На правах рукописи

Маркин Александр Андреевич

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА МЕЛАНОМЫ КОЖИ ЛОКАЛИЗОВАННЫХ СТАДИЙ

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» на кафедре онкологии и рентгенорадиологии имени академика В.П. Харченко.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор **Титов Константин Сергеевич**

Официальные оппоненты**:**
Позднякова Виктория Вадимовна - доктор медицинских наук, профессор, заведующая хирургическим отделением ООО «ФОРМАДАТЭССЕ».

Яргунин Сергей Анатольевич - доктор медицинских наук, заведующий отделением опухолей кожи, костей и мягких тканей государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клинический онкологический диспансер № 1» министерства здравоохранения Краснодарского края.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68).

Защита состоится «___» _____ 2026 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета ПДС 0300.026, при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: 117198, г. Москва ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300026.

Автореферат разослан «__ » _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент **Епифанова Майя Владимировна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Меланома кожи – одна из самых злокачественных опухолей человека, для которой в России и во многих странах мира характерен неуклонный рост заболеваемости (ежегодный прирост около 3 %). В группе онкологических заболеваний кожи меланома является явным лидером по уровню летальности (до 80 %). В Российской Федерации при первичном обращении к онкологу меланома кожи в 80,3 % случаев выявляется на I–II стадиях и принадлежит к гетерогенной группе заболеваний с разными прогнозом, подходами к лечению и частотой динамического наблюдения (GLOBOCAN, 2022; Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О., 2024).

При локализованных I–II стадиях меланомы кожи наиболее изучены и давно являются стандартными факторами прогноза такие важные патоморфологические параметры, как толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, наличие изъязвления эпидермиса, фаза роста опухоли, митотический индекс и др. (Зарецкий А.Р. и др., 2021; Keung E.Z. et al., 2018). Однако в последние годы с развитием персонализации в онкологии, данные показатели уже недостаточно полно отражают индивидуальность и точность прогноза заболевания при меланоме кожи. Развитие молекулярной генетики и иммунологии значительно улучшило понимание биологических особенностей меланомы кожи, но большой акцент в данных научных исследованиях был сделан на изучении распространенных стадий меланомы кожи. Для большинства выявляемых локализованных (I–II) стадий меланомы кожи на сегодня очевидно недостаточно только стандартных патоморфологических параметров и, несомненно, требуются дополнительные и более углубленные факторы прогноза (Bobos M., 2021). При анализе литературы было выяснено, что наиболее перспективными и не до конца изученными для точности прогноза меланомы кожи являются стволовые опухолевые клетки, наличие киназы анапластической лимфомы (ALK) и опухоль-ассоциированные макрофаги М2. Также следует отметить, что еще в меньшей степени данные биомаркеры изучались для пациентов с I–II стадиями меланомы кожи (Yeh I. et al., 2019; Kusienicka A. et al., 2024).

Таким образом, актуальным и своевременным представляется изучение и определение прогностического значения дополнительных молекулярных и иммунологических факторов при меланоме кожи локализованных стадий.

Степень разработанности темы исследования. Помимо стандартных клинических и патоморфологических факторов прогноза меланомы кожи ранее в мире неоднократно принимались попытки найти новые и дополнительные биологические прогностические факторы. Некоторые исследователи изучали наличие и выраженность стволовых опухолевых клеток с маркером ABCB5 при местно-распространенных стадиях меланомы кожи с метастатическим поражением регионарных лимфоузлов и показали более агрессивное клиническое течение данных опухолей при их наличии. Однако при локализованных стадиях меланомы кожи стволовые опухолевые клетки не изучались. Данные в мировой научной литературе по перестройке гена ALK в первичной опухоли при меланоме кожи весьма ограничены, роль опухоль-ассоциированных макрофагов М2 при меланоме кожи I–II стадий также на сегодняшний день изучена недостаточно.

Поэтому настоящее диссертационное исследование и посвящено поиску новых маркеров локализованной меланомы кожи. Особенностью данной работы является изучение дополнительных молекулярных и иммунологических биомаркеров для повышения точности прогноза и сравнение их со стандартными патоморфологическими факторами, поскольку прогностическая значимость данных факторов ранее была недостаточно изучена у пациентов с меланомой кожи локализованных стадий.

Цель исследования: улучшить точность прогноза меланомы кожи локализованных стадий за счет выявления дополнительных молекулярных и иммунологических биомаркеров опухоли.

Задачи исследования:

1. Изучить встречаемость и значение стволовых опухолевых клеток для прогноза заболевания у пациентов с поверхностно-распространяющимися и узловыми формами меланомы кожи I–II стадий.
2. Определить экспрессию белка ALK в опухолевых клетках поверхностно-распространяющихся и узловых форм меланомы кожи локализованных стадий в качестве фактора прогноза заболевания.
3. Изучить выраженность и влияние на прогноз макрофагов фенотипа М2 в опухолевом микроокружении при узловой форме меланомы кожи I–II стадий.
4. Сопоставить прогностическую значимость стандартных патоморфологических факторов с исследуемыми молекулярными и иммунологическими биомаркерами у пациентов с локализованными стадиями меланомы кожи.

Научная новизна исследования.

Впервые определена прогностическая значимость стволовых опухолевых клеток у пациентов с меланомой кожи I–II стадий. Изучена прогностическая роль экспрессии белка ALK и выраженности макрофагов М2 в первичной опухоли у пациентов с меланомой кожи локализованных стадий.

Впервые проведено сравнение стандартных патоморфологических факторов прогноза с дополнительными молекулярными и иммунологическими биомаркерами опухоли.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследование направлено на оценку роли дополнительных молекулярных и иммунологических факторов для более точного прогноза и индивидуальной оценки течения меланомы кожи туловища и конечностей локализованных стадий, что расширило фундаментальные представления о ее биологических свойствах. Выявленные дополнительные биомаркеры в комбинации с оценкой клинической формы меланомы кожи могут более точно определять прогноз заболевания по сравнению только со стандартными прогностическими патоморфологическими факторами.

В практическом плане пациентам с меланомой кожи I–II стадий целесообразно определять в опухоли наличие экспрессии белка ALK и наличие стволовых клеток с маркером АВС-транспортера (ABCB5+) и при обнаружении которых необходимо чаще и более углубленно проводить динамическое наблюдение и обследования.

Методология и методы исследования. Работа содержит анализ историй болезни и амбулаторных карт пациентов с первичной меланомой кожи туловища и конечностей I–II стадий, которым было проведено хирургическое или комбинированное лечение в онкологических отделениях ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2015 по 2020 гг. Критерии включения в исследование: возраст 18–85 лет, меланома кожи туловища и конечностей I–II стадий, пациенты, проходившие хирургическое или комбинированное лечение в МКНЦ им. А. С. Логинова ДЗМ в период с 2015 по 2020 гг., ECOG 0-2, полная завершенность лечения, пациенты, проходящие контрольные обследования и динамическое наблюдение у районного онколога.

Критерии невключения в исследование: меланома кожи головы и шеи; меланома кожи in situ (0 стадии), III–IV стадии; ECOG 3-4, первичные пациенты с локальными рецидивами меланомы кожи, первично-множественные злокачественные образования, срок хранения биоматериала более 5 лет на момент включения в исследование и проведения иммуногистохимии (ИГХ).

Все случаи были гистологически верифицированы с дополнительным проведением иммуногистохимического исследования (ИГХ-исследования). Сбор и обработка материала выполнялись в разработанной электронной базе с деперсонализированными данными пациентов и применением многопольных электронных таблиц Excel (Microsoft), анализ данных проводился с использованием программного обеспечения jamovi (версия 2.2.5) и RStudio (версия R 4.3.3).

Положения, выносимые на защиту:

1. Частота встречаемости стволовых опухолевых клеток у пациентов с поверхностно-распространяющимися и узловыми формами меланомы кожи I–II стадий сопоставима. Наличие стволовых опухолевых клеток с маркером ABCB5+ в сочетании с узловой формой меланомы кожи ассоциировано с увеличением риска прогрессии опухолевого процесса и большей вероятностью летального исхода у данных пациентов.
2. Встречаемость экспрессии белка ALK сопоставима у пациентов с поверхностно-распространяющимися и с узловыми формами меланомы кожи локализованных стадий. Наличие экспрессии белка ALK в опухоли увеличивает риски ее прогрессии в 4,29 раза.
3. Наличие макрофагов фенотипа М2 и их выраженность не влияют на прогноз заболевания и не ухудшают выживаемость пациентов с узловой формой меланомы кожи I–II стадий.
4. Прогностическая модель меланомы кожи локализованных стадий при наличии стволовых опухолевых клеток и узловой формы опухоли независимо улучшает точность прогноза при 5-летнем периоде наблюдения по сравнению со стандартными патоморфологическими факторами прогноза.

Степень достоверности результатов проведенного исследования. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством клинических наблюдений (72 пациента), включенных в исследование, использованием современных методов инструментальной, патоморфологической (включая ИГХ-

исследование), молекулярно-генетической диагностики и радикального хирургического и комбинированного лечения, а также корректной статистической обработкой данных.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из поставленных цели, задач и полученных результатов, убедительно иллюстрированных таблицами и рисунками.

Данные, полученные в ходе диссертационной работы, были представлены и обсуждены на: XXVII Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2023); II Научно-практической конференции «Меланома и рак кожи» (Москва, 2024); XIV Всероссийском форуме Национального Альянса дерматовенерологов и косметологов с международным участием «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики» (Москва, 2024).

Апробация диссертации состоялась 15.04.2026 г. на расширенном заседании кафедры онкологии и рентгенорадиологии имени академика В. П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» с участием сотрудников отделения реконструктивно-пластической хирургии и онкологии молочной железы и кожи, отдела опухолей головы, шеи и микрохирургии, отдела патоморфологии, отделения патологической анатомии МНИОИ имени П. А. Герцена – филиала Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, химиотерапевтического отделения № 3, отделения патологической анатомии ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», а также отделения общей онкологии Центра амбулаторной онкологической помощи ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы».

Личный вклад автора в полученные результаты, изложенные в диссертации. Автор принял активное участие в формировании дизайна исследования. Также автором был проведен тщательный анализ отечественной и зарубежной литературы, отражающей современное состояние проблемы, рассматриваемой в диссертации, были детально изучены амбулаторные карты и истории болезни пациентов. Автором собрана и обработана информация, необходимая для проведения данного исследования, с последующим статистическим анализом, оценкой полученных результатов и заключением.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную деятельность ГБУЗ МКНЦ им. А.С. Логинова ДЗМ и в учебный процесс кафедры онкологии и рентгенорадиологии имени академика В.П. Харченко медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

Соответствие паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия: п. 2 направлению исследований (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. 10 (Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдаленных результатов).

Публикации по теме диссертации. По материалам диссертации опубликовано 4 печатных работы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России: из них 2 в международных базах цитирования (Scopus, Web of Science).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа построена по традиционному плану, она изложена на 116 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственного исследования, обсуждения, заключения, списка сокращений и условных обозначений, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Диссертационная работа проиллюстрирована 34 таблицами и 22 рисунками. Библиография включает 137 литературных источников: 24 российских и 113 зарубежных. Количество ссылок за последние 5 лет (с 2021 г. включительно) составляет 72,3 % (99 источников).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Диссертационное исследование выполнено на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы» и на кафедре онкологии и рентгенорадиологии имени академика В. П. Харченко медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

Диссертационное исследование состоит из двух последовательных этапов.

На **первом этапе** был проведен ретроспективный анализ данных 48 пациентов с первичной меланомой кожи туловища и конечностей I–II стадий, из которых у 30 пациентов диагностирована поверхностно-распространяющаяся, у 18 – узловая форма меланомы.

Все пациенты проходили хирургическое или комбинированное лечение в ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2015 по 2016 гг. Был выполнен пересмотр готовых гистологических препаратов операционного материала с определением стандартных патоморфологических факторов прогноза (фаза роста, толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, изъязвление эпидермиса, митотический индекс, нейротропизм, состояние краев резекции). Далее проводилось определение клеточного состава и иммунофенотипа лимфоцитарного инфильтрата первичной меланомы кожи.

ИГХ-исследование выполнялось на серийных депарафинизированных срезах опухолевой ткани первичных меланом кожи с использованием диагностических антител к маркерам стволовых клеток опухоли – кроличьих поликлональных антител трансмембранного протеина, ассоциирующегося со стволовыми клетками опухоли (CD133), разведенных 1:100. Abcam, ab140667 для выявления экспрессии ABCB5 – клон 5н3С6, разведение 1:200. Экспрессия маркеров стволовых клеток опухоли оценивалась с помощью шкалы интенсивности (0, 1+, 2+, 3+) и процента (0–100 %) клеток в образце, экспрессирующих маркеры стволовых клеток опухоли.

Анализ экспрессии тирозинкиназы ALK также проводился иммуногистохимическим методом на срезах, изготовленных с тех же блоков. ИГХ-исследование с моноклональными антителами D57.3 к ALK проводилось на иммуностейнере Ventana. В качестве системы детекции использовали Ventana для ALK. Далее на ALK+ образцах проводили молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР для подтверждения перестройки гена ALK.

Второй этап исследования был проспективным – выполнен из парафиновых блоков операционного материала, полученного от 24 пациентов только с узловой формой меланомы кожи (толщина опухоли от 1,0 мм до 13,0 мм по Бреслоу (T2a–T4b)), проходивших хирургическое или комбинированное лечение в «Московском клиническом научно-практическом центре имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2017 по 2020 гг.

ИГХ-исследование опухолевого микроокружения узловой меланомы кожи для выявления макрофагов М2 выполнено на иммуностейнере Ventana BenchMark XT с использованием системы детекции ultraView Universal DAB Detection kit и антител трансмембранного протеина, ассоциирующегося с М2-макрофагами CD163 (polyclonal). Подсчет осуществлялся в соответствии с 7-уровневой шкалой, предложенной группой Австралийского института меланомы (2012) и представляющей собой модифицированную систему Кларка (Таблица 1).

Таблица 1 – Градация плотности и распределения макрофагального инфильтрата

Градация	0	1	2	3
Плотность инфильтрата	Отсутствует	Слабая	Умеренная	Выраженная
Распределение инфильтрата	Отсутствует	Фокальное	Мультифокальное	Диффузное

Таким образом, выделяли 4 степени выраженности макрофагальной инфильтрации:

– 0 – отсутствует инфильтрация;

– I – слабая/умеренная фокальная или слабая мультифокальная;

– II – выраженная фокальная, или умеренная/выраженная мультифокальная, или слабая диффузная;

– III – умеренная/выраженная диффузная инфильтрация.

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения jamovi (версия 2.2.5) и RStudio (версия R 4.3.3).

Для анализа потенциальных предикторов безрецидивной и общей выживаемости пациентов с учетом временного интервала нами был использован анализ выживаемости с построением кривых Каплана – Мейера, а также моделей пропорциональных рисков Кокса (регрессионных моделей Кокса с расчетом отношений рисков (ОР) и 95% доверительных интервалов (ДИ)) как в случае наличия одного, так и в случае наличия нескольких предикторов (однофакторные и многофакторные регрессионные модели Кокса соответственно). Сравнение кривых выживаемости проводилось с использованием

лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса. Различия и предикторы считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для сравнения моделей пропорциональных рисков Кокса в отношении прогрессии меланомы кожи во времени нами был проведен зависимый от времени ROC-анализ (time-dependent ROC) с построением графиков зависимых от времени значений площадей (AUC) под ROC-кривыми (time-dependent AUC) с шагом в 1 месяц.

Результаты собственных исследований. На **первом этапе** исследования была оценена встречаемость стволовых опухолевых клеток в поверхностно-распространяющихся и узловых формах меланомы кожи I–II стадий. Наличие и характеристики стволовых опухолевых клеток, экспрессирующих ABCB5 и CD133, были оценены у 48 пациентов: 30 с поверхностно-распространяющимися и 18 с узловыми формами меланомы. Наличие экспрессии ABCB5 и CD133 представлено на Рисунках 1 и 2.

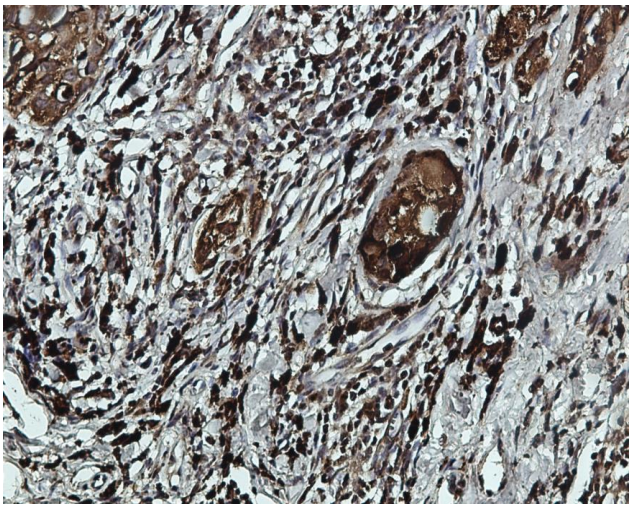


Рисунок 1 – Экспрессия маркера ABCB5 в стволовых опухолевых клетках (интенсивность 3+)

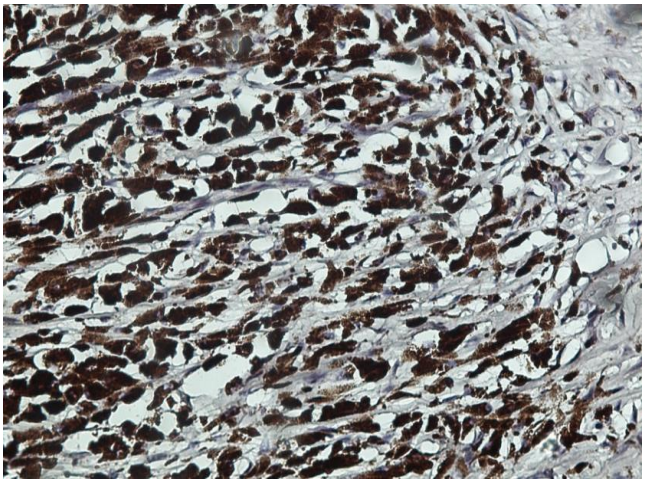


Рисунок 2 – Экспрессия маркера CD133 в стволовых опухолевых клетках (интенсивность 3+)

Оказалось, что стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие ABCB5 и CD133, встречаются с одинаковой частотой при двух изучаемых формах меланомы кожи. Интенсивность окраски ABCB5+ и CD133+ в обеих группах также оказалась сопоставима. При представлении интенсивности окраски ABCB5 в виде бинарной величины «окраска отсутствует/слабая и умеренная/выраженная» статистически значимых различий в зависимости от формы меланомы также не было выявлено (p = 0,483).

Аналогичные данные были получены и для CD133+ стволовых опухолевых клеток. Маркер CD133+ выявлялся на стволовых клетках опухоли у 33,3 % пациентов с узловыми меланомами (6 из 18 образцов) и у 36,7 % с поверхностно-распространяющимися формами меланомы кожи (11 из 30 образцов). Интенсивность окраски CD133+ в двух группах также оказалась сопоставима (p = 0,262). При представлении интенсивности окраски CD133 в виде бинарной величины «окраска отсутствует/слабая и умеренная/выраженная» статистически значимых различий в зависимости от формы меланомы кожи также не было выявлено (p = 0,752).

Графическое представление распространенности стволовых опухолевых клеток в узловых и поверхностно-распространяющихся формах меланомы показано на Рисунке 3.

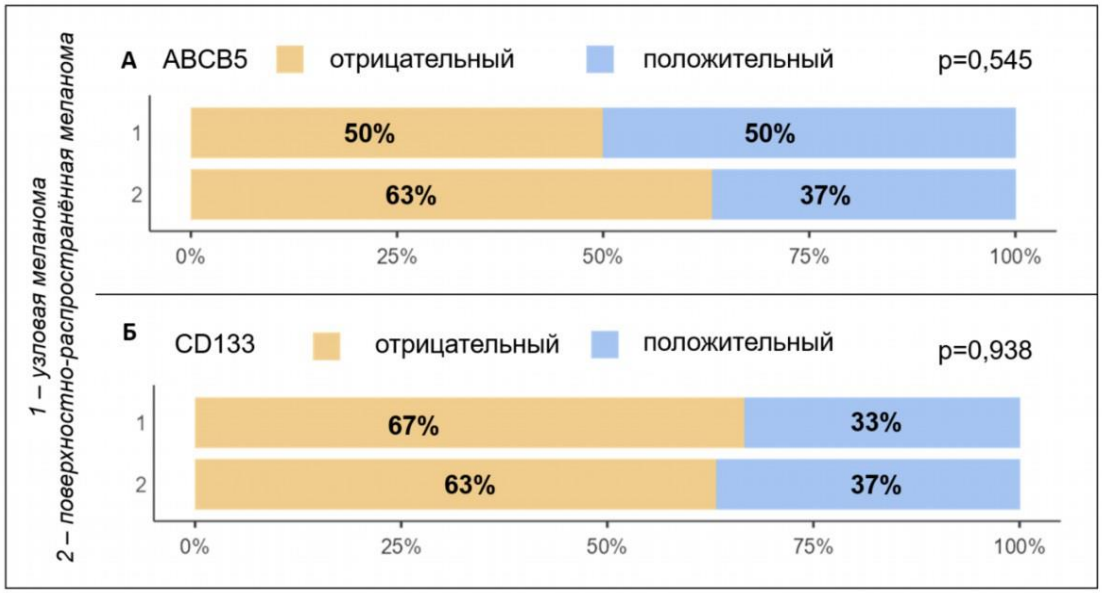


Рисунок 3 – Распространенность стволовых опухолевых клеток ABCB5 (А) и CD133 (В) в узловых и поверхностно-распространяющихся формах меланомы кожи I–II стадии

Для оценки прогностической значимости стволовых опухолевых клеток в отношении прогрессии меланомы кожи пациентов на первом этапе было проведено сравнение характеристик стволовых опухолевых клеток среди пациентов с прогрессией и без нее. У пациентов с прогрессией меланомы кожи стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие ABCB5, встречались чаще, чем у пациентов без прогрессии (58,3 и 36,1 % соответственно).

Похожие данные были получены и в отношении стволовых опухолевых клеток, экспрессирующих CD133. У пациентов с прогрессией меланомы кожи стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие CD133, встречались чаще, чем у пациентов без прогрессии (50,0 и 30,6 % соответственно), однако различия также оказались статистически незначимыми (p = 0,300).

Для оценки безрецидивной выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадий при различных сроках наблюдения в зависимости от наличия и отсутствия опухолевых стволовых клеток, экспрессирующих ABCB5 и CD133, был проведен анализ выживаемости.

Согласно полученным данным, 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи без стволовых опухолевых клеток с маркером ABCB5 составила 82 %, что превышало аналогичные показатели для пациентов со стволовыми опухолевыми клетками ABCB5+. 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с наличием стволовых опухолевых клеток ABCB5+ составила 61 %.

В то же время 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов без стволовых опухолевых клеток CD133 составила 80 %. 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с наличием стволовых опухолевых клеток CD133+ составила 63 % соответственно.

На следующем этапе безрецидивная выживаемость пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия и распределения стволовых опухолевых клеток была представлена с помощью кривых Каплана – Мейера (Рисунок 4).

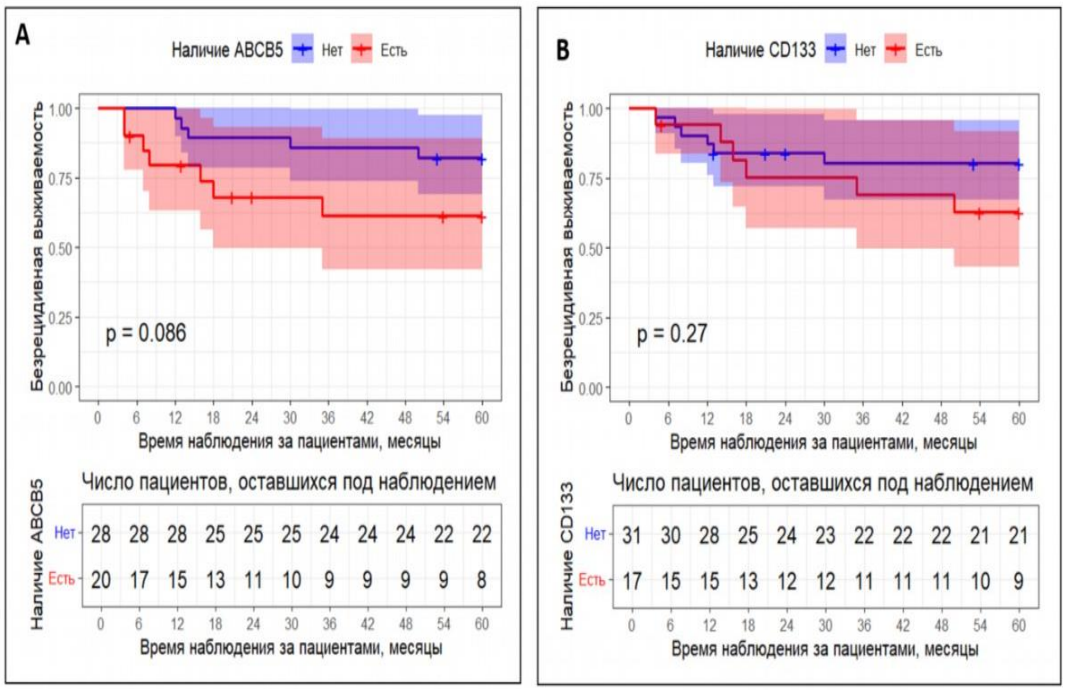


Рисунок 4 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия стволовых опухолевых клеток ABCB5 (A), наличия стволовых опухолевых клеток CD133 (B)

Такие факторы, как «наличие ABCB5» и «процент клеток, экспрессирующих ABCB5+», обладали пограничным уровнем значимости (p = 0,099 и p = 0,096 соответственно), демонстрируя, что наличие ABCB5+ ассоциировано с более высокими рисками прогрессии.

При построении многофакторных моделей статистически значимых параметров стволовых клеток, влияющих на риски прогрессии меланомы кожи, также выявлено не было. При этом введение в модели со стволовыми клетками параметра «гистологический тип меланомы» показало, что именно он является независимым фактором прогрессии опухоли I–II стадии с учетом наличия стволовых опухолевых клеток ABCB5+ и CD133+, а также с учетом интенсивности их окраски. Так, риски прогрессии увеличивались в 7,193 раза при узловой форме меланомы кожи независимо от наличия стволовых опухолевых клеток ABCB5 и CD133. Риски прогрессии уменьшались в 7,064 раза при поверхностно-распространяющейся форме меланомы кожи и, соответственно, увеличивались на аналогичные показатели при узловой форме независимо от интенсивности окраски стволовых опухолевых клеток ABCB5 и CD133.

Прогностическая значимость стволовых опухолевых клеток в общей выживаемости пациентов с узловой и поверхностно-распространяющейся меланомой кожи I–II стадии. Для оценки прогностической значимости стволовых опухолевых клеток в отношении общей выживаемости пациентов было проведено сравнение характеристик стволовых опухолевых клеток среди пациентов с летальным исходом и без него.

У пациентов с летальным исходом стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие ABCB5, встречались чаще, чем у пациентов без летального исхода (61,5 и 34,3 % соответственно), однако различия оказались статистически незначимыми при пограничном уровне значимости (p = 0,085), что может быть связано с небольшим количеством пациентов в каждой из групп.

Стволовые опухолевые клетки, экспрессирующие CD133 у пациентов с летальным исходом и без него встречались с одинаковой частотой: 38,5 % и 34,3 % соответственно, p = 1,000. Для оценки общей выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадии при различных сроках наблюдения в зависимости от наличия и отсутствия опухолевых стволовых клеток, экспрессирующих ABCB5 и CD133, был проведен анализ выживаемости.

Согласно полученным данным, 5-летняя общая выживаемость пациентов без стволовых опухолевых клеток ABCB5 составила 82 %, что превышало аналогичные показатели для пациентов со стволовыми опухолевыми клетками ABCB5 – 56 %.

В то же время 5-летняя общая выживаемость пациентов без стволовых опухолевых клеток CD133 составила 73 %, а с наличием стволовых опухолевых клеток CD133 – 68 % соответственно.

На следующем этапе общая выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от наличия и распределения стволовых опухолевых клеток была представлена с помощью кривых Каплана – Мейера (Рисунок 5).

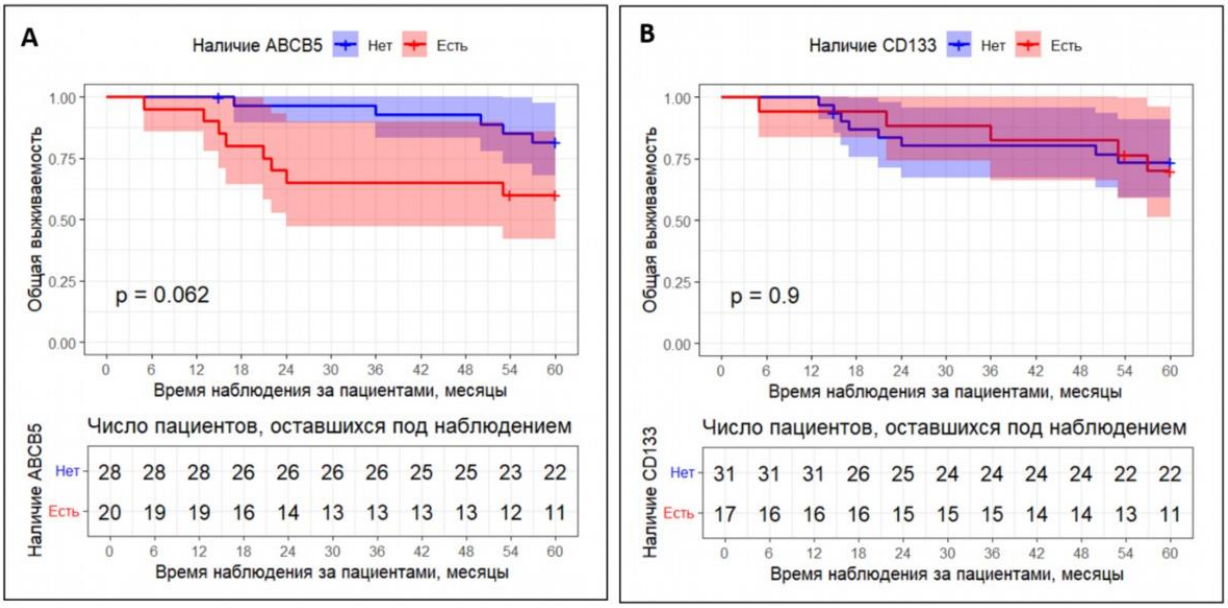


Рисунок 5 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней общей выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от наличия стволовых опухолевых клеток ABCB5 (A), наличия стволовых опухолевых клеток CD133 (B)

Зависимость риска летального исхода от интенсивности экспрессии ABCB5, наличия стволовых опухолевых клеток CD133+ и интенсивности экспрессии CD133+, оцененная с помощью лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса, была статистически незначимой (p = 0,329, p = 0,902 и p = 0,658 соответственно). Параметр «наличие ABCB5» обладал пограничным уровнем значимости (p = 0,074), указывая тем самым, что наличие ABCB5 ассоциировано с более высокими рисками летального исхода.

При построении многофакторных моделей было показано, что наличие стволовых опухолевых клеток ABCB5 является независимым предиктором общей выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадии. Так, риски летального исхода при наличии стволовых опухолевых клеток ABCB5 увеличиваются в 3,719 раза (p = 0,041) независимо от наличия стволовых опухолевых клеток CD133. При этом введение в модели со стволовыми клетками параметра «гистологический тип меланомы» показало, что именно данный параметр является независимым прогностическим фактором летального исхода опухоли I–II стадии с учетом интенсивности окраски стволовых опухолевых клеток ABCB5 и CD133: риски летального исхода уменьшались в 3,168 раза при поверхностно-распространяющейся форме меланомы кожи и, соответственно, увеличивались на аналогичные показатели при узловой форме (вертикальная фаза роста опухоли) независимо от интенсивности окраски стволовых опухолевых клеток ABCB5 и CD133.

Гистологический тип меланомы кожи в модели с наличием стволовых опухолевых клеток ABCB5 и CD133 обладал пограничным уровнем значимости, наряду с наличием стволовых опухолевых клеток ABCB5, указывая, что риски летального исхода имеют тенденцию быть выше при наличии стволовых опухолевых клеток ABCB5 и узловой формы меланомы кожи независимо от наличия стволовых опухолевых клеток CD133.

Экспрессия белка ALK и перестройка его гена в опухолевых клетках поверхностно-распространяющихся и узловых форм меланомы кожи I–II стадии. 48 пациентам выполнялся анализ экспрессии ALK, а также определялось наличие перестройки его гена. Гиперэкспрессия ALK была выявлена у 7 пациентов из 48 (14,6 %): у 4 пациентов с узловой формой меланомы (22,2 %) и у 3 пациентов с поверхностно-распространяющейся формой (10,0 %). Наличие экспрессии ALK представлено на Рисунке 6.

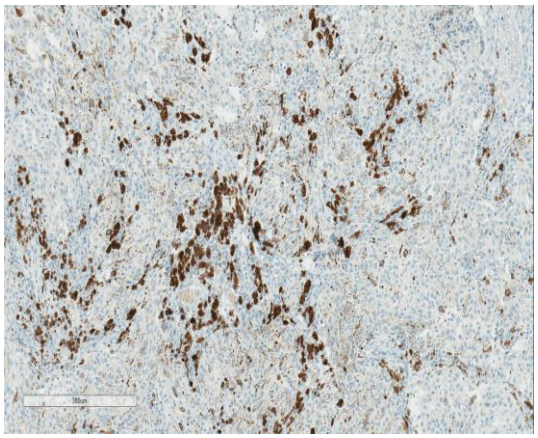


Рисунок 6 – ALK: выраженная очаговая ядерно-цитоплазматическая положительная реакция в клетках опухоли и клетках иммунного окружения, ×100

Различия в распространенности гиперэкспрессии ALK в зависимости от фазы роста опухоли меланомы кожи I–II стадии оказались статистически незначимыми (p = 0,245). Графическое представление полученных для распространенности ALK данных в зависимости от гистологического типа меланомы кожи I-II стадии показано на Рисунке 7.

В ходе сравнения исходов у пациентов общей выборки с наличием и отсутствием ALK было установлено, что при наличии ALK прогрессия возникала у 57,1 % пациентов (4 человека), в то время как при отсутствии – у 19,5 % пациентов (8 человек), а различия оказались статистически значимыми (p = 0,034).

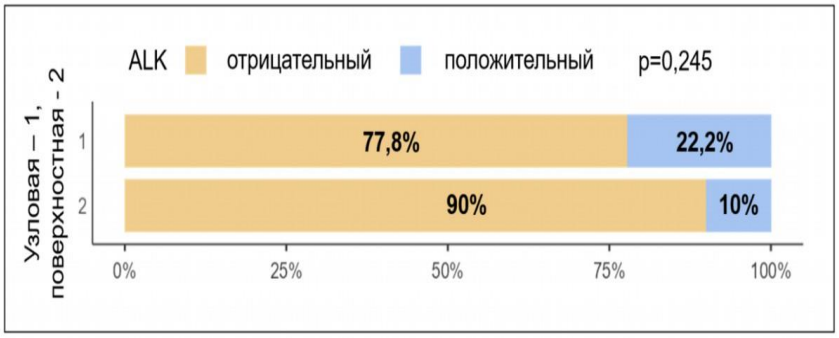


Рисунок 7 – Распространенность ALK в узловых и поверхностно-распространяющихся формах меланомы кожи I–II стадии

При этом время до прогрессии было сопоставимо (p = 0,307). Общая смертность у пациентов с ALK была выше, чем у пациентов без ALK (42,9 и 24,4 % соответственно), однако различия были статистически незначимыми.

Прогностическая значимость ALK в прогрессии узловой и поверхностно-распространяющейся меланомы кожи I–II стадии. Для оценки безрецидивной выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадии при различных сроках наблюдения в зависимости от наличия и отсутствия ALK был проведен анализ выживаемости. Согласно полученным данным, 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадии без экспрессии ALK составила 79 %, а с наличием ALK – 43 %.

На следующем этапе безрецидивная выживаемость пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии ALK была представлена с помощью кривых Каплана – Мейера (Рисунок 8). В соответствии с проведенным анализом выживаемости, зависимость риска развития прогрессии от наличия ALK, оцененная с помощью лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса, была статистически значимой (p = 0,015). Безрецидивная выживаемость пациентов с наличием ALK была ниже. Средний срок возникновения прогрессии не менее чем у 50 % пациентов при отсутствии ALK составил 52,1 ± 2,7 месяца, при наличии ALK – 31,6 ± 9,4 месяца.

В соответствии с проведенным анализом показано, что наличие ALK повышает риски прогрессии меланомы кожи I–II стадии в 4,004 раза (p = 0,024).

Для оценки независимого влияния наличия ALK на риски прогрессии меланомы кожи I–II стадии с помощью метода регрессии Кокса была построена многофакторная модель, учитывающая фазы роста меланомы.

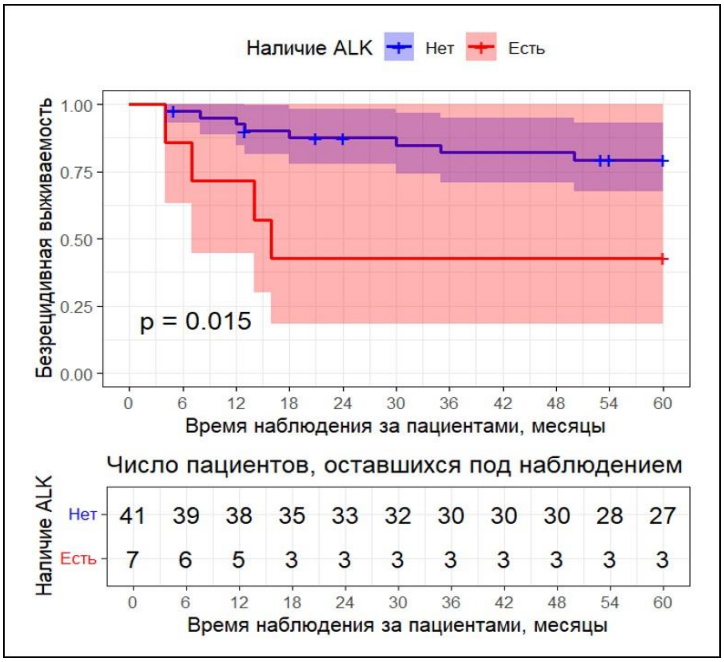


Рисунок 8 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии ALK

В соответствии с проведенным анализом наличие экспрессии ALK и фазы роста меланомы I–II стадии оказались независимыми предикторами прогрессии заболевания. Так, риски прогрессии увеличиваются в 4,288 раза при наличии ALK независимо от гистологического типа и увеличиваются в 7,705 раза при наличии узловой формы (вертикальная фаза роста) независимо от ALK.

Прогностическая значимость ALK в общей выживаемости пациентов с меланомой кожи I–II стадии. Согласно полученным данным, 5-летняя общая выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадии без экспрессии ALK составила 75 %, а с наличием ALK – 57 %.

На следующем этапе общая выживаемость пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии ALK была представлена с помощью кривых Каплана – Мейера (Рисунок 9).

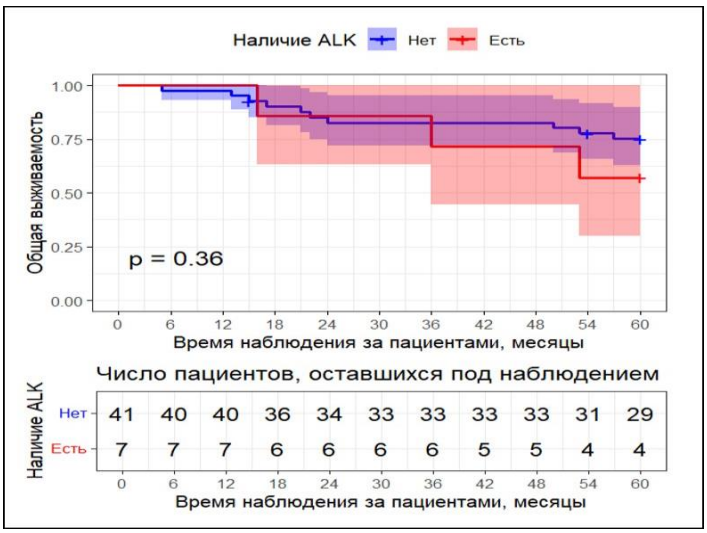


Рисунок 9 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней общей выживаемости пациентов при меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии ALK

В соответствии с проведенным анализом выживаемости зависимость риска летального исхода от наличия ALK, оцененная с помощью лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса, была статистически незначимой (p = 0,364). Средний срок возникновения летального исхода не менее чем у 50 % пациентов при отсутствии ALK составил 52,0 ± 2,6 месяца, при наличии ALK – 49,3 ± 6,0 месяцев. В соответствии с проведенным анализом показано, что наличие ALK не влияет на риски летального исхода от меланомы кожи I–II стадии (p = 0,372).

Для оценки независимого влияния наличия ALK на риски летального исхода пациентов с меланомой кожи I–II стадии с помощью метода регрессии Кокса была построена многофакторная модель, учитывающая гистологический тип меланомы.

В ходе многофакторного регрессионного анализа Кокса было показано, что только вертикальная фаза роста меланомы кожи являлась фактором риска летального исхода. Так, узловая меланома кожи I–II стадии увеличивала риски летального исхода пациентов в 3,195 раза, в то время как наличие ALK не оказывало влияния на общую выживаемость.

Наличие, выраженность и прогностическая значимость воспалительной макрофагальной инфильтрации в микроокружении первичной опухоли при узловой форме (вертикальная фаза роста) меланомы кожи I–II стадии. На **втором этапе** исследования в качестве маркера макрофагальной инфильтрации была изучена экспрессия CD163, а также ее выраженность в микроокружении первичной опухоли при узловой форме (вертикальная фаза роста опухоли) меланомы кожи I–II стадии у 24 пациентов. Графическое представление полученных данных показано на Рисунке 10.

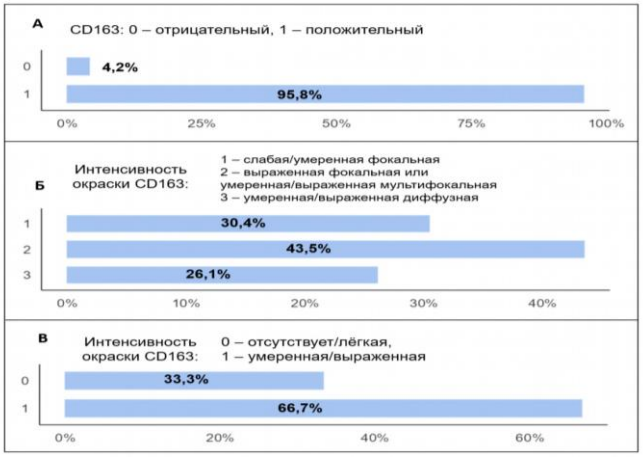


Рисунок 10 – Наличие (А) и выраженность (Б и В) экспрессии маркера воспалительной макрофагальной инфильтрации CD163 в микроокружении первичной опухоли при узловой форме меланомы кожи I–II стадии

Прогностическая роль наличия и выраженности воспалительной макрофагальной инфильтрации в безрецидивной выживаемости пациентов с узловой меланомой кожи I–II стадии. Из 24 пациентов с узловой формой (вертикальная фаза роста опухоли) меланомы кожи I–II стадии с известным CD163-статусом у 12 пациентов (50 %) в течение 5 лет наблюдения отмечалась прогрессия заболевания. Интенсивность окраски на CD163 у пациентов с прогрессией меланомы и без нее оказалась сопоставима. Наличие экспрессии CD163 представлено на Рисунке 11.

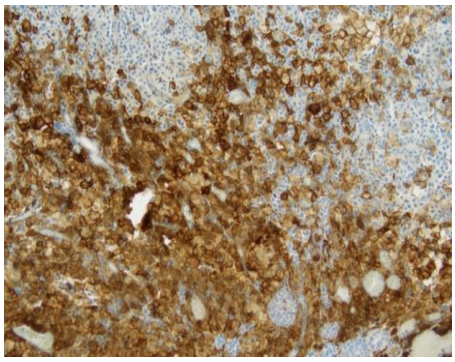


Рисунок 11 – Иммуногистохимическое исследование иммунного инфильтрата в узловой меланоме кожи (общее увеличение ×200) с антителами к CD163: определяется выраженная диффузная макрофагальная инфильтрация опухоли

Согласно полученным данным, при представлении интенсивности окраски на CD163 в виде бинарной величины 5-летняя безрецидивная выживаемость пациентов с узловой формой меланомы кожи I–II стадии при отсутствии/слабой интенсивности окраски CD163 составила 60 %. 5-летняя безрецидивная выживаемость при умеренной/выраженной интенсивности окраски CD163 составила 39 % соответственно.

На следующем этапе безрецидивная выживаемость пациентов при узловой форме (вертикальная фаза роста опухоли) меланомы кожи I–II стадии в зависимости от экспрессии CD163 и интенсивности его окраски была представлена с помощью кривых Каплана – Мейера. В соответствии с проведенным анализом выживаемости зависимость риска развития прогрессии от наличия CD163 и выраженности его экспрессии, оцененная с помощью лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса, была статистически незначимой (p = 0,370 и p = 0,265 соответственно) (Рисунок 12).

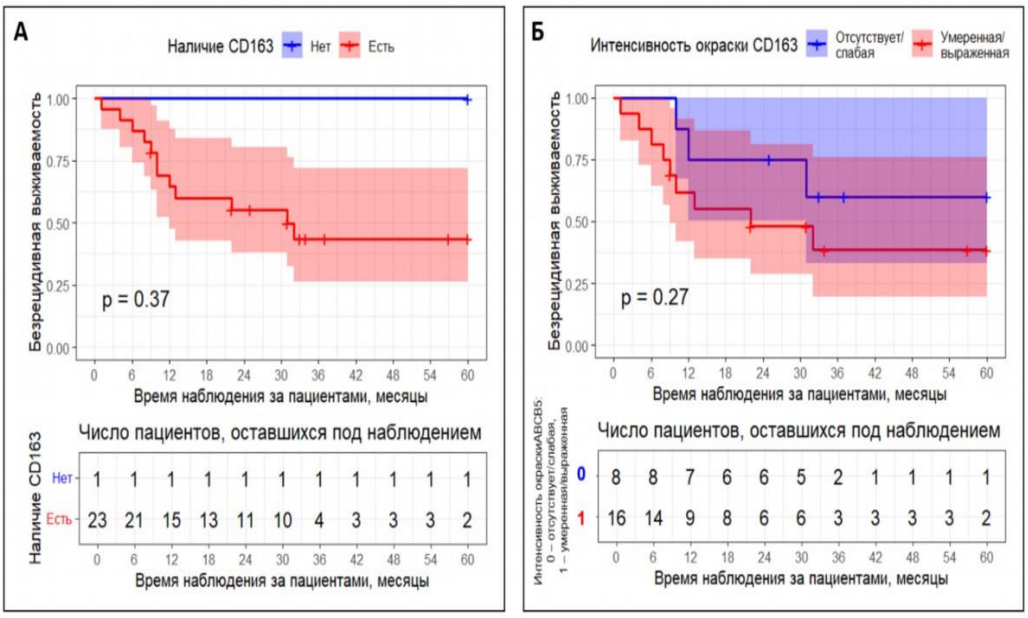


Рисунок 12 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов при узловой меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии CD163 (А) и интенсивности его окраски (В)

Прогностическая роль наличия и выраженности воспалительной макрофагальной инфильтрации в общей выживаемости пациентов с узловой меланомой кожи I–II стадии такова: из 24 пациентов с узловой формой меланомы кожи I–II стадии с известным CD163-статусом у 8 пациентов (33,3 %) в течение 5 лет наблюдения был зафиксирован летальный исход. Интенсивность окраски на CD163 у пациентов с летальным исходом и без него оказалась сопоставима. Согласно полученным данным при представлении интенсивности окраски на CD163 в виде бинарной величины 5-летняя общая выживаемость пациентов с узловой формой меланомы кожи I–II стадии при отсутствии/слабой интенсивности окраски CD163 составила 88 %. 5-летняя общая выживаемость при умеренной/выраженной интенсивности окраски CD163 составила 45 %

соответственно. В соответствии с проведенным анализом выживаемости, зависимость риска летального исхода от наличия CD163 и выраженности его экспрессии, оцененная с помощью лог-ранк-критерия Мантеля – Кокса, была статистически незначимой (p = 0,428 и p = 0,191 соответственно) (Рисунок 13).

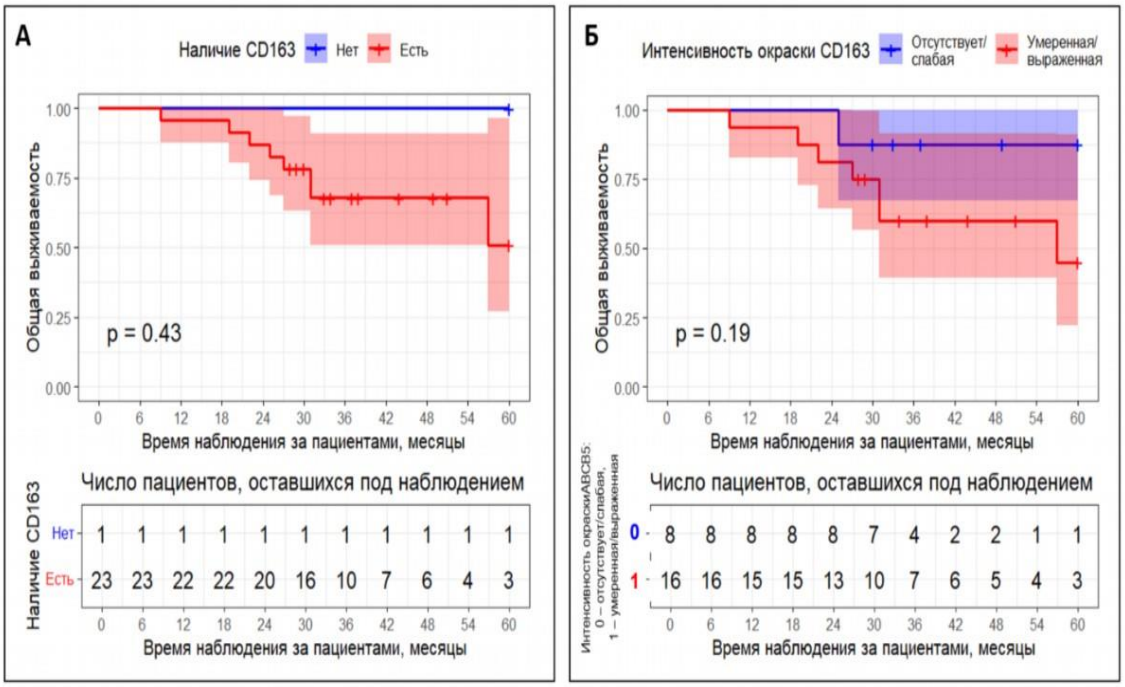


Рисунок 13 – Кривые Каплана – Мейера для оценки 5-летней общей выживаемости пациентов при узловой меланоме кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии CD163 (А) и интенсивности его окраски (В)

Прогностическая значимость стандартных морфологических факторов прогноза и исследуемых молекулярных и иммунологических маркеров. С целью разработки оптимальной модели для прогнозирования безрецидивной выживаемости пациентов с локальными стадиями поверхностно-распространяющейся (горизонтальная фаза роста опухоли) и узловой (вертикальная фаза роста опухоли) форм меланомы кожи нами было построено несколько многофакторных моделей.

Одна из моделей включала наличие экспрессии ALK и фазу роста опухоли меланомы кожи, оказавшиеся независимыми предикторами прогрессии заболевания. Так, риски прогрессии увеличиваются в 4,288 раза при наличии ALK (95% ДИ: 1,200–15,323; p = 0,025) и в 7,705 раза при наличии узловой формы (вертикальная фаза роста опухоли) меланомы кожи (95% ДИ: 2,019–29,400; p = 0,003) независимо друг от друга.

С целью разработки наиболее оптимальной модели для прогнозирования общей выживаемости пациентов с локальными стадиями поверхностно-распространяющейся и узловой форм меланомы кожи нами были протестированы те же многофакторные модели, изученные для прогноза прогрессии.

В одной из моделей пограничным уровнем значимости обладали наличие стволовых

опухолевых клеток ABCB5 (ОР = 3,102; 95% ДИ: 0,881–10,924; p = 0,078) и гистологический тип меланомы (ОР = 2,930; 95% ДИ: 0,942–9,113; p = 0,063) независимо от наличия стволовых опухолевых клеток CD133. Большие риски летального исхода ассоциировались с наличием стволовых опухолевых клеток ABCB5 и узловой формой меланомы кожи. В модели, включающей наличие ALK и фазу роста меланомы в качестве потенциальных предикторов летального исхода, оказалось, что узловая форма меланомы (вертикальная фаза роста опухоли) ассоциирована с увеличением рисков летального исхода в 3,195 раза независимо от наличия ALK (ОР = 3,195; 95% ДИ: 1,029–9,918; p = 0,044).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное нами в данной работе исследование, направленное на определение вклада молекулярных и иммунологических факторов прогноза в оценку прогноза меланомы кожи туловища и конечностей, расширило представления о биологических свойствах опухоли. Их изучение выявило, что некоторые из этих маркеров в комбинации с оценкой фазы роста меланомы кожи могут предсказывать снижение безрецидивной или общей выживаемости пациентов независимо от стандартных общепринятых прогностических факторов.

ВЫВОДЫ

1. Стволовые опухолевые клетки при поверхностно-распространяющихся и узловых формах меланомы кожи I и II стадии встречаются у 36,7 и 50,0 % (p = 0,545) и у 33,3 и 36,7 % пациентов соответственно (p = 0,938). Сильным и независимым фактором неблагоприятного прогноза при меланоме кожи туловища и конечностей является ее узловая форма (вертикальная фаза роста): риски прогрессии увеличиваются в 7,19 раза. Риски летального исхода при наличии стволовых опухолевых клеток с ABCB5+ увеличиваются в 3,71 раза (p = 0,041) независимо от наличия маркера CD133+.
2. Экспрессия белка ALK на опухолевых клетках отмечалась у 10 % пациентов с поверхностно-распространяющимися и у 22,2 % с узловыми формами меланомы кожи I–II стадии (p = 0,245). Наличие в опухоли экспрессии данного белка увеличивает риски прогрессии меланомы кожи в 4,29 раза (95% ДИ: 1,200–15,323; p = 0,025), но при этом не влияет на общую выживаемость пациентов.
3. Макрофаги фенотипа М2 присутствуют в опухолевом микроокружении у 95,8 % пациентов с узловыми формами меланомы кожи, в 66,7 % случаев их интенсивность является умеренной и выраженной. Их наличие и выраженность не влияют на выживаемость пациентов с узловой формой меланомы.
4. Модель прогноза для оценки риска прогрессирования у пациентов с меланомой кожи туловища и конечностей локализованных стадий, включающая наличие стволовых опухолевых клеток с маркером ABCB5+ (ОР=3,102; 95% ДИ: 0,881–10,924; p = 0,078) и узловую форму опухоли (ОР = 2,930; 95% ДИ: 0,942-9,113; p = 0,063), продемонстрировала независимую прогностическую значимость в 5-летний интервал по сравнению со стандартными патоморфологическими факторами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с меланомой кожи туловища и конечностей I–II стадии с помощью иммуногистохимического исследования и маркера ABCB5 для более точного прогноза заболевания целесообразно определять стволовые опухолевые клетки.
2. При динамическом наблюдении за пациентами с меланомой кожи I–II стадии после окончания лечения целесообразно учитывать дополнительные неблагоприятные факторы прогноза заболевания, такие как наличие стволовых опухолевых клеток и узловую форму опухоли. При наличии у пациентов данных факторов, повышающих риск прогрессирования опухолевого процесса, врачам-онкологам необходимо отдавать предпочтение более частому и углубленному их обследованию с осмотром всего кожного покрова и использованием инструментальных методов диагностики.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты исследования позволяют определить следующие перспективы дальнейшей разработки темы: продолжить изучение влияния на общую и безрецидивную выживаемость стволовых опухолевых клеток с ABCB5+ и перестройки гена ALK на большей выборке пациентов с меланомой кожи I–II стадии с подгрупповым анализом по стадиям; продолжить изучение взаимосвязи фазы роста меланомы кожи с ее молекулярно-генетическим профилем и клетками воспаления опухолевого микроокружения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Морфологический и иммуногистохимический анализ лимфоцитов, проникающих в опухоль, макрофагов M2, BCL 6 и SOX10 в микроокружении опухоли при узловой меланоме кожи / К. С. Титов, А. А. Маркин, Е. И. Шурыгина [и соавт.] // Опухоли головы и шеи (HNT). – 2023. – Т. 13, № 1. – С. 65-74. (**SCOPUS)**
2. Новые подходы к таргетной терапии метастатической меланомы при наличии редких генетических изменений в опухоли / К. С. Титов, А. А. Маркин, Д. Н. Греков [и соавт.] // Онкология. Журнал имени П. А. Герцена. – 2023. – Т. 12, № 1. – С. 65-72. **(SCOPUS)**
3. Прогностическое значение стволовых опухолевых клеток и экспрессии ALK у пациентов с меланомой кожи I–II стадий / К. С. Титов, А. А. Маркин, Г. М. Запиров, М. В. Сорокина // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2025. – Т. 17, № 1. – С. 67-77. **(ВАК)**
4. Титов, К. С. Роль инфильтрации опухоли М-2 макрофагами в локализованных формах меланомы кожи / К. С. Титов, А. А. Маркин // Якутский медицинский журнал. – 2026. – Т. 93, № 1. – С. 115-120. (**ВАК)**

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА МЕЛАНОМЫ КОЖИ ЛОКАЛИЗОВАННЫХ СТАДИЙ

Маркин Александр Андреевич
(РОССИЯ)

Целью данного исследования являлось улучшение точности прогноза меланомы кожи локализованных стадий за счет выявления дополнительных молекулярных и иммунологических биомаркеров опухоли.

В ретро-проспективное исследование включены 72 пациента с меланомой кожи туловища и конечностей I–II стадий после хирургического и комбинированного лечения. Из них у 48 пациентов определяли наличие стволовых опухолевых клеток (ABCB5+; CD133+) и перестройку в гене ALK при поверхностно-распространяющихся и узловых клинических формах опухоли. Опухоль-ассоциированные макрофаги фенотипа М2 исследовались только у 24 пациентов с узловыми формами меланомы кожи локализованных стадий. Также данные молекулярные и иммунологические параметры сравнивались со стандартными и уже известными патоморфологическими факторами прогноза меланомы кожи I–II стадий.

По результатам исследования оказалось, что сильным и независимым от других фактором неблагоприятного прогноза при меланоме кожи туловища и конечностей является ее узловая клиническая форма (вертикальная фаза роста): риски прогрессии увеличиваются в 7,19 раза. Наличие стволовых опухолевых клеток (ABCB5+) в сочетании с узловой формой меланомы кожи ассоциировано с увеличением риска прогрессии опухолевого процесса и большей вероятностью летального исхода у пациентов. Наличие экспрессии белка ALK (перестройка гена) в меланоме кожи увеличивает риски ее прогрессии в 4,29 раза. В то же время наличие и выраженность инфильтрации макрофагами фенотипа М2 в опухолевом микроокружении и их выраженность не влияют на прогноз заболевания и не ухудшают выживаемость пациентов с узловой формой меланомы кожи I–II стадий.

Разработанная прогностическая модель для оценки риска прогрессирования меланомы кожи I–II стадий, включающая наличие стволовых опухолевых клеток с маркером ABCB5+ и узловой клинической формы, уступает прогностической способности с применением только стандартных патоморфологических факторов, но независимо предсказывает меньшую общую 5-ти летнюю выживаемость пациентов с повышенным риском их летального исхода.

Таким образом, проведенное научное исследование подтвердило возможность использования стволовых опухолевых клеток и экспрессию белка ALK в качестве дополнительных биомаркеров, повышающих риски прогрессирования у пациентов с меланомой кожи, а также требует дальнейшего дополнительного изучения этой проблемы.

MOLECULAR AND IMMUNOLOGICAL PROGNOSTIC FACTORS FOR SKIN MELANOMA LOCALIZED STAGES

Markin Alexander Andreevich
(RUSSIA)

The aim of this study was to improve the accuracy of prognosis of localized skin melanoma by identifying additional molecular and immunological biomarkers of the tumor.

The retro-prospective study included 72 patients with skin melanoma of the trunk and extremities of stages I–II after surgical and combined treatment. Of these, 48 patients were diagnosed with stem tumor cells (ABCB5+; CD133+) and a rearrangement in the ALK gene in surface-spreading and nodular clinical forms of the tumor. Tumor-associated macrophages of the M2 phenotype were studied only in 24 patients with nodular forms of localized skin melanoma. These molecular and immunological parameters were also compared with standard and already known pathomorphological factors for the prognosis of skin melanoma of stages I–II.

According to the results of the study, it turned out that its nodular clinical form (vertical growth phase) is a strong and independent factor of unfavorable prognosis in melanoma of the skin of the trunk and extremities: the risks of progression increase by 7.19 times. The presence of tumor stem cells (ABCB5+) in combination with a nodular form of skin melanoma is associated with an increased risk of tumor progression and a higher probability of death in patients. The presence of ALK protein expression (gene rearrangement) in skin melanoma increases the risk of its progression by 4.29 times. But the presence of macrophages of the M2 in the tumor microenvironment and their severity do not affect the prognosis of the disease and do not worsen the survival of patients with nodular skin melanoma of stages I–II.

The developed prognostic model for assessing the risk of progression of skin melanoma stages I-II, including the presence of stem tumor cells with the marker ABCB5+ and a nodular clinical form, is inferior to the prognostic ability using only standard pathological factors, but independently predicts a lower overall 5-year survival rate in patients with increased risk their fatal outcome.

Thus, the conducted scientific study confirmed the possibility of using stem tumor cells and ALK protein expression as additional biomarkers that increase the risk of progression in patients with skin melanoma and also requires further additional study of this problem.