



Еремина Екатерина Николаевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ
ТЕЧЕНИЯ МЕЛАНОМЫ КОЖИ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Зуков Руслан Александрович

Официальные оппоненты:

Самойленко Игорь Вячеславович кандидат медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр имени Н.Н.Блохина», Научно-исследовательский институт клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова, отделение опухолей кожи, заведующий, старший научный сотрудник

Чижевская Светлана Юрьевна доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук", Научно-исследовательский институт онкологии, отделение опухолей головы и шеи, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___»_____2026 г. в ____ часов ____ минут на заседании диссертационного совета Д. 24.1.215.06 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу: г. Томск, пер. Кооперативный, 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___»_____2026 г

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук



Медведева А.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Меланома кожи (МК) – злокачественная опухоль, развивающаяся из аномальной пролиферации меланоцитов, характеризующаяся высокой смертностью и склонностью к метастазированию. При изучении глобальной статистики, меланома занимает 17-е место среди всех видов злокачественных опухолей (GLOBOCAN, 2022). За последние годы число новых случаев увеличилось до 331722, а количество смертей – до 58667. Несмотря на развитие иммунотерапии (Trandafir C. M. et al., 2024; Martínez-Vila C. et al., 2024), МК остаётся одной из опухолей с наиболее быстрым метастазированием, что делает исследование факторов риска критически важным для персонализированного подхода к лечению. Прогноз заболевания напрямую зависит от стадии: пятилетняя выживаемость при ранней (I стадии) составляет около 97 %, тогда как при запущенной (IV стадии) – лишь около 10 % (Hieken T. J. et al, 2015). Таким образом, ранняя диагностика и эффективное лечение остаются основными стратегиями повышения шансов на выздоровление.

Меланома развивается вследствие сложного взаимодействия генетической предрасположенности и факторов окружающей среды (Balch C. M. et al., 1980). Выявление лиц с высоким риском имеет ключевое значение для целенаправленного скрининга и ранней диагностики. Многочисленные модели прогнозирования риска учитывают возраст, семейный анамнез, солнечное воздействие, количество невусов и особенности пигментации кожи (Wan G. et al., 2024; Barnhill R. L. et al., 2015; Evans J. L. et al., 2018). Эти фенотипические признаки имеют чёткую генетическую основу: полиморфные варианты гена *MC1R* являются ключевыми детерминантами светочувствительности и определяют формирование фенотипа высокого риска (I-II фототип, рыжие волосы, веснушки) (Molinaro A. M. et al., 2015; Wendt J. et al., 2018).

Меланома кожи традиционно относится к иммуногенным типам опухолей, что проявляется характерным лимфоидным инфильтратом и возможностью спонтанной регрессии, обусловленной противоопухолевым иммунным ответом. Высокая мутационная нагрузка, вызванная воздействием ультрафиолета, дополнительно формирует уникальный иммунологический профиль этого заболевания (Lim M. J. R. et al, 2023).

Однако ключевой нерешённой задачей в терапии МК является отсутствие персонализированных инструментов для стратификации риска прогрессирования и летального исхода на этапе первичной диагностики, а также соответствующих алгоритмов динамического наблюдения. Биологическим основанием для создания таких инструментов служит взаимодействие фенотипических особенностей, во многом обусловленных полиморфизмом *MC1R*, и локального противоопухолевого иммунитета (TILs). Несмотря на признанную роль каждого из этих факторов в отдельности, их совокупный прогностический вклад и характер взаимосвязи в конкретных региональных популяциях остаются малоизученными. Такой подход позволит перейти к персонализированной тактике ведения пациентов, оптимизировать использование ресурсов здравоохранения и улучшить онкологические исходы.

Степень разработанности темы

Прогнозирование течения меланомы кожи является важнейшей задачей, определяющей тактику лечения и последующего наблюдения. На сегодняшний день разработан ряд прогностических моделей и инструментов, основанных преимущественно на

клинико-морфологических параметрах. Наиболее широко используется система стадирования AJCC (8-е издание, 2017), интегрирующая толщину опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, наличие изъязвления и микросателлитов (Keung E. Z. et al, 2018). Существуют также специализированные онлайн-калькуляторы (например, на основе данных Sunbelt Melanoma Trial), позволяющие оценить риск метастазирования (Wan G. et al, 2024; Barnhill R. L. et al, 2015; Evans J. L. et al, 2018).

Однако анализ литературы, включая обзор Borsika A. Rabin и соавт. показывает, что существующие модели имеют ряд ограничений. Во-первых, они часто созданы для конкретных подгрупп пациентов (например, с локализованной или узловой меланомой) и могут быть менее применимы к неоднородной популяции в реальной клинической практике (Rabbie R. et al, 2019). Во-вторых, они, как правило, фокусируются на узком наборе параметров, не проводя сравнительного анализа прогностической ценности расширенного спектра факторов (клинико-морфологических, иммунологических, генетических) для решения различных задач: прогноза исхода и планирования наблюдения.

Отдельные аспекты прогноза изучены достаточно глубоко. Установлена роль полиморфизмов гена *MC1R* не только как фактора риска развития меланомы, но и как возможного модулятора её агрессивности. Параллельно накоплены убедительные данные о независимом прогностическом значении опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs) как маркера противоопухолевого иммунного ответа (Ladányi A. et al, 2020).

Критическим недостатком является отсутствие комплексных исследований, которые на одной когорте оценили бы, какие именно комбинации из этого широкого пула параметров наиболее значимы для разных этапов клинического принятия решений. Неясно, одни и те же ли факторы оптимальны для математического прогнозирования отдаленного летального исхода и для стратификации пациентов по интенсивности ближайшего наблюдения, особенно в условиях специфики региональной популяции.

Таким образом, актуальной задачей является проведение исследования, которое: 1) на основе всестороннего анализа определит ключевые предикторы для построения высокоточной модели оценки индивидуального риска смерти, и 2) независимо оценит значимость тех же и дополнительных (например, фенотипических) параметров для создания более совершенного алгоритма динамического наблюдения. Такой подход позволит получить не единую упрощенную схему, а дифференцированные рекомендации, основанные на конкретной цели прогнозирования, что соответствует принципам персонализированной медицины.

Цель исследования

Изучение прогностической роли клинико–морфологических и молекулярно–генетических параметров для оптимизации алгоритмов диагностики и динамического наблюдения у больных меланомой кожи.

Задачи исследования

1. Изучить характеристику и частоту встречаемости полиморфных вариантов гена *MC1R* в Красноярском крае среди пациентов с меланомой кожи.
2. Провести комплексный анализ особенностей иммунного микроокружения опухоли у больных меланомой кожи.
3. Определить сопряженность выявленных полиморфных вариантов гена *MC1R* и параметров опухолевого микроокружения с клинико-морфологическими и молекулярно-

генетическими параметрами.

4. На основе сравнительного многофакторного анализа выявить ключевые независимые предикторы и разработать прогностическую модель оценки индивидуального риска летального исхода у больных меланомой кожи.
5. Разработать персонализированный алгоритм динамического наблюдения у больных меланомой кожи после окончания специализированного лечения.

Научная новизна

1. Впервые для больных меланомой кожи Красноярского края охарактеризована частота встречаемости полиморфных вариантов гена *MC1R* (*R151C*, *R160W*, *D294H*, *R163Q*, *I155T*), ассоциированных с высоким риском агрессивного течения. Впервые выявлены ассоциации данных вариантов с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Показано, что наиболее распространённым вариантом является *R160W* (суммарная частота носительства 21,1 %), а гомозиготное носительство *I155T* в данной популяции не зарегистрировано.
2. Впервые в региональной когорте с применением многофакторного анализа установлено, что носительство минорных аллелей С (полиморфизм *D294H*, rs1805009) и С (полиморфизм *I155T*, rs1110400) гена *MC1R* ассоциировано с повышенным риском летального исхода ($HR > 4,0$; $p < 0,05$).
3. Установлено, что прогностическая значимость иммунного микроокружения меланомы определяется не фенотипическим профилем инфильтрирующих клеток, а количественной плотностью и структурной организацией TILs: наиболее благоприятный прогноз ассоциирован с формированием третичных лимфоидных структур (ТЛС) – 5-летняя выживаемость в этой группе составила 96,2 %, тогда как при скудной лимфоидной инфильтрации она снижается до 67,7 % ($p < 0,05$). Впервые на основе комплексного сравнительного анализа разработана высокоточная логистическая регрессионная модель оценки индивидуального 5-летнего риска смерти ($AUC = 0,927$, общая точность 83,9 %), интегрирующая ключевые клинико-морфологические и иммунологические предикторы.
4. Впервые на основе комплексного сравнительного анализа разработана высокоточная логистическая регрессионная модель оценки индивидуального 5-летнего риска смерти ($AUC = 0,927$, общая точность 83,9 %), интегрирующая ключевые клинико-морфологические и иммунологические предикторы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о патогенетических механизмах развития и прогрессирования меланомы кожи. Впервые для региональной популяции Красноярского края систематизированы данные о полиморфизмах гена *MC1R* и их связи с клинико-морфологическими особенностями течения опухолевого процесса, что вносит вклад в понимание генетической архитектуры заболевания в России. Многофакторный анализ подтвердил независимую прогностическую роль опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs) и продемонстрировал ассоциацию носительства аллелей *D294H* и *I155T* гена *MC1R* с повышенным риском летального исхода, углубляя понимание генетических факторов и иммунного ответа в определении агрессивности течения меланомы.

Практическая значимость работы определяется созданием внедряемых в клиническую практику инструментов:

1. Разработана и зарегистрирована в Федеральной службе по интеллектуальной собственности программа для ЭВМ (№ 2023668706 от 31.08.2023), реализующая математическую модель оценки 5-летнего риска летального исхода. Модель, основанная на ключевых независимых предикторах (отягощенный онкоанамнез, уровень инвазии по Кларку, наличие сосудистой инвазии, степень лимфоидной инфильтрации, наличие и количество метастазов), обладает диагностической точностью 83,9 % ($AUC = 0,927$) и предоставляет врачу количественную оценку индивидуального риска.
2. Предложен клинический алгоритм динамического наблюдения, который позволяет дифференцировать периодичность и объём обследований на основе интегральной оценки генетического профиля (*MC1R*) и стандартных прогностических факторов. Это способствует переходу от унифицированного подхода к персонализированному, оптимизируя схему динамического наблюдения пациентов и нагрузку на систему здравоохранения.
3. Выявленные клиничко-фенотипические характеристики, ассоциированные с носительством полиморфизмов *MC1R*, могут служить ориентиром для клинициста при идентификации пациентов с потенциально высоким риском агрессивного течения заболевания на этапе первичной диагностики.

Методология и методы исследования

В основу методологии настоящей диссертационной работы положены современные теоретические и практические основы отечественной и зарубежной онкологии, дерматоонкологии и молекулярной генетики. Диссертация выполнена в соответствии с дизайном исследования.

У группы пациентов ($n = 213$) были изучены клиничко-морфологические и молекулярно-генетические характеристики меланомы кожи, оценена их прогностическая значимость в зависимости от основных параметров заболевания (стадия, толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, наличие изъязвления, сосудистой инвазии и метастазов). Также был проведен комплексный анализ иммунного микроокружения опухоли (опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, TILs) с оценкой их субпопуляционного состава ($CD3+$, $CD4+$, $CD8+$, $CD20+$, $CD56+$) с помощью иммуногистохимического метода, а также исследованы ассоциации полиморфных вариантов гена рецептора меланокортина-1 (*MC1R*: *R151C*, *R160W*, *D294H*, *R163Q*, *I155T*) с клиническим течением заболевания и показателями выживаемости. В качестве предикторов неблагоприятного исхода были проанализированы: носительство минорных аллелей *MC1R*, степень лимфоидной инфильтрации, наличие мутации *BRAF V600E*, а также комплекс стандартных морфологических критериев агрессивности опухоли.

Полученные результаты были проанализированы и обработаны корректными методами статистического анализа с применением многофакторных регрессионных моделей (логистическая регрессия и регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса), что позволило разработать высокоточную прогностическую модель индивидуального 5-летнего риска летального исхода ($AUC = 0,927$) и персонализированный алгоритм динамического наблюдения.

Положения, выносимые на защиту

1. Установлены ассоциации полиморфных вариантов гена *MC1R* (*R151C*, *R160W*, *D294H*, *R163Q*, *I155T*) с клиничко-морфологическими и молекулярно-генетическими параметрами агрессивного течения заболевания у больных меланомой кожи в Красноярском

крае.

2. У больных меланомой кожи прогностическая значимость иммунного микроокружения меланомы определяется не фенотипическим профилем инфильтрирующих клеток, а количественной плотностью и структурной организацией TILs.

3. На основе комплексного сравнительного анализа разработана логистическая регрессионная модель оценки индивидуального 5-летнего риска летального исхода. Модель обладает высокой дискриминационной способностью ($AUC = 0,927$) и диагностической точностью 83,9 % (чувствительность 71,9 %, специфичность 89,1 %).

4. Разработан персонализированный алгоритм динамического наблюдения у больных меланомой кожи после специализированного лечения, который определяет объем и периодичность обследования на основе интегральной оценки генетического профиля (носительство аллелей *MC1R*) и стандартных клинико-морфологических параметров.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия по направлениям исследований: п.2. «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)»; п.3. «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики онкологических заболеваний»; п.4 «Совершенствование методов прогнозирования течения заболевания, оценки эффективности лечения и индивидуального риска развития злокачественных новообразований».

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинического материала, высоким методологическим уровнем работы с использованием современных информативных методов. Обоснованность полученных результатов подтверждается корректной статистической обработкой материала и использованием методов математического моделирования.

Личный вклад автора

Автор диссертации лично осуществил все ключевые этапы научной работы: от первоначального планирования и аналитического обзора литературных источников до сбора эмпирических данных, создания специализированной электронной базы, интерпретации результатов, подготовки статей и непосредственного написания текста исследования.

Апробация материалов диссертации

Результаты диссертационного исследования доложены на II конференции лаборатории биомолекулярных и медицинских технологий "Цифровые лекарства на стыке наук" (Красноярск, 2016), региональной конференции дерматовенерологов и косметологов «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии» (Красноярск, 2016), региональной конференции "Актуальные вопросы дерматовенерологии, косметологии и репродуктивного здоровья" (Красноярск, 2017), научно-практической конференции "Новые технологии в онкологии" (Красноярск, 2018), III Съезде врачей общей практики СФО "На передовой в белых халатах" (Красноярск, 2018), XIX Всероссийском симпозиуме с

международным участием "Сложные системы в экстремальных условиях" (Красноярск, 2018), Всероссийской научно–практической конференции "Современные достижения онкологии в клинической практике" (Красноярск, 2018), школе–семинаре "Современные стандарты диагностики и лечения меланомы кожи" (Москва, 2018), Всероссийской научно–практической конференции с международным участием "Современные достижения онкологии в клинической практике" (Красноярск, 2019), региональной научно–практической конференции дерматовенерологов (Красноярск, 2019), на Втором Байкальско–Енисейском онкологическом форуме (Красноярск, 2020), Всероссийской научно–практической конференции с международным участием "Современные достижения онкологии в клинической практике" (Красноярск, 2021), региональной конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, косметологии и репродуктивного здоровья» (Красноярск, 2022), III Весенний онкологический онлайн–марафон Онлайн весна (Москва, 2022), региональной конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, косметологии и репродуктивного здоровья» (Красноярск, 2023), IV Онкологический онлайн–марафон Онлайн осень (Москва, 2023), региональной конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, косметологии и репродуктивного здоровья» (Красноярск, 2024), Всероссийской научно–практической конференции с международным участием "Современные достижения онкологии в клинической практике" (Красноярск, 2024), V Онкологический онлайн–марафон Онлайн осень (Москва, 2024), Форум онкологов Сибири и Дальнего Востока (Новокузнецк, 2025), Всероссийской научно–практической конференции с международным участием "Современные достижения онкологии в клинической практике" (Красноярск, 2025), региональной конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии, косметологии и репродуктивного здоровья» (Красноярск, 2025).

Работа отмечена дипломом 1 степени на конкурсе молодых ученых имени Е.А. Шкаповой «Лучшая работа в области экспериментальной и клинической онкологии» (Красноярск, 2021) и дипломом за лучшие тезисы на конференции «Меланома и опухоли кожи – 2022» (Москва, 2022).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, одна статья МБЦ (SCOPUS Q1), одна программа для ЭВМ.

Внедрение результатов исследования

Полученные данные интегрированы в лечебно-диагностический процесс КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского». Основные научные выводы также используются в педагогической деятельности на кафедре онкологии и лучевой терапии ФГБОУ ВО Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого в рамках подготовки ординаторов и специалистов по программам ДПО.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка сокращений и цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 24 рисунками и 41 таблицей. Библиография включает 208 источников, из которых 52 отечественных и 166 иностранных.

Работа выполнена при поддержке внутривузовского гранта ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно–Ясенецкого Минздрава России (договор №2.4 от 26.03.2019).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского» (КККОД) в период 2017-2024 гг. В соответствии с целью и задачами работы объектом исследования явились пациенты с меланомой кожи, получившие комбинированное лечение ($n = 213$). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Критерии включения: 18-85 лет; верифицированная МК; наличие парафинового блока; подписанное информированное согласие; радикальное лечение.

Критерии исключения: особые гистологические типы (слизистые, увеальная, беспигментная); метастазы без первичного очага; отказ от подписания информированного согласия.

Объект исследования: Все 213 пациентов были оперированы на первом этапе лечения, радикально – 191 (89,67 %), нерадикально – 22 (10,32 %); опухолевые клетки по линии среза – 9 (4,22 %).

При половозрастном распределении выявлено, что средний возраст составил $56,4 \pm 13,9$ лет, женщины составили 62 %; городской тип проживания – 74 %. Из сопутствующей патологии кожи у наблюдаемых больных меланомой кожи наиболее часто встречались: атипичские невусы – 33 (15,49 %); атипичский дерматит/себорейный кератоз – 24 (11,26 %); базальноклеточный рак – 13 (6,10 %); псориаз – 3 (1,41 %); пигментная ксеродерма – 5 (2,34 %). Первично-множественные опухоли кожи наблюдались у 8 (3,75 %): 7 мужчин (3,28 %), 1 женщина (0,47 %). Фототипы по Fitzpatrick: I – 21 (9,86 %); II – 80 (37,55 %); III – 95 (44,60 %); IV – 17 (8,00 %). Рыжие волосы наблюдались у 22 (10,33 %); веснушки – 94 (44,13 %). Отягощённый онкологический анамнез – 26 (12,20 %): меланома кожи – 7 (3,28 %); рак поджелудочной железы – 4 (1,87 %); глиобластома – 1 (0,46 %); другие ЗНО – 14 (6,57 %).

Стадия (AJCC 8-е изд.): IA – 50 (23,5 %); IB – 28 (13,1 %); IIA – 38 (17,8 %); IIB – 27 (12,7 %); IIC – 33 (15,5 %); IIIA – 6 (2,8 %); IIIB – 10 (4,7 %); IIIC – 10 (4,7 %); IIID – 3 (1,4 %); IV – 8 (3,8 %).

Гистологические варианты: поверхностно-распространяющийся – 76 (35,68 %); узловая меланома – 92 (43,19 %); лентигио-меланома – 33 (15,49 %); лентигиозная – 9 (4,22 %); десмопластическая – 1 (0,46 %); невоидная – 2 (0,93 %). Морфологические показатели: изъязвление – 92 (43,2 %); радиальная фаза роста – 76 (35,7 %); вертикальная – 137 (64,3 %); сосудистая инвазия – 33 (15,5 %); нейротропизм – 7 (3,3 %); микросателлиты – 19 (8,9 %); связь с пигментным невусом – 55 (25,8 %). M_i определялся у 78 (36,6 %); высокий – 24 (11,3 %). Акральные рост – 8 (3,75 %): 3 (1,40 %) женщины.

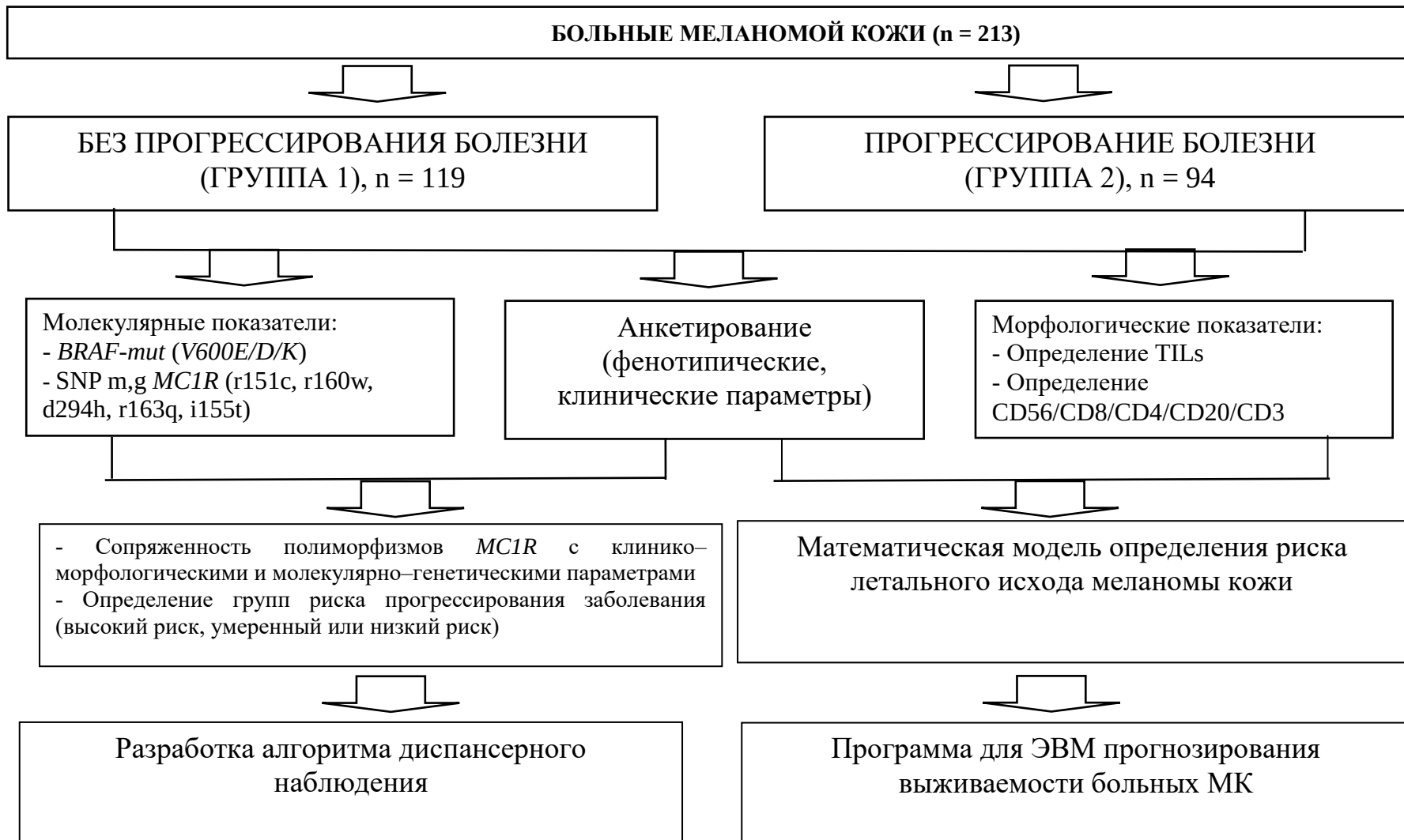


Рисунок 1 - Дизайн исследования

После комбинированного лечения проводилось динамическое наблюдение в течение 60 месяцев. К окончанию исследования умерло 65 пациентов (30,5 %) – смерть связана с прогрессированием заболевания. По клиническому течению разделены на две группы: без прогрессирования – 119 (55,9 %), с прогрессированием – 94 (44,1 %). В группе прогрессирования отдалённые метастазы в паренхиматозные органы – 27 (12,7 %); рецидив в области послеоперационного рубца и мягких тканей – 38 (17,8 %), в кожу и мягкие ткани – 21 (9,9 %); смешанное метастатическое поражение – 33 (15,5 %). Поражение паренхимы лёгких – 18 (8,5 %); печени – 19 (8,9 %); головного мозга – 17 (8,0 %); костей скелета – 4 (1,9 %); смешанное – 9 (4,2 %). Олигометастатическое поражение – 22 (10,3 %), множественное – 72 (33,8 %).

Анамнестические данные получены путём анкетирования; фототип кожи по шкале Fitzpatrick. Морфологический анализ проводился с оценкой: стадии TNM (8-е изд., 2017); гистологического типа; толщины по Breslow, Clark; митотического индекса; изъязвления; лимфоцитарной инфильтрации; фазы роста; сосудистой инвазии, нейротропизма, сателлитов; связи с предшествующим невусом; края резекции.

TILs оценивали по схеме Австралийского института меланомы (MIA), учитывающей плотность инфильтрации (0 – отсутствует, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – выраженная) и её распространённость (0 – отсутствует, 1 – очаговая, 2 – мультифокальная, 3 – диффузная). Оценку проводили два морфолога независимо (слепой метод); при расхождении заключение выносилось коллегиально. ИГХ-окрашивание выполняли с двухшаговой полимерной системой «Super Sensitive™ Polymer-HRP», BioGenex (Дания). Для фенотипирования лимфоцитов использовали моноклональные антитела к CD3, CD4, CD8, CD20 и CD56. Подсчёт CD-позитивных клеток проводили в 5 полях зрения при $\times 400$ с пересчётом на 1 мм².

Генотипирование полиморфизмов *MC1R* проводили на ДНК из лейкоцитов цельной крови, выделенной фенол-хлороформной экстракцией. Амплификацию фрагмента гена *MC1R* длиной 954 п.н. выполняли с ДНК-полимеразой Hot Start Taq («Евроген», Россия) и специфичными праймерами, фланкирующими полиморфный участок (NCBI: NG_012026.1): прямой — 5'-TGGACCTCGAGATGGCTGTGCAGGGATCCCA-3' (сайт рестрикции *XhoI*); обратный — 5'-TCGTGGCGGCCGCTCACCAGGAGCATGTCAG-3' (сайт рестрикции *NotI*). Генотипирование R151C, R160W, D294H, R163Q, I155T — прямым секвенированием по Сэнгеру на ABI Prism 3500 (Life Technologies, США) в ЦКП «Геномика» СО РАН. Мутацию *BRAF V600E* определяли в ДНК из парафинизированной опухолевой ткани методом прямого секвенирования по Сэнгеру на ABI Prism 3500.

Статистическая обработка – «Microsoft Office Excel 2020», «IBM SPSS 22.0». Выживаемость – метод Каплана-Мейера; влияние факторов – регрессия Кокса; независимые факторы – многофакторная регрессия Кокса. Прогностическая модель бинарного исхода (летальный исход в течение 5 лет) – бинарная логистическая регрессия с пошаговым отбором (Forward: LR); качество – по AUC, калибровке (Хосмера-Лемешоу), чувствительности и специфичности. Нормальность – критерий Шапиро-Уилкса; при нормальном распределении – $M \pm m$ и критерий Стьюдента, при отличном от нормального – Me (C25-C75) и критерий Манна-Уитни. Сравнение носителей и не-носителей полиморфизмов *MC1R*: количественные признаки – Манна-Уитни, качественные – χ^2 Пирсона; корреляция – критерий Спирмена. Контроль множественных сравнений – поправка FDR (Бенджамини-Хохберг, $q = 0,05$) отдельно для каждого типа анализа в пределах полиморфизма; значимость – $p < 0,05$ (с учётом поправки, где применялась).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика и частота полиморфных вариантов гена *MC1R* у больных меланомой кожи в Красноярском крае.

Анализ распределения полиморфных вариантов гена *MC1R* проведён у пациентов с меланомой кожи ($n = 213$) в Красноярском крае. Секвенирование гена рецептора меланокортина-1 выявило 5 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP): *R160W* (rs1805008), *R151C* (rs1805007), *D294H* (rs1805009), *R163Q* (rs885479), *I155T* (rs1110400) (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение генотипов по полиморфным локусам гена *MC1R*

SNP	<i>R160W</i> (rs1805008) C>T		<i>R151C</i> (rs1805007) C>T		<i>D294H</i> (rs1805009) G>C		<i>R163Q</i> (rs885479) G>A		<i>I155T</i> (rs1110400) T>C	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Дикий тип (основная аллель)	168	78,9	174	81,7	201	94,4	181	85,0	201	94,4
Гетерозигота (основная/минорная)	42	19,7	35	16,4	11	5,2	30	14,1	12	5,6
Гомозигота по минорной аллели	3	1,4	4	1,9	1	0,5	2	0,9	0	0
Примечание – SNP – однонуклеотидный полиморфизм; в скобках указаны rs-номера полиморфизмов по базе dbSNP										

Распределение генотипов для всех изученных полиморфизмов не отклонялось от ожидаемого в соответствии с законом Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Таблица 2 – Частоты аллелей изученных полиморфных вариантов гена *MC1R* в группе больных меланомой кожи

Варианты <i>MC1R</i>	rs-номера	Аллели	Случаи ($n = 213$), %	χ^2
<i>R151C</i> $C > T$	rs1805007	C (основная) T (минорная)	90,1 9,9	4,4
<i>I155T</i> $T > C$	rs1110400	T (основная) C (минорная)	97,2 2,8	1,31
<i>R160W</i> $C > T$	rs1805008	C (основная) T (минорная)	88,7 11,3	5,58
<i>R163Q</i> $G > A$	rs885479	G (основная) A (минорная)	92,0 8,0	5,74
<i>D294H</i> $G > C$	rs1805009	G (основная) C (минорная)	96,9 3,1	0,01
Примечание – χ^2 – критерий согласия Пирсона, χ^2 рассчитан по сравнению с популяцией Europeans (1000 Genomes); наблюдаемые аллельные частоты, для всех локусов $p > 0,05$				

Таким образом, в исследуемой выборке больных меланомой кожи Красноярского края были выявлены характерные частоты полиморфных вариантов гена *MC1R* (таблица 2). Наиболее распространёнными вариантами, ассоциированными с фенотипом высокого риска,

оказались минорная аллель Т полиморфизма *R160W* (суммарная частота носительства 21,1 %) и минорная аллель Т полиморфизма *R151C* (18,3 %). Полученные данные служат основой для дальнейшего анализа этих ассоциаций с клинико-морфологическими параметрами и являются важной региональной популяционной характеристикой.

Для каждого из полиморфизмов гена *MC1R* далее представлены клинические, фенотипические и патоморфологические характеристики опухоли. Молекулярно-генетические изменения сопоставляли с такими факторами, как пол, наличие сопутствующей патологии кожи, воздействие УФО на кожные покровы, фототип кожи по Fitzpatrick, гистологические характеристики,отягощенный семейный анамнез и прогрессирование онкологического процесса (наличие регионарных и отдаленных метастазов).

Ассоциация полиморфизма гена рецептора меланокортина-1 (*MC1R*) с клинико-морфологическими характеристиками МК, риском метастазирования и выживаемости.

Для оценки ассоциаций полиморфизмов гена *MC1R* рассматривались как категориальные переменные (носитель минорного аллеля vs. дикий тип). Далее приведены ассоциации, сохранившие значимость после поправки FDR, если не указано иное.

D294H. Носительство минорной аллели С – у 12 (5,6 %), все гетерозиготы (GC). Ассоциации: мужской пол (OR = 5,375; 95 % ДИ: 1,410-20,488; $p = 0,011$), вертикальная фаза роста ($p = 0,005$), местные метастазы (OR = 3,743; 95 % ДИ: 1,089-12,867; $p = 0,033$), отсутствие связи с невусом ($p = 0,039$), *BRAF* ($p = 0,025$). Поражение головного мозга – тенденция (OR = 4,452; $p = 0,059$). 5-летняя ОБ ($n = 12$) – 28,4 % vs 66,7 % у дикого типа ($p < 0,001$); медиана ОБ – 31 мес (95 % ДИ 18-44), в контроле не достигнута (средняя 52 мес). БСВ – 33,3 % vs 71,6 % ($p = 0,009$), медиана – 13 мес (95 % ДИ 11-15) (рисунок 2).

I155T. Носительство минорной аллели С – 12 пациентов (5,6 %), все гетерозиготы (TC). Ассоциации: локализация ($p = 0,035$), В-критерий (OR = 7,580; 95 % ДИ: 0,960-59,850; $p = 0,031$), М-критерий ($p < 0,001$). Корреляция: метастазы в лимфоузлах ($r = 0,169$; $p = 0,014$), PUVA-терапия ($r = 0,144$; $p = 0,036$). Толщина по Breslow (медиана 1,9 vs 1,1 мм; $p = 0,046$). 5-летняя БСВ у носителей ($n = 12$) – 41,7 % vs 56,7 % ($p = 0,009$); медиана – 11 мес (95 % ДИ 0–35). ОБ – 58,3 % vs 70 %, $p > 0,05$ (рисунок 3).

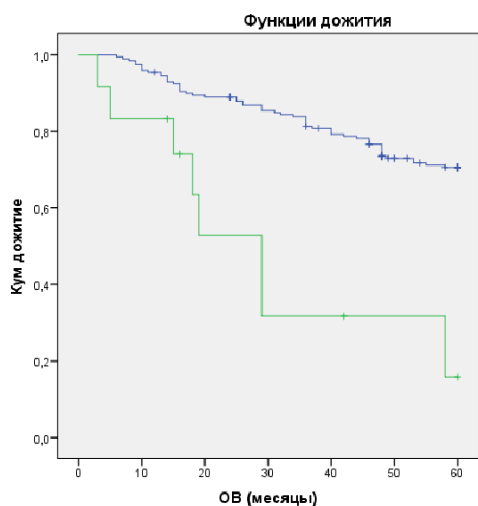
R163Q. Носительство минорной аллели А – 32 пациента (15,0 %). Ассоциации: локализация (OR = 0,193; 95 % ДИ: 0,086-0,435; $p < 0,0001$), семейный анамнез (OR = 8,48; 95 % ДИ: 1,80-39,90; $p = 0,011$). Корреляция: CD4+ лимфоциты ($r = 0,396$; $p < 0,001$), отдалённые метастазы ($r = 0,277$; $p < 0,001$), семейный анамнез ($r = 0,214$; $p = 0,002$), семейный анамнез рака поджелудочной железы ($r = 0,201$; $p = 0,003$).

R160W. Носительство минорной аллели Т – 45 пациентов (21,1 %): 42 гетерозиготы (СТ), 3 гомозиготы (ТТ). Ассоциации: рыжие волосы (OR = 3,32; 95 % ДИ: 1,27-8,68; $p = 0,011$), семейный анамнез (OR = 4,94; 95 % ДИ: 1,06-23,05; $p = 0,035$). Распределение генотипов различалось по рыжим волосам ($\chi^2 = 11,713$; $p = 0,003$), семейному анамнезу ($\chi^2 = 9,243$; $p = 0,010$), размеру пигментных невусов ($\chi^2 = 10,275$; $p = 0,036$). Корреляция: чувствительность кожи к солнцу ($r = 0,240$; $p < 0,001$), ЗНО в анамнезе ($r = 0,277$; $p < 0,001$), *BRAF* ($r = 0,251$; $p = 0,013$).

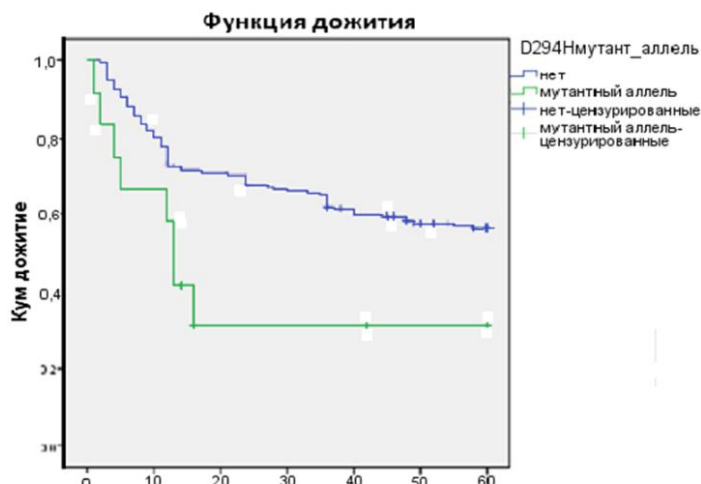
R151C: носительство минорной аллели Т – 39 пациентов (18,3 %): 35 гетерозигот (СТ), 4 гомозиготы (ТТ). Ассоциации: веснушки (OR = 3,12; 95 % ДИ: 1,50-6,48; $p = 0,002$), солнечные ожоги ($p < 0,001$), I-II фототип ($p = 0,008$), множественные меланомы ($\chi^2 = 57,907$; $p < 0,001$), местные метастазы ($\chi^2 = 7,34$; $2p = 0,025$), солнечные ожоги ($\chi^2 = 21,672$; $p < 0,001$), фототип ($\chi^2 = 17,276$; $p = 0,008$), ответ на иммунотерапию ($\chi^2 = 20,934$; $p = 0,007$).

Корреляционный анализ: солнечные ожоги в детстве ($r = 0,319$; $p < 0,001$), категория Т ($r = 0,280$; $p < 0,001$). Толщина по Breslow (медиана 2,3 vs 1,2 мм; $p < 0,001$) и категория Т ($p < 0,001$). При иммунотерапии – тенденция к накоплению гомозигот Т при полном регрессе ($p = 0,007$), но подгруппы малочисленны. Связи с *BRAF* нет.

R151C, *R160W*, *R163Q* – значимого влияния на выживаемость нет: $p = 0,673$; $p = 0,923$; $p = 0,963$ соответственно.

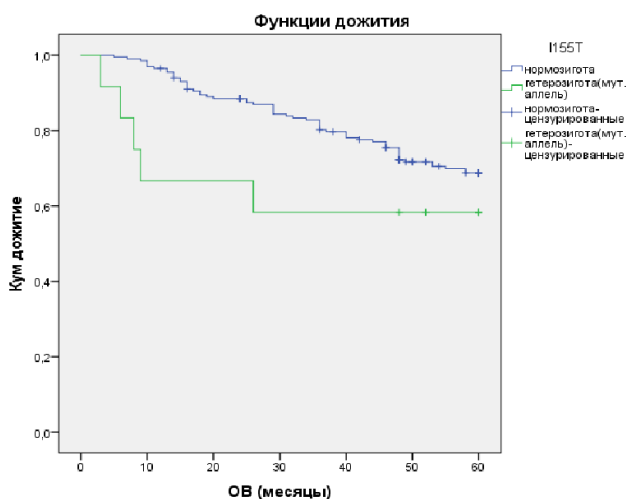


А

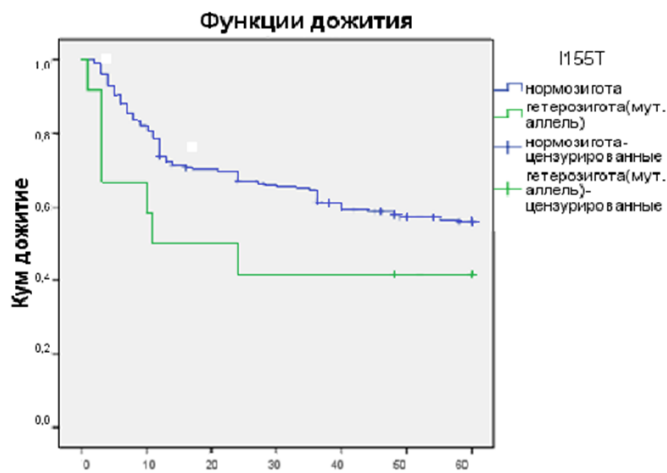


Б

Рисунок 2 - Кривая Каплана–Мейера оценки ОВ и БСВ пациентов после лечения МК в зависимости от аллеля *D294H*



А



Б

Рисунок 3 - Кривая Каплана–Мейера оценки ОВ и БСВ пациентов после лечения МК в зависимости от аллеля *I155T*

Анализ выявил дифференцированные ассоциации полиморфизмов *MC1R* с параметрами МК: *R151C* и *R160W* подтвердили роль модификаторов пигментного фенотипа и предрасположенности к МК, *D294H* и *I155T* – независимую прогностическую значимость по общей выживаемости. *R163Q* показал многофункциональные эффекты, включая возможную иммуномодулирующую роль. Полиморфизмы *MC1R* перспективны для

стратификации риска, но из-за ретроспективного дизайна и малочисленности гомозигот требуют подтверждения в проспективных когортах.

Характеристики опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов и их связь с клинико-морфологическими параметрами меланомы.

Иммунное микроокружение опухоли играет ключевую роль в прогрессии МК. Одним из наиболее значимых параметров является характеристика опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs).

Распределение лимфоидной инфильтрации по схеме MIA: слабая – 62 (29,1 %); умеренная – 93 (43,7 %); выраженная – 32 (15 %); третичные лимфоидные структуры (ТЛС) с признаками регрессии – 26 (12,2 %).

Уровень TILs закономерно снижался по мере прогрессирования: при III–IV ниже, чем при I–II ($p = 0,0001$); от обильной инфильтрации с ТЛС при T1 до скудного перитуморального инфильтрата при T4 ($p = 0,001$). Корреляционный анализ выявил обратную связь TILs с диаметром первичной опухоли, инвазией по Clark и Breslow ($p < 0,001$) и умеренную – с изъязвлением, сосудистой инвазией, нейротропизмом, микросателлитами и положительным краем резекции ($p = 0,005$). Низкий уровень TILs ассоциировался с большим объёмом операции ($p = 0,025$), адъювантной терапией ($p = 0,004$), худшим ответом на неё ($p = 0,017$) и наличием клинических симптомов ($p = 0,035$).

Анализ по Каплану-Мейеру выявил значимые различия ОВ и БСВ в зависимости от уровня TILs (log-rank, $p < 0,001$). Кумулятивная 5-летняя выживаемость возрастала от скудной инфильтрации к ТЛС: для ОВ – 67,7 %, 71,0 %, 76,9 % и 96,2 %; для БСВ – 46,8 %, 58,1 %, 74,4 % и 96,2 % соответственно. Средняя длительность ОВ наибольшая при выраженной инфильтрации ($68,3 \pm 4,3$ мес) и ТЛС ($58,1 \pm 1,9$ мес), при скудной – $37,1 \pm 3,1$ мес ($p = 0,0001$); для БСВ – $62,97 \pm 2,5$ мес и $58,23 \pm 1,7$ мес против $49,60 \pm 2,2$ мес ($p = 0,001$). Наиболее высокая медиана БСВ – при выраженной инфильтрации: 53 мес (95 % ДИ 36,12-57,19).

Прогрессирование опухоли – результат взаимодействия клеток опухоли и иммунной системы. TILs – прогностические факторы ответа на иммунотерапию и ключевые модуляторы прогрессирования. Иммуногистохимия выявила субпопуляции лимфоцитов в микроокружении меланомы: CD3+ – $4582,00 \pm 2592,00$; медиана 3970,00 (2875-6588); CD4+ – $2480,00 \pm 1650,00$; 2236,00 (1400–3400); CD8+ – $1900,00 \pm 1300,00$; 1580,00 (900-3000); CD20+ – $1336,22 \pm 1289,29$; 889,03 (572,77-1754,40); CD56+ – $112,91 \pm 164,48$; 88,31 (36,51-120,39) клеток на 1 мм². В инфильтрате доминировали CD3+ Т-лимфоциты с преобладанием CD4+ над CD8+; CD20+ и CD56+ – в меньшем количестве.

Интегративный анализ показал, что плотность TILs и их субпопуляционный состав ассоциированы с полиморфизмами *MC1R*. Наиболее значим эффект модификации прогностической роли TILs: у носителей редких аллелей *D294H* и *I155T* протективный эффект высокой лимфоидной инфильтрации нивелировался – 5-летняя выживаемость не достигала значений носителей дикого типа ($p < 0,05$). Конституциональные генетические факторы способны модулировать иммунный ответ на опухоль и должны учитываться при оценке прогностической значимости TILs.

Анализ связи субпопуляций лимфоцитов с исходом заболевания (критерий Манна-Уитни) не выявил значимых прямых корреляций: ни один из маркеров (CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD56+) в отдельности или в соотношении CD4/CD8 не показал самостоятельной прогностической значимости ($p > 0,05$). Вместе с тем отмечена устойчивая тенденция к

снижению общего количества лимфоидных клеток при прогрессировании и летальном исходе, что указывает на возможный вклад количественных, а не фенотипических характеристик инфильтрата.

Низкий уровень TILs – прогностически неблагоприятный фактор (большой объем опухоли, глубокая инвазия, изъязвление, сосудистая инвазия, худший ответ на терапию); высокая плотность TILs, особенно в виде ТЛС, – позитивный маркер, коррелирующий с более длительной ОВ и БСВ и снижением риска метастазирования. Наиболее значимый прогностический фактор – не фенотипический профиль клеток, а их структурная организация в виде ТЛС (рисунок 4): 5-летняя выживаемость при ТЛС – 96,2 % против 67,7 % при скудной инфильтрации (превышение в 1,4 раза). Это обосновывает включение оценки ТЛС в патоморфологическую характеристику меланомы как дополнительного прогностического критерия.

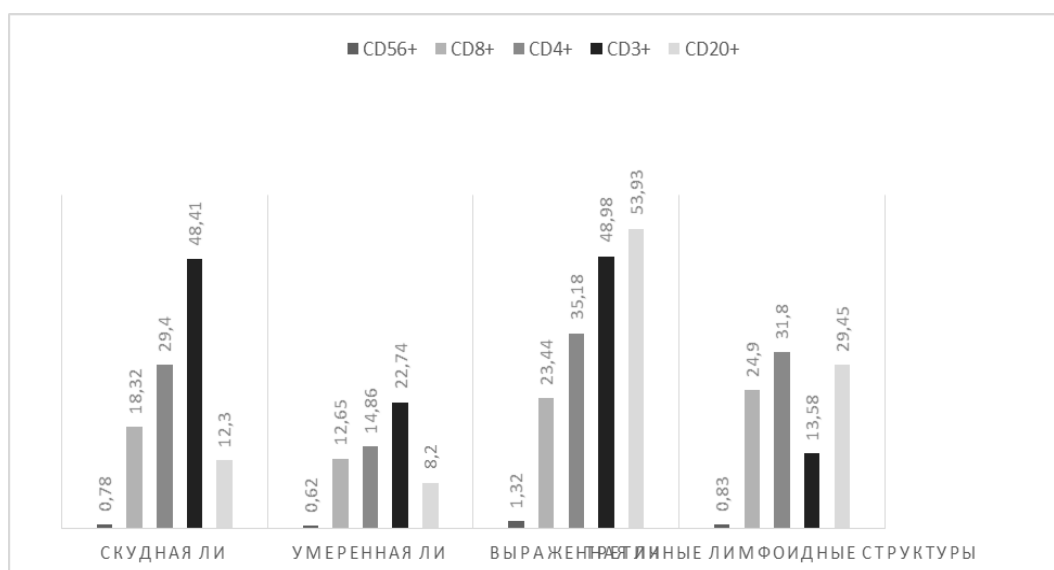


Рисунок 4 – Соотношение субпопуляций лимфоцитов (CD+) в перитуморальном инфильтрате при различной степени лимфоидной инфильтрации

Комплексное исследование систематизировало данные об изменении Т- и В-лимфоцитарных субпопуляций при меланоме кожи. Прямая связь субпопуляций с выживаемостью не достигнута, однако отмечена тенденция к ассоциации более высокого уровня CD20+ В-лимфоцитов с лучшим исходом. Уровень, соотношение и пространственное распределение субпопуляций, а также их связь с клинико-морфологическими параметрами (диаметр, невус, клинические признаки, *MC1R*) указывают на их потенциал как интегративных биомаркеров для стратификации прогноза и персонализации иммунотерапии.

Разработка прогностической модели риска летального исхода у больных меланомой кожи после радикального лечения на основе регрессии Кокса

Для анализа факторов прогрессирования сформированы группы: без прогрессирования ($n = 115$) vs с метастатическим поражением ($n = 98$); для анализа летальности – без летального исхода ($n = 148$) vs с летальным исходом ($n = 65$).

Факторы прогрессирования ($p < 0,05$): мужской пол ($OR = 2,300$; 95 % ДИ 1,307-4,046); атипические невусы (обратная корреляция, $p = 0,030$); больший диаметр образования

и длительность заболевания. Морфологические факторы ($p \leq 0,001$): стадия TNM, толщина по Breslow, инвазия по Clark, узловая и лентиго-меланома, изъязвление, сосудистая инвазия, низкий TILs, вертикальная фаза роста, *BRAF V600E*.

Факторы летальности ($p < 0,001$): мужской пол, толщина по Breslow, Clark и TNM, изъязвлением, сосудистой инвазией, низким TILs ($r = -0,179$), вертикальным ростом. Анамнестические факторы: отягощённый семейный анамнез по и ЗНО других локализаций.

В финальную модель Кокса для БСВ вошли пять независимых предикторов: диаметр опухоли (HR = 1,03 на 1 мм), инвазия по Clark (HR = 1,53), носительство I155T (HR = 3,32), нерадикальная операция (HR = 2,29), отсутствие иммунотерапии (HR = 4,26); AUC = 0,78 (95 % ДИ 0,71-0,85; $p < 0,001$).

В финальную модель Кокса для ОБ вошло девять независимых предикторов (AUC = $0,78 \pm 0,03$; 95 % ДИ 0,71-0,85; $p < 0,001$), при этом ОБ ухудшают группа высокого риска (HR = 1,71), отдалённые метастазы (HR = 2,65), инвазия по Clark (HR = 1,39), низкий TILs (HR = 1,53), местные метастазы (HR = 2,28) и их количество (HR = 2,08), носительство D294H (HR = 4,03) и I155T (HR = 4,05), а снижение риска отмечено только у старшей возрастной группы (HR = 0,73; 95 % ДИ 0,59-0,90).

На основе выявленных независимых предикторов разработана бинарная логистическая регрессионная модель, оценивающая индивидуальный 5-летний риск летального исхода (таблица 4).

Таблица 4 – Сводные данные по регрессионной модели оценки летального исхода

Предикторы	Коэфф. регрессии (b)	Стд. ошибка	Статистика Вальда χ^2	p	OR	95 % Доверит. интервал для OR	
						Нижняя	Верхняя
ЗНО в анамнезе	1,91	0,78	5,95	0,015	6,73	1,45	31,13
Cl, уровни	0,61	0,23	6,75	0,009	1,83	1,16	2,88
Сосудистая инвазия	1,63	0,67	5,95	0,015	5,11	1,38	18,89
Степень ЛИ	0,58	0,27	4,38	0,036	1,78	1,04	3,06
Наличие Mts	1,64	0,51	10,39	0,001	5,14	1,90	13,92
Количество Mts	0,93	0,22	18,29	< 0,001	2,54	1,65	3,88

Модель значима ($\chi^2 = 128,09$; $p < 0,001$), калибровка — Хосмер–Лемешоу ($\chi^2 = 8,013$; $p = 0,432$). Псевдо- R^2 Нагелькерке = 0,644; AUC = 0,927 (95 % ДИ 0,892-0,961; $p < 0,001$); специфичность 89,1 %, чувствительность 71,9 %, верных предсказаний 83,9 %.

Модель интегрирует клинично-анамнестические (семейный онкоанамнез), морфологические (инвазия по Clark, сосудистая инвазия), иммунологические (TILs) и патологические (метастазы) параметры. Рекомендуются для выделения группы наивысшего риска (негативный семейный анамнез, агрессивная опухоль, низкий TILs, метастазы), для которой обоснованы максимально интенсивное наблюдение и все варианты адъювантной и системной терапии.

Финальная модель включает шесть предикторов; вероятность неблагоприятного исхода (p) описывается уравнением (1):

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-5,989 + 1,907x_1 + 0,604x_2 + 1,630x_3 + 0,578x_4 + 1,638x_5 + 0,930x_6)}}$$

p – вероятность смерти пациента; x_1 – наличие других ЗНО в семейном анамнезе (0 – нет, 1 – да); x_2 – уровень по Clark (от 1 до 5); x_3 – наличие сосудистой инвазии (0 – нет, 1 – да); x_4 – степень TILs (0 – скудная, 1 – умеренная, 2 – выраженная, 3 – ТЛС); x_5 – наличие местных метастазов (0 – нет, 1 – да); x_6 – количество метастазов (от 0 до 3). При $p < 1$ – низкий риск развития летального исхода МК, при $p \geq 1$ – высокий риск развития летального исхода заболевания.

Разработка персонализированного алгоритма стратификации риска и динамического наблюдения пациентов с меланомой кожи

Полиморфизмы гена *MC1R* ассоциированы с течением МК, что позволяет рассматривать их как перспективный маркер стратификации риска. Данные о полиморфизмах несут двоякую клиническую информацию: они помогают идентифицировать пациентов с исходно высоким риском развития меланомы и выделить среди уже заболевших тех, у кого выше вероятность агрессивного течения.

На основе полученных результатов предлагается двухуровневая модель оценки риска для определения интенсивности динамического наблюдения после радикального лечения. Наличие аллелей *D294H* и *I155T* ($HR > 4,0$) – самостоятельный критерий очень высокого риска независимо от стадии. Аллели *R151C* и *R160W* выступают модификаторами, потенцирующими риск при исходно неблагоприятных клинико-морфологических характеристиках (стадия IIС-III, I-II фототип, рыжие волосы, веснушки, толщина по Breslow $p < 0,001$, сосудистая инвазия, *BRAF V600E* $p = 0,013$).

Группа очень высокого риска – наличие любого из критериев: носительство аллелей *D294H* или *I155T*; ИЛИ стадия IIС-III в сочетании с I-II фототипом кожи и носительством аллелей *R151C* или *R160W*. Режим динамического наблюдения (дополняет стандартные клинические осмотры): обследование кожи с дерматоскопией; генетическое тестирование на SNP *MC1R*; УЗИ регионарных лимфоузлов каждые 3-4 мес в первые 3 года, затем каждые 6 мес до 5 лет; лучевая диагностика (КТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза с контрастированием или ПЭТ/КТ) каждые 6 мес в первые 3 года, затем ежегодно до 5 лет; МРТ головного мозга с контрастированием – рассмотреть ежегодное проведение в первые 3-5 лет для носителей *D294H*.

Группа высокого риска – наличие любого из критериев: клинико-морфологический критерий – стадия IB–IIA; фенотипический критерий – наличие I-II фототипа кожи в сочетании с носительством аллелей *R151C* или *R160W* при стадии 0-IIA. Режим наблюдения: УЗИ регионарных лимфоузлов каждые 6 мес в первые 3 года, затем ежегодно до 5 лет; лучевая диагностика (КТ органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза) ежегодно в первые 3-5 лет.

Группа стандартного риска – все перечисленные условия: стадия 0-IA; отсутствие аллелей *D294H* и *I155T*; отсутствие фенотипического профиля. Наблюдение – в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями.

Подробный алгоритм динамического наблюдения представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Персонализированный алгоритм динамического наблюдения в зависимости от группы риска

[illegible]

ВЫВОДЫ

1. Впервые на популяции больных меланомой кожи в Красноярском крае охарактеризована частота встречаемости полиморфных вариантов гена *MC1R* – *R151C* (rs1805007), *R160W* (rs1805008), *D294H* (rs1805009), *R163Q* (rs885479), *I155T* (rs1110400). Наиболее распространенным являлся *R160W*: минорная аллель Т выявлена у 21,1 % (гетерозиготы 19,7%, гомозиготы 1,4%). Частота минорных аллелей остальных полиморфизмов: *R151C* (Т) – 18,3 % (16,4 % и 1,9 %), *D294H* (С) – 5,7 % (5,2 % и 0,5 %), *R163Q* (А) – 15,0 % (14,1 % и 0,9 %), *I155T* (С) – 5,6 % (гетерозиготы 5,6 %, гомозигот нет).
2. При комплексном анализе иммунного микроокружения меланомы кожи выявлено следующее распределение TILs: слабая инфильтрация – 62 случая (29,1 %), умеренная – 93 (43,7 %), выраженная – 32 (15%), третичные лимфоидные структуры (ТЛС) с явлениями регрессии опухоли – 26 (12,2%). Установлено, что прогностическая значимость лимфоидной инфильтрации определяется не фенотипическим профилем инфильтрирующих клеток, а количественной плотностью и структурной организацией TILs. 5-летняя общая выживаемость последовательно повышалась от скудной инфильтрации (67,7%) к умеренной (71,0 %), выраженной (76,9 %) и максимальной при наличии ТЛС (96,2 %; $p < 0,001$), что выделяет ТЛС как наиболее благоприятный прогностический фактор.
3. Установлены ассоциации полиморфизмов гена *MC1R* и параметров иммунного микроокружения с клинико–морфологическими и молекулярно–генетическими параметрами. Носительство редких аллелей *D294H* и *I155T* ассоциировано с повышенным риском летального исхода ($p < 0,05$). При этом выявлен эффект модификации прогностической роли TILs: у носителей данных аллелей протективный эффект высокой степени лимфоидной инфильтрации нивелируется. Независимыми предикторами агрессивного течения заболевания являются: низкий уровень TILs ($p < 0,001$), большая толщина опухоли по Бреслоу ($p < 0,001$), наличие изъязвления ($p = 0,005$) и сосудистой инвазии ($p = 0,005$).
4. На основе логистического регрессионного анализа разработана высокоточная модель оценки 5-летнего риска летального исхода у больных меланомой кожи. В финальную модель вошли шесть независимых предикторов: отягощенный семейный онкоанамнез, уровень инвазии по Кларку, наличие сосудистой инвазии, степень лимфоидной инфильтрации, наличие и количество метастазов. Модель обладает высокой дискриминационной способностью ($AUC = 0,927$) и диагностической точностью 83,9 %.
5. Разработан персонализированный алгоритм динамического наблюдения, интегрирующий клинические, морфологические и молекулярно-генетические параметры для стратификации пациентов по риску прогрессирования и объему обследования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно определение полиморфизмов гена *MC1R* (*D294H*, *I155T*, *R151C*, *R160W*) у пациентов с I-II фототипом кожи и/или толщиной опухоли > 2 мм как перспективного метода дополнительной стратификации риска агрессивного течения меланомы кожи.
2. Рекомендуется включить в рутинное гистологическое описание при меланоме кожи оценку уровня и характера TILs по трехбалльной шкале (скудная, умеренная, выраженная) с обязательным указанием наличия организованных третичных лимфоидных структур.
3. В клинической практике рекомендуется использовать зарегистрированную программу для ЭВМ (свидетельство № 2023668706) для автоматизированного расчёта

индивидуального 5-летнего риска летального исхода у больных меланомой кожи на основе разработанной регрессионной модели.

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-5,989 + 1,907x_1 + 0,604x_2 + 1,630x_3 + 0,578x_4 + 1,638x_5 + 0,930x_6)}}$$

где

p – вероятность смерти пациента; x_1 – наличие других злокачественных новообразований в семейном анамнезе (0 – нет, 1 – да); x_2 – уровень инвазии по Clark (от 1 до 5); x_3 – наличие сосудистой инвазии (0 – нет, 1 – да); x_4 – степень лимфоидной инфильтрации (0 – скудная, 1 – умеренная, 2 – выраженная, 3 – третичные лимфоидные структуры); x_5 – наличие местных метастазов (0 – нет, 1 – да); x_6 – количество метастазов (от 0 до 3). При $p < 1$ – низкий риск развития летального исхода МК, при $p \geq 1$ – высокий риск развития летального исхода заболевания.

При $p < 1$ – низкий риск развития летального исхода МК, при $p \geq 1$ – высокий риск развития летального исхода заболевания.

4. При динамическом наблюдении за больными меланомой кожи после специального лечения рекомендуется использовать разработанный персонализированный алгоритм наблюдения в зависимости от риска метастазирования (таблица 9).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ББП / PFS – выживаемость без прогрессирования

ВОЗ / WHO – Всемирная организация здравоохранения

МК – меланома кожи

ОВ / DFS – общая выживаемость

ТЛС – третичные лимфоидные структуры

MC1R – рецептор меланокортина 1

MIA – Институт меланомы Австралии

SNP - Single Nucleotide Polymorphism

TIL / TILS – туморинфильтрирующие лимфоциты

TNM – Международная классификация стадий злокачественных новообразований

ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК, и журналах, издаваемых за рубежом

1. **Еремина, Е. Н.** Новые подходы к организации скрининга злокачественных новообразований кожи [текст] / А. А. Модестов, Э. В. Семенов, Р. А. Зуков, Е. В. Слепов, **Е. Н. Еремина**, Е. Н. Гаас // Сибирский онкологический журнал. – 2017. - Т. 16, № 2. - С.61-65.
2. **Eremina, E. N.** Bioluminescent SNP genotyping technique: Development and application for detection of melanocortin 1 receptor gene polymorphisms [текст] / E. E. Bashmakova, V. V. Krasitskaya, A. A. Bondar, **E. N. Eremina**, E. V. Slepov, R. A. Zukov, L. A. Frank // Talanta. – 2018. – Vol. 189. – P. 111-115.
3. **Еремина, Е. Н.** Молекулярно-генетические маркеры пигментной меланомы кожи (обзор литературы) [текст] / **Е. Н. Еремина**, А. Р. Караханян, Д. А. Титов, Р. А. Зуков // Сибирское медицинское обозрение. – 2020. – Т. 3. – С. 38-46.

4. **Еремина, Е. Н.** Длительная комбинированная таргетная терапия метастатической меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Д. В. Гаврилюк, Р. А. Зуков // Эффективная фармакотерапия. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 74-78.
5. **Еремина, Е. Н.** Оценка влияния современных возможностей противоопухолевой лекарственной терапии меланомы кожи на онкоэпидемиологические показатели в Красноярском крае [текст] / Р. А. Зуков, И. П. Сафонцев, М. П. Клименок, **Е. Н. Еремина** // Российский онкологический журнал. – 2022. – Т. 26, № 4. – С. 111-120.
6. **Еремина, Е. Н.** Влияние полиморфизмов гена рецептора меланокортина-1 (MC1R) на клинико-биологический профиль опухоли и течение меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков // Сибирский онкологический журнал. – 2026. – Т. 25, №. 2. – С. 46-54.

Материалы конференций

1. **Еремина, Е. Н.** Клиническое значение определения полиморфизмов генов у больных пигментной меланомой кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Е. Е. Башмакова, Л. А. Франк // Сибирское медицинское обозрение. – 2016. – Т. 101, № 5. – С. 91-92.
2. **Еремина, Е. Н.** Взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма гена рецептора меланокортина 1 и клинических особенностей течения меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков, Е. В. Слепов, Е.Е. Башмакова, Л. А. Франк // Злокачественные опухоли. – 2016. – Т. 21, № 4S1. – С. 204-205.
3. **Еремина, Е. Н.** Клиническая характеристика пигментной меланомы кожи в зависимости от наличия полиморфизмов R160W, R151C и D294H гена MC1R [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков, Е. В. Слепов, Е. Е. Башмакова, Л. А. Франк // Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии, сборник научных трудов региональной конференции дерматовенерологов и косметологов, посвященной памяти профессора В.И. Прохоренкова, 18 ноября 2016 года, Красноярск. – С. 104-106.
4. **Еремина, Е. Н.** Связь полиморфных локусов гена рецептора меланокортина-1 у больных меланомой кожи в зависимости от ее фенотипа и клинического течения [текст] / **Е. Н. Еремина**, Е. Е. Башмакова, Л. А. Франк // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения онкологии в клинической практике», 24 мая 2017, Красноярск. - С. 49-53.
5. **Еремина, Е. Н.** Влияние лимфоидной инфильтрации опухоли на прогноз у больных меланомой кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Д. А. Вахрунин, К.С. Титов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения онкологии в клинической практике», 23 мая 2019, Красноярск. – С. 22-28.
6. **Еремина, Е. Н.** Влияние уровня лимфогистиоцитарной перитуморальной инфильтрации на течение заболевания больных меланомой кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков // Материалы V Петербургского Международного Онкологического Форума «Белые ночи», 20-23 июня 2019, Санкт-Петербург. - С. 492-493.
7. **Еремина, Е. Н.** Морфологические факторы риска (лимфоидная инфильтрация) в прогнозе течения меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения онкологии в клинической практике», 20 мая 2022, Красноярск. – С. 106-110.
8. **Еремина, Е. Н.** Влияние клинических факторов риска на прогноз течения меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков // Сборник статей региональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии и репродуктивного здоровья», 13-14 октября 2022 года, Красноярск. – С. 95-101.
9. **Еремина, Е. Н.** Клинические факторы риска меланомы кожи и их влияние на

прогноз заболевания [текст] / **Е. Н. Еремина** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные достижения онкологии в клинической практике», 25-27 мая 2023, Красноярск. – С. 95-104.

10. **Еремина, Е. Н.** Влияние лимфоидной инфильтрации опухоли на прогноз заболевания у больных меланомой кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Р. А. Зуков // Сборник тезисов межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы оказания онкологической помощи на территориях с малой плотностью населения», 01-03 август 2024 года, Якутск. – С. 72-74.

11. **Еремина, Е. Н.** Роль различных фенотипических факторов риска в развитии меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Е. А. Горбунова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения онкологии в клинической практике», 17-19 октября 2024, Красноярск. - С.75-84.

12. **Еремина, Е. Н.** Роль фенотипических факторов риска в прогнозе течения первичной меланомы кожи [текст] / **Е. Н. Еремина**, Е. А. Горбунова, Е. В. Донская // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Современные достижения онкологии в клинической практике», 22-24 мая 2025, Красноярск. - С. 75-77.

Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ

1. **Еремина, Е. Н.** Программа для прогнозирования выживаемости больных с меланомой кожи / **Е. Н. Еремина**, Э. В. Семенов, Р. А. Зуков // Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023668706, 31.08.2023. Заявка № 2023667660 от 25.08.2023.