

# МЕЛАНОЦИТАРНЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ КОЖИ У ДЕТЕЙ

Г.М. Волгарева, А.В. Лебедева

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Галина Михайловна Волгарева galina.volgareva@yandex.ru

Целью работы являются анализ данных литературы об особенностях меланоцитарных новообразований кожи детей и подростков для оценки актуальности поиска диагностических молекулярных маркеров меланомы кожи у таких пациентов, а также (в случае утвердительного заключения) характеристика потенциального комплекса таких маркеров. Меланома кожи у детей и подростков представляет собою гетерогенную группу опухолей, которые по сравнению с меланомой кожи у взрослых больных имеют как некоторые черты сходства, так и существенные отличия. Дифференциальная диагностика пигментного невуса и меланомы по-прежнему вызывает у специалистов затруднения, которые можно было бы минимизировать с помощью молекулярных маркеров. В качестве возможных подходов в составе комплекса маркеров, предназначенных для дифференциальной диагностики невусов и меланомы кожи у детей, представляется целесообразным проводить детекцию в меланоцитарных новообразованиях кожи нарушений в локусе *INK4a/ARF* и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование белка *p16<sup>INK4a</sup>*, выявление амплификаций хромосомного участка *11q13* и ИГХ-детекцию циклина *D1* (белка *CCND1*) в клеточных ядрах, а также ИГХ-выявление *HLA I* класса на поверхности клеток пигментных новообразований.

**Ключевые слова:** меланоцит, невус, меланома кожи, маркер

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-2-82-89

## MELANOCYTIC SKIN NEOPLASMS IN CHILDREN

G.M. Volgareva, A.V. Lebedeva

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia;  
24 Kashyrskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Literature data on peculiarities of melanocytic skin neoplasms in children and adolescents have been analyzed in order to evaluate topicality of research into the diagnostic markers complex for skin melanoma in these patients as well as, if the conclusion is in the affirmative, to characterize the would-be complex of such markers. Skin melanoma in children and adolescents is a heterogeneous tumor group which when compared with adult skin melanoma possesses both some features of similarity and a number of essential distinctions. Differential diagnostics between pigment nevus and melanoma remains rather intricate for professionals. These difficulties might be minimized by application of molecular markers. As a possible approach to differential diagnostics between nevi and malignant skin melanoma in children it seems worthwhile to try the following steps: to reveal *INK4a/ARF* locus lesions and to detect the protein *p16<sup>INK4a</sup>* by immunohistochemistry; to check for amplifications in *11q13* chromosomal region as well as to carry out immunohistochemical detection of cyclin *D1* (protein *CCND1*) in cellular nuclei; to reveal *HLA class I* antigens on surfaces of pigment cell neoplasms in immunohistochemical test.

**Key words:** melanocyte, nevus, skin melanoma, marker

### Введение

Меланоцитарные новообразования кожи привлекают внимание онкологов в первую очередь тем, что к их числу относится меланома кожи (МК), которая нередко развивается из доброкачественного пигментного новообразования — невуса. Так, к факторам риска развития МК у детей относят семейный синдром атипичных множественных невусов, пигментную ксеродерму, гигантский врожденный пигментный невус, множественность приобретенных пигментных невусов, атипичные невусы, наличие в семье случаев заболевания меланомой, иммуносу-

прессию [1, 2]. В частности, при исследовании степени генетической общности МК и диспластического невуса (ДН) установлена общность 90 % генов подверженности к проявлению МК и ДН [3]. При обсуждении риска развития МК повышенное внимание уделяется ДН, к которым относят эпидермальные и смешанные невусы, превышающие 0,5 см, с неравномерным распределением пигмента по поверхности и нечетким контуром. Понятие «диспластический невусный синдром» введено для случаев множественности ДН [4]. По оценкам некоторых авторов, около 30 % МК у детей возникают из гигантского

невуса, а еще 20 % — из невусов среднего и небольшого размера; вместе с тем точная частота развития МК из невусов некоторых типов до настоящего времени остается предметом дискуссий [2].

МК — злокачественная опухоль, возникающая при трансформации меланоцитов (клеток, продуцирующих меланин). МК является одной из наиболее злокачественных опухолей человека с непредсказуемым течением, она часто рецидивирует и метастазирует лимфогенным и гематогенным путем практически во все органы. Те или иные изменения в функционировании меланоцитов, вызванные внешними или внутренними причинами (в том числе генетическими), могут послужить стимулом к возникновению пигментного невуса.

Невусы — биологически стабильные нарушения, которые принято рассматривать как факультативные предшественники МК [5].

Доброкачественные и злокачественные пигментные новообразования кожи весьма разнообразны по времени возникновения в онтогенезе, морфологии, клиническим характеристикам, частоте их обнаружения у представителей разных этнических групп, а также по характерным для каждого типа новообразований генетическим нарушениям [4, 6, 7]. По данным НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург), наиболее частым фоном для развития МК являлись следующие типы невусов: сложный, пограничный, интрадермальный и голубой невусы; при этом 70 % всех невусов расценивались как врожденные, а 30 % — как приобретенные [8].

МК у детей и подростков — весьма редкое заболевание [2, 9, 10]. Вместе с тем, составляя в США приблизительно 1–4 % всех случаев МК, за период с 1973 по 2001 гг. заболеваемость ею в этих возрастных группах в США увеличилась на 46 %, а в возрастной группе от 15 до 29 лет МК оказалась наиболее частой солидной опухолью [11].

В России МК у детей и подростков тоже является редким заболеванием. Так, в то время как заболеваемость всеми формами злокачественных опухолей за период 2008–2012 гг. составила 125 на 1 млн детского населения (0–17 лет), стандартизованный показатель заболеваемости МК среди детей и подростков до 17 лет оказался равным 0,8 на 1 млн. Пик заболеваемости МК приходится на подростков 15–17 лет — 2,4 на 1 млн (по сравнению с 0,2 в возрастной группе 0–4 года, 0,6 — в группе от 5 до 9 лет, 0,7 — в группе от 10 до 14 лет). Стандартизованный показатель смертности от злокачественных новообразований в возрасте 0–17 лет составил в тот же период времени 40,0 на 1 млн детского населения, тогда как показатель смертности от МК — 0,1 (в возрастной группе 15–17 лет — 0,5) [12]. Вместе с тем, по данным этих исследователей, недоучет заболе-

ваемости детей и подростков в России составляет не менее 20 %, а уровень их смертности от злокачественных опухолей в нашей стране более чем на 50 % превышает смертность в развитых странах; среди причин высокой смертности авторы выделяют неадекватную диагностику.

Редкость МК у детей может являться причиной снижения бдительности дерматологов и онкологов при ее диагностике. Вместе с тем именно раннее обнаружение МК позволяет провести эффективное хирургическое лечение этого заболевания [8, 10]. Так, по данным В.Г. Полякова и Р.В. Шишкова, стойкое излечение после хирургического удаления первичного очага опухоли на ранних стадиях ее развития может быть достигнуто у 80–90 % больных [8].

**Цель исследования** — анализ данных литературы об особенностях меланокитарных новообразований кожи у детей и подростков для оценки актуальности поиска диагностических молекулярных маркеров МК в этих возрастных группах (в отличие от МК у взрослых), а также в случае утвердительного заключения — краткая биологическая характеристика потенциального комплекса таких маркеров.

#### Меланома кожи у детей и подростков

Согласно систематике В.С. Bastian [6] МК у детей и подростков представляет собой гетерогенную группу новообразований, которая включает атипичные спитцоидные опухоли; МК, развивающуюся из врожденного невуса и поражающую преимущественно маленьких детей; МК, возникающую в постпубертатном периоде и не связанную с кумулятивными повреждениями, вызванными солнечными лучами. Последняя разновидность МК по своим клиническим проявлениям и прогнозу близка к МК у взрослых больных. МК препубертатного возраста может поражать и небелокожих индивидуумов, тогда как МК постпубертатного возраста в подавляющем большинстве случаев — заболевание белокожих подростков. Не все случаи МК в препубертатном периоде являются спитцоидными или возникают из врожденного невуса, что дает автору основание считать, что существуют и другие разновидности детской МК [6].

В.А. Averbook и соавт. провели обширное исследование, основанное на данных международного регистра меланомы у молодых пациентов, которые были представлены 12 медицинскими учреждениями. Оно включало 365 случаев МК, в которых возраст больных находился в пределах от 1 до 21 года и для которых имелись данные *follow-up* [11]. Оказалось, что общая 10-летняя выживаемость этих больных статистически достоверно зависела от их возраста: при среднем значении данного показателя для всех пациентов, равном 80,6 %, в группе больных не старше 10 лет он составил 100 %, в группе старше 10, но

не выше 15 лет — 69,7 %, а среди больных от 16 до 20 лет включительно — 79,5 %. Ранее аналогичную тенденцию выявили S. Paradela и соавт., проведя ретроспективный анализ 137 случаев МК, а также меланомы слизистых оболочек у пациентов в возрасте до 18 лет [13]. Эти результаты указывают на существование различий в биологии МК, возникающей у молодых пациентов, относящихся к разным возрастным группам.

Отечественные онкологи неоднократно обращались к теме меланоцитарных новообразований кожи у детей [1, 8, 14, 15]. Вместе с тем систематические эпидемиологические исследования МК у детей и подростков в России не проводились. В единственной работе, целиком посвященной данной проблеме, охватившей период с 1990 по 2009 г., было установлено, что показатель заболеваемости МК среди лиц моложе 20 лет составил 1,99 на 1 млн населения [1]. При невысокой заболеваемости уровень смертности от МК детей и подростков достаточно высок — 0,25 на 1 млн. Значительный рост заболеваемости МК в этой возрастной группе, более чем на 9 % в год, отмечен в 1990-е гг. Низким по сравнению с развитыми странами Запада является показатель эффективности онкологической помощи детскому населению России при МК: индекс смертности/заболеваемости составляет 12 %, тогда как в США, Канаде, Австралии — около 2 %. Тенденции к снижению смертности детского населения от МК, которая имеет место в последние годы в некоторых зарубежных странах, в России пока не наблюдается. Обнаружены регионы с 3–5-кратным превышением среднего по России уровня заболеваемости. В качестве ведущей причины относительно высокой смертности детского населения от МК авторы называют позднее выявление и, как следствие, запущенность опухолевого процесса.

Среди методов диагностики детской и подростковой МК принято выделять клинические, инструментальные и морфологические [8]. Разработаны и успешно используются несколько подходов к неинвазивной диагностике МК — дерматоскопия, СИА-скопия, конфокальная микроскопия [16].

Важнейшую роль при установлении диагноза МК и определении степени местного распространения процесса играет морфологическое исследование — цитологический анализ мазка в случае изъязвления новообразования, а также гистологическое исследование удаленной опухоли. Однако, как показывает опыт квалифицированных дерматопатологов, по-прежнему одной из наиболее сложных проблем в изучении МК у детей является проведение дифференциального диагноза доброкачественных и злокачественных меланоцитарных новообразований. Конкордантность заключений нескольких специалистов при анализе одного и того же новообразования часто оказывается невысокой [17]. Ряд авторов выделяют невусы Шпиц

как представляющие значительные трудности при дифференциальной диагностике [18–20]. В обзоре T. Brenn, посвященном возможным причинам гипер- и гиподиагностики МК, приведен перечень характеристик меланоцитарных новообразований, чаще свойственных МК, однако нередко отмечаемых и для невусов:

- меланоцитарная атипия,
- незрелость дермы,
- митотическая активность в дерме,
- сильная меланиновая пигментация, регрессия дермы

и ряд других. По мнению автора, при диагностике для морфолога часто представляют затруднения следующие типы невусов:

- галоневусы,
- возвратные,
- митотически активные,
- десмопластические,
- голубые.

В данной работе подчеркивается, что при возникновении морфологических неясностей необходимо сообщать о них лечащему врачу [7].

Что касается диагностики детской и подростковой МК, дополнительные затруднения возникают еще и потому, что около половины МК у пациентов этих возрастных групп могут не содержать пигмента [21].

В связи с этим представляется обоснованным и своевременно сформулированным в ряде работ мнение, согласно которому лучшее понимание молекулярно-генетических особенностей МК у детей и подростков позволит выработать маркеры для принятия более точных решений [19, 22].

#### **Поиск молекулярных маркеров меланомы кожи у детей и подростков**

Ранее мы изучили данные литературы, касающиеся возможных приемов молекулярно-генетической и биохимической диагностики МК у детей [23]. Анализ показал противоречивость ситуации, сложившейся в этой области.

С одной стороны, сотни работ посвящены биологии МК и потенциальным маркерам для диагностики заболевания, прогноза его течения, подбора индивидуальных приемов терапии МК, а также для оценки эффективности проведенного лечения. В результате исследований генома, транскриптома и метаболома МК обнаружены многочисленные различия между клетками МК и нормальными меланоцитами, многие из этих различий потенциально, вероятно, можно использовать в онкологической клинике в качестве маркеров. Характерным примером подобных исследований служит работа B.E. Gould Rotberg и D.L. Rimm, обобщивших данные около 500 статей и предложивших в итоге перечень из 100 белков, потенциально пригодных

в качестве прогностических маркеров МК, но нуждающихся, по мнению авторов, в дополнительных исследованиях для уточнения ценности последних [24]. Однако следует заметить, что остается неясным, могут ли многие из известных на сегодня молекулярных отличий клеток МК от нормальных меланоцитов служить в качестве диагностических маркеров или эти отклонения возникают в меланомной клетке на более поздних стадиях прогрессии опухоли.

С другой стороны, работы, посвященные поиску маркеров именно детской и подростковой МК, практически отсутствуют. Имеет место тенденция, понятная ввиду редкости МК в этих возрастных группах, к механическому переносу в область детской и подростковой онкологии находок, сделанных для МК взрослых больных. Рациональной основой для такого переноса является распространенное клише о том, что «меланома — она и есть меланома». Вместе с тем очевидные физиологические отличия между лицами указанных возрастных групп побуждали многих авторов высказывать сомнения в правомерности такого переноса [10, 11, 22, 25]. Приходится, однако, констатировать, что систематический поиск молекулярных маркеров МК у детей и подростков до настоящего времени не проводится. Поэтому в настоящей работе мы вынуждены в ряде случаев привлекать данные, полученные при изучении МК у взрослых больных.

Рассмотрение проблемы МК у детей и подростков осложнено также тем, что разные авторские коллективы, представляя свои результаты, ориентируются на неодинаковые возрастные рамки периодов. Так, в 14 публикациях, посвященных МК у детей, максимальный возраст пациентов, включенных в исследование, варьировал от 11 до 20 лет [26].

Известно, что МК, обнаруживаемая у ребенка или подростка, как правило, характеризуется большей толщиной, чем опухоль, выявляемая у взрослого пациента [21]. Данное обстоятельство дополнительно затрудняет сопоставление биологических параметров и клинических особенностей МК у детей с аналогичными характеристиками этой опухоли у взрослых пациентов. Устранить это затруднение попытались D. Livestro и соавт. [21]. С этой целью к каждому больному МК в возрасте до 21 года («случаи») они подобрали по 2 «контроля» — по 2 взрослых пациента с МК той же толщины, что и у молодого больного. Все 73 «случая», а также все 146 «контролей» проходили лечение в одной медицинской клинике, причем «контроли» к каждому «случаю» получали лечение в тот же период времени, что и соответствующий «случай». Последнее было важным, поскольку больные МК, включенные в данное исследование, поступали в клинику на протяжении 30 лет, а тактика диагностики и лечения МК за этот период существенно

изменилась. Оказалось, что при одинаковой толщине опухоли МК у молодого больного достоверно чаще, чем МК у взрослого, метастазирует в лимфатические узлы — 17,8 и 9,6 % соответственно. Вместе с тем показатели опухолеспецифической 10-летней выживаемости «случаев» и «контролей» статистически не различались — 89,4 и 79,3 % соответственно. Авторы пришли к заключению, что у молодых и взрослых больных МК имеют как принципиальные различия, так и существенные черты сходства.

Поиск диагностических маркеров МК, а также подбор эффективных схем ее лекарственного лечения значительно осложняет тот факт, что меланома — крайне гетерогенная по клеточному составу опухоль, состоящая из субпопуляций клеток с разными молекулярными характеристиками и биологическими фенотипами. Так, M. Yankovitz и соавт. выявили гетерогенность клеток внутри одного первичного опухолевого узла МК в отношении наличия в них мутации *BRAF<sup>V600E</sup>* (присутствие такой мутации в клетках МК служит основанием для назначения больному определенного таргетного лечения), причем и мутантные клетки, и клетки дикого типа оказались в равной степени способны давать метастазы [27]. С учетом этого, как указывает ряд авторов, по отношению к МК даже в большей степени, чем по отношению к другим злокачественным новообразованиям, необходим комплексный подход как при диагностике, а именно при использовании нескольких маркеров, так и при назначении таргетной терапии для ее лечения — применение комплекса химиопрепаратов, нацеленных на разные субпопуляции меланомных клеток [27, 28].

К проблеме высокой гетерогенности клеточного состава МК примыкает вопрос о стволовых клетках данной опухоли. До недавнего времени было принято считать, что на долю этих клеток, способных к самообновлению, а также к инициации гетерогенных клеточных линий, в совокупности образующих опухоль, в составе того или иного злокачественного новообразования, включая МК, приходится не более 0,1 % и что именно эта минорная субпопуляция клеток ответственна за развитие резистентности новообразования к химиотерапевтическим препаратам [29]. Крайне неожиданными поэтому оказались результаты E. Quintana и соавт., показавшие, что приблизительно каждая 4-я опухолевая клетка, полученная непосредственно из первичного опухолевого узла или из метастаза от больного МК без какого-либо предварительного отбора, способна образовывать опухоль в эксперименте при прививке мышам с сильным иммунодефицитом, т.е. является опухолеобразующей и может рассматриваться как стволовая клетка МК. При исследовании 50 различных маркеров исследователи не выявили единого фенотипа у этих опухолеродных клеток, т.е. и сама субпопуляция



стволовых клеток МК оказалась гетерогенной [30]. В связи с этим авторы высказывают мнение, согласно которому статус стволовой клетки МК означает не столько обязательную дальнейшую судьбу этой клетки, сколько ее потенциальную способность дать новый опухолевый узел и реализация этой способности определяется дополнительными условиями и, в частности, микроокружением этой клетки.

В настоящее время продолжаются исследования стволовых клеток МК, отличий этих клеток от стволовых клеток нормальных меланоцитов, поиск специфических маркеров стволовых клеток МК, а также разработки, касающиеся использования характеристик стволовых клеток МК при лечении данной опухоли [31, 32].

В целом в литературе имеются указания как на сходство между МК у молодых пациентов и МК у взрослых больных, так и на существенные различия характеристик данной опухоли в разных возрастных группах. О сходстве сообщили D. Livestro и соавт. (2007), выявившие одинаковую выживаемость молодых и взрослых больных МК в случаях, если эти пациенты имели первичную опухоль равной толщины; и те же авторы, однако, выявили достоверно более высокую частоту метастазирования МК у детей и подростков в лимфатические узлы по сравнению с МК у взрослых больных [26]. Установлено, что общая 10-летняя выживаемость молодых больных МК достоверно колеблется в зависимости от их возраста [11, 13]. Неодинаковая метастатическая активность МК у пациентов разных возрастных групп и разная выживаемость больных МК, являясь интегральными характеристиками опухоли, по-видимому, отражают различия в молекулярном фенотипе меланомы у пациентов разных возрастных групп. Следовательно, маркеры МК взрослых больных могут оказаться недостаточно информативными или неинформативными по отношению к МК детей и подростков, и специальный поиск диагностических молекулярных маркеров для МК у лиц молодого возраста актуален.

Далее мы представим краткую биологическую характеристику возможного комплекса таких маркеров.

#### **Характеристика потенциального комплекса молекулярных маркеров для дифференциальной диагностики пигментного невуса и меланомы кожи**

Рассматривая генетическую природу МК, мы убедились, что количество генов, мутации которых в той или иной степени предрасполагают к развитию МК, весьма значительно [1]. Среди них имеются гены как с высокой, так и с низкой пенетрантностью.

#### **Ген *CDKN2A* и его белковый продукт**

Несмотря на этот факт, «главным геном» МК остается *CDKN2A*, локализованный в коротком пле-

че хромосомы 9 (9p21). Нарушения структуры данного гена обнаруживаются как в наследственной, так и в спорадической МК. По данным некоторых авторов, частота обнаружения составляет до 70 % [33]. Белковый продукт этого гена,  $p16^{INK4a}$ , является ингибитором циклинзависимых киназ CDK 4/6, осуществляющих фосфорилирование белка ретинобластомы pRb и регулирующих, таким образом, переход клетки из стадии  $G_1$  митотического цикла в стадию репликации ДНК. Необычность структуры этого гена заключается в том, что его 2-й экзон одновременно является одним из экзонов другого гена — *ARF*, белковый продукт которого,  $p14^{ARF}$  (у мыши —  $p19^{ARF}$ ), выполняет в клетке функцию стабилизации супрессора опухолевого роста p53 [34]. Вместе эти 2 белка являются стабилизаторами сразу 2 супрессоров опухолевого роста — и pRb, и p53. В результате описания структуры соответствующего хромосомного локуса, обозначаемого как *INK4a/ARF*, стало понятно, почему гомозиготные делеции этого локуса, обнаруживаемые в опухолях многих типов, включая МК, имеют фатальные последствия: в клетке в результате утраты обеих копий сразу 2 этих генов нарушаются все функции, подконтрольные и pRb, и p53, — пролиферация, апоптоз, репарация и др. На экспериментальной модели установлено, что оба белковых продукта, кодируемых этой областью хромосомы,  $p16^{INK4a}$  и  $p19^{ARF}$ , кооперируют между собой и что для возникновения МК нужна утрата функций обоих этих белков [35].

В опытах *in vivo* показано, что накопление  $p16^{INK4a}$ , имеющее место по мере старения организма в клетках различных тканей, в том числе в некоторых клетках нервной системы, снижает пролиферативные возможности, что происходит, по-видимому, за счет истощения пула стволовых клеток в них [36, 37]. Позднее была описана еще одна (pRb-независимая активность  $p16^{INK4a}$  как супрессора опухолевого роста) его способность нормализовать повышенные внутриклеточные концентрации активных форм кислорода, т.е. защищать клетку от канцерогенного внутриклеточного окислительного стресса. Оказалось, что из клеток разных типов именно меланоциты наиболее чувствительны к окислительному стрессу, подконтрольному  $p16^{INK4a}$  [38]. Таким образом, получено объяснение следующего факта: при выпадении функции  $p16^{INK4a}$  именно МК возникает чаще, чем опухоли иных типов.

В свете приведенных выше сведений о биологических функциях  $p16^{INK4a}$  можно оценить как ожидаемые результаты, полученные V. Gray-Schopfer и соавт. при иммуногистохимической (ИГХ) детекции данного белка в невусах и МК у взрослых больных. В то время как клетки обычных родинок содержали  $p16^{INK4a}$  в ядрах и цитоплазме, а в меланоцитах эпи-

теля, прилегающего к невусу, данный ингибитор пролиферации не выявлялся, во всех ДН экспрессия p16<sup>INK4a</sup> оказалась крайне неоднородной: здесь он обнаруживался преимущественно в цитоплазме, но отсутствовал в ядрах (тогда как свою функцию негативного регулятора пролиферации как элемент «пути pRb» он выполняет в ядре). В большинстве клеток МК на стадии радиального роста опухоли p16<sup>INK4a</sup> не выявлялся, и данная тенденция еще усиливалась в опухолях на стадии их вертикального роста [39].

В целом совокупность представленных выше данных позволяет рассматривать детекцию нарушений в локусе INK4a/ARF и ИГХ-исследование белка p16<sup>INK4a</sup> в меланоцитарных новообразованиях кожи у детей как перспективные подходы для дифференциальной диагностики невусов и МК.

#### Ген *CCND1* и его белковый продукт

Циклин D1 (CCND1), так же как и p16<sup>INK4a</sup>, является белком, функционирующим в так называемом регуляторном пути pRb, но в противоположность p16<sup>INK4a</sup> этот белок является не ингибитором, а активатором продвижения клетки из стадии G<sub>1</sub> в стадию S митотического цикла. Связываясь с циклинзависимыми киназами CDK4 или CDK6, он активирует эти киназы, которые приобретают способность фосфорилировать белок ретинобластомы (pRb). Фосфорилированный pRb перестает ингибировать транскрипционные факторы семейства E2F, в результате чего в клетке начинается репликативный синтез ДНК [40]. Будучи важным участником регуляции клеточного цикла, CCND1 может играть значительную роль в развитии злокачественных опухолей. Онкоген *CCND1* локализован в длинном плече хромосомы 11 (11q13); экспрессия белка CCND1 в норме регулируется извне клетки с помощью разнообразных ростовых факторов. Эта регуляция осуществляется через сигнальные каскады Ras–Raf–MEK–ERK и PI3K–Akt–mTOR; в ней принимают участие различные цитокины, транскрипционные факторы, белки внеклеточного матрикса. Нарушения, которые затрагивают любую из этих молекул, могут привести к расстройству контроля клеточного цикла.

Амплификация участка хромосомы 11, в котором находится ген *CCND1*, а также повышение клеточного уровня белка CCND1 были обнаружены во многих опухолях человека, включая МК [41–44]. По данным J. Oba и соавт., по содержанию в клетках белка CCND1 можно дифференцировать тонкую МК от пигментного невуса [43].

Таким образом, выявление амплификаций хромосомного участка 11q13, где находится ген *CCND1*, а также ИГХ-детекция циклина D1 представляют перспективными подходами для дифференци-

альной диагностики пигментных невусов и МК у детей.

#### Антигены главного комплекса гистосовместимости I класса

Молекулы антигенов главного комплекса гистосовместимости I, экспрессирующиеся на поверхности клеток различных типов, принимают участие как в неспецифических, так и в специфических иммунных реакциях. Нарушения функционирования этих антигенов играют важную роль в процессе «ускользания» опухоли от иммунологического надзора при прогрессии новообразования. Особенности экспрессии HLA (human leucocyte antigens) I класса в нормальных меланоцитах, клетках пигментных невусов, а также в МК изучаются на протяжении нескольких десятилетий. Известно, что на поверхности опухолевых клеток их экспрессия нередко коррелирует с особенностями клинического течения заболеваний, такими как безрецидивный период, а также выживаемость, а в случае ДН – со степенью выраженности клеточной атипии [45–47]. Относительно роли HLA I класса в ходе возникновения и развития МК остается ряд неясных и дискуссионных моментов; очевидно, что статус этих антигенов на поверхности клеток МК не является константным, а механизмы ослабления и/или усиления их экспрессии на поверхности опухолевой клетки чрезвычайно разнообразны [45]. Вместе с тем совокупность известных на сегодня фактов позволяет считать целесообразной ИГХ-детекцию этого белка на поверхности клеток пигментного новообразования при разработке комплекса молекулярных маркеров, предназначенного для совершенствования диагностики МК у детей и подростков.

#### Заключение

МК у детей и подростков представляет собою гетерогенную группу высокозлокачественных новообразований, которые по сравнению с МК у взрослых имеют как некоторые черты сходства, так и существенные отличия. Несмотря на значительный прогресс в диагностике и лечении МК у лиц молодого возраста, достигнутый в последнее время, дифференциальная диагностика пигментного невуса и МК по-прежнему вызывает у специалистов затруднения. Эти трудности, по-видимому, можно было бы минимизировать с помощью комплекса молекулярных маркеров. При разработке такого комплекса представляется допустимым использовать в качестве исходных, но нуждающихся в верификации, наработки, касающиеся маркеров МК у взрослых больных.

Известные на сегодня факты позволяют предлагать в качестве возможных подходов в составе такого

комплекса, предназначенного для дифференциальной диагностики доброкачественных пигментных новообразований и МК у детей, детекцию в меланокитарных новообразованиях кожи нарушений в локусе INK4a/ARF и ИГХ-исследование белка p16<sup>INK4a</sup>;

выявление амплификаций хромосомного участка 11q13 и ИГХ-детекцию циклина D1 (белка CCND1) в клеточных ядрах, а также ИГХ-выявление HLA I класса на поверхности клеток пигментных новообразований.

## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Мень Т.Х., Дорошенко М.Б., Алиев М.Д. Злокачественная меланома кожи у детей и подростков в России: популяционное эпидемиологическое исследование. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2011;(2):55–60.
2. Jen M., Murphy M., Grant-Kels J.M. Childhood melanoma. Clin Dermatol 2009;27(6):529–36. doi: 10.1016/j.clindermatol.2008.09.011. PMID:19880040.
3. Харкевич Г.Ю., Казубская Т.П., Агапова Р.К. и др. Клинико-генетические аспекты меланомы кожи. II. Взаимосвязь и патогенетическая общность меланомы кожи с диспластическими невусами. Генетика 1995;31(11):1562–5.
4. Гребенникова О.П., Прилепо В.Н. В кн.: Онкология для практикующих врачей (ред. С.С. Чистяков). М.: Авторская Академия, 2009. 548–563.
5. Miller A.J., Mihm M.C. Jr. Melanoma. N Engl J Med 2006;355(1):51–65. PMID:16822996.
6. Bastian B.C. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. Annu Rev Pathol 2014;9:239–71. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104658. PMID:24460190.
7. Brenn Th. Pitfalls in the evaluation of melanocytic lesions. Histopathology 2012;60(5):690–705. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04042.x. Epub 2011 Dec 16. PMID:22176022.
8. Поляков В.Г., Шишков Р.В. Клинические рекомендации по диагностике и лечению меланомы у детей и подростков. Проект. Общероссийский союз общественных объединений. Ассоциация онкологов России. М., 2014.
9. Hamm H., Hoyer P.H. Skin tumors in childhood. Dtsch Arztebl Int 2011;108(20):347–53. doi: 10.3238/arztebl.2011.0347. Epub 2011 May 20. PMID:21655460.
10. Kirkwood J.M., Jukic D., Averbook B.J., Sender L.S. Melanoma in pediatric, adolescent and young adult patients. Semin Oncol 2009;36(5):419–31. doi: 10.1053/j.seminoncol.2009.07.001. PMID:19835737.
11. Averbook B.J., Lee S.J., Delman K.L. et al. Pediatric melanoma: analysis of an international registry. Cancer 2013;119(22):4012–9. doi: 10.1002/cncr.28289. Epub 2013 Sep 10. PMID:24022819.
12. Мень Т.Х., Рыков М.Ю., Поляков В.Г. Злокачественные новообразования у детей в России: основные показатели и тенденции. Российский онкологический журнал 2015;20(2):43–7.
13. Paradelo S., Fonseca E., Pita-Fernandez S. et al. Prognostic factors for melanoma in children and adolescents. Cancer 2010;116(18):4334–44. doi: 10.1002/cncr.25222. PMID:20549825.
14. Дурнов Л.А., Паршикова С.М., Чернова Н.В. Меланома кожи у детей. Педиатрия 1983;10:58–61.
15. Чернова Н.В., Дурнов Л.А., Лебедев В.И. и др. Меланома кожи у детей. Педиатрия 1999;(3):65–7.
16. Малишевская Н.П., Соколова А.В. Современные методы неинвазивной диагностики меланомы кожи. Вестник дерматологии и венерологии 2014;(4):46–53.
17. Wechsler J., Bastuji-Garin S., Spatz A. et al. Reliability of histopathologic diagnosis of malignant melanoma in children. Arch Dermatol 2002;138(5):625–8. PMID:12020223.
18. Cesinaro A.M., Schirosi L., Bettelli S. et al. Alterations of 9p21 analysed by FISH and MLPA distinguish atypical melanocytic tumours from conventional Spitz's nevi but do not predict their biological behavior. Histopathology 2010;57(4):515–27. doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03653.x. Epub 2010 Sep 22. PMID:20860655.
19. Dummer R., Kerl K., Mihic D., Kamarachev J. Differential diagnosis of melanocytic lesions and molecular biology. Arch Dermatol 2011;147(2):232–3. doi: 10.1001/archdermatol.2010.438. PMID:21339451.
20. Mones J.M., Ackerman A.B. Melanoma in prurubescens children: review comprehensively, critique historically, criteria diagnostically, and course biologically. Am J Dermatopathol 2003;25(3):223–38. PMID:12775985.
21. Ferrari A., Bono A., Baldi M. et al. Does melanoma behave differently in younger children than in adults? A retrospective study of 33 cases of childhood melanoma from a single institution. Pediatrics 2005;115(3):649–54. PMID:15741367.
22. Lu C., Zhang J., Nagahawatte P. et al. The genomic landscape of childhood and adolescent melanoma. J Invest Dermatol 2015;135(3):816–23. doi: 10.1038/jid.2014.425. Epub 2014 Sep 30. PMID:25268584.
23. Волгарева Г.М., Байкова В.Н., Лебедева А.В., Алиев М.Д. Изучение молекулярных особенностей пигментных новообразований кожи как задача детской онкологии. Обзор литературы. Детская онкология 2012;(4):3–13.
24. Gould Rothberg B.E., Rimm D.L. Biomarkers: the useful and the not so useful — an assessment of molecular prognostic markers for cutaneous melanoma. J Invest Dermatol 2010;130(8):1971–87. doi: 10.1038/jid.2010.149. Epub 2010 Jun 17. PMID:2055347.
25. Bleyer A., Barr R., Hayes-Lattin B. et al. The distinctive biology of cancer in adolescents and young adults. Nat Rev Cancer 2008;8(4):288–98. doi: 10.1038/nrc2349. PMID:18354417.
26. Livestro D.P., Kaine E.M., Michaelson J.S. et al. Melanoma in the young: differences and similarities with adult melanoma. A case-matched controlled analysis. Cancer 2007;110(3):614–24. PMID:17577228.
27. Yancovitz M., Litterman A., Yoon J. et al. Intra- and inter-tumor heterogeneity of BRAF(V600E) mutations in primary and metastatic melanoma. PLoS One 2012;7(1):e29336. doi: 10.1371/journal.pone.0029336. Epub 2012 Jan 3. PMID:22235286.
28. Somasundaram R., Villanueva J., Herlyn M. Intratumoral heterogeneity as a therapy resistance mechanism: role of melanoma subpopulations. Adv Pharmacol 2012;65:335–59. doi: 10.1016/B978-0-12-397927-8.00011-7. PMID:22959031.
29. Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B. et al. Cancer stem cells — perspectives on current status and future directions: AACR workshop on cancer stem cells. Cancer Res 2006;66(19):9339–44. Epub 2006 Sep 21. PMID:16990346.
30. Quintana E., Shackleton M., Sabel M.S. et al. Efficient tumor formation by single human melanoma cells. Nature 2008;456(7222):593–8. doi: 10.1038/nature07567. PMID:19052619.

31. Lang D., Mascarenhas J.B., Shea C.R. Melanocytes, melanocyte stem cells and melanoma stem cells. *Clin Dermatol* 2013;31(2):166–78. doi: 10.1016/j.clindermatol.2012.08.014. PMID:23438380.
32. Schlaak M., Schmidt P., Bangard C. et al. Regression of metastatic melanoma by targeting cancer stem cells. *Oncotarget* 2012;3(1):22–30. PMID:22289880.
33. Kong Y., Kumar S.M., Xu X. Molecular pathogenesis of sporadic melanoma and melanoma-initiating cells. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(12):1740–9. doi: 10.1043/2009-0418-RAR.1. PMID:21128770.
34. Sharpless N.E., DePinho R.A. The INK4A/ARF locus and its two gene products. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9(1):22–30. PMID:10072356.
35. Sharpless N.E., Kannan K., Xu J. et al. Both products of the mouse Ink4a/Arf locus suppress melanoma formation in vivo. *Oncogene* 2003;22(32):5055–9. PMID:12902988.
36. Krishnamurthy J., Ramsey M.R., Ligon K.L. et al. p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature* 2006;443(7110):453–7. Epub 2006 Sep 6. PMID:16957737.
37. Molofsky A.V., Slutsky S.G., Joseph N.M. et al. Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature* 2006;443(7110):448–52. Epub 2006 Sep 6. PMID:16957738.
38. Jenkins N.J., Liu T., Cassidy P. et al. The p16INK4a tumor suppressor regulates cellular oxidative stress. *Oncogene* 2011;30(3):265–74. doi: 10.1038/onc.2010.419. Epub 2010 Sep 13. PMID:20838381.
39. Gray-Schopfer V.C., Cheong S.C., Chong H. et al. Cellular senescence in naevi and immortalization in melanoma: a role for p16? *Br J Cancer* 2006;95(4):496–505. Epub 2006 Aug 1. PMID:16880792.
40. Lamb J., Ramaswamy S., Ford H.L. et al. A mechanism of cyclin D1 action encoded in the pattern of gene expression in human cancer. *Cell* 2003;114(3):323–34. PMID:12914697.
41. Bastian B.C., LeBoit P.E., Hamm H. et al. Chromosomal gains and losses in primary cutaneous melanomas detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Res* 1998;58(10):2170–5. PMID:9605762.
42. Gerami P., Jewell S.S., Pouryazdanparast P. et al. Copy number gains in 11q13 and 8q24 are highly linked to prognosis in cutaneous malignant melanoma. *J Mol Diagn* 2011;13(3):352–8. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.01.011. PMID:21497295.
43. Oba J., Nakahara T., Abe T. et al. Expression of c-Kit, p-ERK and cyclin D1 in malignant melanoma: an immunohistochemical study and analysis of prognostic value. *J Dermatol Sci* 2011;62(2):116–23. doi: 10.1016/j.jdermsci.2011.02.011. Epub 2011 Mar 5. PMID:21454057.
44. Vizkeleti L., Ecsedi S., Rakosy Z. et al. The role of CCND1 alterations during the progression of cutaneous malignant melanoma. *Tumour Biol* 2012;33(6):2189–99. doi: 10.1007/s13277-012-0480-6. Epub 2012 Sep 23. PMID:23001925.
45. Campoli M., Ferrone S. HLA antigen and NK cell activating ligand expression in malignant cells: a story of loss or acquisition. *Semin Immunopathol* 2011;33(4):321–34. doi: 10.1007/s00281-011-0270-z. Epub 2011 Apr 28. PMID:21523560.
46. Carretero R., Wang E., Rodriguez A.I. et al. Regression of melanoma metastases after immunotherapy is associated with activation of antigen presentation and interferon-mediated rejection genes. *Int J Cancer* 2012;131(2):387–95. doi: 10.1002/ijc.26471. Epub 2011 Nov 9. PMID:21964766.
47. Ruiter D.J., Bhan A.K., Harrist T.J. et al. Major histocompatibility antigens and mononuclear inflammatory infiltrate in benign nevocytic proliferations and malignant melanoma. *J Immunol* 1982;129(6):2808–15. PMID:6183345.