

УДК 616-006.03, 616-006.6

МУЛЬТИПЛЕКСНАЯ xMAP-ТЕХНОЛОГИЯ ДЕТЕКЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ МЕЛАНОЦИТОМ

Е. И. Антонова*, **Н. В. Фирсова**, **А. Б. Ачилов**, **А. Р. Зимнуров**,
И. А. Лукьянов, **Е. В. Балацюк**, **Н. А. Ленгесова**, **П. С. Торутанов**

Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И. Н. Ульянова» (пл. Ленина, 4/5, Ульяновск, Россия, 432071), *antonov_67@mail.ru

В рамках разработки отечественной диагностической тест-системы с использованием технологии xMAP-ASPE-xTAG с целью ранней диагностики и выявления предрасположенности к развитию меланомы по разработанному авторами протоколу детекции мутаций анализируемых генов в образцах узловой меланомы (NM) и диспластического невуса с пигментным компонентом (DMN) отработаны этапы определения в одном анализе нескольких мутаций, сопряженных с онкогенезом меланомы – *BRAF* (rs113488022; p.V600E; c.1799T>A), *MITF-M* (rs149617956; p.E318K; c.952G>A), *CDKN2A* (rs121913386, p.P114L, c.341C>T; rs121913387, p.R58*, c.172C>T; rs121913388, p.R80*, c.238C>T; rs121913389, p.W110*, c.330G>A; rs1057519852, p.W110*, c.329G>A). У трех пациентов из четырех с локализацией DMN в области тела non-CSD выявлено наличие мутантного варианта гена *BRAF*. У одного пациента из этой группы определены мутации в трех генах – *BRAF*, *MITF-M*, *CDKN2A*. У одной пациентки не выявлено наличия мутантных вариантов анализируемых генов, в сочетании с гистологическими характеристиками данное образование можно отнести к банальному меланоморфному невусу (доброкачественная меланоцитома). По результатам генетического скрининга выявлены два вида меланом относительно драйверной мутации гена *BRAF*: 1-я группа – меланомы *BRAF*-негативные (wt*BRAF*); 2-я группа – меланомы *BRAF*-позитивные (mt*BRAF*). У всех трех пациентов с узловой меланомой с пигментным компонентом (NM) wt*BRAF* образования локализованы в соответствии с кумулятивным солнечным повреждением lowCSD, выявлена мутация гена *CDKN2A* и дополнительно у двух пациентов – мутация гена *MITF-M*. В группе mt*BRAF* меланом (пять пациентов) выявлены меланомы как mt*BRAF* NM с пигментным компонентом, так и mt*BRAF* амеланотического варианта NM (ANM). В частности, mt*BRAF* NM обнаружена у трех пациентов, и у одного из этой группы дополнительно выявлена мутация *MITF-M*. Также к данной группе отнесли двух пациентов mt*BRAF* ANM, при этом у пациента женского пола дополнительно выявлена мутация *CDKN2A*. Все образования данной группы с локализацией в соответствии с кумулятивным солнечным повреждением как lowCSD, так и highCSD. Оптимизация условий проведения исследований позволила достичь приемлемой чувствительности и надежной производительности детекции анализируемых мутаций генов.

Ключевые слова: xMAP-технология; микросферы; мультиплексная диагностика генетических мутаций; узловая меланома с пигментным компонентом; узловая меланома беспигментная (амеланотическая); ген *BRAF*; ген *MITF-M*; ген *CDKN2A*; ранняя диагностика меланомы; диспластический невус; гистологические исследования меланомы и невусов

Для цитирования: Антонова Е. И., Фирсова Н. В., Ачиллов А. Б., Зимнуров А. Р., Лукьянов И. А., Балацук Е. В., Ленгесова Н. А., Торутанов П. С. Мультиплексная xMAP-технология детекции генетических мутаций меланоцитом // Труды Карельского научного центра РАН. 2025. doi: 10.17076/eb2257

Финансирование. Работа выполнена в рамках Дополнительного соглашения № 073-03-2025-066/8 от 26.09.2025 г. к Соглашению о предоставлении субсидии из федерального бюджета на финансовое обеспечение выполнения государственного задания на оказание государственных услуг (выполнение работ) № 073-03-2025-066 от 16.01.2025 г., заключенному между ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И. Н. Ульянова» и Министерством просвещения Российской Федерации.

E. I. Antonova*, N. V. Firsova, A. B. Achilov, A. R. Zimnurov, I. A. Lukyanov, E. V. Balacuk, N. A. Langesova, P. S. Torutanov. MULTIPLEX xMAP TECHNOLOGY FOR DETECTING GENETIC MUTATIONS IN MELANOCYTOMAS

*Research Center for Fundamental and Applied Problems of Bioecology and Biotechnology, Ulyanovsk State Pedagogical University named after I. N. Ulyanov (4/5 Lenina Sq., 432071 Ulyanovsk, Russia), *antonov_67@mail.ru*

As part of the effort to develop a domestic diagnostic test system for early diagnosis and detection of predisposition to melanoma using xMAP-ASPE-xTag technology and following the original protocol for detecting mutations of the analyzed genes in nodular melanoma (NM) and dysplastic melanocytic nevus (DMN) samples, we worked out the stages of testing one analyte for several gene points mutations in which are associated with melanoma oncogenesis – *BRAF* (rs113488022; p.V600E; c.1799T>A), *MITF-M* (rs149617956; p.E318K; c.952G>A), *CDKN2A* (rs121913386, p.P114L, c.341C>T; rs121913387, p.R58*, c.172C>T; rs121913388, p.R80*, c.238C>T; rs121913389, p.W110*, c.330G>A; rs1057519852, p.W110*, c.329G>A). Three out of four patients with DMN localized in the non-CSD body area were found to have a mutant *BRAF* gene variant. One of these patients had mutations in three genes – *BRAF*, *MITF-M*, *CDKN2A*. One patient had no mutant variants of the analyzed genes, so, with support from histological characteristics, the lesion can be classified as an ordinary melanocytic nevus (benign melanocytoma). Genetic screening revealed two melanoma groups based on the driver mutation of the *BRAF* gene: Group 1 includes wild-type *BRAF*-negative (wt*BRAF*) melanomas, while Group 2 includes *BRAF*-positive (mt*BRAF*) melanomas. The lesions in all three patients with a wt*BRAF* pigmented NM were localized in agreement with cumulative sun damage, lowCSD. All the patients had a *CDKN2A* gene mutation, and two patients also had an *MITF-M* gene mutation. In the mt*BRAF* melanoma group (five patients), both mt*BRAF* pigmented NM and mt*BRAF* amelanotic nodular melanoma (ANM) were detected. In particular, mt*BRAF* NM was found in three patients, one of them additionally featuring an *MITF-M* mutation. This group included also two patients with mt*BRAF* ANM, one of them (a female) additionally found to have a *CDKN2A* mutation. All lesions in this group were localized, matching the cumulative sun damage, including both lowCSD and highCSD. Optimization of research settings has yielded an acceptable level of sensitivity and a reliable throughput in the detection of the gene mutations in question.

Keywords: xMAP-technology; microspheres; multiplexed detection of genetic mutations; pigmented nodular melanoma; non-pigmented (amelanotic) nodular melanoma; *BRAF* gene; *MITF-M* gene; *CDKN2A* gene; early diagnosis of melanoma; dysplastic nevus; histological studies of melanoma and nevi

For citation: Antonova E. I., Firsova N. V., Achilov A. B., Zimnurov A. R., Lukyanov I. A., Balacuk E. V., Langesova N. A., Torutanov P. S. Multiplex xMAP technology for detecting genetic mutations in melanocytomas. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Transactions of the Karelian Research Centre RAS*. 2025. doi: 10.17076/eb2257

Funding. The work was carried out under Addendum #073-03-2025-066/8 dated 26.09.2025 to the Agreement on federal subsidy allocation for funding the implementation of state assignment #073-03-2025-066 dated 16.01.2025, concluded between the Ulyanovsk State Pedagogical University and the Ministry of Education of the Russian Federation.

Введение

Меланома кожи нейроэктодермального происхождения – самое агрессивное мультифакторное онкозаболевание с высокой мутационной нагрузкой и ранним метастазированием. Заболеваемость меланомой растет во всем мире, 10-летняя выживаемость составляет менее 10 %. По данным GLOBOCAN 2020, меланома является причиной более 324 000 новых случаев и 57 000 смертей во всем мире каждый год [Manganelli et al., 2025]. Меланома развивается как из трансформированных меланоцитов кожи *de novo*, так и невус-ассоциированным путем [Spaccarelli et al., 2023], составляет 3–5 % всех случаев рака кожи, но является причиной ~ 75 % случаев смертности [Mirek et al., 2024; Druskovich et al., 2025; Guźniczak et al., 2025]. Меланома характеризуется самой высокой гетерогенностью и наибольшим количеством соматических мутаций: ~ 14–17 мутаций/Мб в кодирующей ДНК и 72 мутации/Мб во всем геноме. Меланома излечима на ранней стадии. Существует два метода лечения: молекулярная таргетная терапия (ингибиторы киназ BRAF и MEK; BRAFi/MEKi) и иммунотерапия с использованием ингибиторов иммунных контрольных точек (антитела к PD-1, -CTLA-4 и -LAG-3). Внедрение этих терапевтических стратегий лечения увеличило время выживаемости на поздней стадии заболевания с 7 до 25–72 месяцев [Mirek et al., 2024].

Узловая меланома (NM) занимает второе место (13,7 %) по распространенности после поверхностно-распространяющейся меланомы (SSM) (66,4 %) [Gronbeck, Kerr, 2025]. Смертность выше у пациентов мужского пола. Заболевание развивается, в отличие от SSM, за несколько недель или месяцев с различной локализацией у пациентов мужского и женского пола. При этом отмечаются клинические проявления других типов злокачественных и доброкачественных образований кожи. К факторам риска развития NM, как и для меланом в целом, относят UV-воздействие, светлый тип кожи и наличие веснушек, солнечные ожоги в анамнезе, географию проживания и рельеф местности, наличие более 100 родинок, семейный и личный анамнез, наличие диспластических невусов, ослабленную иммунную систему, возраст (средний возраст 59 лет). UV-излучение инициирует развитие меланомы, напрямую повреждая ДНК, способствует меланомогенезу через окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию [Paller et al., 2024].

Меланома возникает из-за сложного взаимодействия между наследственными (зародышевыми/герминальными) мутациями и приобретенными (соматическими/спорадическими), которые играют ключевую роль в предрасположенности к развитию меланомы. Основными наследственными факторами, способствующими развитию меланомы, являются мутации генов *BRAF*, *MITF*, *CDKN2A*, *MC1R* [Sukniam et al., 2024; Zhang et al., 2024]. При этом наследственные формы меланомы составляют 5–12 %. UV-излучение является причиной большинства случаев спорадической меланомы, при этом отмечается ключевая роль мутации *BRAF*^{V600} в метаболическом перепрограммировании клеток меланомы при ее прогрессировании [Drexler et al., 2023; Manganelli et al., 2025].

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в 2018 году классифицировала девять путей развития меланомы в соответствии с кумулятивным солнечным повреждением (CSD) и связанными с ним генетическими мутациями [Huang et al., 2024; Gronbeck, Kerr, 2025] – меланома LCSD, или low/SSM, и меланоцитомы, инактивированные по *BAP1*; меланома HCSD, или high/LMM; меланома HCSD, или high/DM; меланома Шпица low-CSD; меланома non-CSD/AM; меланома non-CSD слизистой оболочки; меланома во врожденном невусе non-CSD/CSD intermittent exposure UV MCN; меланома в голубом невусе (MBN); увеальная меланома non-CSD/CSD intermittent exposure UV; узловая меланома (low-CSD/high-CSD/CSD intermittent exposure UV/NM). Анализ аллельных вариантов генов, вовлеченных в развитие меланомы, позволяет отразить основные этиопатогенетические различия. Так, меланомы, развившиеся в области тела с high-CSD, характеризуются более высокой мутационной нагрузкой, в которой преобладают мутации, связанные с воздействием UV-излучения (переходы C→T), частыми мутациями в генах *NRAS*, *NF1*, а также инактивацией генов-супрессоров опухоли, таких как *CDKN2A* и *TP53*. Меланомы, развившиеся в области тела с low-CSD, характеризуются меньшей мутационной нагрузкой, преобладанием мутаций *BRAF*^{V600E} [Singh et al., 2024].

Гистологическая ассоциация NM с банальными невусами менее вероятна, поскольку NM чаще возникают *de novo*, характеризуется более высокой митотической активностью по сравнению с SSM; это доказывает, что NM является самым смертельным подтипом меланомы (~ 40 % смертей) с ранним метастазированием.

Амеланотический вариант NM (ANM) встречается реже и составляет 2–20 % от всех меланом кожи, развивается в необычных местах (например, стопа), имитирует другие как доброкачественные, так и злокачественные формы опухолей. В связи с этим наблюдается непропорционально высокая смертность, связанная с более поздней выявляемостью, что объясняет 89 % ошибок при постановке диагноза. Клетки ANM сохраняют меланоцитарную линию и способность к образованию меланина благодаря экспрессии тирозиназы и фактора транскрипции, ассоциированного с микрофталмией (*MITF*) [Снарская и др., 2022].

По классификации опухолей ВОЗ меланоцитарные образования кожи объединены под общим термином «меланоцитомы» («меланоцитарная неоплазия»), с определением, что на молекулярном уровне доброкачественные меланоцитомы занимают промежуточное положение в последовательности развития от невуса к меланоме (невус-ассоциированный путь развития) [Spaccarelli et al., 2023]. Так, в частности, DMN представляют собой гетерогенную группу новообразований с неопределенным риском развития меланомы, характеризуются генетической гетерогенностью и вариабельностью гистологических критериев, что затрудняет постановку первичного диагноза. Истинная природа DN остается предметом споров, тем не менее в настоящее время DN считаются отдельной гистологической группой образований с биологическими и морфологическими признаками как вновь возникшего банального невуса, так и меланомы. Согласно эпидемиологическим исследованиям, наличие DN увеличивает риск развития меланомы в 10 раз [Prkacin et al., 2024], обнаруживается у 30 % пациентов с меланомой. Формирование меланоцитарных невусов – многофакторный и гетерогенный биологический процесс, а молекулярные механизмы, опосредующие процесс образования меланоцитарных неоплазий, многообразны. Развитие инициируется после образования мутаций в генах, контролирующих активность сигнальных путей PI3k/Akt и Wnt/ β -катенин [Prkacin et al., 2024]. Основную роль в патогенезе меланомы играет активация сигнального пути MAPK (mitogen-activated-proteinkinase – митоген-активируемая протеинкиназа), которая в клетках меланомы гиперактивируется в 90 % случаев меланомы кожи. Сигнальные пути тирозинкиназы, такие как BRAF и KIT, являются частью сигнальных путей, которые контролируют рост и деление клеток [Jiang et al., 2025]. Сигнальный путь RAS-RAF-MAPK/ERK, управляемый BRAF,

играет ключевую роль в запуске как доброкачественного невогенеза, так и злокачественного меланомогенеза. *BRAF*^{V600E} – общепризнанная драйверная мутация в 40–60 % случаев меланомы в клетках, содержащих этот вариант мутации гена *BRAF* [Frischhut et al., 2022]. При NM, напротив, мутация *BRAF*^{V600E} отмечается только в 36–47 % случаев, чаще встречаются мутации гена *NRAS* (27 %) и изменения в регуляции PD-L1 [Druskovich et al., 2025], но точный патогенез ее агрессивного поведения до сих пор неизвестен. Для целей диагностики меланомы и составления прогноза заболевания наиболее важным представляется подтверждение наличия/исключения мутации гена *BRAF*^{V600E}. Несмотря на то что мутация данного типа является драйверной, для инициации онкогенеза она недостаточна, в то время как последующие мутации генов, таких как в *TERT*, *CDKN2A* и *TP53*, способствуют прогрессированию опухоли на более поздней стадии онкогенеза [Colombino et al., 2024]. Возникновение мутации *BRAF*^{V600E} тесно связано с периодическим воздействием UV-излучения (CSD intermittent exposure UV) и чаще встречается у молодых пациентов, в основном с локализацией в области туловища. Такие меланомы более агрессивны, с более высокой предрасположенностью к метастазированию и коррелируют с худшим прогнозом.

Одним из факторов высокого риска развития меланомы является герминальная (зародышевая) инактивация генов. Первым геном с доказанным влиянием на возникновение наследственной меланомы является ген *CDKN2A* (кодирующий ингибитор циклинзависимой киназы 2A) [Антонова и др., 2024]. 20 % случаев семейной формы меланомы связано с носительством мутантных аллелей этого гена. Примерно в 25–50 % случаев семейный атипичный синдром множественных родинок меланомы (FAMMM, также называемый синдромом ВК-родинок) вызван мутациями в гене *CDKN2A*. Семьи, в генотипе которых отмечаются мутантные варианты гена, предрасположены к образованию невусов, что указывает на ослабление контроля пролиферации меланоцитов, вызванное потерей *INK4A/ARF*.

MITF (фактор транскрипции, ассоциированный с микрофталмией), является регулятором развития меланоцитов, их дифференцировки, реакции на UV-облучение, выживания меланоцитов. При этом *MITF* ингибирует инвазию меланоцитов, воспалительные процессы, эпителиально-мезенхимальный переход. *MITF* считается главным участником поддержания гомеостаза меланоцитов. Известно

10 изоформ MITF: MITF-A, B, C, D, E, H, J, MC, CM и M. Ген *MITF* состоит из общих экзонов 2–9, каждый из которых имеет уникальный промотор, управляющий тканеспецифической экспрессией. *MITF-M* – наиболее короткая изоформа, является специфическим маркером для клеток меланоцитарной линии, способствует выживанию меланобластов. С наибольшим риском развития кожной злокачественной меланомы типа 8 (CMM8), а также с увеличенным количеством DN связана мутация зародышевой линии rs149617956 (p.E318K) в кодоне 318 с.952G>A (p. Glu318Lys), что повышает риск развития меланомы как в спорадических случаях, так и в случае семейного анамнеза [Wallingford et al., 2024].

Гистопатологическое исследование представляет собой золотой стандарт диагностики меланоцитарных поражений кожи, но и оно далеко от совершенства и патологи могут не соглашаться друг с другом относительно диагноза. При этом частота ошибочной диагностики составляет ~ 25 %, что задерживает начало лечения. В целях предупреждения развития меланомы следует проводить анализ генетического профиля больного с указанием на семейный анамнез меланомы, это поможет выявить предикторные факторы развития патологии [Снарская и др., 2022]. Интеграция высокочувствительных молекулярных технологий выявления мутаций с гистопатологическими критериями становится незаменимой, особенно в случаях, когда гистологические исследования не позволяют поставить окончательный диагноз. Так, в частности, мультиплексные методы детекции мутаций генов с использованием технологии *xMAP* являются инструментами диагностики, которые позволяют получить результат в короткие сроки, одновременно анализируют наличие нескольких мутаций в одном анализе. Оптимальным подходом является использование метода «расширения аллель-специфичного праймера» (ASPE, allele-specific primer extension) и использования зондов для детекции, которые содержат полиморфный сайт на 3'-конце, определяющий конкретный вариант аллеля, путем включения ДНК-полимеразой dNTP (один нуклеотид помечен, например, биотином-dCTP). Сигнал флуоресценции генерируется флуорофором, связанным с мечеными dNTPs, встроенным в удлиненный зонд. *xTAG*-подход технологии *xMAP* с последовательностями антиметок (*antiTAG*) предполагает использование полистироловых микросфер, меченых флуоресцентными красителями (фикоэритрин). Быстрое одномоментное определение мутаций, которые определяют переход

DN в меланому, крайне актуально, так как молекулярно-генетический скрининг может предоставить важную информацию о развитии опухоли и способствовать дифференциальной диагностике [Frischhut et al., 2022].

В связи с этим целью нашего исследования является отработка мультиплексного отечественного протокола *xMAP-ASPE-xTAG* с одномоментным (в одном анализе) определением мутаций генов (*BRAF*, *MITF*, *CDKN2A*) на примере узлового подтипа меланомы и ее вариантов – пигментной и амеланотической, диспластического невуса с пигментным компонентом для оценки вероятности его трансформации в меланому, а также для ранней диагностики наиболее агрессивного подтипа меланомы, развитие которого занимает от нескольких недель до нескольких месяцев.

Материалы и методы

Для отработки мультиплексного протокола детекции мутации по технологии *xMAP-ASPE-xTAG* использовали парафиновые блоки: NM восемь человек (три пациента мужского и пять пациентов женского пола). У шести пациентов подтвержденный диагноз NM с пигментным компонентом и у двоих – диагноз ANM. Возраст пациентов – от 51 года до 70 лет; четыре человека (один мужчина и три женщины) – с гистологическим заключением DMN.

Детекцию мутации генов по технологии *xMAP-ASPE-xTAG* проводили согласно разработанному нами протоколу [Антонова и др., 2024]. Отличительным моментом является этап гибридизации и генотипирования. На этапе гибридизации был получен комплекс продуктов гибридизации ASPE/*xTAG*-микросферы/стрептавидин-R-фикоэритрин для каждого спектрального адреса кодировки используемых микросфер. Продукт реакции включал в себя этапы ASPE-удлинения аллель-специфичного праймера, с последующей гибридизацией продуктов мультиплексной ПЦР-амплификации праймеров с *TAG*-последовательностями к *antiTAG*-последовательностям микросфер, меченных стрептавидин-фикоэритрином. Реакцию проводили в одной лунке планшета, это позволило установить наличие искомым мутаций анализируемых генов в мультиплексном режиме (рис. 1).

Генотипирование проводили на мультиплексном анализаторе FLEXMAP 3D® (Luminex, США). Для детекции мутаций генов использовали микросферы MagPlex-TAG group-A, регионы кодирования 018, 026, 030 и 067 (MTAG-A018, A026, A030 и A067) (Luminex, США).

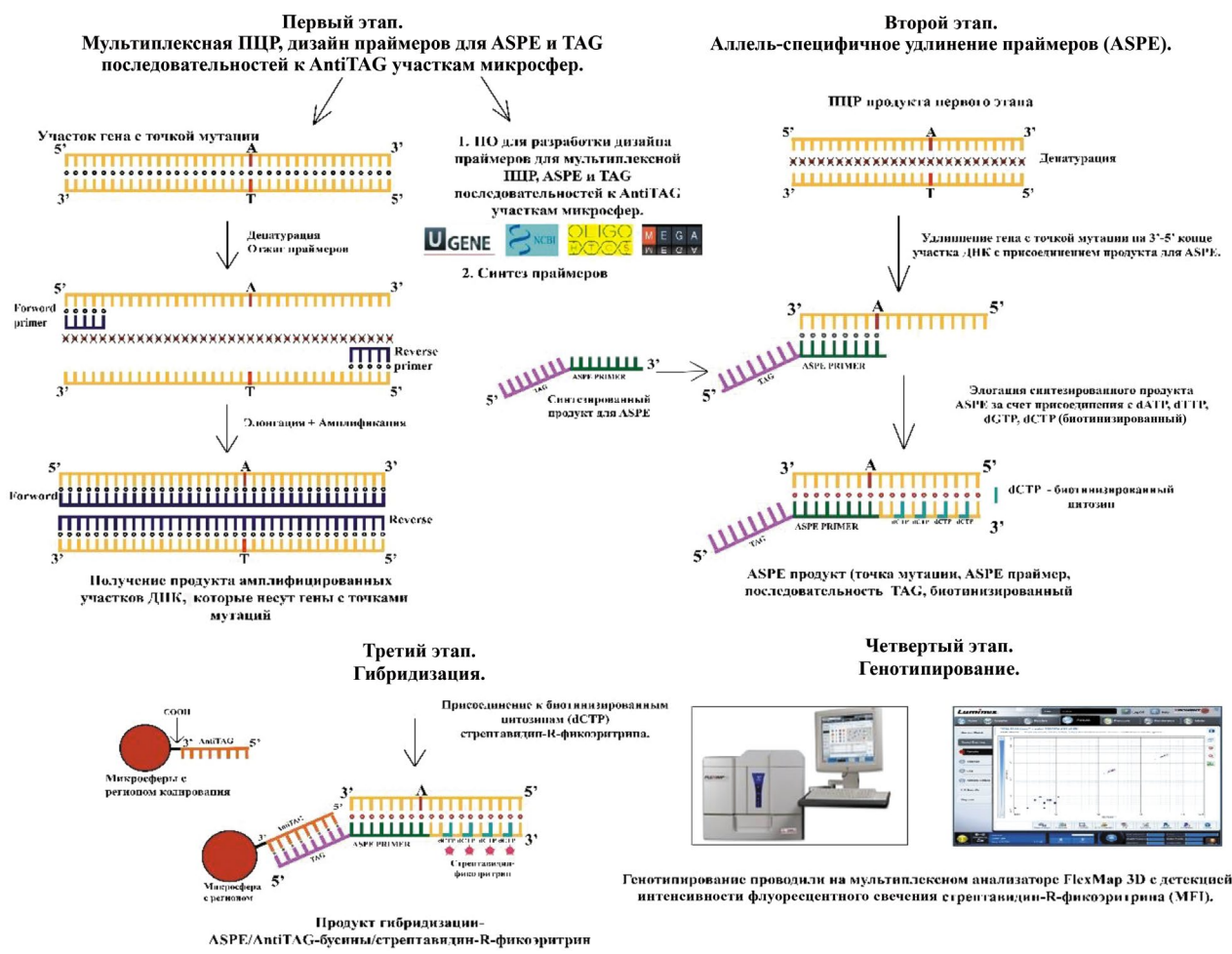


Рис. 1. Схема этапов протокола xMAP-ASPE-xTAG (разработана авторами статьи)
 Fig. 1. Diagram of the stages of the developed xMAP-ASPE-xTAG protocol (the protocol scheme was developed by the authors of the article)

Исследования проводили согласно рекомендациям Luminex xMAP (<https://info.diasorin.com/en-us/research/download-the-xmap-cookbook>).

Определение порогового значения анализа xMAP. Каждая анализируемая проба характеризовалась значениями интенсивности медианного флуоресцентного сигнала (MFI), представляющего собой среднее значение интенсивности флуоресценции 1250 микрофер на 1 мкл аналита. Значение общего MFI и отрицательного контроля (Background) было определено автоматически в программе xPONENT как среднее значение трех стандартных отклонений.

Индекс чистой медианной флуоресценции (Net MFI) рассчитывался путем вычета фонового MFI (Background) из общего MFI. Если значение NetMFI Mut превышает NetMFI WT, образец считается положительным, в противном случае – отрицательным. Величина

Background по аналитам составляла: Analyte 18 – 150, Analyte 26 – 272,5, Analyte 30 – 220, Analyte 67 – 198.

Оценка чувствительности и специфичности анализа. Сенсибилизацию микрофер выполняли в соответствии с протоколом, приведенным в официальном издании компании Luminex «The xMAP Cookbook, 3rd ed.». Аналитическая чувствительность, или предел обнаружения (limit of detection, LOD), выражалась в числе копий. Число копий рассчитывалось с использованием количественной концентрации ДНК по следующей формуле:

$$ЧК = \frac{A * N_0}{\text{Длина} * 10^9 * 650}$$

где A – концентрация ДНК (в нг/мкл), N₀ – число Авогадро, длина – размер ампликона. Для представления данных использовалось программное обеспечение Prism 8.0.1 (Graphpad, USA).

Определение оптимальных концентраций реагентов и параметров протокола.

В пределах исследовательской выборки протестировали различные концентрации целевой/мутантной анализируемой ДНК нг/мкл на 1250 микросфер. Различные концентрации реагентов и время инкубации были оценены для оптимизации и стандартизации условий анализа, которые позволили достичь приемлемой чувствительности и надежной производительности детекции анализируемых мутаций генов. Валидацию результатов анализа проводили путем сравнения полученных результатов с ПЦР в режиме реального времени.

Специфичность: все проанализированные образцы в этом исследовании не были идентифицированы как положительные одним методом и отрицательные другим, следовательно, ложноположительные и ложноотрицательные показатели составили 0 %.

Результаты

По результатам обработки мультиплексного протокола xMAP-ASPE-xTAG определения мутаций и полиморфных вариантов анализируемых генов с учетом общей площади образца и площади самого образования проведена оптимизация концентраций реагентов и параметров протокола. Выявлено: при NM ЧК целевой анализируемой ДНК всех трех генов находится в прямой зависимости от показателей концентрации ДНК; показатель ЧК генов, который учитывает длину продукта и концентрацию ДНК генов, проявляет схожую корреляцию и находится в диапазоне от 2,34 до 17,4 (*BRAF*), от 1,94 до 14,5 (*MITF-M*) и от 2,18 до 16,3 (*CDKN2A*) нг/мкл/1250 микросфер. Для образцов DMN протестировали различные концентрации целевой анализируемой ДНК (генов) образований – 12,99; 17,9; 7,45; 6,69 нг/мкл/1250 микросфер. Выявлено, что ЧК целевой анализируемой ДНК всех трех генов, так же как и в случае NM, находится в прямой зависимости от общей концентрации ДНК образца. Показатель ЧК генов имеет схожую корреляцию и лежит в диапазоне от 1,65 до 4,41 (*BRAF*), от 1,37 до 3,66 (*MITF-M*) и от 1,54 до 4,12 (*CDKN2A*). Полученные результаты по обработке протокола в образцах NM и DMN показали хорошую линейность, высокие специфические сигналы и хорошее соотношение сигналов между положительными и отрицательными образцами. Различные концентрации реагентов и время инкубации также были оценены для оптимизации и стандартизации условий анализа, которые позволили достичь приемлемой чувствительности и надежной

производительности детекции анализируемых мутаций генов.

По результатам детекции мутаций генов **в образцах NM** выявлено две группы: 1-я группа – *BRAF*^{V600}-негативные меланомы (*wtBRAF*) дикого типа и 2-я группа – *BRAF*^{V600}-позитивные меланомы (*mtBRAF*) (рис. 2).

В 1-й группе *wtBRAF lowCSD NM* дикого типа с пигментным компонентом два пациента мужского пола (№№ 6, 8) в возрасте 51 год и одна пациентка в возрасте 54 года (№ 10), локализация образований – предплечье, голень и туловище. При этом все три образования несли мутации *CDKN2A* (rs121913387, p.R58*, c.172C>T; rs121913389, p.W110*, c.330G>A; rs121913386, p.P114L, c.341C>T) и в одном образовании (№ 8) выявлена дополнительно мутация *MITF-M* (rs149617956; p.E318K; c.952G>A).

Ко 2-й группе относятся *mtBRAF* как пигментированные NM, так и ANM low-CSD и high-CSD (rs113488022; p.V600E; c.1799T>A). *mtBRAF NM* – три пациента женского пола (№№ 5, 7, 9) в возрасте 69, 58 и 64 года, с локализацией образований на туловище, в области шеи и голени соответственно. При этом у 58-летней пациентки (№ 7) дополнительно выявлена мутация *MITF-M* (rs149617956, p.E318K, c.952G>A).

Также ко второй группе *mtBRAF* относятся и два пациента с ANM: пациент мужского пола в возрасте 70 лет (№ 11) и женского пола в возрасте 55 лет (№ 12), локализация образований – область щеки и туловища. У пациента женского пола также выявлена мутация *CDKN2A* (rs121913386, p.P114L, c.341C>T), свидетельствующая о наследственно-детерминированной форме развития *mtBRAF ANM*. При этом развитие данной формы меланомы в соответствии с кумулятивным солнечным повреждением отмечается как low-CSD, так и high-CSD.

Также необходимо отметить, что наименьшая концентрация целевой анализируемой ДНК выявлена у пациентов *wtBRAF NM* дикого типа № 6, 8, 10 и у *mtBRAF NM* № 5, 7, 9, 11, 12.

В образцах DMN (рис. 2) три пациента с мутацией *BRAF*^{V600} – две пациентки в возрасте 50 и 53 года (№№ 1, 3) и пациент мужского пола в возрасте 36 лет (№ 4). У всех локализация DMN low-CSD (область туловища и плеча). При этом образование № 3 характеризуется наличием трех мутаций: *BRAF*^{V600} (rs113488022; p.V600E; c.1799T>A), *MITF-M* (rs149617956; p.E318K; c.952G>A), *CDKN2A* (rs121913386; p.P114L; c.341C>T).

Встречаемость аллелей мутантного и дикого типа (пенетрантность) анализируемых генов в образцах NM и DMN (рис. 2) в пределах выборки представлена в процентном соотношении.

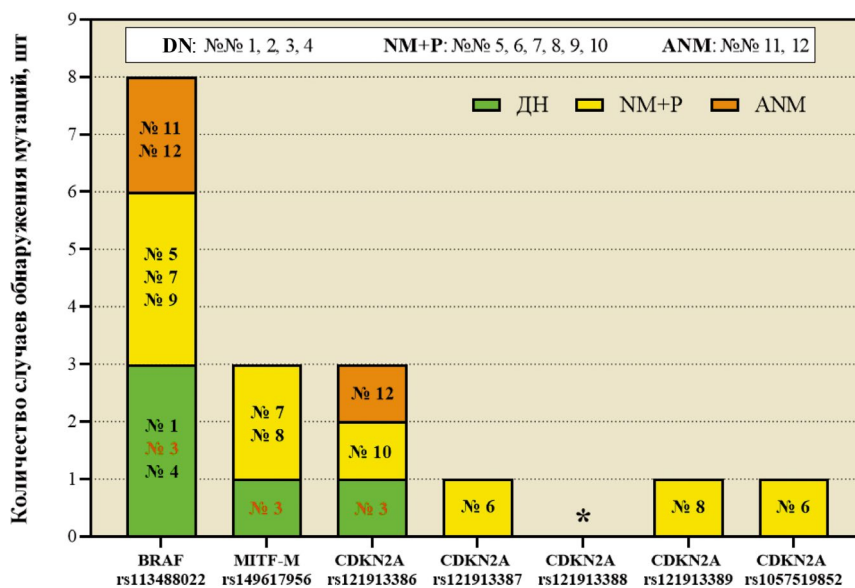


Рис. 2. Количество случаев выявления мутаций по генам. Красным шрифтом обозначен номер образца с одновременными мутациями в трех генах. Звездочкой обозначен ген, мутации которого не обнаружены ни в одном из 12 проанализированных образцов

Fig. 2. Number of gene-specific mutation cases. The red font indicates the sample number with simultaneous mutations in three genes. The asterisk indicates a gene which mutations were not detected in any of the 12 analyzed samples

Так, мутация *BRAF*^{V600} (rs113488022; p.V600E; с.1799 T>A) выявлена в 66,7 % случаев (из них в группе NM 62,5 % и в группе DMN 75 %); мутации гена *MTF-M* (rs149617956; p.E318K; с.952 G>A) – в 25 % случаев (из них 25 % NM и 25 % DMN); мутации гена *CDKN2A* (rs121913386; p.P114L; с.341 C>T) – в 25 % случаев (из них 25 % NM и 25 % DMN); мутации гена *CDKN2A* (rs121913387; p.R58*; с.172 C>T) – в 8 % случаев (из них 12,5 % NM и 0 % DMN); мутации гена *CDKN2A* (rs121913388; p.R80*; с.238 C>T) не выявлены; мутации гена *CDKN2A* (rs121913389; p.W110*; с.330 G>A) выявлены в 8 % случаев (из них 12,5 % NM и 0 % DMN); мутации гена *CDKN2A* (rs1057519852; p.W110*; с.329 G>A) – в 8 % случаев (из них 12,5 % NM и 0 % DMN). Также среди 12 проанализированных образцов NM и DMN 8 % (один случай) – отрицательно по всем генам (№ 2); 50 % (6 случаев) – с выявленной мутацией в одном гене (№№ 1, 4, 5, 9, 10, 11); 33 % (четыре случая) – с выявленными мутациями в двух генах (№№ 6, 7, 8, 12); 8 % (один случай) – с выявленными мутациями в трех генах (№ 3).

Гистологическая организация DMN (рис. 3). Эпидермальный горизонтальный компартмент – покровный эпителий утолщен с умеренно выраженными признаками дисплазии, равномерным удлинением сосочковых гребней

без глубоко вдающихся гребней в донную область дермы. Определяется педжетоидное и лентигозное расположение меланоцитов в области эпителиального пласта. Меланоциты небольшого размера, с пылевидным пигментом в цитоплазме, ядра гиперхромные, полиморфные, оттесненные к периферии с мелкими базофильными ядрышками. «Меланиновые шапочки» в супрабазальных отделах выявляются у единичных кератиноцитов. Невомеланоциты с признаками *moderate-grade dysplasia 2* степени. В пределах гнезд отмечаются выраженные признаки дискогезии. Признаков созревания не выявлено.

Юнкциональный горизонтальный компартмент / эпидермо-дермальное соединение – наблюдается массивная пластинчатая фиброплазия вокруг гребней сосочков эпителия, что является характерным признаком DN. Формирование «мостиков» между соседними гребнями не отмечается.

Дермальный горизонтальный компартмент – дерма с выраженными признаками фиброза, в том числе перифокально придатков кожи. Лимфоидная инфильтрация – TILs I, слабое/умеренное фокальное (фокусное) скопление в дерме без связи с образованием. Митотической активности невомеланоцитов не выявлено.

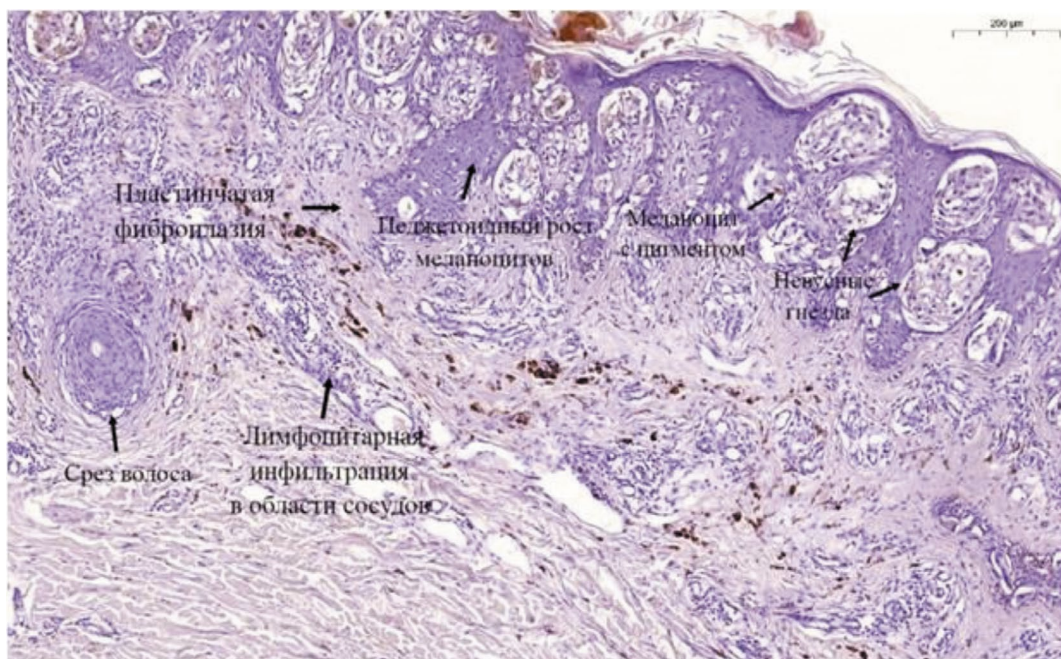


Рис. 3. Интрадермальный DMN (*intradermal dysplastic pigment naevus cutis*) кожи туловища с дисплазией (*dysplasia*) клеток эпителия 2 степени. Окраска Г-Э. 200 мкм

Fig. 3. Intradermal DMN (*intradermal dysplastic pigment naevus cutis*) of the trunk skin with epithelial cell dysplasia of grade 2. H&E staining. 200 μ m

Гистологическая организация NM и ANM (рис. 4, I, II). Эпидермальный горизонтальный компартмент – образование представлено в виде полиповидного узла. На поверхности эпителия зонально (рис. 4, II) определяется полнослойное изъязвление эпидермиса (включая шиповатый слой и базальную мембрану), реактивные изменения (отложения фибрина, инфильтрация нейтрофилами, истончение окружающего эпидермиса). В краевых зонах эпителий сохранен с умеренно выраженными признаками ороговения, в пределах которого отмечается педжетоидное расположение меланоцитов (рис. 4, VIII).

Глубоко в дермальном компартменте отмечается узловый рост высококлеточной опухоли из крупных эпителиоидно- и веретенчатых меланоцитов с признаками клеточной атипичности (рис. 4, VI) как с пигментным компонентом (NM), так и без пигментного компонента (ANM) с хорошо очерченными цитоплазматическими границами, обильной цитоплазмой. Отмечено увеличение плотности клеток, слияние в виде кластеров/скоплений атипичных меланоцитов, которые имеют неправильную форму и размер, вытянуты и расположены параллельно эпидермису в фиброзной строме различной степени выраженности (рис. 4, III). В пределах кластеров меланоциты с признаками дискогезии. Цитоло-

гическая атипичия, вариабельность размера ядер в пределах каждого из компартментов образования характеризуется как *high-grade dysplasia*. Отмечаются атипичные митозы (рис. 4, V).

Юнкциональный горизонтальный компартмент / эпидермо-дермальное соединение – отмечается массивная фиброзирующая стромальная реакция (рис. 4, VII) с пластинчатой фиброплазией и концентрическим фиброзом (округлые слои коллагена, окружающие соединительнотканый компонент в сосочковом слое дермы) вокруг гребней сосочков эпителия.

Дермальный горизонтальный компартмент – в сосочковом и сетчатом слое дермы отмечаются умеренно выраженная мультифокальная (в том числе в области сосудов, перитуморально и в дерме без связи с опухолью) лимфоидная лихеноидная воспалительная инфильтрация – TILs II (рис. 4, IV, VIII). Дерма с выраженными признаками фиброза.

Сравнительный анализ гистологических и цитологических параметров атипичности для DMN и NM выявил большое количество перекрывающихся показателей: педжетоидное распределение невомеланоцитов в эпителии кожи, что является признаком предракового и злокачественного состояния; наличие пигмента в меланоцитах; гнездовое расположение; дискогезия; созревание гнезд не отмечается;

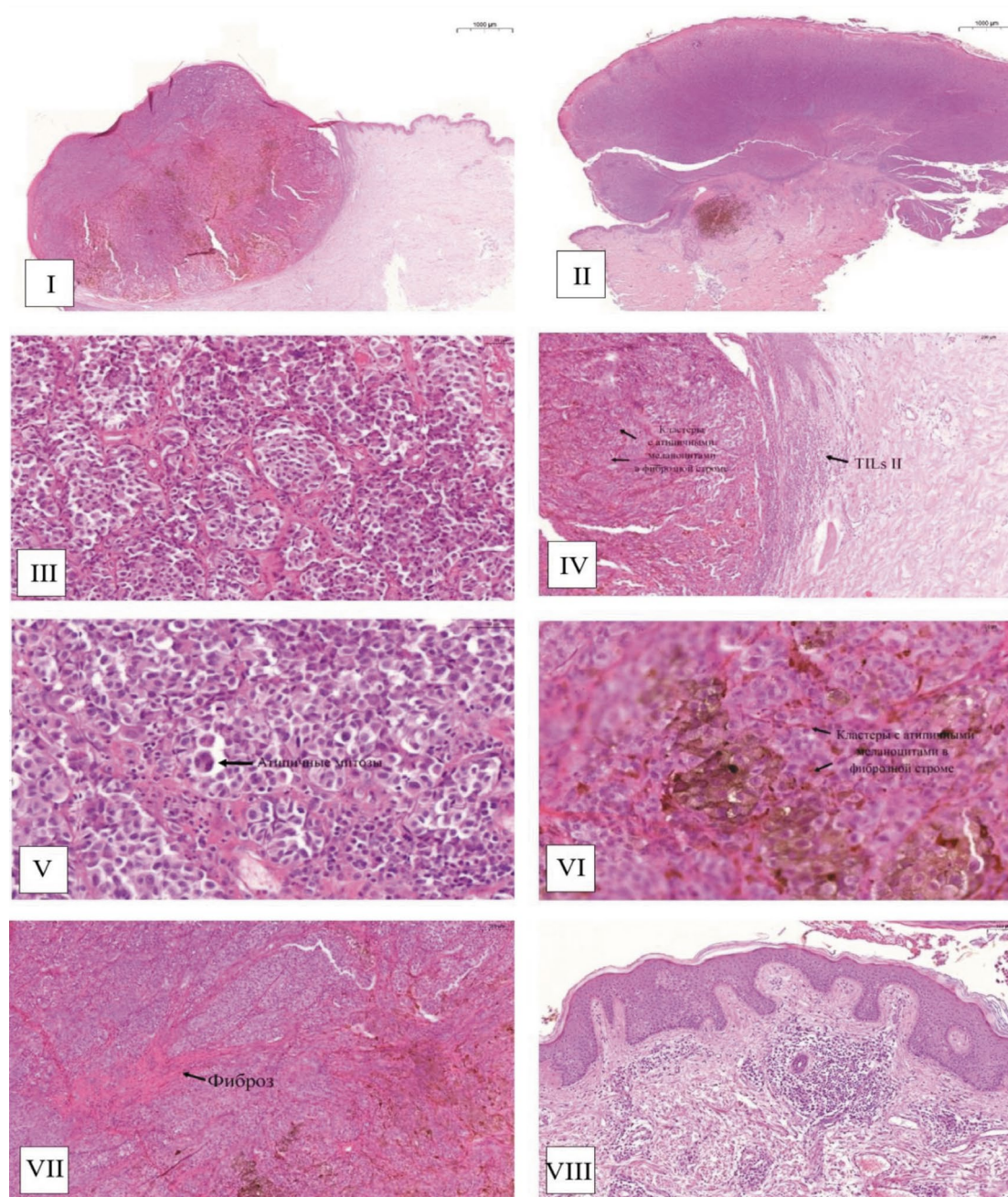


Рис. 4. Узловая меланома (*nodular melanoma cutis*) кожи:

I – NM с пигментным компонентом; II – ANM. Окраска Г-Э. I, II – 1000 мкм, III, V – 50 мкм, IV – 200 мкм, VI – 20 мкм, VII, VIII – 100 мкм

Fig. 4. Nodular melanoma (*nodular melanoma cutis*) of the skin:

I – NM with a pigment component; II – ANM. H&E staining. I, II – 1000 μ m, III, V – 50 μ m, IV – 200 μ m, VI – 20 μ m, VII, VIII – 100 μ m

гиперхромность ядер; наличие фиброплазии, которое является характерным признаком для DMN и NM. Отличительными гистологическими признаками в группе NM являются: изъязвление в отличие от других подтипов меланомы; высокая митотическая активность NM; кластерное расположение невомеланоцитов.

В группе пациентов с DMN были выявлены *low-grade dysplasia* и *moderate-grade dysplasia*, в группе пациентов с NM – *high-grade dysplasia*; лимфоидная лихеноидная воспалительная инфильтрация (TILs) в группе пациентов с DMN – 0-I, а в группе пациентов с NM – I-II степени.

Обсуждение

Таким образом, в соответствии с разработанным нами протоколом детекции мутаций анализируемых генов с использованием технологии xMAP-ASPE-xTAG в образцах NM и DMN отработаны этапы определения в одном анализе нескольких анализируемых точек генов, мутации в области которых сопряжены с онкогенозом меланомы – *BRAF* (rs113488022; p.V600E; с.1799T>A), *MITF-M* (rs149617956; p.E318K; с.952G>A), *CDKN2A* (rs121913386, p.P114L, с.341C>T; rs121913387, p.R58*, с.172C>T; rs121913388, p.R80*, с.238C>T; rs121913389, p.W110*, с.330G>A; rs1057519852, p.W110*, с.329G>A). По результатам определены параметры протокола согласно общей площади образца и площади образования, общей и целевой/мутантной анализируемой концентрации ДНК, оптимальной концентрации реагентов, количества микросфер. Выявлено, что независимо от концентрации целевой/мутантной ДНК из образцов оптимальным количеством микросфер является 1250/мкл; данное соотношение показало хорошую линейность, высокие специфические сигналы и хорошее соотношение сигналов между положительными и отрицательными образцами. ЧК анализируемой целевой ДНК находится в прямой зависимости от показателей концентрации ДНК, показатель ЧК генов, который учитывает длину продукта и концентрацию ДНК генов, проявляет схожую корреляцию. Различные концентрации реагентов и время инкубации позволили стандартизировать и оптимизировать условия проведения исследований, что позволило достичь приемлемой чувствительности и надежной производительности детекции анализируемых мутаций генов.

В пределах анализируемой выборки с учетом CSD, возраста и пола получены данные о встречаемости мутаций. Так, в частности, мутация гена *BRAF*^{V600E} выявлена у трех из четырех пациентов в образцах с DMN и в пяти образцах из восьми с NM у пациентов в возрасте от 36 до 70 лет low-CSD и high-CSD пути развития меланомы, что является характерным для NM. У одного пациента с DMN выявлено три мутации генов *BRAF*^{V600E}, *CDKN2A* и *MITF-M*, наличие которых относят к начальным этапам меланоцитарной неоплазии и которые отражают наследственную предрасположенность к развитию меланомы, нарушение регуляции клеточного цикла и пролиферации. Выявленная мутация зародышевой линии гена изоформы *MITF-M* (p.E318K) определяет высокий риск развития кожной злокачественной меланомы типа 8 (CMM8).

У пациентов с NM выявлено два случая мутации гена *MITF-M* и четыре случая различных полиморфизмов гена *CDKN2A*. wt*BRAF* NM в большей мере, нежели mt*BRAF* NM и ANM, проявляют наследственный характер развития, тогда как DMN – только в одном случае.

Выявленные мутации генов зародышевой/герминальной линии – *CDKN2A* и *MITF-M* относятся к генам, предрасполагающим к развитию как меланомы, так и других форм рака. Так, ген *CDKN2A*, расположенный на коротком плече хромосомы 9p21, кодирует два различных белка-супрессора опухолей – p16^{INK4a} и p14^{ARF}, которые участвуют в регуляции клеточного цикла, пролиферации и старении клеток. p14^{ARF} регулирует пролиферацию клеток посредством стабилизации p53, индуцируя экспрессию ингибитора CDKp21. В свою очередь, p16^{INK4a} играет ту же роль, ингибируя ассоциацию между CDK4/6 и циклином D1(CCND1). Мутации в гене *CDKN2A* обнаруживаются у пациентов в спорадических случаях, но вероятность обнаружения мутации *CDKN2A* в спорадических случаях без отягченного личного или семейного анамнеза составляет около 1 %.

Выявленные мутации гена *MITF-M*, как специфического маркера клеток меланоцитарной линии, напрямую увеличивают рост и деление клеток (пролиферацию), экспрессию своих целевых генов, участвующих в пролиферации, что приводит к аномальному росту клеток меланомы. С наибольшим риском развития кожной злокачественной меланомы типа 8 (CMM8) связана мутация зародышевой линии rs149617956 (p.E318K), которая приводит к замене глутаминовой кислоты на лизин в *MITF* (изоформы *MITF-M*) в кодоне 318 с.952G>A (p. Glu318Lys), как в случае семейного анамнеза, так и спорадически. Также *MITF*, участвуя в регуляции клеточного цикла, может повышать экспрессию p16^{INK4a}, тем самым определяя выход клеток из клеточного цикла. Мутации *BRAF*^{V600E} встречаются в ~ 60 % меланом, поддерживают как снижение, так и повышение уровней транскрипции *MITF*, способствуя пролиферации и выживанию клеток меланомы. Реактивные промежуточные продукты высвобождаются в процессе синтеза меланина, формируя генотоксичную и мутагенную среду в меланоцитах и локально подавляют иммунную систему [Aebischer et al., 2023]. Обсуждение влияния пигментации на развитие меланомы, прогрессирование и метастазирование опухоли является предметом дискуссий. У пробандов с семейным анамнезом меланомы и пациентов с множественными

первичными меланомами мутация *MITF* была описана как ассоциированный риск развития с DN [Wallingford et al., 2024]. Как уже отмечалось, мутация *BRAF*^{V600E} играет роль необходимого, но недостаточного онкогенного триггера [Prkacin et al., 2024], тем не менее выявленные нами активирующие меланому мутации в генах *MITF-M* и *CDKN2A* в образцах DMN указывают, что у данных пациентов – отягощенный семейный анамнез с увеличением в разы риска развития меланомы. *BRAF*^{V600E}-позитивные DMN характеризуются крупными хорошо очерченными гнездами, и если учитывать, что образование гнезд указывает на прогрессирование обоих типов меланоцитарных пролифераций (невусы и меланома), то данный гистологический показатель может служить ключевым критерием диагностики меланоцитарных пролифераций, с учетом того, что более крупные гнезда связаны с более быстрым ростом невусов и более агрессивной формой меланомы. Полученные нами результаты гистологических исследований выявили как однотипные, так и отличительные характеристики DMN и NM [Gronbeck, Kerr, 2025]. Перекрывающиеся гистологические и молекулярно-генетические характеристики подтверждают, что DN является отдельной гистологической группой образований, которые имеют биологические и морфологические признаки как вновь возникшего банального невуса, так и меланомы.

Заключение

Учитывая, что выявленные перекрывающиеся факторы DMN и NM являются постоянной областью исследований, полученные нами результаты отражают необходимость более персонализированных стратегий профилактики, неинвазивной мультиплексной диагностики и лечения посредством разработки инструментов стратификации риска меланомы и раннего выявления развивающихся меланом. Большую роль должны играть такие алгоритмы обследования пациентов, как первичное профилактическое консультирование с поправкой на риск, лучшее понимание генетических факторов злокачественности, полигенных эффектов и взаимодействия между генетическими факторами, фенотипом и окружающей средой.

Выявленные гистогенетические критерии могут быть решающими в постановке диагноза и дифференцировке характера образований, так как высокий риск развития меланомы на фоне меланоцитарной дисплазии в настоящее время отмечают многие авторы.

Наше исследование подтвердило, что DN – это гетерогенная группа поражений с неопределенным риском развития меланомы. Хотя они неизменно излечиваются при полном удалении, их биологический потенциал, если их не лечить, неизвестен. В связи с этим одной из задач является выявление пациентов с DN, как главным клиническим фактором риска, и включение их в программы краткосрочного и долгосрочного наблюдения, направленные на раннее выявление подозрительных новообразований и, как следствие, сокращение смертности, связанной с прогрессирующей меланомой.

Литература

- Антонова Е. И., Ачилов А. Б., Фирсова Н. В., Викторов Д. А., Балацук Е. В. Разработка xMAP-протокола ASPE детекции мутаций генов *BRAF* и *MITF* в образцах поверхностно-распространяющейся меланомы кожи // Научный медицинский вестник Югры. 2024. Т. 42, № 4. С. 53–62. doi: 10.25017/2306-1367-2024-42-53-62
- Снарская Е. С., Олисова О. Ю., Васильева К. Д. Амеланоцитарная узловатая меланома кожи у пациентки с отягощенным семейным анамнезом // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2022. Т. 25, № 4. С. 261–268. doi: 10.17816/dv111571
- Aebischer V., Abu-Ghazaleh A., Metzler G., Riedl L., Garbe C., Flatz L., Eigentler T., Forchhammer S. Histopathologic abundance of pigmentation correlates with disease-specific survival in malignant melanoma but is not independent of current AJCC pT stage // Pigment Cell Melanoma Res. 2023. Vol. 36, no. 6. P. 512–521. doi: 10.1111/pcmr.13114
- Colombino M., Casula M., Paliogiannis P., Manca A., Sini M. C., Pisano M., Santeufemia D. A., Cossu A., Palmieri G. Heterogeneous pathogenesis of melanoma: BRAF mutations and beyond // Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2024. Vol. 201. P. 104435. doi: 10.1016/j.critrevonc.2024.104435
- Drexler K., Zenderowski V., Schreieder L., Koschitzki K., Karrer S., Berneburg M., Haferkamp S., Niebel D. Subtypes of melanomas associated with different degrees of actinic elastosis in conventional histology, irrespective of age and body site, suggesting chronic ultraviolet light exposure as driver for lentigo maligna melanoma and nodular melanoma // Cancers (Basel). 2023. Vol. 16, no. 1. Art. 1. doi: 10.3390/cancers16010001
- Druskovich C., Kelley J., Aubrey J., Palladino L., Wright G. P. A review of melanoma subtypes: genetic and treatment considerations // J. Surg. Oncol. 2025. Vol. 131, no. 3. P. 356–364. doi: 10.1002/jso.27953
- Frischhut N., Zelger B., Andre F., Zelger B. G. The spectrum of melanocytic nevi and their clinical implications // J. Dtsch. Dermatol. Ges. 2022. Vol. 20, no. 4. P. 483–504. doi: 10.1111/ddg.14776
- Gronbeck C., Kerr P. E. Nodular melanoma // Clin. Dermatol. 2025. Vol. 43, no. 1. P. 64–70. doi: 10.1016/j.clinidmatol.2025.01.015

Guźniczak A., Sosnowska-Sienkiewicz P., Szydłowski J., Kurzawa P., Januszkiewicz-Lewandowska D. Gene mutation-negative malignant melanoma in a prepubertal patient: a clinical and molecular case report // *Genes*. 2025. Vol. 16, no. 8. Art. 937. doi: 10.3390/genes16080937

Huang C., Lau T. W.-S., Smoller B. R. Diagnosing cutaneous melanocytic tumors in the molecular era: updates and review of literature // *Dermatopathology (Basel)*. 2024. Vol. 11, no. 1. P. 26–51. doi: 10.3390/dermatopathology11010005

Jiang C., Jain N. P., Stewart C. L. Amelanotic melanoma: clinical presentation, diagnosis, and management // *Clin. Dermatol.* 2025. Vol. 43, no. 1. P. 10–15. doi: 10.1016/j.clindermatol.2025.01.009

Manganelli M., Stabile G., Scharf C., Brunetti A. P., Paolino G., Giuffrida R., Bigotto G. D., Damiano G., Mercuri S. R., Sallustio F., Mangano E., Bordoni R., De Nardi P., Guida G., Foti C., Argenziano G., Longo C., Pellacani G., Rizzo N., Russo V., Guida S., Rongioletti F. Skin photodamage and melanomagenesis: A comprehensive review // *Cancers*. 2025. Vol. 17, no. 11. Art. 1784. doi: 10.3390/cancers17111784

Mirek J., Bal W., Olbryt M. Melanoma genomics – will we go beyond BRAF in clinics? // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2024. Vol. 150, no. 9. Art. 433. doi: 10.1007/s00432-024-05957-2

Paller C. J., Tukachinsky H., Maertens A., Decker B., Sampson J. R., Cheadle J. P., Antonarakis E. S. Pan-cancer interrogation of MUTYH variants reveals biallelic inactivation and defective base excision repair across a spectrum of solid tumors // *JCO Precis. Oncol.* 2024. Vol. 8, no. 8. e2300251. doi: 10.1200/PO.23.00251

Prkacin I., Šamija I., Filipović N., Vučić M., Vučić M., Ferara N., Šitum M. Frequency of BRAF mutations in dysplastic nevi, lentigo maligna, and melanoma In Situ // *J. Clin. Med.* 2024. Vol. 13, no. 16. Art. 4799. doi: 10.3390/jcm13164799

Singh N., Dunlop K. L. A., Woolley N., Wills Vashishtha T., Damian D. L., Vuong K., Cust A. E., Smit A. K. A review of skin cancer primary prevention activities in primary care settings // *Public Health Res. Pract.* 2024. Vol. 34(2). Art. 34012401. doi: 10.17061/phrp34012401

Spaccarelli N., Drozdowski R., Peters M. S., Grant-Kels J. M. Dysplastic nevus part II: Molecular/genetic profiles and management // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2023. Vol. 88, no. 1. P. 13–20. doi: 10.1016/j.jaad.2022.05.071

Sukniam K., Manaise H. K., Popp K., Popp R., Gabriel E. Role of surgery in metastatic melanoma and review of melanoma molecular characteristics // *Cells*. 2024. Vol. 13, no. 6. Art. 465. doi: 10.3390/cells13060465

Wallingford C. K., Maas E. J., Howard A., DeBortoli E., Bhanja D., Lee K., Mothershaw A., Jagirdar K., Willett R., Betz-Stablein B., Sturm R. A., Soyer H. P., McInerney-Leo A. M. MITF E318K: A rare homozygous case with multiple primary melanoma // *Pigment. Cell Melanoma Res.* 2024. Vol. 37, no. 1. P. 68–73. doi: 10.1111/pcmr.13122

Zhang S., Xiao X., Yi Y., Wang X., Zhu L., Shen Y., Lin D., Wu C. Tumor initiation and early tumorigenesis: molecular mechanisms and interventional targets // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2024. Vol. 1. Art. 149. doi: 10.1038/s41392-024-01848-7

References

Aebischer V., Abu-Ghazaleh A., Metzler G., Riedl L., Garbe C., Flatz L., Eigentler T., Forchhammer S. Histopathologic abundance of pigmentation correlates with disease-specific survival in malignant melanoma but is not independent of current AJCC pT stage. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2023;36(6):512–521. doi: 10.1111/pcmr.13114

Antonova E. I., Achilov A. B., Firsova N. V., Viktorov D. A., Balatsyuk E. V. Development of the xMAP ASPE protocol for detecting BRAF and MITF gene mutations in samples of superficial spreading melanoma of the skin. *Nauchnyi meditsinskii vestnik Yugry = Scientific Medical Bulletin of Yugra.* 2024;42(4):53–62. (In Russ.). doi: 10.25017/2306-1367-2024-42-53-62

Colombino M., Casula M., Paliogiannis P., Manca A., Sini M. C., Pisano M., Santeufemia D. A., Cossu A., Palmieri G. Heterogeneous pathogenesis of melanoma: BRAF mutations and beyond. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2024;201:104435. doi: 10.1016/j.critrevonc.2024.104435

Drexler K., Zenderowski V., Schreieder L., Koschitzki K., Karrer S., Berneburg M., Haferkamp S., Niebel D. Subtypes of melanomas associated with different degrees of actinic elastosis in conventional histology, irrespective of age and body site, suggesting chronic ultraviolet light exposure as driver for lentigo maligna melanoma and nodular melanoma. *Cancers (Basel)*. 2023;16(1):1. doi: 10.3390/cancers16010001

Druskovich C., Kelley J., Aubrey J., Palladino L., Wright G. P. A review of melanoma subtypes: genetic and treatment considerations. *J. Surg. Oncol.* 2025;131(3):356–364. doi: 10.1002/jso.27953

Frischhut N., Zelger B., Andre F., Zelger B. G. The spectrum of melanocytic nevi and their clinical implications. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2022;20(4):483–504. doi: 10.1111/ddg.14776

Gronbeck C., Kerr P. E. Nodular melanoma. *Clin. Dermatol.* 2025;43(1):64–70. doi: 10.1016/j.clindermatol.2025.01.015

Guźniczak A., Sosnowska-Sienkiewicz P., Szydłowski J., Kurzawa P., Januszkiewicz-Lewandowska D. Gene mutation-negative malignant melanoma in a prepubertal patient: a clinical and molecular case report. *Genes*. 2025;16(8):937. doi: 10.3390/genes16080937

Huang C., Lau T. W.-S., Smoller B. R. Diagnosing cutaneous melanocytic tumors in the molecular era: updates and review of literature. *Dermatopathology (Basel)*. 2024;11(1):26–51. doi: 10.3390/dermatopathology11010005

Jiang C., Jain N. P., Stewart C. L. Amelanotic melanoma: clinical presentation, diagnosis, and management. *Clin. Dermatol.* 2025;43(1):10–15. doi: 10.1016/j.clindermatol.2025.01.009

Manganelli M., Stabile G., Scharf C., Brunetti A. P., Paolino G., Giuffrida R., Bigotto G. D., Damiano G., Mercuri S. R., Sallustio F., Mangano E., Bordoni R., De Nardi P., Guida G., Foti C., Argenziano G., Longo C., Pellacani G., Rizzo N., Russo V., Guida S., Rongioletti F. Skin photodamage and melanomagenesis: A comprehensive review. *Cancers*. 2025;17(11):1784. doi: 10.3390/cancers17111784

Mirek J., Bal W., Olbryt M. Melanoma genomics – will we go beyond BRAF in clinics? *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2024;150(9):433. doi: 10.1007/s00432-024-05957-2

Paller C. J., Tukachinsky H., Maertens A., Decker B., Sampson J. R., Cheadle J. P., Antonarakis E. S. Pan-cancer interrogation of MUTYH variants reveals bi-allelic inactivation and defective base excision repair across a spectrum of solid tumors. *JCO Precis. Oncol.* 2024;8(8):e2300251. doi: 10.1200/PO.23.00251

Prkacin I., Šamija I., Filipović N., Vučić M., Vučić M., Ferara N., Šitum M. Frequency of BRAF mutations in dysplastic nevi, lentigo maligna, and melanoma In Situ. *J. Clin. Med.* 2024;13(16):4799. doi: 10.3390/jcm13164799

Singh N., Dunlop K. L. A., Woolley N., Wills Vashishtha T., Damian D. L., Vuong K., Cust A. E., Smit A. K. A review of skin cancer primary prevention activities in primary care settings. *Public Health Res. Pract.* 2024;34(2):34012401. doi: 10.17061/phrp34012401

Snarskaya E. S., Olisova O. Yu., Vasil'eva K. D. Amelanocytic nodular skin melanoma in a patient with a complicated family history. *Rossiiskii zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznei = Russian Journal of*

Skin and Venereal Diseases. 2022;25(4):261–268. (In Russ.). doi: 10.17816/dv111571

Spaccarelli N., Drozdowski R., Peters M. S., Grant-Kels J. M. Dysplastic nevus part II: Molecular/genetic profiles and management. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2023;88(1):13–20. doi: 10.1016/j.jaad.2022.05.071

Sukniam K., Manaise H. K., Popp K., Popp R., Gabriel E. Role of surgery in metastatic melanoma and review of melanoma molecular characteristics. *Cells.* 2024;13(6):465. doi: 10.3390/cells13060465

Wallingford C. K., Maas E. J., Howard A., DeBortoli E., Bhanja D., Lee K., Mothershaw A., Jagirdar K., Willett R., Betz-Stablein B., Sturm R. A., Soyer H. P., McInerney-Leo A. M. MITF E318K: A rare homozygous case with multiple primary melanoma. *Pigment. Cell Melanoma Res.* 2024;37(1):68–73. doi: 10.1111/pcmr.13122

Zhang S., Xiao X., Yi Y., Wang X., Zhu L., Shen Y., Lin D., Wu C. Tumor initiation and early tumorigenesis: molecular mechanisms and interventional targets. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2024;9(1):149. doi: 10.1038/s41392-024-01848-7

Поступила в редакцию / received: 12.11.2025; принята к публикации / accepted: 24.11.2025.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Антонова Елена Ивановна

д-р биол. наук, профессор, директор НИЦ ФППББ УлГПУ
e-mail: antonov_67@mail.ru

Фирсова Наталья Викторовна

канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник
лаборатории клеточных технологий
e-mail: n-firsova@mail.ru

Ачилов Атабег Батырович

научный сотрудник лаборатории молекулярной
биологии
e-mail: a.achilow@inbox.ru

Зимнуров Айдар Раилевич

лаборант-исследователь лаборатории биохимии
и токсикологии
e-mail: zimnurov75@gmail.com

Лукьянов Иван Алексеевич

студент
e-mail: penzjakova6@gmail.com

Балацук Елена Валерьевна

канд. мед. наук, врач-патологоанатом
e-mail: balacuxa@mail.ru

Ленгесова Наталья Анатольевна

канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник
лаборатории морфологии
e-mail: lengesova@yandex.ru

Торутанов Павел Сергеевич

младший научный сотрудник лаборатории
молекулярной биологии
e-mail: pavel.toru2012@yandex.ru

CONTRIBUTORS:

Antonova, Elena

Dr. Sci. (Biol.), Professor, Institute Director

Firsova, Natalia

Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher

Achilov, Atabeg

Researcher

Zimnurov, Aidar

Laboratory Researcher

Lukyanov, Ivan

Student

Balacuk, Elena

Cand. Sci. (Med.), Anatomical Pathologist

Lengesova, Natalia

Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor,
Leading Researcher

Torutanov, Pavel

Junior Researcher