



# Генетические аспекты диагностики меланомы

С.н.с. отделения морфологической диагностики отдела  
онкологии к.м.н. Бяхова Мария Михайловна

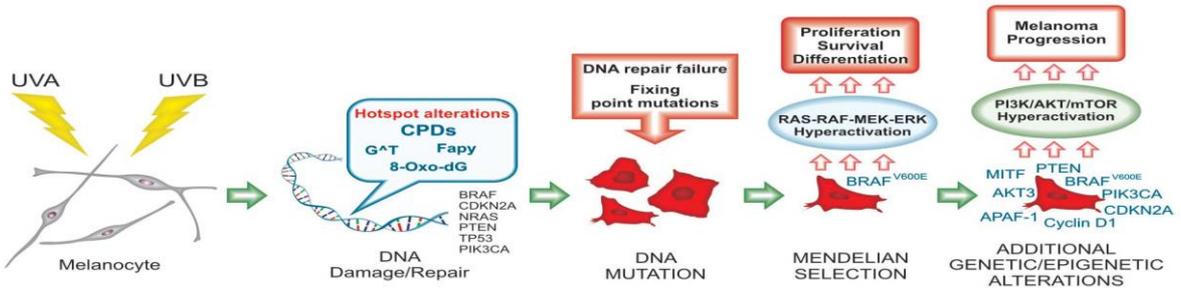
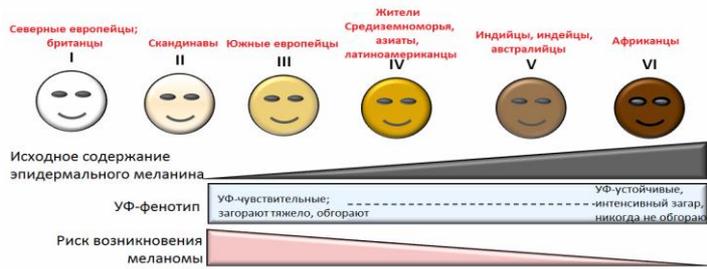
20.04.2019

## Наиболее частые варианты локализации меланомы



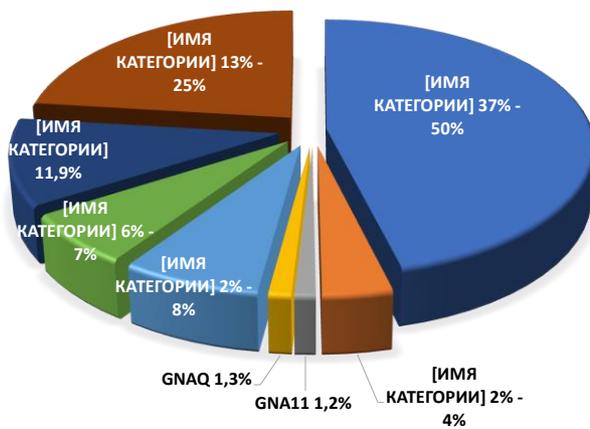
<https://medvkt.ru/melanoma-nastovashhava-chvornava-smert/>

### Фототипы кожи человека (По Фицпатрику)



Recent Advances in the Biology, Therapy and Management of Melanoma, book edited by Lester M. Davids, ISBN DOI: 10.5772/55172 <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2014.2977>

### Соматические мутации при меланоме



Меланома кожи:

- BRAF 52%
- NRAS 28%
- TP53 15%
- NF1 14%

Увеальная меланома:

- GNAQ 50%
- BAP1 47%
- GNA11 32%

Акральная меланома:

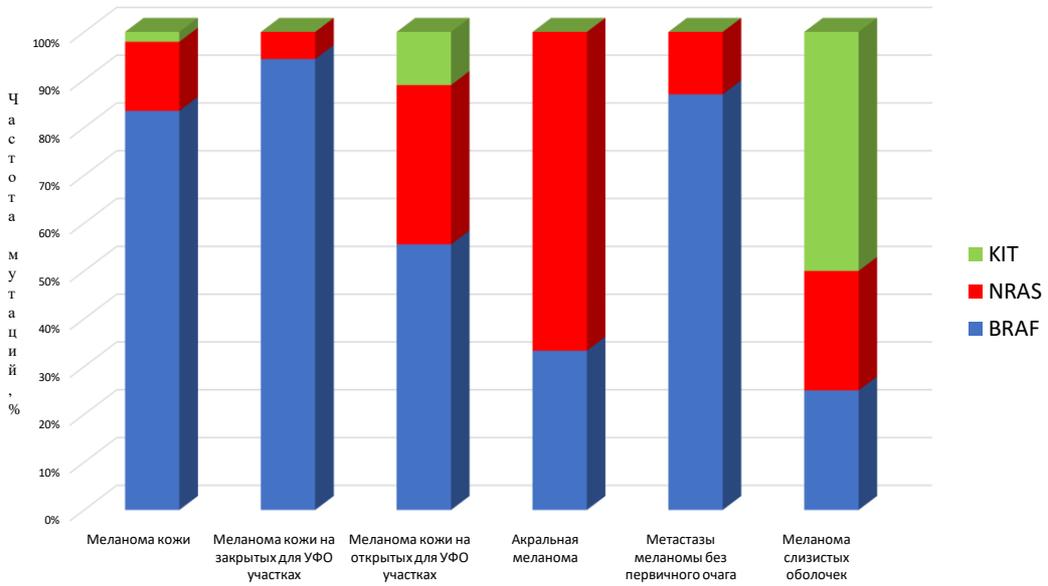
- BRAF 15-20%
- NRAS 15%
- KIT 10%

Меланома слизистых оболочек:

- BRAF 5%
- NRAS 15%
- KIT 15-20%

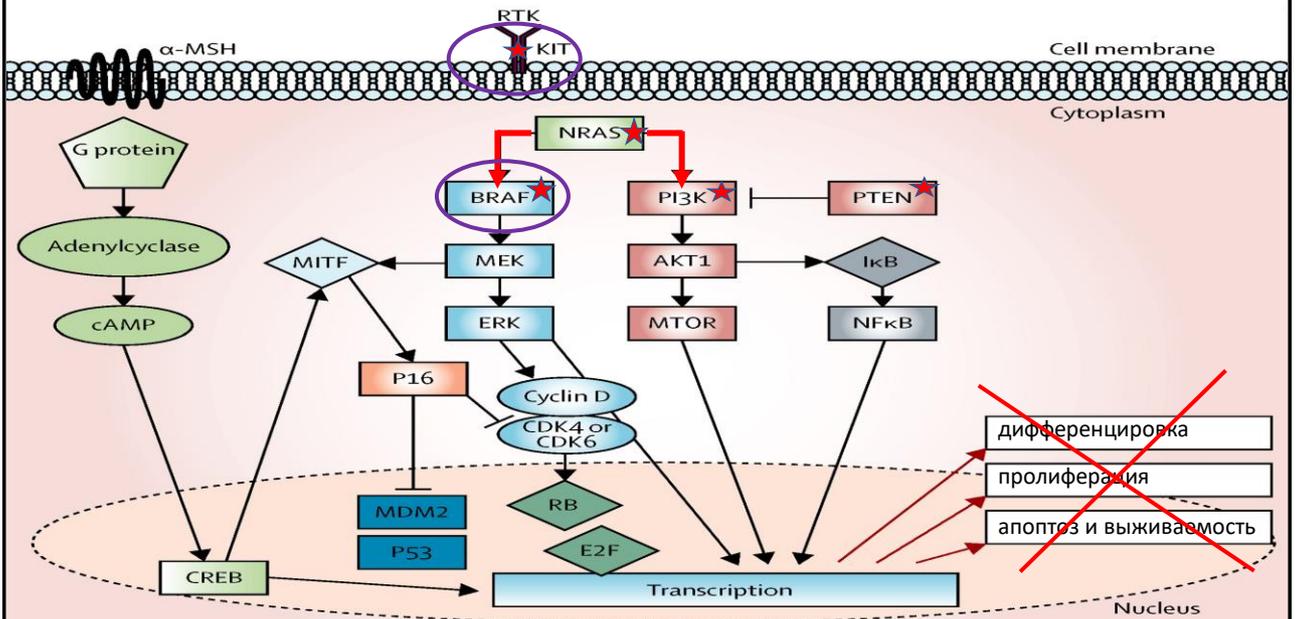
<https://www.onclive.com/publications/oncology-live/2016/vol-17-no-12/probing-the-melanoma-genome-reveals-new-targets-and-challenges>

### Зависимость мутаций от воздействия ультрафиолетового излучения и локализации



[http://molecbio.ru/downloads/mbm49/MBM49\\_6\\_1022.pdf](http://molecbio.ru/downloads/mbm49/MBM49_6_1022.pdf)

### Активирующие сигнальные каскады клетки



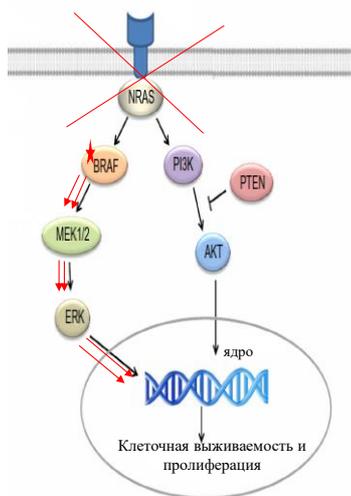
[http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/piiS0140-6736\(13\)60802-8/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/piiS0140-6736(13)60802-8/fulltext)

## Основные компоненты сигнальных путей меланомы

Сигнальный путь	Ген	Частота и характер изменений	Функции
МАРК – митогин-активированные протеинкиназы	<b>c-KIT</b>	Активирующие мутации в 23%, чаще в меланомах слизистых, ладоней и подошв, на хронически облучаемой ультрафиолетовым излучением (УФ) коже.	Рецептор фактора роста стволовых клеток
	<b>NRAS</b>	Мутации в 10-26%, преимущественно на периодически облучаемой УФ коже	Передача пролиферативных сигналов от рецепторов факторов роста
	<b>BRAF</b>	Мутация в 60-80% меланом, не подверженных солнечной инсоляции	
	<b>MEK</b>	Активируется в связи с мутациями в вышестоящих звеньях сигнальной цепи, резистентность к ингибиторам BRAF	Интеграция сигналов от различных факторов роста и активация пролиферации
PI3K/АКТФосфоинозитол-3 киназный путь	<b>PTEN</b>	Инактивирующие мутации в 10-30% меланом	Антионкоген, торможение пролиферации, регуляция дифференцировки и поддержания популяции стволовых клеток
	<b>АКТ</b>	Гиперэкспрессия или активация в 43-70% меланом	Регуляция пролиферации, выживания клетки, дифференцировки и изменений цитоскелета, резистентность к цитостатикам

Новик А.В. Меланома кожи: новые подходы// практическая онкология – Т12, №1 - 2011

## Мутации в гене BRAF

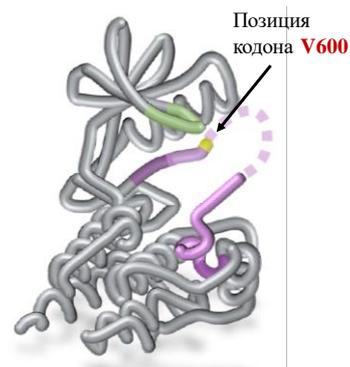


	598	599	600			601	602	АК в 600	% от общего числа мутаций BRAF
			17 98	17 99	18 00				
<b>WT</b>	GCT	ACA	G	T	G	AA A	TC T	V-Валин	
<b>V600E</b>			G	A	G			E- глут. к-та	70–80 %
<b>V600K</b>			A	A	G			K- лизин	5–20 %
<b>V600R</b>			A	G	G			R- аргинин	1–5 %
<b>V600E2</b>			G	A	A			E- глут. к-та	< 1 %

<http://cancergenome.ru/page98>; <https://www.dovepress.com/profile-of-selumetinib-and-its-potential-in-the-treatment-of-melanoma-peer-reviewed-fulltext-article-OTT>

## Частота различных мутаций BRAF в России

BRAF-мутации	Частота в мире	Частота в России n=629
Все мутации BRAF	47%	60,8%
V600E	70-80%	89,3%
V600K	5-20%	8,3%
V600R	1-3%	0,8%
V600D	<1%	1,6%
V600M	<1%	
Не -V600	2%	



Структура киназы BRAF

Г.А. ФРАНК, Л.Э. ЗАВАЛШИНА, Т.В. КЕКЕЕВА, С.Н. АЛЕКСАХИНА, Т.Р. ГАРИФУЛЛИНА, О.А. ИВАНЦОВ, Н.В. МИТЮШКИНА, В. ПФАЙФЕР, Т.Н. СРЕЛКОВА, Е.Н. ИМЯНТОВ Первое Всероссийское молекулярно-эпидемиологическое исследование меланомы: результаты анализа мутаций в гене BRAF. Архив патологии, №3, 2014

## Особенности BRAF-положительной меланомы

### Молодой возраст

Пациенты с BRAF- мутациями сообщают об эпизодах повышенной инсоляции и солнечных ожогах, полученных до 20 лет, при этом они не подвергаются хроническому солнечному повреждению.

Первичный очаг располагается на туловище и проксимальных отделах конечностей.

Для BRAF-положительных меланом характерны преимущественно поверхностный тип роста, усиленная пигментация, изъязвления ее поверхности.

Метастазирует преимущественно лимфогенным путем в лимфатические узлы и внутренние органы. Редко выявляются метастазы в кожу и головной мозг.

### Небольшая толщина опухоли

Выраженное скопление меланоцитов в эпидермисе

T-клеточная инфильтрация опухолевой ткани с наличием гигантских эпителиодных клеток.

Лимфоваскулярная инвазия



## Мутационный статус меланомы в первичном очаге и метастазе.

В большинстве случаев мутационный статус первичного очага и метастаза совпадает.

Однако, возможно выявление мутации в метастазе при отсутствии мутации в первичном очаге.

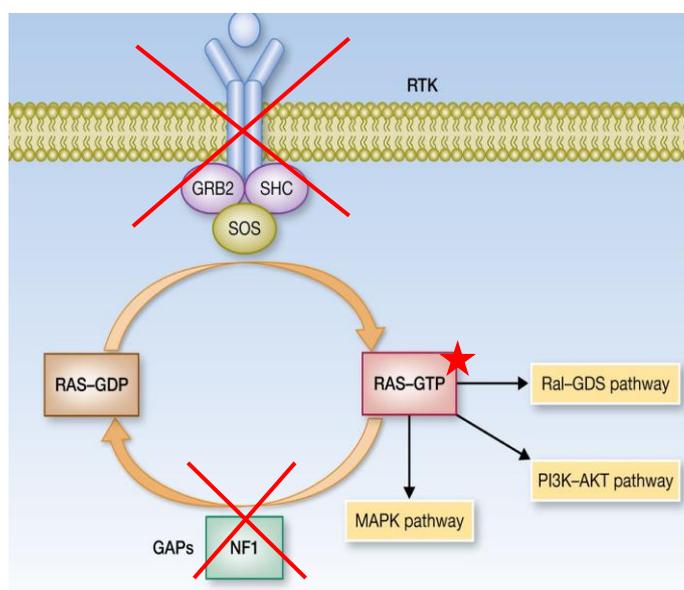
Разные типы мутаций в первичной очаге и метастазе.

Более агрессивное поведение BRAF-мутированного клона опухоли и его способность к метастазированию.

Изменение мутационного статуса у пациентов после проведенного лечения.

<http://www.malignanttumors.org/jour/article/viewFile/159/169>

## Мутации в гене NRAS



Мутации NRAS выявляются в 15–20 % случаев меланомы кожи.

Большинство мутаций NRAS (80 %) – замены в кодоне 61 экзона 3 (Q61K и Q61R).

Мутации во 2-м экзоне гена NRAS (чаще в кодоне G12, чем G13) находят на ранних стадиях заболевания.

Мутации в 3-м экзоне NRAS обнаруживают на более поздних этапах.

<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/20/16/4186> <http://www.malignanttumors.org/jour/article/viewFile/159/169>

## Особенности NRAS – положительной меланомы

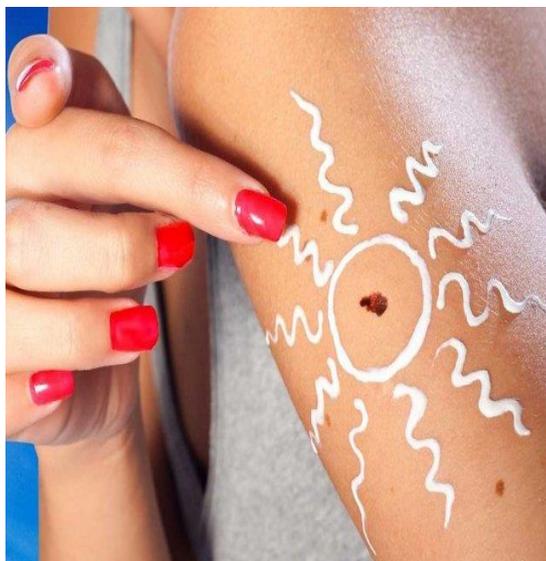
Более старший возраст по сравнению с пациентами имеющими BRAF мутацию.

Мутации NRAS чаще присутствуют в меланоме, связанной с хроническим солнечным повреждением

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

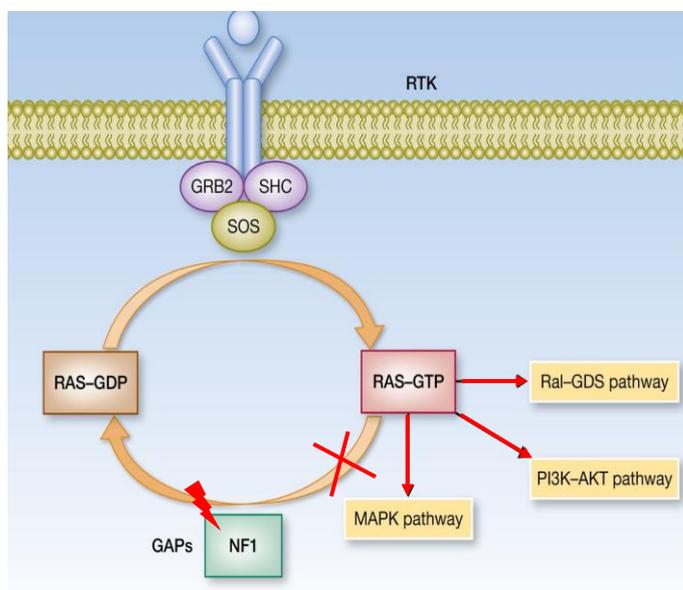
Меланома с мутацией NRAS чаще имеет больший размер и более высокий митотический индекс.

Наличие мутации в гене NRAS связано с низкой общей выживаемостью.



<http://www.malignanttumors.org/jour/article/viewFile/159/169>

## Мутации в гене NF1



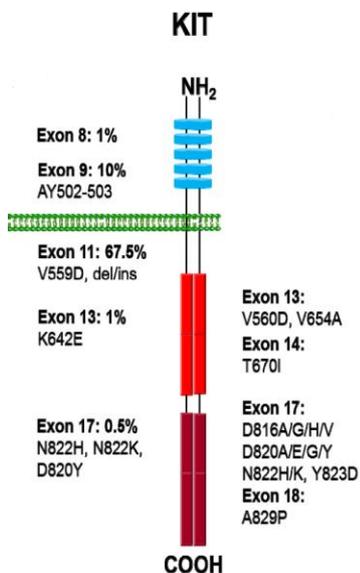
В 5,7% случаев меланомы обнаружены мутации в гене NF1.

Мутации NF1 активируют MAPK каскад и способствуют образованию меланомы, а также могут вызывать устойчивость к ингибиторам BRAF.

Мутации NF1 выявляют в 2% случаев меланомы с мутациями BRAF или NRAS и в 25% опухолей с диким типом BRAF или NRAS.

<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/20/16/4186> <http://www.malignanttumors.org/jour/article/viewFile/159/169>

## Мутации в гене КИТ



Мутации в гене КИТ колеблется от 2 до 45 %.

Мутации КИТ наиболее часто выявляют в меланоме участков кожи, подверженных хроническому УФ-облучению, и слизистых.

Мутации КИТ не встречаются одновременно с мутациями NRAS и BRAF.

Большинство мутаций КИТ представлено точечными заменами в экзоне 11, обеспечивают чувствительность опухолевых клеток к ингибитору тирозинкиназ иматинибу.

Реже встречаются замены в 17-м (N822K) и 13-м (N655K) экзонах, при которых опухоли устойчивы к иматинибу.

<http://www.malignanttumors.org/jour/article/viewFile/159/169> <http://www.nobleresearch.org/Doi/10.14312/2052-4994.2014-8>

## Генетическая классификация меланомы

Подтип	BRAF – 52%	RAS – 28%	NF1 – 14%	Triple Wild – 6%
Мутации	BRAF V600 E/K/R	N/H/K RAS – Q61, G12, G13	NF1 LoF BRAF не V600	KIT PDGFRa GNA11 GNAQ
Особенности	Более молодые пациенты	-	Более пожилые пациенты	Меньшая связь с ультрафиолетовым повреждением
Лимфоидная инфильтрация	30%	25%	25%	40%

<http://umedp.ru/upload/iblock/3c3/korchagina.pdf>

## Генетическое тестирование меланомы

Подтип меланомы	Мутации %					Рекомендации по тестированию	
	BRAF	NRAS	KIT	GNAQ11	BAP1	1-й этап	2-й этап
Кожная меланома	45	15-20	1	-	-	<b>BRAF±NRAS</b>	KIT
Акральная меланома	5-30	10-15	2-17	-	-	<b>BRAF, KIT±NRAS</b>	
Меланома слизистых	5	5-10	15-20	-	-	<b>KIT±NRAS</b>	BRAF
Уvealная меланома	-	-	-	80	50	Экспрессия генов и моносомия 3 хромосомы	-
Меланома без первичного очага	50	20	-	-	-	<b>BRAF±NRAS</b>	KIT

www.peervoice.com/o1/pvr71

### Рекомендации по генетическому тестированию меланомы

Определение мутации BRAF является сегодня необходимым и обязательным условием разработки тактики лечения всех пациентов с неоперабельной/метастатической меланомой кожи.

Пациенты со стадией заболевания IIIС (В) и IV, наличие изъязвлений; наличие 3-х и более метастазов в региональные л/у либо наличие отдаленных метастазов

При отсутствии BRAF- мутации возможно проведение молекулярно-генетического исследования опухоли на наличие с-KIT и NRAS- мутаций.

Для анализа предпочтительно использование метастатической опухоли.



Практические рекомендации по лекарственному лечению больных меланомой кожи общества онкологов-химиотерапевтов. Версия 2018.

## Требования к качеству отправляемого материала для генетического анализа

Предпочтительно использование опухолевого материала, полученного из метастатических очагов при текущем прогрессировании заболевания;

Допускается использование архивного материала (первичная опухоль, регионарные метастазы) при отсутствии возможности проведения биопсии опухоли

Образцы опухолевой ткани должны быть фиксированы в 10% забуференном формалине и залиты в парафин;

Оптимальное количество опухолевых клеток должно быть не менее 50% -70% (минимальное – 20%)



<http://www.cancergenome.ru/>

## Лечение меланомы

Подтип	BRAF – 52%	RAS – 28%	NF1 – 14%	Triple Wild – 6%
Мутации	BRAF V600 E/K/R	N/H/K RAS – Q61, G12, G13	NF1 LoF BRAF не V600	KIT PDGFRa GNA11 GNAQ
Таргетная терапия	MAPK – ингибиторы (BRAF+MEK)	MAPK – ингибиторы (-MEK)	-	RTK- ингибиторы (иматиниб, нилотиниб, суинитиниб)
Иммунотерапия	Ингибиторы контрольных точек, интерликин 2, интерферон альфа -2b			

<http://umedp.ru/upload/iblock/3c3/korchagina.pdf>

## Рекомендации общества онкологов-химиотерапевтов по лекарственному лечению больных меланомой кожи

При наличии в опухоли мутации в гене BRAF V600 в I или последующих линиях рекомендуется назначение комбинации ингибитора BRAF (вемурафениба или дабрафениба) с ингибитором MEK (кобиметинибом или траметинибом). Одновременное назначение ингибитора BRAF и ингибитора MEK обладает большей эффективностью по сравнению с монорежимами этих препаратов, однако при невозможности комбинированной терапии «ингибитор BRAF + ингибитор MEK» возможно проведение монотерапии ингибитором BRAF. Траметиниб, относящийся к группе ингибиторов MEK, обладает большей эффективностью по сравнению со стандартной ХТ (см. раздел 3.4.4.) при мутации гена BRAF, однако его использование в монорежиме не рекомендуется в связи с меньшей эффективностью по сравнению с ингибиторами BRAF. Не рекомендуется также добавлять ингибиторы MEK при прогрессировании на фоне BRAF ингибиторов.

Приоритетным является участие пациентов в клинических исследованиях. При выборе тактики лечения метастатической МК рекомендуется молекулярно-генетическое исследование опухоли с целью выявления BRAF-мутации. При отсутствии BRAF-мутации (в меланоме кожи и слизистых оболочек) возможно проведение молекулярно-генетического исследования опухоли на наличие мутации с-KIT. Определение мутаций в опухолевой ткани должно проводиться только в сертифицированных лабораториях. Для анализа предпочтительно использование метастатической опухоли.

Таблица 3. Рекомендуемые режимы применения ингибиторов BRAF и MEK при распространенной меланоме

Схема лечения	Оценка эффекта
Монотерапия	
<b>Вемурафениб</b> 960 мг внутрь 2 раза в сут. ежедневно, длительно <sup>1</sup>	На неделе 8–10, далее каждые 8–12 недель
<b>Дабрафениб</b> 150 мг 2 раза в сут. ежедневно, длительно <sup>1</sup>	
Комбинированная терапия	
Вемурафениб 960 мг внутрь 2 раза в сут. ежедневно + кобиметиниб 60 мг внутрь в 1–21-й дни, перерыв 7 дней, длительно <sup>1</sup>	На неделе 8–10, далее каждые 8–12 недель
Дабрафениб 150 мг 2 раза в сут. ежедневно + траметиниб 2 мг внутрь 1 раз в сут. ежедневно, длительно <sup>1</sup>	

<sup>1</sup>Лечение проводится до прогрессирования заболевания или развития выраженных токсических явлений.

Практические рекомендации по лекарственному лечению больных меланомой кожи общества онкологов-химиотерапевтов. Версия 2018.



Государственное бюджетное учреждение  
здравоохранения Московской области  
"Московский областной научно-исследовательский  
клинический институт им. М.Ф. Владимирского"



Группа молекулярно-генетических исследований  
на базе отделения морфологической диагностики отдела онкологии

# СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!