

<sup>1</sup> **Московский  
клинический научно-  
практический центр  
имени А.С. Логинова  
Департамента  
здравоохранения  
г. Москвы  
(Москва, Россия)**

<sup>2</sup> **НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина  
Минздрава РФ  
(Москва, Россия)**

# ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОПУХОЛИ И ЭКСПРЕССИИ ALK У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

К.С. Титов<sup>1</sup>, М.А. Барышникова<sup>2</sup>, А.М. Казаков<sup>2</sup>, Д.А. Хоченков<sup>2</sup>,  
Е.П. Ларионова<sup>1</sup>, Д.А. Рябчиков<sup>2</sup>

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF STEM CELLS TUMORS AND ALK EXPRESSION IN PATIENTS WITH PRIMARY SKIN MELANOMA

**К.С. Титов<sup>1</sup>**

Доктор медицинских наук, доцент,  
заведующий онкохирургическим  
отделением опухолей кожи и мягких  
тканей,  
Московский клинический научно-  
практический центр им. А.С. Логинова,  
111123, Москва, шоссе Энтузиастов, 86.  
E-mail: ks-titov@mail.ru.

**М.А. Барышникова<sup>2</sup>**

Кандидат фармацевтических наук,  
заведующая лабораторией эксперимен-  
тальной диагностики и биотерапии  
опухолей, НМИЦ онкологии  
им. Н.Н. Блохина Минздрава РФ,  
115478, Москва, Каширское шоссе, 24.  
E-mail: ma\_ba@mail.ru.

**А.М. Казаков<sup>2</sup>**

Клинический ординатор,  
отделение хирургии опухолей  
молочных желез,  
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.  
E-mail: kazakovich873@gmail.com.

**Д.А. Хоченков<sup>2</sup>**

Кандидат биологических наук,  
заведующий лабораторией биомаркеров  
и механизмов опухолевого ангиогенеза.  
E-mail: khochenkov@gmail.com.

**Е.П. Ларионова<sup>1</sup>**

Клинический ординатор,  
онкохирургическое отделение опухолей  
кожи и мягких тканей.  
E-mail: lena.betxoven@yandex.ru.

**Д.А. Рябчиков<sup>2</sup>**

Доктор медицинских наук,  
ведущий научный сотрудник отделения  
хирургического лечения  
опухолей молочных желез.  
E-mail: dr.denisr@mail.ru.

**K.S. Titov<sup>1</sup>**

Doctor of Medicine, Associate Professor,  
Head of Surgery Department  
of the Skin and Soft Tissues,  
Moscow State Clinical Scientific and  
Practical Center named after A.S. Loginova,  
111123, Moscow, Entusiasts Shosse, 86.  
E-mail: ks-titov@mail.ru.

**M.A. Baryshnikova<sup>2</sup>**

Candidate of Pharmaceutical Science,  
Head of the Laboratory  
for Experimental Diagnosis  
and Biotherapy of Tumors,  
N.N. Blokhin National Medical  
Research Center of Oncology,  
115478, Moscow, Kasbirscoe Shosse, 24.  
E-mail: ma\_ba@mail.ru.

**A.M. Kazakov<sup>2</sup>**

Resident,  
Surgery Department of Breast Tumor  
Surgery,  
N.N. Blokhin National Medical Research  
Center of Oncology.

**D.A. Khochenkov<sup>2</sup>**

Candidate of Biological Sciences,  
Head of Laboratory of Biomarkers  
and Mechanisms of Tumor Angiogenesis.  
E-mail: khochenkov@gmail.com.

**E.P. Larionova<sup>1</sup>**

Resident,  
Surgery Department of the Skin  
and Soft Tissues.  
E-mail: lena.betxoven@yandex.ru.

**D.A. Ryabchikov<sup>2</sup>**

Doctor of Medicine,  
Senior Researcher of the Department  
of Surgical Treatment  
of Breast Tumors.  
E-mail: dr.denisr@mail.ru.

Меланома является наиболее злокачественным и агрессивным новообразованием кожи. Стволовые клетки опухоли (СКО) могут являться одной из причин низкой чувствительности меланомы кожи к химиотерапии, короткого терапевтического эффекта и развития резистентности к таргетной терапии, а также отсутствия эффекта от иммунотерапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. Большое значение придаётся роли СКО в рецидивировании заболевания. СКО так же подвержена различным мутациям, однако часто в ней не определяются драйверные мутации, характерные для меланомы (BRAF, MEK, RAS и др.), данный феномен требует поиска новых мишеней для таргетной терапии, одной из которых может стать киназа Anaplastic lymphoma kinase (ALK).

**Цель исследования:** определить влияние экспрессии маркеров стволовых клеток (ABC5 и CD133) и тирозинкиназы ALK в первичной опухоли на выживаемость пациентов с меланомой кожи I-II стадий.

**Материал и методы:** в работе использованы материалы 48 больных первичной меланомой кожи, выполнена оценка морфологических параметров (толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, наличие изъязвления, степень выраженности лимфоцитарной иммунной инфильтрации, митотический индекс). Экспрессия маркеров СКО (ABC5, CD 133), киназы Anaplastic lymphoma kinase определена иммуногистохимическим методом. Статистическую значимость влияния исследованных параметров на общую (ОВ) и безрецидивную (БРВ) 2-летнюю выживаемость оценивали путём вычисления коэффициента корреляции методом рангов (метод Спирмена).

**Результаты:** маркеры стволовых клеток были обнаружены у 25 (52%) из 48 больных с первичной меланомой кожи. ABC5 экспрессировался у 20 (54%) пациентов, CD133 – у 17 (46%). Коэкспрессия обоих маркеров наблюдалась у 12 пациентов (32%). 2-х летняя ОВ в группе с экспрессией маркеров СКО (первой группе) составила 76%, тогда как в группе без экспрессии маркеров ОВ (второй группе) составила 91,31%. Показатели БРВ также различались между двумя группами: в первой группе БРВ составила 80%, во второй – 91,31%. У 80% пациентов первой группы с метастазами и рецидивами был обнаружен маркер CD133. Выявлена сильная корреляционная связь между увеличением процентного содержания клеток, экспрессирующих CD133, и увеличением уровня инвазии по Кларку. ( $P=0,879\pm 0,107$ ). Выявлена сильная корреляционная связь между увеличением количества клеток в (%), экспрессирующих ABC5, и увеличением толщины опухоли по Бреслоу ( $P=0,943\pm 0,088$ ). Экспрессия киназы ALK была обнаружена у 28% пациентов с выявленными маркерами СКО, статистически значимой связи между прогнозом и наличием ALK обнаружено не было.

**Выводы:** ABC5 и CD133+ являются перспективными маркерами стволовых клеток опухоли в прогнозировании течения первичной меланомы кожи. Связь ABC5 и CD133 с рядом морфологических параметров показывает важность их изучения для понимания фундаментальных механизмов канцерогенеза меланомы. Ингибирование ABC5 и CD133+, а также ALK в перспективе могут служить мишенями для таргетной терапии меланомы.

**Ключевые слова:** стволовая клетка опухоли, ABC5, CD133, ALK, лимфоидная инфильтрация, 2-летняя выживаемость.

Melanoma is the most malignant and aggressive skin tumor. Cancer stem cells (CSCs) can be one of the causes of low sensitivity of skin melanoma to chemotherapy, a short therapeutic effect and the development of resistance to targeted therapy, as well as the lack of effect of immunotherapy with inhibitors of control points of the immune system. Great importance is attached to the role of CSCs in the recurrence of the disease. CSCs is also susceptible to various mutations, but often it does not identify driver mutations characteristic of melanoma (BRAF, MEK, RAS, etc.), this phenomenon requires the search for new targets for targeted therapy, one of which can be Anaplastic lymphoma kinase (ALK).

**Keywords:** tumor stem cell, ABC5, CD133, ALK, lymphoid infiltration, 2-year survival.

## Введение

**М**еланома кожи – агрессивная опухоль из меланоцитов, составляющая 3-4% от всех злокачественных новообразований кожи человека, но при этом на ее долю приходится до 80% смертей в этой группе пациентов [1].

Современные лечебные подходы меланомы кожи включают хирургический метод, таргетную терапию, иммунотерапию, химиотерапию и лучевую терапию. Эффективность лекарственного лечения снижается из-за развития различных механизмов резистентности к препаратам [2]. Одним из таких механизмов является наличие, так называемых, стволовых клеток опухоли (СКО), занимающих около 0,5-5% массы злокачественного новообразования и проявляющих ряд свойств, кардинально отличающих их от

остальных клеток меланомы. СКО являются одной из причин слабой чувствительности меланомы кожи к химиотерапии, короткого терапевтического эффекта таргетной терапии, отсутствие эффекта от иммунотерапии, быстрой прогрессии с высокой частотой метастазирования и рецидивирования [3]. В настоящее время именно с метастазированием СКО связывают случаи отдалённого по времени рецидивирования (через 5-10 и более лет). В СКО возможна активация альтернативных сигнальных путей роста и выживания, таких как WNT5A, PI3K, EGFR-сигнальные пути, делая MAPK не основным промоторным путём, тем самым обеспечивая резистентность к ингибиторам киназ этого каскада, таких как MEK, RAS и BRAF [4, 5]. Одним из возможных механизмов альтернативной активации роста и прогрессии опухоли является повышенная экспрессия киназы ALK. ALK является

рецепторной тирозинкиназой, обладающей повышенной способностью к аутоактивации, что вызывает неконтролируемое деление клеток [6]. Экспрессия ALK была выявлена нами у больных в первичной меланоме кожи [7], однако наличие связи между экспрессией маркеров СКО и киназой представляет интерес, поскольку выявление экспрессии ALK СКО меланомы в перспективе позволит применять ингибиторы ALK в комбинации с существующими методами лечения, что увеличит частоту ответа и уменьшит частоту рецидивов.

На данный момент наиболее характерный фенотип СКО меланомы представлен следующими маркерами: ABCB5, CD133, CD20, CD271, которые также определяют многие свойства СКО [8]. ABCB5 представляет собой белок плазматической мембраны и является членом семейства Р-гликопротеинов человека (ABC-транспортёр). Данный маркер связан с прогрессией, резистентностью к химио- и таргетной терапии, более быстрым метастазированием [9]. При нокауте клеточной линии меланомы по гену ABCB5, объем опухолевой массы за 9 месяцев роста снижался более чем в 3 раза, по сравнению с контрольной клеточной линией меланомы [10].

ABCB5 также связан с мультирезистентностью ко многим химиотерапевтическим препаратам (дакарбазин, цисплатин, паклитаксел и другие). В эксперименте с применением ингибиторов ABCB5 (моноклональные антитела и РНК-интерференция) было показано достоверное снижение резистентности к данным препаратам [10, 11]. Одной из самых важных функций ABCB5 является индуцирование перехода СКО в так называемый медленный цикл (slow-cycling). Находясь в таком состоянии, субпопуляция опухолевых клеток имеет период самоуничтожения более 4-х недель [12]. Переход в медленный цикл делает опухолевую стволовую клетку практически невосприимчивой, как к химиотерапии, так и к таргетной терапии, тем самым давая ещё одно объяснение, помимо активации альтернативных сигнальных путей, феномену краткосрочного эффекта лекарственной терапии [13, 14]. Способность переходить в медленный цикл отчасти объясняет феномен отдалённого по времени рецидивирования и активации метастатических очагов спустя 5–10 и более лет после лечения первичной опухоли [15]. Данный эффект реализуется посредством цитокинового каскада IL-1 $\beta$ -IL8-CXCR1 [16]. Другим важным маркером СКО меланомы является CD133, который является трансмембранным протеином и ассоциируется со стволовыми клетками опухоли, быстрым ростом и метастазированием многих опухолей, в том числе и меланомы [17]. Свойства данного маркера связаны с повышенной метастатической активностью, так как при его гиперэкспрессии повышается экспрессия матричных металлопротеиназ MMP-2, разрушающих межклеточный матрикс и способствующих дальней-

шей инвазии, росту и метастазированию [18]. Одним из важнейших свойств CD133 является способность клеток меланомы, экспрессирующих данный маркер, участвовать в васкулогенной мимикрии (альтернативном ангиогенезе), повышая инвазию и метастазирование опухоли. Примечательно, что на клетках, участвующих в опухолевой васкулогенной мимикрии также отмечается повышенная экспрессия ABCB5 [19, 20].

Таким образом, CD133+ и ABCB5+ СКО, потенциально являются причиной многих нерешенных проблем, связанных с лечением меланомы кожи. Помимо вышесказанного, одно из их главных свойств – образование новых колоний опухолевых клеток, устойчивых к предыдущей терапии, обладающих более агрессивным фенотипом, поскольку клон погибших клеток заменяется на новый, более адаптированный к конкретным условиям. Всё это придаёт СКО чрезвычайно важное значение при прогнозировании, а в дальнейшем и при выборе оптимальной тактики лечения с использованием таргетных препаратов, нацеленных на СКО, у пациентов, имеющих маркеры данных клеток [21].

**Цель исследования:** изучить влияние экспрессии маркеров стволовых клеток (CD133 и ABCB5) и тирозинкиназы ALK в первичной опухоли на выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадий.

## Материалы и методы

Исследование проводилось на операционном материале от 48 пациентов с установленным диагнозом меланомы кожи I–II стадий. Всем пациентам проводилось хирургическое лечение в объёме иссечения опухоли, далее больные с IB и IC стадиями дополнительно получали адъювантную иммунотерапию интерфероном- $\alpha$ -2b (максимально до 12 месяцев). Медиана возраста пациентов составила 58 лет. С IA стадией в исследование вошли 4 пациента (8,3%), с IB – 24 (50%), IIА – 8 (16,6%), IIВ – 4 (8,3%), IC – 8 (16,6%). В 30 (62,5%) случаях была выявлена поверхностно-распространяющаяся пигментная форма меланомы кожи, а в 18 (37,5%) – узловая пигментная меланомы кожи.

Исследование проводили с использованием парафиновых блоков с операционным материалом от 48 больных с первичной меланомой кожи, проходивших хирургическое лечение в МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ в период 2016 года.

Для планового гистологического исследования материал фиксировали 10% нейтральным формалином в течение 24 часов, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4–5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. При морфологическом анализе оценивали следующие признаки: тип меланомы, толщину опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, изъязвление, степень выраженности лимфоидной инфильтрации, митотический индекс (МИ).

Для иммуногистохимического исследования экспрессии маркеров ABCB5 и CD133 срезы с парафиновых блоков депарафинировали и регидратировали по стандартной методике в ксилоле и этиловом спирте. Демаскировку антигенов проводили при обработке срезов на водяной бане при температуре 95°C в цитратном буфере (Dako, Дания) в течение 30 мин. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы инкубировали 5 мин в темноте с 3%-ной перекисью

водорода. Для блокирования неспецифического связывания антител срезы инкубировали 15 мин с 10% раствором бычьего сывороточного альбумина. Использовали моноклональные антитела для выявления антигенов: CD133 (кроличьи поликлональные к CD133 человека, разведение 1:100, ab19898, Abscam) и ABCB5 (клон 5H3C6, разведение 1:200, ab140667, Abscam), инкубацию с антителами проводили при 4°C в течение 16–18 часов.

Таблица 1.

**Текущее состояние, наличие маркеров СКО и морфологические параметры**

Состояние пациентов на момент исследования	№	ABCB5	CD133	Уровень по Кларку	Толщина по Бреслоу (мм)	Митотический индекс	Лимфоидная инфильтрация	Изыязвление
Умер от прогрессирования	№1	2 (60)	0	3	10	>1 на кв.мм.	3	1
Умер от прогрессирования	№2	1 (80)	0	1	1	>1 на кв.мм.	3	1
Умер от прогрессирования	№3	3 (80)	3 (30)	3	0,6	<1 на кв. мм.	2	1
Умер от прогрессирования	№4	3(80)	3(40)	4	5	>1 на кв.мм.	2	1
Умер от прогрессирования	№5	2 (90)	3 (10)	2	2	>1 на кв.мм.	1	0
Умер от прогрессирования	№6	2 (95)	0	5	6	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Прогрессирование	№7	0	3 (50)	3	4	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Прогрессирование	№8	3 (90)	3 (20)	3	2	<1 на кв. мм.	3	1
Жив. Прогрессирование	№9	1 (80)	1 (5)	3	0,5	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Прогрессирование	№10	1 (80)	2 (50)	3	0,3	>1 на кв.мм.	2	1
Жив. Прогрессирование	№11	2 (80)	0	4	3	<1 на кв. мм.	3	1
Жив. Ремиссия	№12	3 (95)	3 (95)	3	3	>1 на кв.мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№13	0	2 (80)	3	0,6	>1 на кв.мм.	3	0
Жив. Ремиссия	№14	3 (20)	2 (10)	4	5	>1 на кв.мм.	0	1
Жив. Ремиссия	№15	3 (50)	2 (15)	2	0,4	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Ремиссия	№16	2 (90)	0	3	1,1	<1 на кв. мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№17	0	2 (30)	3	2	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Ремиссия	№18	3 (90)	3 (20)	2	1,5	>1 на кв.мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№19	3 (90)	0	3	1,5	<1 на кв. мм.	3	0
Жив. Ремиссия	№20	3 (80)	2 (20)	2	1	<1 на кв. мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№21	2 (90)	0	2	0,5	<1 на кв. мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№22	2 (90)	0	4	0,6	>1 на кв.мм.	2	1
Жив. Ремиссия	№23	0	2 (40)	2	1	>1 на кв.мм.	3	1
Жив. Ремиссия	№24	3 (90)	2 (20)	2	2	>1 на кв.мм.	2	0
Жив. Ремиссия	№25	0	2 (30)	3	2	<1 на кв. мм.	0	0

Инкубацию со вторичными антителами, меченными пероксидазой (REAL Envision+ kit, Dako), проводили при комнатной температуре в течение 20 мин. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали хромоген – диаминобензидин (Invitrogen). Срезы докрашивали гематоксилином Майера (Sigma-Aldrich) и заключали в синтетическую основу Shandon Mount (Thermo). Оценку результатов исследования проводили с применением светового микроскопа «NIKON 80i» (Германия). Экспрессию оценивали при помощи бальной шкалы интенсивности (0, 1+, 2+, 3+) и процента (0–100%) позитивных клеток среди всех опухолевых клеток в образце.

Анализ экспрессии тирозинкиназы ALK проводился иммуногистохимическим методом на срезах, изготовленных с тех же блоков. ИГХ исследование с

моноклональными антителами D57.3 к ALK проводилось на иммуностендере Ventana. В качестве системы детекции использовали Ventana для ALK.

Оценку статистической значимости результатов исследования выполняли путём вычисления коэффициента корреляции методом рангов (метод Спирмена).

## Результаты

После анализа полученных данных, результаты которых представлены в табл. 1 и 2, была обнаружена корреляция между наличием маркёров СКО меланомы и рядом морфологических параметров, а также между наличием СКО и ALK.

В табл. 1 представлены данные определения маркёров СКО, а также морфологические параметры

Таблица 2.

*Экспрессия ALK у пациентов с маркерами СКО первичной меланомы кожи*

Состояние пациентов на момент исследования	№	ALK	ABC5	CD133
Жив. Ремиссия	№1	–	3 (95)*	3 (95)
Умер от прогрессирования	№2	–	2 (60)	
Умер от прогрессирования	№3	+	1 (80)	
Жив. Ремиссия	№4	–		2 (80)
Жив. Прогрессирование	№5	+		3 (50)
Жив. Ремиссия	№6	+	3 (20)	2 (10)
Жив. Ремиссия	№7	–	3 (50)	2 (15)
Жив. Прогрессирование	№8	–	3 (90)	3 (20)
Жив. Ремиссия	№9	+	2 (90)	
Жив. Ремиссия	№10	–		2 (30)
Жив. Ремиссия	№11	–	3 (90)	3 (20)
Жив. Прогрессирование	№12	–	1 (80)	1 (5)
Умер от прогрессирования	№13	–	3 (80)	3 (30)
Умер от прогрессирования	№14	+	3(80)	3(40)
Умер от прогрессирования	№15	–	2 (90)	3 (10)
Жив. Ремиссия	№16	–	3 (90)	
Жив. Ремиссия	№17	+	3 (80)	2 (20)
Жив. Ремиссия	№18	–	2 (90)	
Умер от прогрессирования	№19	+	2 (95)	
Жив. Ремиссия	№20	–	2 (90)	
Жив. Прогрессирование	№21	–	1 (80)	2 (50)
Жив. Прогрессирование	№22	–	2 (80)	
Жив. Ремиссия	№23	–		2 (40)
Жив. Ремиссия	№24	–	3 (90)	2 (20)
Жив. Ремиссия	№25	–		2 (30)

опухолей, **характеристики пациентов**, входивших в данное исследование. В табл. 2 отражены результаты определения ALK у пациентов с маркерами СКО меланомы.

Маркеры стволовых клеток были обнаружены у 25 (52%) из 48 больных. ABCB5 был обнаружен у 20 (54%) пациентов с первичной меланомой кожи, CD133 – у 17 (46%). Коэкспрессию наблюдали у 12 пациентов (32%). ALK была обнаружена у 28% пациентов с выявленными маркерами СКО. На рис. 1, 2 и 3 представлены результаты ИГХ окрашивания опухолевого материала, видны положительные по ABCB5, CD133 и ALK клетки.

Пациентов разделили на группы по наличию или отсутствию экспрессии маркеров СКО: в первую группу вошли 25 человек, у которых наблюдали наличие экспрессии ABCB5 и/или CD133, во вторую группу вошли 23 пациента с отсутствием экспрессии СКО. При сравнении первой группы пациентов со второй группой было обнаружено следующее: 2-х летняя общая выживаемость (ОВ) в первой группе составила 76%, тогда как во второй группе ОВ составила 91,31%. Показатели безрецидивной выживаемости (БРВ) так же различались между двумя группами: в первой группе БРВ составила 80%, во второй – 91,31%.

Как видно из сводной таблицы, разные соотношения маркеров СКО не являются предиктором как минимум 2-х летней выживаемости. Такой результат может быть связан с недостаточным сроком исследования, так как прогностический потенциал данных маркеров может проявиться при анализе 5-ти и 10-ти летней выживаемости.

Наличие CD133 у 80% пациентов первой группы с метастазами и рецидивами заставляет задуматься о прогностическом значении. Данный феномен может быть связан с повышенным уровнем инвазии CD133-положительных клеток у таких пациентов и, как следствие, с высокой вероятностью метастазирования, что подтверждается мировыми литературными данными, приведёнными выше.

Нами была выявлена сильная корреляционная связь между увеличением процентного содержания клеток, экспрессирующих CD133, и увеличением уровня инвазии по Кларку ( $P=0,879 \pm 0,107$ ).

Также нами была выявлена сильная корреляционная связь между увеличением процента клеток, экспрессирующих ABCB5, и увеличением толщины опухоли по Бреслоу ( $P=0,943 \pm 0,088$ ), что так же подтверждает участие ABCB5 в прогрессии опухоли.

Было обнаружено увеличение степени лимфоидной инфильтрации у больных с повышенным процентом клеток, экспрессирующих ABCB5, что может говорить о наличии механизмов повышения иммуногенности СКО, несущих данный маркер ( $P=0,8130 \pm 0,137$ ).

ALK была обнаружена у 28% пациентов с выявленными маркерами СКО, что говорит о возможности

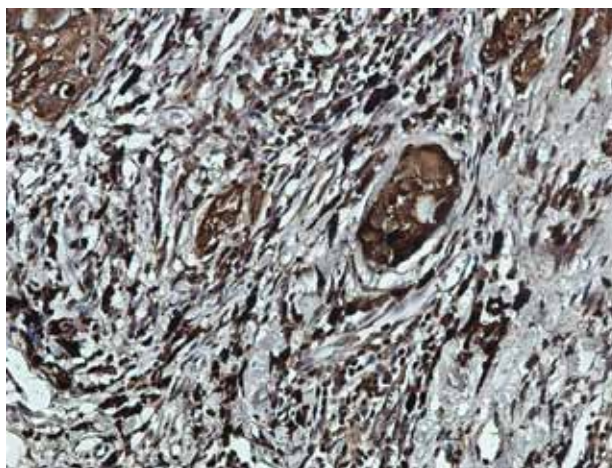


Рис. 1. Экспрессия маркера ABCB5 стволовыми клетками (интенсивность 3+)

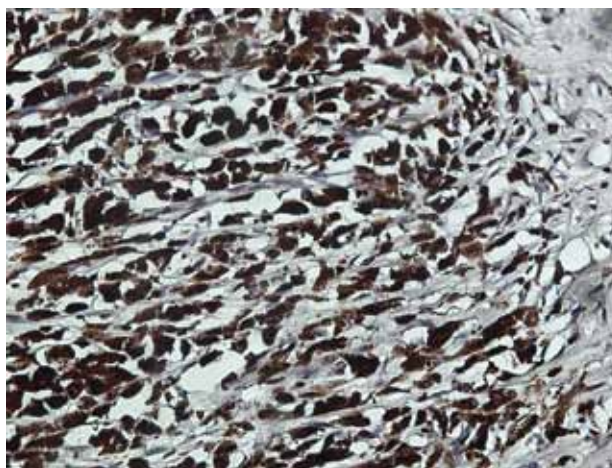


Рис. 2. Экспрессия маркера CD133 стволовыми клетками (интенсивность 3+)

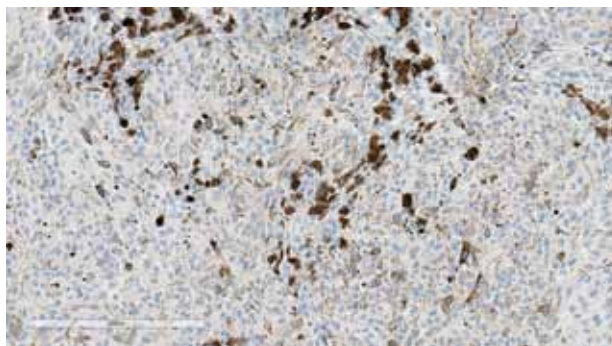


Рис. 3. Экспрессия ALK (интенсивность окрашивания 3+)

активации данного механизма пролиферации у таких пациентов. Возможно, активация этого пути является одним из факторов, способствующих образованию СКО меланомы, или является его следствием. Данный сигнальный путь выявляется у 4–8% людей с первичной меланомой кожи, причем возможна его активация одновременно с другими драйверными мутациями, например BRAF. Двойная блокада данных мутаций может сыграть важную роль

в продлении выживаемости без прогрессирования у данной группы больных. Мутантная киназа чаще ассоциировалась с наличием ABCB5+ опухоли, что может говорить о наличии связи между этими двумя событиями. Данный феномен требует дальнейшего изучения. Статистически значимой связи между 2-летним прогнозом и наличием мутантной киназы обнаружено не было.

### Заключение

Таким образом, определение экспрессии маркёров стволовых клеток опухоли (ABCB5 и CD133) является потенциально перспективным направлением

в прогнозировании течения первичной меланомы кожи. Данные молекулы в будущем могут являться мишенями для новой таргетной терапии меланомы. Выявление выраженной степени лимфоидной инфильтрации с экспрессией ABCB5, показанное нами, открывает новые возможности в понимании патогенеза данной опухоли, которые еще предстоит исследовать.

Наличие экспрессии тирозинкиназы ALK в первичной меланоме кожи открывает перспективную возможность использования ингибиторов ALK (церитиниб, кризотиниб, TAE-684 и др.) в данной подгруппе пациентов.

### Список литературы

1. Valko-Rokytskova M., Bruchata K., Simkova J. et al. Current trends in the treatment of malignant melanoma. *Neoplasma*. – 2016. – Vol. 63, № 3. – P. 333–41.
2. Domingues B., Lopes J.M., Soares P. et al. Melanoma treatment in review. Published online 2018 Jun 7. *ImmunotargetsTher*. – 2018. – Vol. 7. – P. 35–49.
3. Nguyen N., Coutts K.L., Luo Yu. et al. Understanding melanoma stem cells. *Melanoma Manag*. – 2015. – Vol. 2, № 2. – P. 179–188. Published online 2015 May 18.
4. Hartman M.L., Czyz M. MITF in melanoma: mechanisms behind its expression and activity. *Cell Mol Life Sci*. – 2015. – Vol. 72. – P. 1249–60.
5. Chatterjee A., Stockwell P.A., Abn A., et al. Genome-wide methylation sequencing of paired primary and metastatic cell lines identifies common DNA methylation changes and a role for EBF3 as a candidate epigenetic driver of melanoma metastasis. *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 8. – P. 6085–101.
6. Busam K.J., Villain R.E., Lum T. et al. Primary and Metastatic Cutaneous Melanomas Express ALK Through Alternative Transcriptional Initiation. *Am J Surg Pathol*. – 2016. – Vol. 40, № 6. – P. 786–95.
7. Титов К.С., Ротин Д.Л., Казаков А.М. и др. Частота экспрессии тирозинкиназы гена ALK и онкобелка TAG-72 при первичной меланоме кожи. *Российский биотерапевтический журнал*. – 2018. – № 3. – С. 50–54.
8. Parmiani G. Melanoma Cancer Stem Cells: Markers and Functions. *Cancers (Basel)*. – 2016 Mar. – Vol. 8, № 3. – P. 34. Published online 2016 Mar 11.
9. Setia N., Abbas O., Sousa Y., Garb J.L., Mabalingam M. Profiling of ABC transporters ABCB5, ABCF2 and nestin-positive stem cells in nevi, in situ and invasive melanoma. *Mod Pathol*. – 2012. – Vol. 25. – P. 1169–75.
10. Brian J.W., Karim R.S., Jie M. et al. ABCB5 maintains melanoma-initiating cells through a pro-inflammatory cytokine signaling circuit. *Cancer Res*. – 2014 Aug 1. – Vol. 74, № 15. – P. 4196–4207. Published online 2014 Jun 16.
11. Frank N.Y., Margaryan A., Huang Y., Schatton T. et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res*. – 2005 May 15. – Vol. 65, № 10. – P. 4320–33.
12. Roesch A., Fukunaga-Kalabis M., Schmidt E.C. et al. A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth. *Cell*. – 2010 May 14. – Vol. 141, № 4. – P. 583–94.
13. Murphy G.F., Wilson B.J., Girouard S.D., Frank N.Y., Frank M.H. Stem cells and targeted approaches to melanoma cure. *Mol Aspects Med*. 2013.
14. Antonio Abn, Aniruddha Chatterjee, Michael R.E. The Slow Cycling Phenotype: A Growing Problem for Treatment Resistance in Melanoma. *Molecular Cancer Therapeutics*. Published June 2017. – Vol. 16, № 6. – P. 1002–1009.
15. Perego M., Maurer M., Wang J.X. et al. A slow-cycling subpopulation of melanoma cells with highly invasive properties. *Oncogene*. – Vol. 37. – P. 302–312 (18 January 2018).
16. Luo Y., Ellis L.Z., Dallaglio K. et al. Side Population Cells from Human Melanoma Tumors Reveal Diverse Mechanisms for Chemoresistance. *The Journal of investigative dermatology*. – 2012. – Vol. 132, № 10. – P. 2440–2450.
17. Zhong Li. CD133: a stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol*. – 2013. – Vol. 2. – P. 17. Published online 2013 Jul 1.
18. Zhang M., Liu Y., Feng H., Bian X., Zhao W., Yang Z., Gu B., Li Z. CD133 Affects the Invasive Ability of HCT116 Cells by Regulating TIMP-2. *Am J Pathol*. – 2013. – Vol. 182, № 2. – P. 565–576.
19. Chiu-Yan L., Brian E.S., Mei-Yu Hsu. CD133+ Melanoma Subpopulations Contribute to Perivascular Niche Morphogenesis and Tumorigenicity through Vasculogenic Mimicry. *Cancer Res*. – 2012 Oct 1. – Vol. 72, № 19. – P. 5111–5118. Published online 2012 Aug 3.
20. Yashwant m. deo, Tiborkeler. Bispecific molecules directed to tumor associated glycoprotein-72 and fc receptor. 1997.
21. Alamodi A.A., Esbaq A.M., Hassan S.Y. et al. Cancer stem cell as therapeutic target for melanoma treatment. *Histol Histopathol*. – 2016 Dec. – Vol. 31, № 12. – P. 1291–301.

## References

1. Valko-Rokytovska M., Bruchata K., Simkova J. et al. Current trends in the treatment of malignant melanoma. *Neoplasma*. 2016; 63(3): 333-41. doi: 10.4149/301\_151015N533.
2. Domingues B., Lopes J.M., Soares P. et al. Melanoma treatment in review. Published online 2018 Jun 7. doi: 10.2147/ITT.S134842.
3. Nguyen N., Coutts K.L., Luo Yu. et al. Understanding melanoma stem cells. *Melanoma Manag*. 2015 May; 2(2): 179-188. Published online 2015 May 18. doi: 10.2217/mmt.15.4.
4. Hartman M.L., Czyz M. MITF in melanoma: mechanisms behind its expression and activity. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72: 1249-60. doi: 10.1007/s00018-014-1791-0.
5. Chatterjee A., Stockwell P.A., Abn A. et al. Genome-wide methylation sequencing of paired primary and metastatic cell lines identifies common DNA methylation changes and a role for EBF3 as a candidate epigenetic driver of melanoma metastasis. *Oncotarget* 2016; 8: 6085-101. doi: 10.18632/oncotarget.14042.
6. Busam K.J., Villain R.E., Lum T. et al. Primary and Metastatic Cutaneous Melanomas Express ALK Through Alternative Transcriptional Initiation. *Am J Surg Pathol*. 2016; 40(6): 786-95. doi: 10.1097/PAS.0000000000000611.
7. Titov K.S., Rotin D.L., Kazakov A.M. et al. The frequency of ALK gene tyrosine kinase expression and TAG-72 oncoprotein in primary skin melanoma. *Russian Biotherapeutic Journal* 2018; 3: 50-54. doi: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-50-54.
8. Parmiani G. Melanoma Cancer Stem Cells: Markers and Functions. *Cancers (Basel)*. 2016 Mar; 8(3): 34. Published online 2016 Mar 11. doi: 10.3390/cancers8030034.
9. Setia N., Abbas O., Sousa Y., Garb J.L., Mabalingam M. Profiling of ABC transporters ABCB5, ABCF2 and nestin-positive stem cells in nevi, in situ and invasive melanoma. *Mod Pathol*. 2012; 25: 1169-75. doi: 10.1038/modpathol.2012.71.
10. Brian J.W., Karim R.S., Jie M. et al. ABCB5 maintains melanoma-initiating cells through a pro-inflammatory cytokine signaling circuit. *Cancer Res*. 2014 Aug 1; 74(15): 4196-4207. Published online 2014 Jun 16. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0582.
11. Frank N.Y., Margaryan A., Huang Y., Schatton T. et al. ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res*. 2005 May 15; 65(10): 4320-33. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3327.
12. Roesch A., Fukunaga-Kalabis M., Schmidt E.C. et al. A temporarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth. *Cell*. 2010 May 14; 141(4): 583-94. doi: 10.1016/j.cell.2010.04.020.
13. Murphy G.F., Wilson B.J., Girouard S.D., Frank N.Y., Frank M.H. Stem cells and targeted approaches to melanoma cure. *Mol Aspects Med*. 2013. doi: 10.1016/j.mam.2013.10.003. Epub 2013 Oct 19.
14. Antonio Abn, Aniruddha Chatterjee, Michael R.E. The Slow Cycling Phenotype: A Growing Problem for Treatment Resistance in Melanoma. *Molecular cancer Therapeutics*. Published June 2017. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0535.
15. Perego M., Maurer M., Wang J.X. et al. A slow-cycling subpopulation of melanoma cells with highly invasive properties. *Oncogene*; 37: 302-312 (18 January 2018). doi: <https://doi.org/10.1038/onc.2017.341>.
16. Luo Y., Ellis L.Z., Dallaglio K. et al. Side Population Cells from Human Melanoma Tumors Reveal Diverse Mechanisms for Chemoresistance. *The Journal of investigative dermatology*. 2012. doi: 10.1038/jid.2012.161. Epub 2012 May 24.
17. Zhong Li. CD133: a stem cell biomarker and beyond. *Exp Hematol Oncol*. 2013; 2: 17. Published online 2013 Jul 1. doi: 10.1186/2162-3619-2-17.
18. Zhang M., Liu Y., Feng H., Bian X., Zhao W., Yang Z., Gu B., Li Z. CD133 Affects the Invasive Ability of HCT116 Cells by Regulating TIMP-2. *Am J Pathol*. 2013; 182(2): 565-576. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.10.015.
19. Chiou-Yan L., Brian E.S., Mei-Yu H. CD133<sup>+</sup> Melanoma Subpopulations Contribute to Perivascular Niche Morphogenesis and Tumorigenicity through Vasculogenic Mimicry. *Cancer Res*. 2012 Oct 1; 72(19): 5111-5118. Published online 2012 Aug 3. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0624.
20. Yashwant m. deo, Tiborkeler. Bispecific molecules directed to tumor associated glycoprotein-72 and fc receptor. 1997.
21. Alamodi A.A., Eshaq A.M., Hassan S.Y. et al. Cancer stem cell as therapeutic target for melanoma treatment. *Histol Histopathol*. 2016 Dec; 31(12): 1291-301. doi: 10.14670/HH-11-791.