

Молекулярно-генетическая характеристика редких меланоцитарных опухолей у детей

Т.С. Бельшева¹, Я.В. Вишневская¹, И.С. Клецкая², А.М. Строганова¹, Д.И. Софронов¹,
С.Н. Михайлова¹, С.М. Шумилова³, Г.С. Краснов³, В.В. Семенова³, Т.В. Наседкина³

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²Российская детская клиническая больница ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 119571 Москва, Ленинский проспект, 117;

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук; Россия, 119991 Москва, ул. Вавилова, 32

Контакты: Бельшева Татьяна Сергеевна klinderma@bk.ru

Цель исследования – анализ молекулярно-генетического профиля редких меланоцитарных опухолей у детей, включая меланому кожи.

Материалы и методы. Проведено изучение образцов ткани меланоцитарных новообразований 11 пациентов детского возраста с меланоцитарными опухолями методом таргетного секвенирования геномной ДНК. Исследовали кодирующие участки генов, участвующих в процессах меланогенеза, меланомогенеза, пролиферации, клеточной адгезии.

Результаты. В 2 случаях в гигантских врожденных меланоцитарных невусах выявлены мутации в гене *NRAS*, такие же мутации были обнаружены в образцах меланом, развившихся в этих невусах. В обоих случаях меланомы, развившаяся в гигантских врожденных меланоцитарных невусах, обладала агрессивным биологическим поведением. У 1 из пациентов в образце меланомы была выявлена мутация в гене *CTNNB1*, которая отсутствовала в клетках ткани невуса. В 2 случаях невусов Шпитца, в лентигозном меланоцитарном невусе и невусе Рида были выявлены мутации в промоторном участке гена *TERT* (с.-269G>A и с.-348G>C). Мутация V600E в гене *BRAF* была обнаружена в диспластическом невусе и невусе Рида, в последнем случае выявлено ее сочетание с мутациями в промоторе гена *TERT*. В образце голубого невуса была выявлена мутация p.Q209L в гене *GNAQ*, что является патогномичным генетическим нарушением при этом типе меланоцитарных невусов.

Заключение. Изучение спектра мутаций в образцах редких меланоцитарных опухолей у детей, включая меланому, свидетельствует о том, что тип выявленной мутации в значительной степени ассоциирован с клинической характеристикой невуса.

Ключевые слова: меланома, дети, редкие меланоцитарные опухоли, голубой невус, невус Шпитца, злокачественная трансформация, молекулярно-генетический профиль, гены, мутации, аллели

Для цитирования: Бельшева Т.С., Вишневская Я.В., Клецкая И.С. и др. Молекулярно-генетическая характеристика редких меланоцитарных опухолей у детей. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2020;12(4):32–9.

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF RARE MELANOCYTIC TUMORS IN CHILDREN

T.S. Belysheva¹, Y.V. Vishnevskaya¹, I.S. Kletskaia², A.M. Stroganova¹, D.I. Sofronov¹, S.N. Mikhaylova¹, S.M. Shumilova³,
G.S. Krasnov³, V.V. Semenova³, T.V. Nasedkina³

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Russian Children's Clinical Hospital of Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of Russia; 117 Leninsky prosp., Moscow 119571, Russia;

³Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences; 32 Vavilov St., Moscow 119991, Russia

Contacts: Belysheva Tatiana Sergeevna klinderma@bk.ru

Aim of the study – to analyze the molecular genetic profile of rare melanocytic tumors in children, including skin melanoma.

Materials and methods. The study of melanocytic neoplasms tissue samples of 11 pediatric patients with melanocytic tumors was carried out by the method of targeted genomic DNA sequencing. The coding regions of genes involved in the processes of melanogenesis, melanomogenesis, proliferation, cell adhesion were investigated.

Results. It was found that in two cases in giant congenital melanocytic nevi there were mutations in the *NRAS* gene, the same mutations were found in samples of melanomas that developed against the background of these nevi. In both cases, the developed melanomas were highly malignant. In one patient, a mutation in the *CTNNB1* gene was detected

in a melanoma sample, which is absent in the nevi tissue cells. In two cases of Spitz nevus, in the lentiginous melanocytic nevus and in the Reed nevus, mutations in the promoter region of the *TERT* gene (c.-269G>A and c.-348G>C) were detected.

The V600E mutation in the *BRAF* gene was found in dysplastic nevus and Reed nevus; in the latter case, its combination with mutations in the *TERT* gene promoter was revealed. In a sample of a blue nevus, the p.Q209L mutation in the *GNAQ* gene was detected, which is a pathognomonic genetic aberration, associated with this type of melanocytic nevus.

Conclusion. The study of the spectrum of mutations in samples of children with rare melanocytic tumors, including melanoma, indicates that the type of mutation identified was largely associated with the clinical characteristics of the nevus.

Key words: melanoma, children, rare melanocytic tumors, blue nevus, Spitz's nevus, malignant transformation, molecular genetics profile, genes, mutations, alleles

For citation: Belysheva T.S., Vishnevskaya Y.V., Kletskaya I.S. et al. Molecular-genetic characteristics of rare melanocytic tumors in children. Bone and soft tissue sarcomas, tumors of the skin 2020;12(4):32–9. (In Russ.).

Введение

Детская меланома является редким заболеванием, которое диагностируется с частотой 6 случаев на 1 млн детей, на ее долю приходится от 1 до 4 % в структуре всей заболеваемости меланомой. Эти опухоли представляют собой гетерогенную группу меланоцитарных новообразований, которые могут быть подразделены на 3 подгруппы с учетом их клинических и гистологических признаков [1, 2]. К первому типу относится конвенциональная меланома (conventional melanoma) у детей, которой присущи характеристики меланомы, возникающей у взрослых вследствие воздействия на кожу солнечной радиации. Конвенциональная меланома чрезвычайно редко встречается до полового созревания, поэтому большинство педиатрических пациентов с этой опухолью составляют подростки [3, 4].

Второй тип возникает в связи с большим/гигантским врожденным меланоцитарным невусом (ВМН). ВМН выявляются у новорожденных с частотой 1:100, при этом риск их малигнизации зависит от размера невуса. Для небольших новообразований его величина составляет менее 1 %, этот риск часто реализуется после пубертата. В то же время при ВМН диаметром более 40 см риск возникновения меланомы возрастает до 5–10 %, а сателлиты достоверно ассоциированы с нейрокутаным меланозом, который связан с повышенным риском меланом не только кожной, но и висцеральной локализации (центральная нервная система). Чаще всего такое событие реализуется в 1-м десятилетии жизни [5, 6].

Выделяют также 3-ю группу – шпитцOIDные меланоцитарные опухоли. К ним относятся меланома Шпитца и атипичная опухоль (невус) Шпитца, представляющие собой различные гистологические варианты с менее агрессивным клиническим течением по сравнению с обычной меланомой и пониженным экстранодальным метастатическим потенциалом [7, 8].

Традиционные критерии ABCDE (Asymmetry/асимметрия; Border irregularity/граница/неровность краев; Colour variegation/цвет (полихромия); Diameter >6 mm/диаметр >6 мм; Evolution/эволюция/изменение образования), используемые для диагностики меланомы у взрослых,

не могут быть применены в полной мере при детской меланоме, в связи с чем были предложены педиатрические критерии ABCDE, предусматривающие оценку по следующим признакам: Amelanotic/амеланотическая; Bleeding or bump/кровоточивость или возвышение; Colourless or colour uniformity/бесцветность или однородность цвета; De novo or diameter >6 mm/появление *de novo* или диаметр >6 мм; Evolution/эволюция/изменение образования.

В повседневной клинической практике в качестве основного инструмента для выявления меланоопасных опухолей кожи у детей используется дерматоскопия, однако ведутся активные исследования по поиску молекулярных маркеров, характеризующих различные типы этих опухолей, предпринимаются попытки поиска генетических признаков, ассоциированных с повышенной вероятностью развития детских меланом. Несмотря на то что в отдельных сообщениях продемонстрирована целесообразность применения генетического тестирования с использованием таких молекулярных методов, как сравнительная геномная гибридизация и флуоресцентная гибридизация *in situ*, получаемая информация является пока недостаточной, в частности не позволяет надежно дифференцировать доброкачественные и злокачественные шпитцOIDные опухоли у детей [4]. В то же время полученные на основании проведенных исследований данные способствуют углублению представлений о молекулярных механизмах развития меланомы и все чаще служат основой для принятия решений о тактике лечения меланоцитарных опухолей кожи, в том числе детской меланомы [6–8].

Считается, что развитие меланомы – результат последовательного приобретения множественных мутаций, взаимодействие которых способствует формированию злокачественного новообразования [9, 10]. Первым событием в этой последовательности является возникновение драйверной мутации в сигнальном пути RAS/RAF/MEK, которая способствует пролиферации меланоцитов. Однако онкогенные мутации *BRAF* и *NRAS* или образование слитых генов в результате транслокаций являются недостаточными молекулярными событиями для развития

злокачественного новообразования, о чем свидетельствует их присутствие в невусах приобретенных, врожденных или шпитцOIDных типов [11]. Для злокачественной трансформации необходимы дополнительные генетические события, такие как нарушение сигнального пути супрессора опухоли RB/p16, активация пути PI3K/AKT и реактивация механизма поддержания теломер [12]. Относительно недавно обнаружены сигнатуры мутаций, ассоциированных с ультрафиолетовым излучением, в генах *TP53*, *RAC1*, *STK19*, *PPP6C*, *PREX2*, а также мутации в промоторе *TERT* (теломеразная обратная транскриптаза), что согласуется с этой моделью онкогенеза меланомы [13, 14].

В настоящее время большинство исследователей полагают, что при прогнозе возможной малигнизации пигментного новообразования кроме врожденного гигантского невуса следует уделять внимание также редким формам меланоцитарных невусов, таким как голубой невус, невус Шпитц и невус Рида [7, 15–17]. При этом необходимо учитывать, что спектр и частота мутаций в основных генах, кодирующих белки сигнальных путей, существенно различаются в разных типах невусов (табл. 1) [18].

Так, мутации в гене *NRAS* встречаются преимущественно во врожденных невусах, достигая частоты более 90 % при гигантских врожденных невусах [15, 19]. Для голубого невуса характерны мутации в гене *GNAQ*, частота которых превышает 80 % [13, 19].

Как показано в ряде работ, анализ профиля мутаций может рассматриваться в качестве важнейшего этапа дифференциальной диагностики невусов, его результаты также следует учитывать при прогнозировании малигнизации этих новообразований [20–23]. Дальнейшие исследования

в этом направлении позволят разработать более четкие диагностические критерии для определения меланомоопасных невусов.

Следует отметить, что до настоящего времени исследования мутаций при различных типах невусов проводились преимущественно в популяции взрослых пациентов. Значительное число сообщений, представленных в литературе, посвящено геномной характеристике меланомы у взрослых, при этом результаты генетического тестирования уже достаточно широко используются при планировании и проведении терапии меланомы. В то же время геномный ландшафт меланоцитарных опухолей у детей, включая детскую меланому, остается малоизученным, что свидетельствует о высокой актуальности проведения подобных исследований в детской популяции.

Цель исследования – анализ молекулярно-генетического профиля редких меланоцитарных опухолей у детей, включая меланому кожи.

Материалы и методы

В исследование было включено 11 пациентов с меланоцитарными опухолями в возрасте до 18 лет, наблюдавшихся и проходивших лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Сведения о пациентах представлены в табл. 2.

В архивных образцах ткани меланоцитарных новообразований методом таргетного секвенирования геномной ДНК исследовали кодирующие участки генов, участвующих в процессах меланогенеза, меланомогенеза, пролиферации, клеточной адгезии.

Таблица 1. Спектр и частота мутаций в различных типах невусов

Тип невуса	Частота мутаций, %			
	<i>BRAF</i>	<i>NRAS</i>	<i>GNAQ</i>	Другие
ВМН (гигантский или большой)	5,2	94,7	–	–
ВМН (средний или малый)	30	70	–	–
Приобретенный невус	78	–	–	–
Диспластический невус	58	–	–	–
Голубой невус	6,8	2,3	83,7	–
Невус Шпитц	6,4	2,2	–	<i>HRAS</i> – 16,4, <i>ROS</i> , <i>ALK</i> fusion – 55
Меланома поверхностно распространяющаяся и узловая	50–60	20	–	–
Шпитц меланома	10	Редко	–	<i>ROS</i> , <i>ALK</i> fusion – 39
Меланома увеальная	–	–	50	–

Примечание. ВМН – врожденный меланоцитарный невус.

Таблица 2. Пол, возраст и диагноз детей с меланоцитарными опухолями

№	Пол	Возраст, лет	Диагноз
1	Жен.	6	Гигантский ВМН. Меланома, возникшая в ВМН
2	Жен.	16	Гигантский ВМН. Меланома, возникшая в ВМН
3	Муж.	13	Атипичический невус Шпитц
4	Муж.	12	Невус Шпитц
5	Муж.	14	Невус Шпитц
6	Жен.	10	Невус Шпитц
7	Жен.	10	Лентигозный невус с гало-реакцией
8	Жен.	13	Диспластический невус
9	Муж.	12	Невус Рида
10	Муж.	9	Невус Рида
11	Жен.	6	Голубой невус

Примечание. ВМН – врожденный меланоцитарный невус.

В 2 случаях меланомы на фоне гигантского врожденного невуса от каждого пациента были исследованы парные образцы невус – меланома. Также в исследование были включены 4 образца невуса Шпитц, 2 образца гало-невуса, 2 образца невуса Рида и 1 образец голубого невуса.

Для проведения генетических исследований использовали фиксированные в формалине образцы меланоцитарных опухолей (парафиновые блоки). Для верификации гистологического диагноза готовили препарат на обычном предметном стекле, производилась окраска гематоксилином и эозином.

Для выделения ДНК из фиксированных архивных образцов операционного материала меланоцитарных опухолей использовали набор QIAamp DNA FFPE Tissue фирмы QIAGEN (Германия). Проводили ручную микродиссекцию пигментированных участков невусов под гистологическим контролем для обогащения препарата ДНК морфологически измененных клеток. При исследовании образцов меланомы, возникшей на фоне гигантского врожденного невуса, отдельно вырезали участки ткани невуса и участки, содержащие опухолевые клетки с гистологическими признаками меланомы. Концентрацию ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit 2 (Invitrogen, США) и набора реагентов Qubit dsDNA HS (Invitrogen, США), чистоту образцов ДНК (отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм) оценивали с помощью микроспектрофотометра NanoDrop™ 3300 (Thermo Scientific, США), степень фрагментации выделенной ДНК определяли с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле.

Целевые последовательности ДНК отбирали с использованием панели жидких зондов NimbleGen (Roche,

Швейцария). Библиотека олигонуклеотидных зондов включала последовательности, комплементарные кодирующим участкам следующих генов: *BRAF*, *TP53*, *TERT*, *FAT4*, *CDKN2A*, *NF1*, *ROS1*, *NRAS*, *NOTCH1*, *ERBB4*, *KDR*, *FGFR3*, *HRAS*, *ARID1A*, *PTEN*, *PIK3CA*, *KIT*, *CTNNB1*, *ATRX*, *SETD2*, *GNAQ*, *RAC1*, *PDGFRA*, *RASA1*, *KRAS*, *PREX2*, *GRIN2A*, *PTPRT*, *PTPRD*, *PPP6C*.

Подготовку образцов проводили по стандартному протоколу для приготовления быстрых библиотек KAPA Library Preparation Kit (Roche) согласно инструкциям производителя. Для ультразвуковой фрагментации ДНК использовали прибор Covaris (США). Фрагментировали 500 нг исходной опухолевой ДНК в общем объеме 53 мкл на фрагменты длиной 180–220 п. н., для проверки качества и определения размера конечной библиотеки использовали прибор BioAnalyzer 2100 (Agilent, США). Секвенирование проводили на платформе NextSeq500 (Illumina, США) методом парноконцевых чтений 2 × 75 со средним покрытием целевых участков не менее 500. Всего исследовали 14 образцов ДНК меланоцитарных опухолей детей, включая 2 образца меланомы на фоне гигантского врожденного невуса.

Проводили биоинформационный анализ и определение спектра соматических мутаций в меланоцитарных образованиях. После завершения секвенирования прибором были сгенерированы файлы формата FASTQ, содержащие «сырые» данные каждого образца. Для хранения и первичной обработки полученных на выходе файлов формата FASTQ использовали online-платформу BaseSpace (Illumina) (<https://basespace.illumina.com>). Анализ мутаций был проведен путем обработки полученных

данных с использованием online-платформы Galaxy (<https://usegalaxy.org>). Полученные последовательности были выравнены на референсный геном Human (Homo sapiens) (b37): hg_g1k_v37 с использованием BWA MEM. Варианты определяли с помощью FreeBayes, в результате были получены аннотированные данные в формате VCF. Для дальнейшей аннотации вариантов с участием известных баз данных использовали платформу ANNOVAR (<http://wannovar.wglab.org/>).

Для визуализации выравненных прочтений на референсном геноме, а также для определения процентного

соотношения прочтений с заменой и без нее использовали приложение IGV (Integrative Genomics Viewer) (<http://software.broadinstitute.org/software/igv>). Для верификации мутаций, выявленных методом NGS, также проводили секвенирование по Сэнгеру с использованием автоматического секвенатора Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, США).

Результаты

Генетические варианты, выявленные в образцах меланоцитарных опухолей у детей, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Генетические варианты, выявленные в образцах меланоцитарных опухолей у детей

№ пациента	Диагноз	Ген	Мутация	Аминокислота	Частота аллельного варианта
1н	Гигантский ВМН	<i>NRAS</i>	c.182A>T	p.Gln61Leu	0,43
1м	Меланома в ВМН	<i>NRAS</i>	c.182A>T	p.Gln61Leu	0,39
2н	Гигантский врожденный невус	<i>NRAS</i>	c.182A>G	p.Gln61Arg	0,31
2м	Меланома на фоне врожденного невуса	<i>NRAS</i>	c.182A>G	p.Gln61Arg	0,24
		<i>CTNNB1</i>	c.1161T>A	p.Asn387Lys	0,23
3	Атипический невус Шпитц	<i>TERT</i>	c.-269G>A	—	0,52
		<i>TERT</i>	c.-348G>C	—	0,6
4	Невус Шпитц	—	—	—	—
5	Невус Шпитц	<i>TERT</i>	c.-269G>A	—	—
		<i>TERT</i>	c.-348G>C	—	—
6	Невус Шпитц	<i>ARID1A</i>	c.2754G>C	p.Met918Ile	0,46
		<i>KDR</i>	c.889G>A	p.Val297Ile	0,48
7	Лентигиозный невус с гало-реакцией	<i>TERT</i>	c.-269G>A	—	—
		<i>TERT</i>	c.-348G>C	—	—
8	Диспластический невус	<i>BRAF</i>	c.1799T>A	p.Val600Glu	0,29
9	Невус Рида	<i>BRAF</i>	c.1799T>A	p.Val600Glu	0,23
		<i>TERT</i>	c.-269G>A	—	—
		<i>TERT</i>	c.-348G>C	—	—
		<i>CCND1</i>	c.88G>A	p.Ala30Thr	0,47
11	Голубой невус	<i>GNAQ</i>	c.626A>T	p.Gln209Leu	0,34

Примечание. ВМН — врожденный меланоцитарный невус.

В 14 образцах обнаружены мутации в 9 генах: 4 мутации *NRAS* (2 аллельных варианта), 8 мутаций *TERT* (2 аллельных варианта), 2 мутации *BRAF* (1 аллельный вариант), по 1 мутации в генах *CTNNB1*, *ARID1A*, *KDR*, *KTT*, *CCND*, *GNAQ*.

Обсуждение

Диагностика меланоопасных невусов у детей представляет большую проблему, поскольку общепринятые критерии клинической диагностики меланомы, наблюдаемые у взрослых, часто отсутствуют у детей и подростков. Морфология и гистологические характеристики ткани невуса не всегда позволяют правильно определить тип невуса и оценить его потенциальную меланоопасность [22–24]. Исследование меланоцитарных образований у детей сопряжено с рядом сложностей, в первую очередь связанных с получением биопсийного материала. Коллекции клинического материала, собранные в рамках настоящего исследования, представляют безусловную ценность для дальнейшего изучения процессов злокачественной трансформации меланоцитарных новообразований кожи. Разработка молекулярно-генетических методов исследования имеет большое значение для дифференциальной диагностики меланоцитарных образований и дальнейшего прогноза заболевания.

Проведено сравнительное исследование спектра мутаций в образцах редких меланоцитарных опухолей у детей, включая меланому. Результаты исследования показали, что тип мутации в значительной степени зависит от клинической характеристики невуса. Так, в 2 случаях в гигантских врожденных невусах присутствовали мутации в гене *NRAS*, такие же мутации были обнаружены в образцах меланом, развившихся на фоне этих невусов (пациенты 1 и 2). Известно, что мутации в гене *NRAS* присутствуют в 97 % случаев врожденных невусов [17, 18]. Риск развития меланомы во врожденных невусах в первую очередь зависит от размера невуса. В обоих случаях меланомы, развившаяся на фоне гигантских невусов, обладала агрессивным биологическим поведением.

У пациента 2 в образце меланомы была выявлена мутация в гене *CTNNB1*, которая отсутствует в клетках ткани невуса. Известно, что ген *CTNNB1* кодирует β-катенин, который участвует в клеточной адгезии и регуляции Wnt-сигнального пути. Мутации *CTNNB1* встречаются в различных опухолях, в том числе при меланоме. Предполагают, что эти мутации способствуют отделению клеток друг от друга, повышая таким образом риск метастазирования [4, 10].

В 2 случаях невусов Шпитца (пациенты 3 и 5), в лентигинозном невусе (пациент 8) и в невусе Рида (пациент 10)

были выявлены мутации в промоторном участке гена *TERT* (с.-269G>A и с.-348G>C). Мутации в промоторе гена *TERT* часто обнаруживают в атипичных шпитцoidных опухолях, в том числе в меланомах Шпитца. Считается, что мутации *TERT* ответственны за более агрессивное клиническое течение и склонность опухоли к метастазированию [21]. В то же время, по мнению некоторых авторов, вопрос требует дальнейшего изучения [25].

В нашем случае мутации в промоторе гена *TERT* обнаружены при различных типах невусов (атипичный невус Шпитца, невус Шпитца, невус Рида, лентигинозный невус), что, по-видимому, свидетельствует о том, что выявленные мутации с.-269G>A *TERT* и с.-348G>C *TERT* не являются маркерами злокачественной трансформации меланоцитарных новообразований.

Мутация V600E в гене *BRAF* была обнаружена в диспластическом невусе (пациент 9) и невусе Рида (пациент 10). В последнем случае данная мутация сочеталась с мутациями в промоторе гена *TERT*. Несмотря на то что мутация V600E *BRAF* – наиболее часто выявляемое генетическое нарушение при меланоме кожи у взрослых, этот признак также наблюдается при различных доброкачественных меланоцитарных новообразованиях, чаще – при диспластических невусах [15, 22]. Само по себе наличие мутации V600E *BRAF* в настоящее время не рассматривается в качестве фактора, однозначно обуславливающего развитие последующей злокачественной трансформации меланоцитарных клеток. Считают, что для однозначного прогноза необходимо выявление ряда дополнительных изменений на молекулярном уровне [22, 26].

В образце голубого невуса была выявлена мутация p.Q209L в гене *GNAQ*, что является патогномоничным генетическим нарушением при этом типе невусов [10, 18].

Заключение

Изучение спектра мутаций в образцах редких меланоцитарных опухолей у детей, включая меланому, показало, что тип выявленной мутации в значительной степени зависит от клинической характеристики невуса. В 2 случаях в гигантских врожденных невусах присутствовали мутации в гене *NRAS*, аналогичные мутации выявлялись в образцах меланомы, развившейся на фоне этих невусов. Другая мутация в гене *NRAS* была выявлена в образце врожденного невуса с пролиферативными узлами.

Мутация V600E в гене *BRAF* была обнаружена в диспластическом невусе и невусе Рида, мутация p.Q209L (патогномоничный признак голубого невуса) выявлена в гене *GNAQ*.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Noone A.M., Howlader N., Krapcho M. et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2015. National Cancer Institute: Bethesda, MD, USA, 2018.
- Шливно И.Л., Незнакина М.С., Гаранина О.Е. и др. Невусы у детей: Что определяет нашу тактику. Клиническая дерматология и венерология. 2020;19(5):669–77. [Shlivko I.L., Neznaikhina M.S., Garanina O.E. et al. Nevi in children: What determines our tactics. Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Clinical Dermatology and Venereology 2020;19(5):669–77. (In Russ.)].
- Fisher J., Moustafa D., Su K.A. et al. A pediatric approach to management of skin growths in basal cell nevus syndrome. *Pediatr Dermatol* 2020;37(3):527–30. DOI: 10.1111/pde.14122.
- Merkel E.A., Mohan L.S., Shi K. et al. Paediatric melanoma: clinical update, genetic basis, and advances in diagnosis. *Lancet Child Adolesc Health* 2019;3(9):646–54. DOI: 10.1016/S2352-4642(19)30116-6.
- Kinsler V.A., O'Hare P., Bulstrode N. et al. Melanoma in congenital melanocytic naevi. *Br J Dermatol* 2017;176(5):1131–43. DOI: 10.1111/bjd.15301.
- Polubothu S., McGuire N., Al-Olabi L. et al. Does the gene matter? Genotype-phenotype and genotype-outcome associations in congenital melanocytic naevi. *Br J Dermatol* 2020;182(2):434–43. DOI: 10.1111/bjd.18106.
- Воронина В.Р. Меланоцитарные невусы у детей: Синий невус, галоневус, невус шпигла и дермальные меланоцитозы. Подходы к ведению пациента с множественными меланоцитарными невусами. Практика педиатра. 2019;4:28–33. [Voronina V.R. Melanocytic nevi in children: Blue nevus, halonevus, spitz nevus and dermal melanocytosis. Approaches to managing a patient with multiple melanocytic nevi. *Praktika pediatria = Pediatrician Practice* 2019;4:28–33. (In Russ.)].
- Lallas A., Apalla Z., Ioannides D. et al. International Dermoscopy Society. Update on dermoscopy of Spitz/Reed naevi and management guidelines by the International Dermoscopy Society. *Br J Dermatol* 2017;177(3):645–55. DOI: 10.1111/bjd.15339.
- Белышева Т.С., Любченко Л.Н., Вишневецкая Я.В. и др. Врожденная меланома кожи: молекулярно-генетические аспекты и особенности течения. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2018;2:5–13. [Belysheva T.S., Lyubchenko L.N., Vishnevskaya Ya.V. et al. Congenital skin melanoma: Molecular genetic aspects and features of the course. *Sarkomy kostej, myagkih tkanej i opuholi kozhi = Sarcomas of bones, soft tissues and skin tumors*. 2018;2:5–13. (In Russ.)].
- Olbricht M., Piglowski W., Rajczykowski M. et al. Genetic Profiling of Advanced Melanoma: Candidate Mutations for Predicting Sensitivity and Resistance to Targeted Therapy. *Target Oncol* 2020;15(1):101–13. DOI: 10.1007/s11523-020-00695-0.
- Wiesner T., He J., Yelensky R. et al. Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun* 2014;5:3116. DOI: 10.1038/ncomms4116.
- Gray-Schopfer V.C., Cheong S.C., Chong H. et al. Cellular senescence in naevi and immortalisation in melanoma: a role for p16? *Br J Cancer* 2006;95(4):496–505. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603283.
- Hodis E., Watson I.R., Kryukov G.V. et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell* 2012;150:251–63. DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.024.
- Shain A.H., Yeh I., Kovalyshyn I. et al. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med* 2015;373(20):1926–36. DOI: 10.1056/NEJMoa1502583.
- Tschandl P., Berghoff A.S., Preusser M. et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One* 2013;8(7):e69639. DOI: 10.1371/journal.pone.0069639.
- Zou Y., Sun Y., Zeng X. et al. Novel genetic alteration in congenital melanocytic nevus: MAP2K1 germline mutation with BRAF somatic mutation. *Hereditas* 2020;157(1):35. DOI: 10.1186/s41065-020-00147-9.
- Moustafa D., Blundell A.R., Hawryluk E.B. Congenital melanocytic nevi. *Curr Opin Pediatr* 2020;32(4):491–97. DOI: 10.1097/MOP.0000000000000924.
- Roh M.R., Eliades P., Gupta S., Tsao H. Genetics of melanocytic nevi. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015;28(6):661–72. DOI: 10.1111/pcmr.12412.
- Zarabi S.K., Azzato E.M., Tu Z.J. et al. Targeted next generation sequencing (NGS) to classify melanocytic neoplasms. *J Cutan Pathol* 2020;47(8):691–704. DOI: 10.1111/cup.13695.
- Isales M.C., Khan A.U., Zhang B. et al. Molecular analysis of atypical deep penetrating nevus progressing to melanoma. *J Cutan Pathol* 2020;47(12):1150–4. DOI: 10.1111/cup.13775.
- Lee S., Barnhill R.L., Dummer R. et al. TERT Promoter Mutations Are Predictive of Aggressive Clinical Behavior in Patients with Spitzoid Melanocytic Neoplasms. *Sci Rep* 2015;5:11200. DOI: 10.1038/srep11200.
- Colebatch A.J., Ferguson P., Newell F. et al. Molecular Genomic Profiling of Melanocytic Nevi. *J Invest Dermatol* 2019;139(8):1762–8. DOI: 10.1016/j.jid.2018.12.033.
- Lozada J.R., Geyer F.C., Selenica P. et al. Massively parallel sequencing analysis of benign melanocytic naevi. *Histopathology* 2019;75(1):29–38. DOI: 10.1111/his.13843.
- Lu C., Zhang J., Nagahawatte P. et al. The genomic landscape of childhood and adolescent melanoma. *J Invest Dermatol* 2015;135(3):816–23. DOI: 10.1038/jid.2014.425.
- Requena C., Heidenreich B., Kumar R., Nagore E. TERT promoter mutations are not always associated with poor prognosis in atypical Spitzoid tumors. *Pigment Cell Melanoma Res* 2017;30(2):265–8. DOI: 10.1111/pcmr.12565.
- Волгарева Г.М., Завалишина Л.Э., Казубская Т.П. и др. Молекулярные подходы в диагностике пигментных новообразований кожи у детей: описание четырех случаев. Онкопедиатрия. 2017;4(4):294–300. [Volkareva G.M., Zavalishina L.E., Kazubskaya T.P. et al. Molecular approaches in the diagnosis of pigmented skin neoplasms in children: description of four cases. *Onkopediatriya = Oncoepidemiology* 2017;4(4):294–300. (In Russ.)].

Вклад авторов:

Т.С. Белышева: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка материала, обзор публикаций по теме статьи, написание текста;
 Я.В. Вишневецкая: проведение гистологического и иммуногистохимического исследования;
 И.С. Клецкая: проведение гистологического и иммуногистохимического исследования;
 А.М. Строганова: проведение молекулярно-генетического исследования;
 Д.И. Софронов: обзор публикаций по теме статьи;
 С.Н. Михайлова: редактирование текста;
 С.М. Шумилова: проведение молекулярно-генетического исследования;
 Г.С. Краснов: обработка данных, проведение биоинформационного анализа;
 В.В. Семенова: сбор и подготовка материала для исследования;
 Т.В. Наседкина: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка материала, обзор публикаций по теме статьи, написание текста.

Authors' contributions

T.S. Belysheva: research concept and design, material collection and processing, reviewing of publications on the topic of the article, article writing;
 Y.V. Vishnevskaya: conducting histological and immunohistochemical studies;
 I.S. Kletskaya: conducting histological and immunohistochemical studies;
 A.M. Stroganova: conducting a molecular genetic study;
 D.I. Sofronov: reviewing of publications on the topic of the article;
 S.N. Mikhaylova: editing;
 S.M. Shumilova: conducting a molecular genetic study;
 G.S. Krasnov: data processing; conducting bioinformatic analysis;
 V.V. Semenova: material collection and processing;
 T.V. Nasedkina: research concept and design, material collection and processing, reviewing of publications on the topic of the article, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Т.С. Бельшева / T.S. Belysheva: <https://orcid.org/0000-0001-5911-553X>
 Я.В. Вишневская / Y.V. Vishnevskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4066-179X>
 И.С. Клецкая / I.S. Kletskaya: <https://orcid.org/0000-0002-8552-7682>
 А.М. Строганова / A.M. Stroganova: <https://orcid.org/0000-0002-7297-5240>
 Д.И. Софронов / D.I. Sofronov: <https://orcid.org/0000-0001-9557-3685>
 С.Н. Михайлова / S.N. Mikhaylova: <https://orcid.org/0000-0002-9502-072X>
 С.М. Шумилова / S.M. Shumilova: <https://orcid.org/0000-0002-4124-9203>
 Г.С. Краснов / G.S. Krasnov: <https://orcid.org/0000-0002-6493-8378>
 В.В. Семенова / V.V. Semenova: <https://orcid.org/0000-0002-9705-1001>
 Т.В. Наседкина / T.V. Nasedkina: <https://orcid.org/0000-0002-2642-4202>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все пациенты, участвующие в исследовании, или их представители, подписали информированное согласие на размещение их данных в публикации.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia. All patients or legal representatives of patients gave written informed consent to participate in the study.