

ОСОБЕННОСТИ КОПИЙНОСТИ ГЕНОВ ПРИ МЕЛАНОМЕ КОЖИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ

Кутилин Д.С., Зварич А.М., Позднякова В.В., Захарова Н.А.,
Хохлова О.В., Озеркова Е.А.

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: k.denees@yandex.ru*

Меланома - агрессивная злокачественная опухоль нейроэктодермального происхождения, характеризующаяся низкой 5-летней выживаемостью и эффективностью стандартной терапии, в которую входят ингибиторы BRAF/MEK - дабрафениб и траметиниб. Мутации *BRAF* приводят к активации сигнального пути MAPK и вследствие этого - стимуляции пролиферации, подавлению апоптоза и неопластической трансформации. Выявление мутаций в этом гене является показанием к назначению BRAF-ингибиторов. Однако и другие молекулярно-генетические аномалии (кроме мутаций) могут приводить к стимуляции клеточного деления и неопластической трансформации, в том числе изменение копииности генов. Поэтому целью исследования стало изучение особенностей копииности некоторых генов сигнальных путей MAPK и PI3K при меланоме кожи, связанных с эффективностью терапии BRAF/MEK-ингибиторами. Для выявления ключевых молекулярно-генетических особенностей меланомы кожи, ассоциированных с эффективностью терапии, был проведен анализ открытых баз данных. Для экспериментальной части исследования использовали срезы тканей из парафиновых блоков 317 больных меланомой кожи и 20 образцов свежзамороженных тканей пациентов с доброкачественными новообразованиями кожи. Копийность генов определяли методом ПЦР в режиме реального времени в 327 образцах ДНК, а также проводили секвенирование по Сэнгеру на наличие мутаций в гене *BRAF* в них. В ходе проведенного исследования у больных меланомой с мутацией V600E и без ответа на стандартную терапию обнаружено статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение числа копий генов *BRAF*, *KRAS*, *MEK1*, *ERK2*, *SOS* и *PI3K* относительно доброкачественных новообразований кожи. Увеличение копииности генов *BRAF*, *KRAS*, *MEK1*, *ERK2* и *SOS* может активировать сигнальный путь RAS-RAF-MEK-ERK независимо от мутационного статуса гена *BRAF*, что делает применение BRAF/MEK-ингибиторов не целесообразным у данных пациентов, так же как и у пациентов с повышенной копииностью гена *PI3K*. Рутинное исследование копииности данных генов может позволить избежать неэффективного лечения меланомы кожи дорогостоящими препаратами.

Ключевые слова: меланома кожи, копииность генов, эффективность терапии, ингибиторы протеинкиназ.

GENE COPY NUMBER FEATURES IN SKIN MELANOMA AND THE THERAPY EFFECTIVENESS

Kutulin D.S., Zvarich A.M., Pozdnyakova V.V., Zakharova N.A.,
Khokhlova O.V., Ozerkova E.A.

National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: k.denees@yandex.ru

Melanoma is an aggressive malignant tumor of neuroectodermal origin characterized by low 5-year survival and the effectiveness of standard therapy, which includes the BRAF/MEK inhibitors dabrafenib/trametinib. *BRAF* mutations lead to activation of the MAPK signaling pathway and, as a result, stimulation of cell division and growth, inhibition of apoptosis and neoplastic transformation. Identification of mutations in the *BRAF* gene serves as an indication for the administration of BRAF inhibitors. However, other molecular genetic abnormalities (in addition to mutations) can lead to stimulation of cell division and neoplastic transformation, including changes in gene copy number. Therefore, the aim of the study was to investigate the copy number features of some genes of the MAPK and PI3K signaling pathways in skin melanoma associated with the effectiveness of BRAF/MEK inhibitors therapy. To identify key molecular genetic features of skin melanoma associated with the therapy effectiveness, an analysis of open databases was performed. For the experimental part of the study, we used tissue sections from paraffin blocks of 317 patients with skin melanoma and 20 samples of fresh-frozen tissues of patients with benign skin neoplasms. Gene copy number was determined by real-time PCR in 327 DNA samples, and Sanger sequencing was also performed for the presence of *BRAF* gene mutations in them. During the study, statistically significant ($p < 0.001$) increase in the copy number of the *BRAF*, *KRAS*, *MEK1*, *ERK2*, *SOS* and *PI3K* genes relative to benign neoplasms was found in patients with the V600E mutation without response to therapy. Amplification of the *BRAF*, *KRAS*, *MEK1*, *ERK2* and *SOS* genes can lead to activation of the

RAS-RAF-MEK-ERK signaling pathway regardless of the mutational status of the *BRAF* gene, which makes the use of BRAF/MEK inhibitors unjustified in these patients, as well as in patients with an increased copy number of the *PI3K* gene. Routine testing copy numbers of these genes may help avoid ineffective treatment of skin melanoma with expensive drugs.

Keywords: skin melanoma, gene copy number, therapy efficacy, protein kinase inhibitors.

Введение. В мире ежегодно регистрируется более 325 000 новых случаев и 57 000 летальных исходов меланомы кожи – агрессивной злокачественной опухоли нейроэктодермального происхождения [1]. Эта нозология является одной из наиболее опасных среди онкологических патологий, характеризуется низкой 5-летней выживаемостью, эффективностью стандартной терапии, в которую входят ингибиторы BRAF/MEK – дабрафениб и траметиниб, и ростом заболеваемости (прогнозируемое увеличение на 25% к 2034 г.) [2-4].

Протеинкиназа BRAF является частью сигнального пути RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK). Молекулярные ингибиторы регулярно одобряются Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) для лечения опухолей, и большинство из них нацелены на подавление пролиферации и метаболизма опухолевых клеток. Путь RAS–RAF–MEK–ERK является консервативным сигнальным путем, который играет жизненно важную роль в выживании и дифференцировке клеток. Аберрантная активация сигнального пути RAS–RAF–MEK–ERK вызывает опухоли. Около 33% опухолей содержат мутации RAS, в то время как 8% опухолей вызваны мутациями RAF. За последние десятилетия были приложены большие усилия для воздействия на этот сигнальный путь для лечения рака [5]. Мутации *BRAF* приводят к активации сигнального пути MAPK, и вследствие этого происходит стимуляция пролиферации, подавление апоптоза и неопластическая трансформация. Выявление мутаций в этом гене служит показанием к назначению BRAF-ингибиторов.

Открытие роли пути RAS/RAF/MEK/ERK в меланомогенезе открыло новую эру в лечении этой опухоли. Вемурафениб был первым специфическим ингибитором киназы, одобренным для терапии меланом, содержащих мутации, активирующие *BRAF*, за ним последовали дабрафениб и энкорафениб. Однако, несмотря на превосходные результаты ингибиторов киназы первого поколения в комбинации с ингибиторами MEK с точки зрения скорости ответа, средняя продолжительность ответа была короткой из-за генетических и эпигенетических механизмов резистентности [6].

Важно понимать, что и другие молекулярно-генетические аномалии (кроме мутаций в генах сигнального пути MAPK) могут приводить к стимуляции клеточного деления и неопластической трансформации, в то числе вариации копийности генов (CNV) [4]. Вариация числа копий генов (CNV, copy number variation) – особый тип полиморфизмов, изменяющий количество копий определенного генетического локуса и, соответственно, его экспрессию.

Исследователями накоплены значительные объемы данных о копийности генов сигнального пути MAPK в клетках опухолей [4; 7]. Так, например, высокая экспрессия мРНК *BRAF*, а также высокий уровень числа копий этого гена связаны с поздними стадиями опухоли и неблагоприятным прогнозом при раке молочной железы [8]. А изменение числа копий генов *BRAF* и *NRAS* играет неотъемлемую роль в патогенезе меланомы [9].

Исходя из описанного выше **целью исследования** стало изучение особенностей копийности некоторых генов сигнальных путей MAPK и PI3K при меланоме кожи, связанных с эффективностью терапии *BRAF/MEK*-ингибиторами.

Материалы и методы исследования

На биоинформационном этапе исследования был выполнен анализ открытой базы данных TCGA (The Cancer Genome Atlas, <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>), содержащей информацию о 470 больных меланомой (n=470), для выявления особенностей аномальной копийности генов в меланоме кожи, ассоциированных с эффективностью терапии *BRAF/MEK*-ингибиторами. Данные о числе копий генов были получены из Genomic Data Commons Data Portal (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) с помощью TCGABiolinks (R v.4.0.0, Rstudio). Алгоритм GISTIC был использован для обнаружения областей генома, размер которых значимо изменялся в ряде опухолевых образцов [9; 10].

Для экспериментальной части исследования использовали срезы тканей из FFPE (Formalin-fixed paraffin-embedded)-блоков 317 больных меланомой кожи и 20 образцов свежемороженых тканей пациентов с доброкачественными новообразованиями кожи (невусы). Пациенты получали ингибиторы *BRAF/MEK* по следующей схеме: дабрафениб 150 мг 2 раза в сутки и траметиниб 2 мг 1 раз в сутки в течение 12 месяцев. Выявленные в TCGA аномалии CNV валидировали методом RT-PCR на 327 образцах ДНК, а также проводили секвенирование по Сэнгеру на наличие мутаций в гене *BRAF* у этих пациентов.

Определение уровня относительной копийности генетических локусов. Фенол-хлороформную экстракцию применяли для выделения 327 образцов ДНК, которую, после нормализации, использовали для определения относительной копийности генов методом ПЦР в режиме реального времени (Real-Time qPCR). С использованием базы данных NCBI GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) и онлайн-инструмента Primer-BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) были разработаны последовательности синтетических олигонуклеотидов, в том числе для референсных локусов (*ACTB*, *GAPDH*) (табл. 1).

Перечень синтетических олигонуклеотидов (праймеров)
для определения числа копий генов

Ген	Праймер (5'→3')	Размер ампликона (п.о.)	Область
<i>Grb2</i>	F: AGTGGAGATGCGGGAGAAC R: TCCGTGCTTCAGACACTCAC	~150	Инtron
<i>SOS1</i>	F: CCTCTTTGGCTGCTGACATG R: GCAGCAACTCCTCCATCTTC	~120	Инtron
<i>KRAS</i>	F: TGTGTGACATGTTCTAATATAGTCAC ATTCA R: GAATGGTCCTGCACCAGTA	~130	Промотор Инtron
<i>NRAS</i>	F: GGTGAAACCTGTTTGTGGAC R: CTCTATGGTGGGATCATATTG	~110	Инtron
<i>BRAF</i>	F: TCCCTCTCAGGCATAAGGTAA R: TGGGTGATCTTCTGACTCCAG	~160	Инtron
<i>MEK1</i>	F: CAGCTTCAGCTGTGGTTTCC R: GGGACACACAGGTGAGATGG	~140	Инtron
<i>ERK2</i>	F: TGGCTACACCTTCGACATCG R: TTGGGCTCTATCAGGTCGTC	~180	Инtron
<i>PKA (PRKACA)</i>	F: GTGGTCAGAGCCATCAAGGG R: TGGTGATGGTGGTGTGATG	~100	Инtron
<i>PI3K (PIK3CA)</i>	F: CCTCTTGCTGTTTCACCA R: AGGAATGAAGCCACAGATG	~200	Инtron
<i>β-Актин (ACTB)</i>	F: CATGTACGTTGCTATCCAGCC R: ATCCTTAATGTCACGCACGAT	~250	Кодирующая
<i>GA PDH</i>	F: CCTGAACGGGAAGCTCACC R: GCAGGTTTTTCTAGACGGCAT	~130	Кодирующая

Источник: составлено авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

Список генов, выбранных в ходе биоинформационного анализа, включал 9 локусов, сигнального пути MAPK (*Grb2*, *SOS1*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MEK1*, *ERK2*, *PKA (PRKACA)*, *PI3K (PIK3CA)*). Количественная ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем EvaGreen®Dye (Biotium, США) проводилась на термоциклере Bio-Rad CFX96.

Амплификация каждого образца осуществлялась в 3 технических повторах. При этом усредненные данные по каждому генетическому локусу нормализовались относительно усредненного показателя референсных генов: $\Delta C(t) = C(t) - (\text{среднее гена мишени}) - C(t) - (\text{среднее геометрическое референсных генов})$. Копийность гена (rCN) вычисляли по формуле $rC = E^{-\Delta C(t)}$, где E - эффективность реакции амплификации, рассчитанная по формуле $E = 10^{-1/h}$, где h - коэффициент уравнения $C(t) = h \cdot \log P_0 + b$, полученного путем линейной аппроксимации экспериментальных данных ($E = 1,98$). Далее вычисляли медиану $rC_{\text{оп}}$ для образцов опухолевых

тканей и медиану rCN_n для образцов тканей доброкачественных новообразований по каждому генетическому локусу и рассчитывали кратность изменения (fold change, FC) копийности генов в опухолевых образцах по отношению к нормальным: $FC = rCN_{\text{опухоль}}/rCN_{\text{не опухоль}}$ [10].

Определение соматических мутаций. Определение соматических мутаций V600E, V600K, V600R, K601E проводили методом прямого секвенирования по Сэнгеру с использованием генетического анализатора ABI Prism 3500 (Life Technologies, США). ПЦР для наработки ампликона экзона 15 гена BRAF проводилась с использованием пары праймеров F: TGCTTGCTCTGATAGGAAAATGAGA и R: AACTCAGCAGCATCTCAGGG. Амплификация проводилась по программе: 95 °C - 5 мин. и 40 циклов: 95 °C - 15 с, 66 °C - 15 с, 72 °C - 20 и 72 °C - 30 мин. Секвенирующая амплификация проводилась по стандартному протоколу с использованием набора ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit. Ver 3.1 по программе: 96 °C - 1 мин. и 30 циклов: 96 °C - 10 с, 50 °C - 5 с, 72 °C - 4 мин. [11].

Статистический и биоинформационный анализ данных выполняли в программах и средах программирования, включая Statistica 10.0 (StatSoft, США) и Rstudio (v4.0.1). Для проверки распределения признаков на соответствие закону нормального распределения использовали критерий Колмогорова - Смирнова. Для оценки различий значений количественных показателей применяли непараметрический U-критерий Манна - Уитни. Для учета множественного сравнения использовали поправку Бонферрони [12].

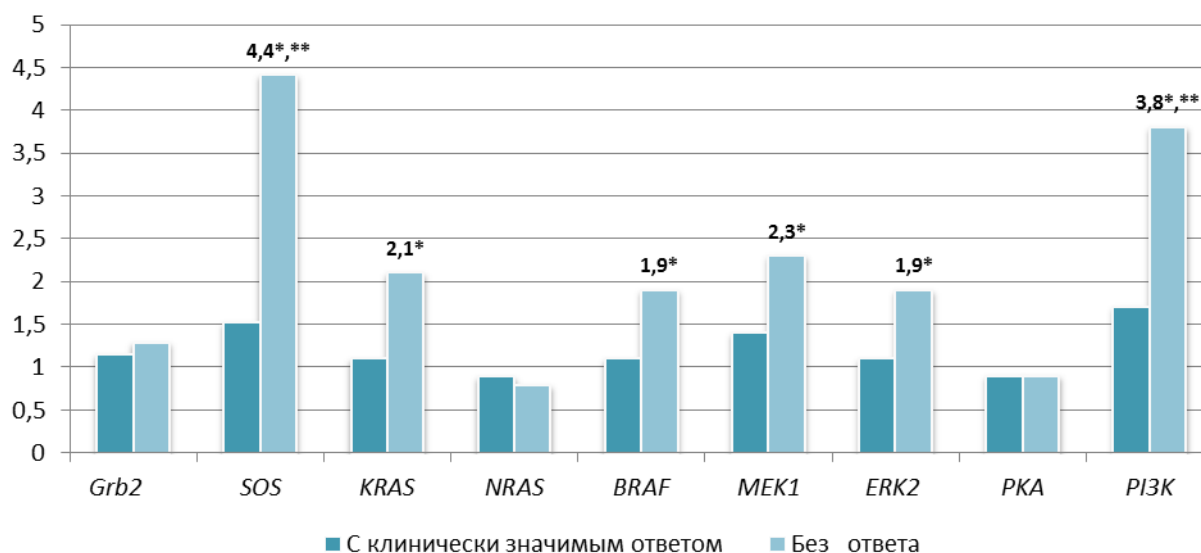
Результаты исследования и их обсуждение

Проведенный биоинформационный анализ TCGA выявил изменение копийности 4500 генов у пациентов с меланомой кожи, 9 из которых (*Grb2*, *SOS*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *MEK1*, *ERK2*, *PKA*, *PI3K*) были ассоциированы с эффективностью терапии ингибиторами BRAF/MEK. Прирост копий гена *BRAF* и *MEK1* был более распространен в образцах с мутациями V600K по сравнению с V600E ($p < 0,001$), что было подтверждено в наборе данных TCGA.

У 317 пациентов ФГБУ «НМИЦ онкологии» МЗ РФ выявлены мутации: V600E у 294, V600K – у 20, V600R – у 1, K601E - у 2 пациентов, и только у 230 из них был зафиксирован клинически значимый ответ на лечение BRAF/MEK-ингибиторами. Биологические образцы всех пациентов были проанализированы на изменение копийности генов *BRAF*, *Grb2*, *KRAS*, *NRAS*, *SOS*, *MEK1*, *ERK2*, *PKA* и *PI3K*. У 87 пациентов с мутацией V600E без ответа на терапию выявлено статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение копийности генов *SOS* в 4,4 раза, *KRAS* в 2,1 раза, *BRAF* в 1,9 раза, *MEK1* в 2,3 раза, *ERK2* в 1,9 раза и *PI3K* в 3,8 раза относительно доброкачественных новообразований (рис.). А также обнаружено статистически

значимое ($p < 0,001$) увеличение копийности генов *SOS* в 2,9 раза и *PI3K* в 2,2 раза у пациентов без ответа на терапию относительно группы с клинически значимым ответом.

Сигнальные пути МАРК являются эволюционно консервативными путями передачи сигнала, которые регулируют множество фундаментальных клеточных процессов, включая пролиферацию клеток, дифференциацию, старение, выживание, трансформацию и миграцию [13].



Относительная копийность генов сигнального пути МАРК в опухолевой ткани относительно ткани доброкачественных новообразований

Примечание. * - статистически значимые отличия относительно доброкачественных новообразований ($p < 0,001$); ** - статистически значимые отличия относительно группы с клинически значимым ответом на терапию ($p < 0,001$).

Источник: составлено авторами по результатам данного исследования.

Эти сигнальные пути характеризуются отличительной чертой линейных/векторных каскадов событий фосфорилирования, которые распространяются от клеточной мембраны к ядру. Путь МАРК активируется при взаимодействии широкого спектра внеклеточных сигналов, включая митогены, факторы роста и цитокины, со специфическими рецепторами плазматической мембраны. Это взаимодействие запускает иерархический каскад событий фосфорилирования, который в конечном итоге заканчивается активацией специфических МАР-киназ (МАРК) - их каталитическая активность определяет специфический сигнальный ответ данного пути, т. е. активацию/репрессию определенного набора генов в ядре вместе с активацией/репрессией определенных клеточных функций в цитоплазме [6]. Сигнальный путь МАРК/ERK необходим для развития и прогрессирования меланомы - мутационный ландшафт, описанный выше, показывает, что наиболее частыми движущими мутациями в меланомогенезе являются активирующие мутации этого пути; более того, реактивация

сигнализации MAPK генетическими и эпигенетическими событиями является основным механизмом приобретенной устойчивости к таргетной терапии в этой опухоли [6].

В нормальных клетках млекопитающих киназы RAF (ARaf, BRaf и CRaf) являются наиболее важными эффекторами RAS [14]; дополнительными эффекторами RAS являются путь PI3K/AKT/PTEN [15] и путь Ral/RalGDS [16]. Пути PI3K и Ral часто активируются при меланоме, где они участвуют в развитии приобретенной лекарственной устойчивости, часто подрывая таргетную терапию BRAF/MEK. Более того, они в значительной степени пересекаются друг с другом и с путем MAPK [16].

В таблице 2 представлены ключевые характеристики генов сигнальных путей MAPK и PI3K/AKT/mTOR с аномальной копийностью.

Таблица 2

Характеристики генов сигнальных путей MAPK и PI3K/AKT/mTOR

Название	Функция	Роль в сигнальном пути
SOS (Son of Sevenless)	Кодирует гуанин-нуклеотид обменный фактор (GEF - Guanine nucleotide Exchange Factor) для белков семейства RAS. Связывается с Grb2 и активирует RAS, способствуя обмену GDP (неактивная форма) на GTP (активная форма)	Непосредственный активатор RAS в ответ на стимуляцию RTK через Grb2
KRAS (Kirsten RAt Sarcoma virus oncogene homolog)	Малая ГТФаза (G-белок) семейства RAS. В активной GTP-связанной форме взаимодействует с эффекторными белками (в первую очередь с RAF киназами), передавая сигнал дальше. Играет ключевую роль в регуляции пролиферации, дифференцировки и выживания клеток	Ключевой переключатель сигнала от RTK/Grb2/SOS к эффекторным путям, таким как MAPK и PI3K. Часто мутирован или амплифицирован при раке
BRAF (B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase)	Серин/треониновая киназа, член семейства RAF киназ. Является основным эффектором белков RAS. Активируется связыванием с RAS-GTP и последующими фосфорилированиями. Фосфорилирует и активирует MEK	Прямой активатор MEK в каскаде MAPK. Мутация V600E является одной из самых известных в онкологии

<i>MEK1</i> (MAP2K1)	Киназа с двойственной специфичностью (фосфорилирует серин/треонин, и тирозин). Активируется фосфорилированием со стороны RAF киназ. Фосфорилирует и активирует MAPK	Прямой активатор MAPK (ERK) в каскаде MAPK
<i>MAPK</i> (Mitogen-Activated Protein Kinase) или <i>ERK2</i> (<i>MAPK1</i>)	Серин/треониновая киназа. Активируется фосфорилированием со стороны MEK. Фосфорилирует множество цитоплазматических и ядерных мишеней (транскрипционные факторы, другие киназы, регуляторы апоптоза, цитоскелетные белки)	Ключевой эффекторный киназный каскад. Регулирует экспрессию генов, участвующих в пролиферации, выживании, миграции, дифференцировке клеток. Конечная киназа каскада RAS-RAF-MEK-MAPK
<i>PI3K</i> (Phosphoinositide 3-Kinase)	Липидная киназа. Фосфорилирует фосфатидилинозитол (4,5)-бисфосфат с образованием фосфатидилинозитол трисфосфата, который служит для рекрутирования в мембрану сигнальных белков с РН-доменами (например, АКТ)	Активирует сигнальный путь PI3K-AKT-mTOR, регулирующий пролиферацию, метаболизм и подвижность клеток. Часто мутирован или амплифицирован при раке

Источник: составлено на основании данных, представленных в источниках [14-17].

Пути PI3K и MAPK/ERK часто активируются совместно в ответ на стимуляцию факторами роста и другими внеклеточными сигналами. Они могут взаимодействовать друг с другом на различных уровнях, усиливая или регулируя клеточный ответ. Нарушения в этих путях, в частности мутации в *PIK3CA*, могут приводить к развитию рака, а понимание этих взаимосвязей имеет значение для разработки новых методов лечения [17].

Заключение

В ходе проведенного исследования у больных меланомой кожи с мутацией V600E в гене *BRAF* и отрицательным ответом на терапию ингибиторами протеинкиназ выявлено статистически значимое ($p < 0,001$) повышенное число копий генов *BRAF*, *SOS*, *KRAS*, *MEK1*, *ERK2* и *PI3K* в опухолевой ткани по сравнению с этим показателем в доброкачественных новообразованиях. Соответственно, у данных пациентов, независимо от наличия или отсутствия мутаций гене *BRAF*, может наблюдаться активация сигнального пути RAS-RAF-MEK-ERK, опосредованная увеличением числа копий генов *BRAF*, *SOS*, *KRAS*, *MEK1* и *ERK2*.

Таким образом, применение *BRAF/MEK*-ингибиторов может быть не целесообразно у данных пациентов, так же как и у больных с повышенной копийностью гена *P13K* в опухолевой ткани. Рутинное исследование CNV данных генов может позволить избежать неэффективного лечения меланомы кожи дорогостоящими препаратами.

Список литературы

1. Кутилин Д.С., Зварич А.М., Позднякова В.В., Захарова Н.А., Хохлова О.В., Озеркова Е.А. Меланома кожи: эпидемиология, этиология и молекулярно-генетические основы патогенеза // Современные проблемы науки и образования. 2025. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=33936> (дата обращения: 06.08.2025). DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.33936>.
2. Davis L.E., Shalin S.C., Tackett A.J. Current state of melanoma diagnosis and treatment // Cancer Biol Ther. 2019. Vol. 20 (11). P. 1366-1379. DOI: 10.1080/15384047.2019.1640032.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 г. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. 2024. ISBN: 978-5-85502-297-1.
4. Сустретов В.А., Кутилин Д.С., Максимов А.Ю., Шатова Ю.С., Касьяненко В.Н. Генетические и эпигенетические аномалии при злокачественных новообразованиях кожи: базальноклеточный и плоскоклеточный рак // Современные проблемы науки и образования. 2022. № 4. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31793> (дата обращения 06.08.2025). DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.31793>.
5. Song Y., Bi Z., Liu Y., Qin F., Wei Y., Wei X. Targeting RAS-RAF-MEK-ERK signaling pathway in human cancer: Current status in clinical trials // Genes Dis. 2022. Vol. 10 (1). P. 76-88. DOI: 10.1016/j.gendis.2022.05.006.
6. Savoia P., Fava P., Casoni F., Cremona O. Targeting the ERK Signaling Pathway in Melanoma // Int J Mol Sci. 2019. Vol. 20 (6). P. 1483. DOI: 10.3390/ijms20061483.
7. Цаплина Н.Н., Кутилин Д.С., Фаткина Н.Б., Гусарева М.А., Порханова Н.В. Молекулярная диагностика чувствительности злокачественных опухолей шейки матки к лучевой терапии // Онкогинекология. 2023. Т. 45 (1). С. 40-53. DOI: 10.52313/22278710_2023_1_40.
8. Alhamdan Y.R., Ayoub N.M., Jaradat S.K., Shatnawi A., Yaghan R.J. BRAF Expression and Copy Number Alterations Predict Unfavorable Tumor Features and Adverse Outcomes in Patients With Breast Cancer // Int J Breast Cancer. 2024. Vol. 2024. P. 6373900. DOI: 10.1155/2024/6373900.
9. Wilson M.A., Zhao F., Khare S., Roszik J., Woodman S.E., D'Andrea K., Wubbenhorst B., Rimm D.L., Kirkwood J.M., Kluger H.M., Schuchter L.M., Lee S.J., Flaherty K.T., Nathanson K.L. Copy Number Changes Are Associated with Response to Treatment with Carboplatin, Paclitaxel, and

Sorafenib in Melanoma // Clin Cancer Res. 2016. Vol. 22 (2). P. 374-82. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1162.

10. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярные подтипы серозной аденокарциномы яичника и выживаемость пациенток // Онкогинекология. 2022. № 4 (44). С. 4-24. DOI: 10.52313/22278710_2022_4_4. URL: https://www.osors.ru/oncogynecology/JurText/j2022_4/04_22_04.pdf (дата обращения 06.08.2025).

11. Кит О.И., Водолажский Д.И., Ефимова И.Ю., Златник Е.Ю., Кочуев С.С. Связь клинико-морфологических особенностей и мутационного статуса гена BRAF в качестве прогностического фактора у больных меланомой кожи // Медицинская генетика. 2016. Т. 15 (6). С. 19-24. URL: https://www.medgen-journal.ru/jour/article/view/138?locale=ru_RU (дата обращения: 06.08.2025).

12. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Кутилин Д.С. Дифференциальная экспрессия микроРНК и их генов-мишеней при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях разной степени тяжести// Успехи молекулярной онкологии. 2020. Т. 7 (2). С. 47–61. DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-47-61.

13. Sun Y., Liu W.Z., Liu T., Feng X., Yang N., Zhou H.F. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis // J. Recept. Signal Transduct. Res. 2015. Vol. 35. P. 600-604. DOI: 10.3109/10799893.2015.1030412.

14. Simanshu D.K., Nissley D.V., McCormick F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease // Cell. 2017. Vol. 170. P. 17-33. DOI: 10.1016/j.cell.2017.06.009.

15. Kakadia S., Yarlagadda N., Awad R., Kundranda M., Niu J., Naraev B., Mina L., Dragovich T., Gimbel M., Mahmoud F. Mechanisms of resistance to BRAF and MEK inhibitors and clinical update of US Food and Drug Administration-approved targeted therapy in advanced melanoma // Onco Targets Ther. 2018. Vol. 11. P. 7095-7107. DOI: 10.2147/OTT.S182721.

16. Khan A.Q., Kuttikrishnan S., Siveen K.S., Prabhu K.S., Shanmugakonar M., Al-Naemi H.A., Haris M., Dermime S., Uddin S. RAS-mediated oncogenic signaling pathways in human malignancies // Semin. Cancer Biol. 2019. Vol. 54 P. 1–13. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.03.001.

17. Михаленко Е.П., Щаюк А.Н., Кильчевский А.В. Сигнальные пути: механизм регуляции пролиферации и выживаемости опухолевых клеток // Молекулярная и прикладная генетика. 2019. Т. 26. С. 145-157. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/signalnye-puti-mehanizm-regulyatsii-proliferatsii-i-vyzhivaemosti-opuholevyh-kletok>.