness W. K., Arden K. C. // *Cancer Res.* — 1994. — Vol. 54. — P. 3111—3114.
52. Loss of heterozygosity for loci on the long arm of chromosome 6 in human malignant melanoma / Millikin D., Meese E., Vogelstein B., Witkowski C., Trent J. // *Cancer Res.* — 1991. — Vol. 51. — P. 5449—5453.
53. Simple tandem repeat allelic deletions confirm the preferential loss of distal chromosome 6q in melanoma / Walker G. J., Palmer J. M., Walters M. K., Nancarrow D. J., Parsons P. G., Hayward N. K. // *Int. J. Cancer*. — 1994. — Vol. 58. — P. 203—206.
54. Robertson G. P., Coleman A. B., Lugo T. G. Mechanisms of human melanoma cell growth and tumor suppression by chromosome 6 // *Cancer Res.* — 1996. — Vol. 56. — P. 1635—1641.
55. Mertens F., Johansson B., Mitelman F. Isochromosomes in neoplasia // *Genes Chromosomes Cancer*. — 1994. — Vol. 10. — P. 221—230.
56. Tumorigenicity in human melanoma cell lines controlled by introduction of human chromosome 6 / Trent J. M., Stanbridge E. J., McBride H. L., Meese E. U., Casey G., Araujo D. E., Witkowski C. M., Nagle R. B. // *Science*. — 1990. — Vol. 247. — P. 568—571.
57. Isolation and characterization of genes associated with chromosome—6 mediated tumor suppression in human malignant melanoma / Ray M. E., Su Y. A., Meltzer P. S., Trent J. M. // *Oncogene*. — 1996. — Vol. 12. — P. 2527—2533.
58. Identification and characterization of a novel melanoma tumor suppressor gene on human chromosome 6q21 / Fung J. M., Smith R., Brown M. A., Lau S. H., Xie D., Lau G. K., Guan X. Y. // *Clin. Cancer Res.* — 2009. — Vol. 15. — P. 797—803.
59. Chromosome 6p amplification and cancer progression / Santos G. C., Zielenska M., Prasad M., Squire J. A. // *J. Clin. Pathol.* — 2007. — Vol. 60. — P. 1—7.
60. Chromosomal gains and losses in uveal melanomas detected by comparative genomic hybridization / Speicher M. R., Prescher G., du Manoir S., Jauch A., Horsthemke B., Bornfeld N., Becher R., Cremer T. // *Cancer Res.* — 1994. — Vol. 54. — P. 3817—3823.
61. Expression of the receptor for epidermal growth factor correlates with increased dosage of chromosome 7 in malignant melanoma / Kowrowski H., Herlyn M., Balaban G., Parmiter A., Ross A., Nowell P. // *Somat. Cell. Mol. Genet.* — 1985. — Vol. 11. — P. 297—302.
62. Sparrow L. E., Heenan P. J. Differential expression of epidermal growth factor receptor in melanocytic tumours demonstrated by immunohistochemistry and mRNA in situ hybridization // *Australas. J. Dermatol.* — 1999. — Vol. 40. — P. 19—24.
63. Extra c-myc oncogene copies in high risk cutaneous malignant melanoma and melanoma metastases / Kraehn G. M., Utikal J., Udart M., Greulich K. M., Bezold G., Kaskel P., Leiter U., Peter R. U. // *Br. J. Cancer*. — 2001. — Vol. 84. — P. 72—79.
64. C-myc and nodular malignant melanoma. A case report / Greulich K. M., Utikal J., Peter R. U., Krahn G. // *Cancer*. — 2000. — Vol. 89. — P. 97—103.
65. Frequent homozygous deletion of cyclin-dependent kinase inhibitor 2 (MTS1, p16) in superficial bladder cancer detected by fluorescence in situ hybridization / Balazs M., Carroll P., Kerschmann R., Sauter G., Waldman F. M. // *Gen. Chromosom. Cancer*. — 1997. — Vol. 19. — P. 84—89.
66. Dracopoli N. C., Houghton A. N., Old L. J. Loss of polymorphic restriction fragments in malignant melanoma: implications for tumor heterogeneity // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* — 1985. — Vol. 82. — P. 1470—1474.
67. Increased chromosome 20 copy number detected by fluorescence in situ hybridization (FISH) in malignant melanoma / Barks J. H., Thompson F. H., Taetle R., Yang J. M., Stone J. F., Wymer J. A., Khavari R., Guan X. Y., Trent J. M., Pinkel D., Nelson M. A. // *Gen. Chromosom. Cancer*. — 1997. — Vol. 19. — P. 278—285.
68. Chromosomal localization of the hst oncogene and its co-amplification with the int.2 oncogene in a human melanoma / Adelaide J., Mattei M. G., Marics I., Raybaud F., Planche J., De Lapeyriere O., Birnbaum D. // *Oncogene*. — 1988. — Vol. 2. — P. 413—416.
69. Chromosomal imbalances in primary and metastatic melanomas: over-representation of essential telomerase genes / Pirker C., Holzmann K., Spiegl-Kreinecker S., Elbling L., Thallinger C., Pehamberger H., Micksche M., Berger W. // *Melanoma Res.* — 2003. — Vol. 13. — P. 483—492.
70. Brocker E. B., Magiera H., Herlyn M. Nerve growth and expression of receptors for nerve growth factor in tumors of melanocyte origin // *J. Invest. Dermatol.* — 1991. — Vol. 96. — P. 662—665.
71. Benjamin C. L., Melnikova V. O., Ananthaswamy H. N. P53 protein and pathogenesis of melanoma and nonmelanoma skin cancer // *Adv. Exp. Med. Biol.* — 2008. — Vol. 624. — P. 265—282.
72. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены // *Канцерогенез / Под ред. Заридзе Д. Г.* — М.: Медицина, 2004. — С. 125—156.
73. Box N. F., Terzian T. The role of p53 in pigmentation, tanning and melanoma // *Pigment Cell Melanoma Res.* — 2008. — Vol. 21. — P. 525—533.
74. Mutation and expression of the p53 gene in human malignant melanoma / Albino A. P., Vidal M. J., McNutt N. S., Shea C. R., Prieto V. G., Nanus D. M., Palmer J. M., Hayward N. K. // *Melanoma Res.* — 1994. — Vol. 4. — P. 35—45.
75. Absence of p53 gene mutations in cutaneous melanoma / Lubbe J., Reichel M., Burg G., Kleihues P. // *J. Invest. Dermatol.* — 1994. — Vol. 102. — P. 819—821.
76. Papp T., Jafari M., Schiffmann D. Lack of p53 mutations and loss of heterozygosity in non-cultured human melanocytic lesions // *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* — 1996. — Vol. 122. — P. 541—548.
77. Hocker T., Tsao H. Ultraviolet radiation and melanoma: a systematic review and analysis of reported sequence variants // *Hum. Mutat.* — 2007. — Vol. 28. — P. 578—588.
78. Benjamin C. L., Ananthaswamy H. N. p53 and the pathogenesis of skin cancer // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 224. — P. 241—248.
79. p53 gene mutation and expression in naevi and melanomas / Sparrow L. E., Soong R., Dawkins H. J., Iacopetta B. J., Heenan P. J. // *Melanoma Res.* — 1995. — Vol. 5. — P. 93—100.
80. Prognostic implications of p53 overexpression in cutaneous melanoma from sun-exposed and nonexposed sites / Essner R., Kuo C. T., Wang H., Wen D. R., Turner R. R., Nguyen T., Hoon D. S. // *Cancer*. — 1998. — Vol. 82. — P. 309—316.
81. Mutation and expression of TP53 in malignant melanomas / Weiss J., Heine M., Arden K. C., Komer B., Pilch H., Herbst R. A., Jung E. G. // *Recent Results Cancer Res.* — 1995. — Vol. 139. — P. 137—154.
82. Prognostic significance of p53 over-expression in thin melano-

mas / Sparrow L. E., English D. R., Heenan P. J., Dawkins H. J., Taran J. // *Melanoma Res.* — 1995. — Vol. 5. — P. 387—392.

83. Distinct sets of genetic alterations in melanoma / Curtin J. A., Fridlyand J., Kageshita T., Patel H. N., Busam K. J., Kutzner H., Cho K. H., Aiba S., Brocker E. B., LeBoit P. E., Pinkel D., Bastian B. C. // *N. Engl. J. Med.* — 2005. — Vol. 353. — P. 2135—2147.

84. Determinants of BRAF mutations in primary melanomas / Maldonado J. L., Fridlyand J., Patel H., Jain A. N., Busam K., Kageshita T., Ono T., Albertson D. G., Pinkel D., Bastian B. C. // *J. Natl. Cancer. Inst.* — 2003. — Vol. 95. — P. 1878—1890.

85. Егоров Е. Е. Роль теломеразы в канцерогенезе // *Канцерогенез / Под ред. Заридзе Д. Г.* — М.: Медицина, 2004. — С. 179—191.

86. Progressive increase in telomerase activity from benign melanocytic conditions to malignant melanoma / Ramirez R. D., D'Atri S., Pagani E., Faraggiana T., Lacal P. M., Taylor R. S., Shay J. W. // *Neoplasia.* — 1999. — Vol. 1. — P. 42—49.

87. DNA damage signalling recruits RREB-1 to the p53 tumour suppressor promoter / Liu H., Hew H. C., Lu Z. G., Yamaguchi T., Miki Y., Yoshida K. // *Biochem. J.* — 2009. — Vol. 422. — P. 543—551.

88. Cyclin D1 is a candidate oncogene in cutaneous melanoma / Sauter E. R., Yeo U. C., von Stemm A., Zhu W., Litwin S., Tichansky D. S., Pistrutto G., Nesbit M., Pinkel D., Herlyn M., Bastian B. C. // *Cancer Res.* — 2002. — Vol. 62. — P. 3200—3206.

89. Fluorescence in situ hybridization (FISH) as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma / Gerami P., Jewell S. S., Morrison L. E., Blondin B., Schulz J., Ruffalo T., Matushek P. T., Legator M., Jacobson K., Dalton S. R., Charzan S., Kolaitis N. A., Guitart J., Lertsbarapa T., Boone S., LeBoit P. E., Bastian B. C. // *Am. J. Surg. Pathol.* — 2009. — Vol. 33. — P. 1146—1156.

Поступила 20.01.2010

*Anastasya Ilyinichna Senderovich¹, Anna Mikhailovna Stroganova²,
Apollon Irodionovich Karselidze³*

MOLECULAR GENETIC ABNORMALITIES IN HUMAN MELANOCYTIC LESIONS

¹ Junior Researcher, Molecular Pathology Laboratory, Human Tumor Pathologic Anatomy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

² Researcher, Molecular Pathology Laboratory, Human Tumor Pathologic Anatomy Department,
Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS
(24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

³ MD, PhD, Professor, Head, Human Tumor Pathologic Anatomy Department, Clinical Oncology Research
Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS (24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation)

Address for correspondence: Senderovich Anastasya Ilyinichna, Molecular Pathology Laboratory, Human
Tumor Pathologic Anatomy Department, Clinical Oncology Research Institute, N. N. Blokhin RCRC RAMS,
24, Kashirskoye sh., Moscow, 115478, Russian Federation; e-mail: a.senderovich@mail.ru

Cutaneous melanoma is a most malignant human tumor. There is a vast literature on molecular genetic abnormalities in melanocytic skin lesions. The review describes recent findings concerning most important abnormalities in the above-mentioned lesions from the literature. Loss of 9p and 10q regions and gain of genetic material in 1q, 6p, 7q and 8q regions appeared rather common. Chromosome 11, 17 and 20 aberrations involving tumor growth suppressor genes p53, p[16.sup.INK4], p[15.sup.INK4B], oncogenes c-MYC, Cyclin D1 and telomerase catalytic subunit gene (hTERT) were also found. A set of specific genetic abnormalities in melanoma cases may be used as a diagnostic test for melanocytic lesions of unknown malignant potential. Routine diagnosis of such lesions may be done using fluorescent *in situ* hybridization which is currently considered an optimal imaging technique for genomic abnormalities.

Key words: melanoma, melanocytic skin lesions, chromosomal aberrations, comparative genome hybridization, fluorescent *in situ* hybridization.