

**ДЕРМАТООНКОЛОГИЯ**

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.5-006.81.04:575.224

Аксененко М.Б., Комина А.В., Рукша Т.Г.

**АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ МУТАЦИЙ ГЕНОВ NRAS И c-Kit  
У БОЛЬНЫХ BRAF-НЕГАТИВНОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ**ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф.  
В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, 660022, г. Красноярск, Россия

*Идентификация молекулярных подтипов меланомы позволила применять персонализированные подходы в терапии меланомы кожи. Одной из наиболее часто встречающихся драйверных мутаций при меланоме являются мутации онкогена BRAF, определяющиеся в 40–60% всех меланом. Вместе с тем, BRAF-негативные опухоли требуют дальнейшего исследования мутационного статуса, что может быть применено не только для выбора средств индивидуализированной терапии опухоли, но также для прогнозирования течения заболевания. В данной статье представлен анализ у 37 больных меланомой кожи с негативным BRAF-статусом на наличие мутаций в генах NRAS и c-Kit. Выявлено наличие мутаций в 3-м экзоне гена NRAS в 8,1% случаев. В 64,7% в меланомах кожи были определены «молчащие» мутации, что подтверждает возникновение выраженного мутационного процесса под воздействием ультрафиолетового излучения на кожу пациента. В последующем определены клинико-морфологические особенности пациентов, имеющих NRAS-мутации в 3-м экзоне. Данная группа больных характеризуется большей толщиной опухоли по Бреслоу, среди клинических характеристик у данной группы пациентов преобладал женский пол и более старший возраст, чем у больных, не имеющих NRAS-мутации ( $p < 0,05$ ).*

**Ключевые слова:** меланома кожи; секвенирование; ген NRAS; ген c-Kit.

**Для цитирования:** Аксененко М.Б., Комина А.В., Рукша Т.Г. Анализ частоты мутаций генов NRAS и c-Kit у пациентов с BRAF-негативной меланомой кожи. *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2016; 19(6): 324-327. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2016-19-6-324-327>

**Aksenenko M.B., Komina A.V., Ruksha T.G.****ANALYSIS OF THE FREQUENCY OF NRAS AND c-Kit GENE MUTATIONS IN PATIENTS WITH  
BRAF-NEGATIVE MELANOMA**Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical  
University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

*Identification of molecular subtypes of melanoma allowed to use a personalized approach in the treatment of melanoma. One of the most common driver mutations in melanoma is a mutation of the oncogene BRAF, that is determined in 40–60% of all melanomas. However, BRAF-negative tumors require further investigation of mutational status, which can be applied not only to select the means of personalized therapy of tumor, but also for the prediction of disease course. This article presents an analysis of 37 patients with melanoma BRAF-negative for mutations in the genes NRAS and c-Kit. Mutations were identified in the 3 exon of the gene NRAS in 8.1% of cases. In skin melanomas «silent» mutations were identified in 64.7% that confirm the occurrence of pronounced mutation under the influence of ultraviolet radiation on the skin of the patient. We identified clinical and morphological features of patients with NRAS mutation in the 3 exon. This group of patients is characterized by a greater thickness of the tumor Breslow. Female gender and older age were dominated clinical characteristics in this group as compared with patients without NRAS mutations ( $p < 0.05$ ).*

**Key words:** melanoma of the skin; sequencing; NRAS gene; c-Kit gene.

**For citation:** Aksenenko M.B., Komina A.V., Ruksha T.G. Analysis of the frequency of NRAS and c-Kit gene mutations in patients with BRAF-negative melanoma. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Boleznei).* 2016; 19(6): 324-327. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2016-19-6-324-327>

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

**Acknowledgments.** The reported study was funded by RFBR according to the research project №16-34-00461 мол\_a (study on sequencing and data analysis of mutations in the gene NRAS).

The publication is supported by Krasnoyarsk Region Science and Technology Support Fund (protocol No 46, 27 May 2016), (science training M.B. Aksenenko, A.V. Komina entitled “Molecular Oncology” on the basics of bioinformatic analysis of sequencing data).

The study was supported by state assignment “Development of methods for detection and identification of mutations of c-Kit based on PCR technology in real-time sequencing means for selecting a personalized therapy of melanoma” (study on sequencing and data analysis of mutations in the gene c-Kit).

Received 30 September 2016

Accepted 20 October 2016

**Для корреспонденции:**

Аксененко Мария Борисовна, кандидат медицинских наук доцент кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии им. проф. В.В. Иванова, 660022, г. Красноярск, Россия. E-mail: [aksenenko\\_mariya@mail.ru](mailto:aksenenko_mariya@mail.ru).

**For correspondence:**

Aksenenko Maria B., MD, PhD, docente, Department of Pathophysiology with a Course of a Clinical Pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical University of n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation. E-mail: [aksenenko\\_mariya@mail.ru](mailto:aksenenko_mariya@mail.ru).

**Information about authors:**

Aksenenko M.B., <http://orcid.org/0000-0001-7660-700X>; Komina A.V., <http://orcid.org/0000-0002-2269-0298>; Ruksha T.G., <http://orcid.org/0000-0001-8142-4283>.

Меланома кожи представляет собой злокачественное новообразование, характеризующееся быстрым метастазированием, высоким риском рецидивирования [1]. Проблема лечения меланомы остается особенно актуальной в связи с высоким процентом резистентности к традиционным схемам химиотерапии. Терапия меланомы на современном этапе представляет собой комплекс мероприятий, направленных на блокаду основных сигнальных путей, специфичных для меланомы кожи, при помощи препаратов блокирующих продукты онкогенов.

Меланома относится к опухолям, характеризующимся высоким процентом мутаций по сравнению с другими опухолями – при полногеномном секвенировании 105 образцов меланомы выявлено 86 813 кодирующих мутаций, всего было мутировано 78 генов [2]; для сравнения при раке толстой и прямой кишки было мутировано 32 гена [3]. В соответствии с данными литературы, этот факт рассматривают как следствие воздействия на кожу ультрафиолетового (УФ) излучения в процессе жизни человека, отмечая, что наиболее частый и специфичный вид мутаций в геноме, возникающих под влиянием данного фактора – это транзиция С > Т (замена цитозина на тимин) [4].

При этом большое значение отводится молекулярно-генетическому подтипу меланомы кожи, поскольку одним из основных патогенетических звеньев при меланоме кожи является гиперактивация сигнального каскада RAS-RAF-MEK-ERK, которая наиболее часто достигается путем мутации в гене *BRAF* [5]. В 50–70% случаев мутация в гене *BRAF* происходит в 600-м кодоне 15-го экзона [6]. Таким образом, меланомы, имеющие мутации в данном экзоне, можно объединить в группу так называемых *BRAF*-позитивных меланом.

Другой молекулярно-генетической подгруппой являются *BRAF*-негативные меланомы. Как правило, данные меланомы имеют «драйверные» мутации в других генах, наиболее часто в генах *NRAS* и *c-Kit*. Мутации в гене *NRAS* наиболее часто наблюдаются в 12-м и 13-м кодоне 2-го экзона, а также в районе 61-го кодона 3-го экзона [7]. Активирующие мутации в гене *Kit* затрагивают 9, 11, 13, 17 и 18-й экзоны. По данным литературы мутация гена *c-Kit* в 11-м экзоне ассоциирована с гиперэкспрессией мутантного белка, определяемого иммуногистохимическим методом [8]. Данный протоонкоген кодирует трансмембранный тирозинкиназный рецептор фактора роста стволовых клеток – KIT/SCF-R, оказывая влияние на миграцию и пролиферацию меланоцитов [9].

Различия в мутационном статусе меланомы кожи ассоциировано также с различными дерматоскопическими особенностями новообразования: определено, что в меланомах, имеющих мутации в MAPK (митогенактивированные протеинкиназы) каскаде *BRAF* и *NRAS*, характерно наличие дерматоскопической картины типа «молотый черный перец» – структуры регресса меланомы, что является морфологическим следствием иммунологического поведения опухоли [10].

Целью данного исследования стало исследование на наличие мутаций в 59–62-м кодонах 3-го экзона гена *NRAS* и 576-м кодоне 11-го экзона гена *c-Kit* у больных меланомой кожи с негативным *BRAF*-статусом.

## Материал и методы

Анализ данных историй болезней больных меланомой кожи осуществляли на базе КГБУЗ «Красноярский краевой онкологический диспансер», исследование одобрено локаль-

ным этическим комитетом, протокол №52/2013 от 27.11.13. Биоптаты больных меланомой кожи были получены в КГБУЗ «Красноярское краевое патологоанатомическое бюро». Перед выделением ДНК стекла с биоптатами больных меланомой кожи, окрашенные гематоксилином и эозином, оценивали на предмет содержания опухолевых клеток в срезе, отбирали образцы с содержанием опухолевых клеток 60% и более. В дальнейшем проводили выделение геномной ДНК с помощью набора ДНК-сорб В («AmpliSens», Россия).

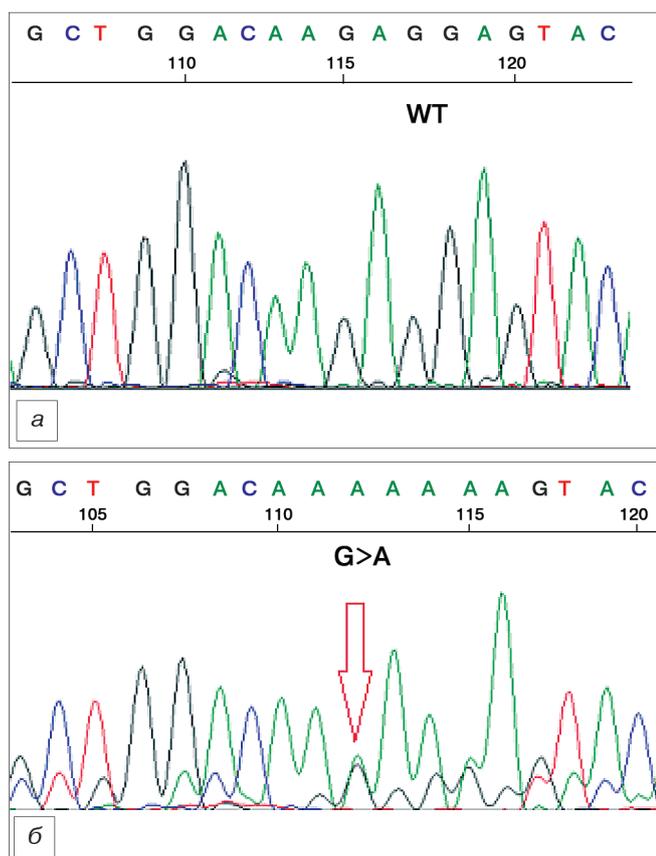
На первом этапе работы проводили анализ мутации *BRAF-V600E* методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени ( $n = 80$ ). На следующем этапе исследования были отобраны 37 больных, имеющих *BRAF*-негативный статус. Затем проводили постановку реакции амплификации ПЦР; для приготовления ПЦР-смеси использовали набор Encyclo Plus PCR kit («Евроген», РФ); ПЦР-смесь готовили в количестве 25 мкл в расчете на одну реакцию. Состав ПЦР-смеси включал следующие компоненты: 10X Encyclo буфер 2,5 мкл (для *c-Kit* был использован 2xGC-буфер) стерильная вода для ПЦР, 50xDNTP 0,5 мкл, PCR-праймер (прямой) и PCR-праймер (обратный) по 1 мкл, ДНК матрица 2,5 мкл, 50X Encyclo полимеразы. Последовательность праймеров для гена *NRAS* (codon 59–62): forward 5'-ATAGCATTG-CATTCCCTGTG, reverse 5'-GCGGATATTAACCTTACAGG. Последовательность праймеров для гена *c-Kit* (codon 576). Условия ПЦР (*NRAS*): предварительная денатурация 95 °C – 3 мин, далее денатурация 95 °C – 30 с, отжиг 54 °C – 40 с, элонгация 72 °C – 40 с; всего: 38 циклов, в завершении финальная элонгация 72 °C – 3 мин. Условия ПЦР (*c-Kit*): 95 °C – 3 мин, 95 °C – 30 с, 53 °C – 40 с, 72 °C – 40 с, 72 °C – 3 мин, 41 цикл, – 5' – (*c-Kit* forward) 5'-CCAGAGTGCTTAAT-GACTG-3', reverse – 5'-AGCCCCTGTTTCATACTGAC-3'. Для подтверждения эффективности ПЦР проводили электрофоретическое разделение молекул в 2% агарозном геле при напряжении 90V/см в течение 40 мин с последующей окраской геля в растворе бромистого этидия с финальной концентрацией раствора 0,2 мкг/мл. После чего проводили визуализацию геля на фильтре УФ трансиллюминатора. Результат реакции считали положительным, если на геле четко были видны светящиеся полосы, соответствующие молекулярной массе ампликона. Для *NRAS* молекулярная масса ДНК-фрагмента составляла 190 пн, для *c-Kit* – 215 пн. Далее проводили очистку ДНК. Выделение концентрированных образцов двухцепочной ДНК из реакционной смеси проводили с помощью набора Cleanup Mini («Евроген», РФ). После чего повторно проводили электрофорез в 2% агарозном геле с целью выяснения количества ПЦР-продукта по интенсивности свечения полос. Для постановки одной реакции секвенирования использовали 10 мкл раствора, содержащего очищенный целевой продукт с концентрацией 20–50 нг/мкл. Секвенирование проводили методом Сэнгера с последующим анализом хроматограмм в программе Sequence scanner 1,0 («Applied Biosystems»).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7,0. Проверку нормальности распределения выборки производили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий определяли с помощью критерия Манна–Уитни. Для оценки качественных признаков применяли точный односторонний критерий Фишера. При  $p < 0,05$  различия признавали статистически значимыми.

## Результаты

При проведении исследования мы выявили мутации в 62-м кодоне 3-го экзона гена *NRAS* в 8,1% случаев, связанные с заменой глутаминовой кислоты на лизин, GAA > AAA (см. рисунок).

Оценка клинических характеристик больных меланомой выявила, что средний возраст больных с нали-



Анализ результатов секвенирования по Сэнгеру.

*a* – хроматограмма пациента, не имеющего мутации в гене *NRAS* – Wild type (дикий тип); *б* – хроматограмма пациента имеющего мутацию в 62-м кодоне 3-го экзона гена *NRAS* (мутантный тип).

чем *NRAS*-мутации составил  $69,6 \pm 12,2$  года и был выше, чем у *NRAS*-негативных больных ( $p < 0,05$ ). Кроме того, в исследуемой выборке все пациенты, имеющие данный вид мутации, были женского пола ( $p < 0,05$ ). Первичная меланома была акрально-ленти-

гинозной формы у 33,4% больных, поверхностно-распространяющейся формы – у 33,2%, узловой формы – у 33,4%. Более чем у 50% пациентов опухоль локализовалась на нижних конечностях, и данная локализация опухоли преобладала над другими анатомическими локализациями ( $p < 0,05$ ). Оценка морфологических характеристик данного вида опухоли выявила, что в 67% случаев толщина опухоли по Бреслоу составила более 4 мм. Во всех случаях *NRAS*-положительные меланомы имели эпителиоидно-клеточную гистологическую структуру и более высокий митотический индекс, чем *NRAS*-негативные меланомы ( $p < 0,05$ ).

Мы наблюдали «молчащие» мутации в 64,7% случаев в кодонах 39, 41, 57, 78, 81 3-го экзона гена *NRAS*. При данном виде мутаций наблюдается замена нуклеотида, не приводящая к изменению кодируемой им аминокислоты, что связано с вырожденностью генетического кода.

У 26,7% пациентов, имеющих отрицательный *BRAF*-статус, не выявлено мутаций ни в гене *NRAS*, ни в гене *c-Kit*. По данным литературы [11], мутации онкогенов *BRAF*, *NRAS*, *c-Kit* не обнаруживаются в 30% случаев меланомы кожи.

Клинико-морфологические особенности больных *BRAF*-негативной меланомой по сравнению с ее мутантным подтипом представлены в **таблице**.

### Обсуждение

Под воздействием на кожу УФ-излучения в опухоли происходит интенсивный мутационный процесс, чем может быть объяснено помимо миссенс-мутаций у пациентов в данной выборке наличие множественных «молчащих» мутаций. Гены с низким уровнем экспрессии имеют очень высокую скорость развития соматических мутаций [12].

Другой молекулярно-генетической особенностью у больных данной выборки было отсутствие мутаций в генах *NRAS* и *c-Kit* у *BRAF*-негативных пациентов, что, в свою очередь, можно объяснить рядом причин.

### Клинико-морфологические особенности *BRAF*-негативных меланом кожи

Клинико-морфологический показатель	<i>BRAF</i> -негативные меланомы кожи		<i>BRAF</i> -положительные меланомы
	<i>NRAS</i> -положительные меланомы кожи	<i>NRAS</i> -негативные меланомы кожи	
Средний возраст пациентов, годы	$69,6 \pm 12,2$	$62,02 \pm 13,9$	$56 \pm 13,4$
Пол	Преобладали женщины	Нет взаимосвязи с полом пациентов	Нет взаимосвязи с полом пациентов
Локализация опухоли	Преимущественно локализуются на конечностях у пациентов	Не выявлено статистически значимой взаимосвязи	Кожа туловища, кожа закрытых участков тела
Клинико-морфологическая форма меланом	Равномерное распределение меланом с различными клинико-морфологическими подтипами	Не выявлено статистически значимой взаимосвязи. Несмотря на отсутствие мутаций в гене <i>c-Kit</i> , следует отметить, что при наличии данного вида мутаций преобладает акрально-лентицинозная локализация меланомы кожи [16]	Не выявлено статистически значимой взаимосвязи
Толщина по Бреслоу	В 67,7% толщина опухоли более 4 мм	В 27,6% толщина опухоли превышала 4 мм	В 39,4% толщина опухоли превышала 4 мм
Гистологический подтип	Преобладал эпителиоидно-клеточный тип	Преобладал эпителиоидно-клеточный и смешанный типы	Нет статистически значимых различий между гистологическим подтипом и <i>BRAF</i> мутацией
Митотический индекс	Высокий	Высокий	Средний
Наличие мутаций в гене <i>c-Kit</i>	Вместе не встречаются	В данной выборке не выявлено, но такое сочетание возможно	Встречаются в единичных случаях совместно

Во-первых, данные меланомы могут относиться к группе так называемых «паннегативных» меланом, у которых отсутствуют основные виды мутаций имеющихся в меланомах [13]. Во-вторых, в этих образцах меланомы могли быть активированы другие «драйверные» гены, такие как *PDGFRA* и *KRAS*. В-третьих, имеются данные об образовании так называемых *BRAF*-химерных белков, слитых химерных белков *PAPSSI – BRAF*, *TRIM24 – BRAF*, которые содержат серин-треонинкиназный домен и обладают киназной активностью белка *BRAF* [14]. Данные меланомы часто имеют также «паннегативный» статус, при этом данный вид меланом резистентен к терапии *BRAF*-ингибиторами, но чувствителен к терапии *MEK*-ингибиторами. В-четвертых, возможно присутствие у данных пациентов более редких вариантов мутаций в анализируемых генах *NRAS* и *c-Kit*, но в других неисследованных экзонах.

Следует также отметить, что мутации в генах *NRAS* и *c-Kit* могут иметь различное биологическое значение. Мутации 2-го экзона гена *NRAS* затрагивают чаще кодоны 12 и 13, и их возникновение, как правило, ассоциировано со стадией инициации канцерогенеза при меланоме кожи. Мутации экзона 3 района 61 кодона, как правило, обнаруживаются на более поздней стадии и ассоциированы с прогрессией заболевания и развитием метастазов меланомы кожи [15].

Различие в мутационном статусе *BRAF*-негативных меланом определяет и терапевтические подходы к данному заболеванию. Так, при наличии *NRAS*-мутации, клетки меланомы при передаче дальнейшего сигнала на киназу *ERK* используют преимущественно киназу *CRAF*, а не *BRAF* [16], в связи с этим для данной группы больных используют ингибиторы киназы *MEK* [17], такие как траметиниб, селуметиниб и *MEK 62*. Терапия *BRAF*-ингибиторами у данной группы пациентов не используется, что связано с тем, что увеличение активности белка *RAS* в результате мутаций в гене *NRAS* приводит к развитию приобретенной резистентности к препаративному ингибитору *BRAF*. Говоря о мутациях в гене *c-Kit*, следует отметить, что такие опухоли чувствительны к иматинибу и другим тирозинкиназным ингибиторам [18]. В проводимых ранее исследованиях показано, что *BRAF*-негативные меланомы обладают более низкой инвазивной способностью, что может также иметь значение при определении тактики ведения данных больных [19].

Определение мутационного статуса больных меланомой кожи является важным шагом в выборе тактики ведения пациентов и подборе персонализированной терапии в данной группе больных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 16-34-00461, мол. а) (часть исследования по секвенированию и анализу данных мутаций в гене *NRAS*).

Публикация выполнена при финансовой поддержке краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» Протокол № 46 от 27 мая 2016 г. (стажировка сотрудников М.Б. Аксененко, А.В. Коминой по теме «Молекулярная онкология» по основам биоинформационного анализа данных секвенирования).

Публикация выполнена в рамках гос. задания «Разработка методов детекции и идентификация мутаций гена *c-Kit* на основе технологий ПЦР в режиме реального времени и секвенирования для выбора средств персонализированной терапии меланомы» (секвенирование и анализ данных мутаций гена *c-Kit*).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мазуренко Н.Н. Генетическая гетерогенность меланомы кожи: новые мишени для селективного воздействия. *Злокачественные опухоли*. 2015; 4(2): 3–8. doi: 10.18027/2224-5057-2015-4s2-3-8.
2. Аксененко М.Б., Рукша М.Б. Инвазивная способность и пролиферативная активность меланомы кожи в зависимости от эпигенетического фактора. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2014; 17(5): 4–8.

Остальные источники литературы см. в References.

## REFERENCES

1. Wick M.R. Cutaneous melanoma: A current overview. *Semin. Diagn. Pathol.* 2016; 33(4): 225–41. doi: 10.1053/j.semdp.2016.04.007.
2. Berger M.F., Hodis E., Heffernan T.P., Deribe Y.L., Lawrence M.S., Protopopov A., et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent *PREX2* mutations. *Nature*. 2012; 485(7399): 502–6.
3. Muzny D.M., Bainbridge M.N., Chang K., Dinh H.H., Drummond J.A., Fowler G., et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Cancer Genome Atlas Network. Nature*. 2012; 487(7407): 330–7. doi: 10.1038/nature11252.
4. Hodis E.L., Watson I.R., Kryukov G.V., Arold S.T., Imielinski M., Theurillat J.P., et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell*. 2012; 150(2): 251–63. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.024.
5. Berger M.F., Garraway L.A. Applications of genomics in melanoma oncogene discovery. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* 2009; 23(3): 397–414. vii. doi: 10.1016/j.hoc.2009.03.005.
6. Ponti G., Pellacani G., Tomasi A., Loschi P., Luppi G., Gelsomino F., et al. Molecular targeted approaches for advanced *BRAF* V600, *N-RAS*, *c-Kit*, and *GNAQ* melanomas. *Dis. Markers*. 2014; 2014: 671283. doi: 10.1155/2014/671283.
7. Burd C.E., Liu W., Huynh M.V., Waqas M.A., Gillahan J.E., Clark K.S., et al. Mutation-specific *RAS* oncogenicity explains *NRAS* codon 61 selection in melanoma. *Cancer Discov.* 2014; 4(12): 1418–29. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0729.
8. Torres-Cabala C.A., Wang W.L., Trent J., Yang D., Chen S., Galbincea J., et al. Correlation between *KIT* expression and *KIT* mutation in melanoma: a study of 173 cases with emphasis on the acral-lentiginous/mucosal type. *Mod. Pathol.* 2009; 22(11): 1446–56. doi: 10.1038/modpathol.2009.116.
9. Tang Y.L., Fan Y.L., Jiang J., Li K.D., Zheng M., Chen W., et al. *c-Kit* induces epithelial-mesenchymal transition and contributes to salivary adenoid cystic cancer progression. *Oncotarget*. 2014; 5(6): 1491–501.
10. Pozzobon F.C., Puig-Butille J.A., Gonzalez-Alvarez T., Carrera C., Aguilera P., Alos L., et al. Dermoscopic criteria associated with *BRAF* and *NRAS* mutation status in primary cutaneous melanoma. *Br. J. Dermatol.* 2014; 171(4): 754–9. doi: 10.1111/bjd.13069.
11. Mazurenko N.N. Genetic heterogeneity of melanoma: a new target for the selective exposure. *Malignant tumors. Russian Journal (Zlokachestvennye opukholi)*. 2015; 4(2): 3–8. (in Russian)
12. Meszaros B., Zeke A., Remenyi A., Simon I., Dosztanyi Z. Systematic analysis of somatic mutations driving cancer: uncovering functional protein regions in disease development. *Biol. Direct*. 2016; 11: 23. doi: 10.1186/s13062-016-0125-6.
13. Jiang W., Jia P., Hutchinson K.E., Johnson D.B., Sosman J.A., Zhao Z. Clinically relevant genes and regulatory pathways associated with *NRAS*Q61 mutations in melanoma through an integrative genomics approach. *Oncotarget*. 2015; 6(4): 2496–508.
14. Hutchinson K.E., Lipson D., Stephens P.J., Otto G., Lehmann B.D., Lyle P.L., et al. *BRAF* fusions define a distinct molecular subset of melanomas with potential sensitivity to *MEK* inhibition. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19(24): 6696–702.
15. Fedorenko I.V., Gibney G.T., Smalley K.S. *NRAS* mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management. *Oncogene*. 2013; 32(25): 3009–18. doi: 10.1038/onc.2012.453.
16. Dumaz N. Mechanism of *RAF* isoform switching induced by oncogenic *RAS* in melanoma. *Small GTPases*. 2011; 2(5): 289–92.
17. Johnpulle R.A., Johnson D.B., Sosman J.A. Molecular Targeted Therapy Approaches for *BRAF* Wild-Type Melanoma. *Curr. Oncol. Rep.* 2016; 18(1): 6. doi: 10.1007/s11912-015-0485-6.
18. Desar I.M., van Herpen C.M., van Erp N.P., Kaal S.E., van de Kerkhof P.C., van der Graaf W.T. A successful approach to overcome imatinib-induced skin toxicity in a *GIST* patient. *Anticancer Drugs*. 2016; 27(6): 576–9. doi: 10.1097/CAD.
19. Akсененко М.Б., Рукша Т.Г. Invasive capacity and proliferative activity of cutaneous melanoma and the epigenetic factor. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Boleznei)*. 2014; 17(5): 4–8. (in Russian)

Поступила 13.07.16  
Принята к печати 20.10.16