

Прогностическая значимость компонентов АКТ/mTOR сигнального пути, транскрипционных и ростовых факторов в развитии рецидивов меланомы кожи

В. А. Богданова¹, Л. В. Спирина^{1,2✉}, С. Ю. Чижевская², И. В. Ковалева^{1,3},
К. В. Никульников², Е. Д. Меркулов¹

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация

² Научно-исследовательский институт онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация

³ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж, Российская Федерация

✉ spirinalvl@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Исследование прогностической значимости компонентов сигнального пути АКТ/mTOR, а также транскрипционных и ростовых факторов в развитии рецидивов меланомы кожи.

Пациенты и методы. В исследование были включены 48 пациентов с верифицированным диагнозом меланома кожи. Все пациенты имели отрицательный статус по мутации BRAF^{V600E}.

Материал исследования – образцы опухолевой и неизмененной кожи, находящиеся на расстоянии не менее 1 см от границы опухолей, полученные при проведении оперативного лечения, которые после забора замораживались и хранились при температуре –80 °С. Экспрессия генов оценивалась методом ПЦР в реальном времени. Статус гена BRAF оценивали с помощью аллель-специфичной ПЦР. Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ Statistica 12.0

Результаты. Прогнозирование течения онкологических заболеваний является важной задачей в практической онкологии. Неблагоприятный исход меланомы во многом обусловлен склонностью к возникновению рецидивов и метастазов как в ближайшем, так и в отдаленном периоде наблюдения. При анализе результатов исследования нами отмечена ассоциация компонентов АКТ/mTOR сигнального пути с развитием рецидивов меланомы кожи и прогрессированием заболевания. Выявлено, что уровень экспрессии АКТ, c-RAF, GSK-3β и VEGFR2 связан с неблагоприятным исходом заболевания. Представлена модель логистической регрессии, которая с высокой точностью может дать прогноз риска развития рецидивов заболевания с учетом экспрессии протеинкиназы mTOR и размера опухоли (T). Отсутствие значимых показателей, связанных с биологическими особенностями опухоли кожи, не позволяет повысить эффективность лечения таких больных. Поэтому внимание исследователей сосредоточено на поиске оптимальных моделей прогноза риска неблагоприятного исхода заболевания.

Заключение. В ходе исследования были идентифицированы молекулярные маркеры, которые позволяют прогнозировать неблагоприятный исход заболевания. Разработана логистическая модель, основанная на экспрессии ключевой киназы mTOR и T, которая позволяет оценить риск возникновения рецидивов заболевания и своевременно изменить тактику лечения.

Ключевые слова: АКТ, c-RAF, GSK-3β, VEGFR2, mTOR, меланома кожи, прогноз

Для цитирования: Богданова В. А., Спирина Л. В., Чижевская С. Ю., Ковалева И. В., Никульников К. В., Меркулов Е. Д. Прогностическая значимость компонентов АКТ/mTOR сигнального пути, транскрипционных и ростовых факторов в развитии рецидивов меланомы кожи. Южно-Российский онкологический журнал. 2025; 6(3): 6-15. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2025-6-3-1>, <https://elibrary.ru/pskoqy>

Для корреспонденции: Спирина Людмила Викторовна – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация; заведующий кафедрой биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация

Адрес: 634050, Российская Федерация, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5

Адрес: 634050, Российская Федерация, г. Томск, Московский тракт, д. 2

E-mail: spirinalvl@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>, SPIN: 1336-8363, AuthorID: 441893, ResearcherID: A-7760-2012, Scopus Author ID: 36960462500

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при Научно-исследовательском институте онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (выписка из протокола заседания № 5 от 26.11.2023 г.). Информированное согласие получено от всех участников исследования

Финансирование: финансирование данной работы не проводилось

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Статья поступила в редакцию 05.01.2025; одобрена после рецензирования 07.04.2025; принята к публикации 05.08.2025

© Богданова В. А., Спирина Л. В., Чижевская С. Ю., Ковалева И. В., Никульников К. В., Меркулов Е. Д., 2025

Prognostic significance of AKT/mTOR signaling pathway components, transcription factors, and growth factors in the development of skin melanoma recurrence

V. A. Bogdanova¹, L. V. Spirina^{1,2✉}, S. Yu. Chizhevskaya², I. V. Kovaleva^{1,3}, K. V. Nikulnikov², E. D. Merkulov¹

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Cancer Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", Tomsk, Russian Federation

³ Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation

✉ spirinalvl@mail.ru

ABSTRACT

Purpose of the study. Was to investigate the prognostic significance of the AKT/mTOR signaling pathway components, transcription, and growth factors in the development of skin melanoma recurrence.

Patients and methods. The study included 48 patients with a verified diagnosis of skin melanoma. All patients had a negative status for the BRAF^{V600E} mutation.

The study material consisted of samples of tumor and unchanged skin located at a distance of at least 1 cm from the tumor border, obtained during surgical treatment, which were frozen and stored at a temperature of –80 °C after sampling. Gene expression was assessed by real-time PCR. The status of the BRAF gene was assessed using allele-specific PCR. Statistical processing was carried out using the Statistica 12.0 software package.

Results. Predicting the course of cancer is an important task in practical oncology. The unfavorable outcome of melanomas is largely due to the tendency to relapses and metastasis in both the short and long-term follow-up period. While analyzing the study results, we noted the association of AKT/mTOR signaling pathway components with the development of skin melanoma recurrence and disease progression. It was revealed that the expression level of AKT, c-RAF, GSK-3 β and VEGFR2 is associated with an unfavorable outcome of the disease. A logistic regression model is presented that can accurately predict the risk of recurrence, taking into account the expression of protein kinase mTOR and the size of the tumor (T). The lack of significant indicators related to the biological features of the skin tumor does not allow to increase the effectiveness of treatment of such patients. Therefore, the attention of researchers is focused on finding optimal models for predicting the risk of an unfavorable outcome of the disease.

Conclusion. Molecular markers were identified that make it possible to predict an unfavorable outcome of the disease during the study. A logistic model based on the expression of the key mTOR kinase and the size of the T has been developed, which makes it possible to assess the risk of disease recurrence and change treatment tactics in a timely manner.

Keywords: AKT, c-RAF, GSK-3 β , VEGFR2, mTOR, skin melanoma, prognosis

For citation: Bogdanova V. A., Spirina L. V., Chizhevskaya S. Yu., Kovaleva I. V., Nikulnikov K. V., Merkulov E. D. Prognostic significance of AKT/mTOR signaling pathway components, transcription factors, and growth factors in the development of skin melanoma recurrence. South Russian Journal of Cancer. 2025; 6(3): 6-15. (In Russ.). <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2025-6-3-1>, <https://elibrary.ru/pskoqy>

For correspondence: Liudmila V. Spirina – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher at the Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", Tomsk, Russian Federation; Head of the Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course in clinical laboratory diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Address: 5 Kooperativny str., Tomsk 634050, Russian Federation

Address: 2 Moskovsky trakt, Tomsk 634050, Russian Federation

E-mail: spirinalvl@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>

SPIN: 1336-8363, AuthorID: 441893

ResearcherID: A-7760-2012

Scopus Author ID: 36960462500

Compliance with ethical standards: the study is carried out in compliance with the ethical principles set forth in the World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ed. 2013. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics at the Scientific Research Institute of Oncology, Tomsk Scientific Research Medical Center (extract from the protocol of meeting No. 5 dated 11/26/2023). Informed consent was obtained from all participants of the study

Funding: this work was not funded

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article

The article was submitted 05.01.2025; approved after reviewing 07.04.2025; accepted for publication 05.08.2025

ВВЕДЕНИЕ

Меланома – это наиболее опасное злокачественное образование кожи, которое отличается агрессивным течением. Согласно исследованию, проведенному на основе данных GLOBOCAN, если рост заболеваемости меланомой с 2020 г. останется неизменным, то к 2040 г. он может возрасти примерно в 1,5 раза. [1]. В 2020 г. в России было зафиксировано около 14 % случаев меланомы среди всех злокачественных опухолей кожи. При этом она стала причиной смерти 70 % пациентов, страдающих от этой группы заболеваний [2, 3].

Меланома возникает вследствие ряда генетических трансформаций, при этом ультрафиолетовое излучение зачастую служит мутагенным фактором риска [4]. Глубокое понимание разнообразия молекулярных сигнальных путей, характерных для различных типов меланомы, позволяет более точно описать эти патологии и предоставляет инструменты для создания методов лечения, основанных на воздействии на сигналы, генерируемые этими каскадами [5]. Среди ключевых молекулярно-генетических индикаторов можно выделить мутацию гена *BRAF*, которая встречается в 60–80 % случаев всех злокачественных новообразований кожи [6, 7].

В настоящее время становятся все более доступны современные методы лечения меланомы кожи, что улучшает показатели выживаемости, однако отсутствуют инструменты для предсказания рецидива меланомы кожи. Для прогнозирования рецидива меланомы кожи на ранних стадиях развития рассматривают использование клинических и гистологических данных в технологиях машинного обучения [8]. Помимо этого, прогнозирование неблагоприятного исхода заболевания возможно при исследовании молекулярных маркеров в гомогенатах образцов ткани опухоли и прилежащей к ней визуально неизменной ткани [9]. Большое значение придается изучению генетических факторов, способных прогнозировать риск развития неблагоприятного исхода заболевания [10, 11]. В целом, обоснование применения ряда сигнальных каскадов, ассоциированных с молекулярными особенностями роста опухоли, является актуальной проблемой фундаментальной онкологии [12].

В ранее проведенных исследованиях была показана роль микроРНК в регуляции данных маркеров [13, 14], отражая интенсивность процессов

онкогенеза. Отмечена их ассоциация с наличием признаков инвазивного роста и метастазирования. Однако, в целом, практически отсутствуют подходы, позволяющие с высокой точностью прогнозировать развитие неблагоприятного исхода заболевания.

Цель исследования: изучение прогностической роли компонентов сигнального пути AKT/mTOR, а также транскрипционных и ростовых факторов в прогнозировании рецидивов меланомы кожи.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 48 пациентов с подтвержденным диагнозом «меланома кожи». Возраст участников исследования составлял от 45 до 72 лет, а стадии заболевания варьировались от I до IV. Все пациенты прошли хирургическое лечение, которое включало широкое иссечение опухоли кожи с биопсией сторожевого лимфатического узла.

T1a N0M0 стадия заболевания выявлена у 10 (21 %) пациентов, T1b N0M0 – у 12 (25 %), T2b N0M0 – у 2 (4 %), T3a N0M0 – у 11 (23 %), T3b N0M0 – у 2 (4 %), T4a N1M0 – у 9 (19 %), T4b N1M0 – у 2 (4 %).

Изъязвление опухоли отсутствовало у 23 (47 %) пациентов, а наличие изъязвления опухоли отмечалось у 25 (53 %) больных. Уровень инвазии по Кларку 1-й степени не был зафиксирован, 2-я степень отмечена у 17 (35 %); 3-я степень – у 17 (35 %); 4-я степень – у 3 (6,5 %); 5-я степень – у 11 (23,5 %).

Толщина опухоли по Бреслоу менее 0,75 мм зафиксирована у 6 (12 %), от 0,75 до 1,5 мм отмечалась у 20 (41 %), от 1,51 до 3,0 мм – у 2 (6 %), от 3,01 до 4,0 мм – у 6 (12 %), более 4,01 мм – у 14 (29 %).

Важно отметить, что у всех пациентов отсутствовала мутация *BRAF*^{V600E}. Исследование было одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук». В качестве контрольной группы были выбраны 6 пациентов с меланоцитарным невусом. Все процедуры с участием пациентов проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией по правам человека (1964 г.). Перед началом исследования все участники подписали информированное согласие. Материалом для исследования были образцы опухолевой и здоровой кожи, полученные в ходе хирургического лечения. Образцы были взя-

ты на расстоянии не менее 1 см от границы опухоли и заморожены для последующего хранения при температуре –80 °С.

Выделение РНК. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК-азу I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280 = 1,95–2,05; A260/A230 = 1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6–7,8.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратнотранскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (Bio-Rad, USA; ЦКП «Медицинская генетика»). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК:

CAIX: F 5'-GTTGCTGTCTCGCTTGGAA-3',
 R 5'-CAGGGTGTCTAGAGAGGGTGT-3';
 HIF-1α: F 5'-CAAGAACCTACTGCTAATGCCA-3',
 R 5'-TTTGGTGAGGCTGTCCGA-3';
 EPAS1: F 5'-TGGAGTATGAAGAGCAAGCCT-3',
 R 5'-GGGAACCTGCTCTTGCTGT-3';
 NFKB1: F 5'-CGTGTAACCAAGCCCTAAA-3',
 R 5'-AACCAAGAAAGGAAGCCAAGT-3';
 RELA: F 5'-GGAGCACAGATACCACCAAGA-3',
 R 5'-GGGTTGTTGTTGGTCTGGAT-3';
 VEGFA: F 5'-AGGGCAGAATCATCACGAA-3',
 R 5'-TCTTGCTCTATCTTTCTTTGGTCT-3';
 KDR: F 5'-AACACAGCAGGAATCAGTCA-3',
 R 5'-GTGGTGTCTGTGTCATCGGA-3';
 4E-BP1: F 5'-CAGCCCTTTCTCCCTCACT-3',
 R 5'-TTCCCAAGCACATCAACCT-3';
 AKT1: F 5'-CGAGGACGCCAAGGAGA-3',
 R 5'-GTCATCTTGGTCAGGTGGTGT-3';
 C-RAF: F 5'-TGGTGTGCTCTGCTCCCT-3',
 R 5'-ACTGCCTGCTACCTTACTTCCT-3';
 GSK-3β: F 5'-AGACAAGGACGGCAGCAA-3',

R 5'-TGGAGTAGAAGAAATAACGCAAT-3';
 70S kinase alpha:
 F 5'-CAGCACAGCAAATCCTCAGA-3',
 R 5'-ACACATCTCCCTCTCCACCTT-3';
 mTOR: F 5'-CCAAAGGCAACAAGCGAT-3',
 R 5'-TTCACCAAACCGTCTCCAA-3';
 PDK1: F 5'-TCACCAGGACAGCCAATACA-3',
 R 5'-CTCCTCGGTCACTCATCTTCA-3';
 VHL: F 5'-GGCAGGCGAATCTCTTGA-3',
 R 5'-CTATTTCTTTACTCAGCACCAT-3';
 PD-L2: F 5'-GTTCCACATACCTCAAGTCCAA-3',
 R 5'-ATAGCACTGTTCACTTCCCTCTT-3';
 PD-L1: F 5'-AGGGAGAATGATGGATGTGAA-3',
 R 5'-ATCATTCACAACCACACTCACAT-3';
 PD-1-1: F 5'-CTGGGCGGTGCTACAAC-3',
 R 5'-CTTCTGCCCTTCTCTGTCA-3';
 AMPK: F 5'-AAGATGTCCATTGGATGCACT-3',
 R 5'-TGAGGTGTTGAGGAACCAGAT-3';
 LC3B: F 5'-CCCAAACCGCAGACACAT-3',
 R 5'-ATCCCAACGACCCAGCAC-3';
 GAPDH: F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3',
 R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'.

Двухшаговая программа амплификации включала: предварительную денатурацию реакционной смеси при 94 °С, 10 минут – 1 цикл; денатурацию при 94 °С, 10 секунд и отжиг/элонгацию при 60 °С, 20 секунд – 40 циклов. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore>).

В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по $2^{-\Delta\Delta C_t}$ по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену-рефери фермента GAPDH.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 12.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Ме (Q1; Q3). Значимость различий независимых параметров оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. При сравнении различий в более чем двух исследуемых группах применяли непараметрический дисперсионный анализ (Критерий Крускала-Уоллиса).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прогнозирование исходов лечения онкологических заболеваний представляет собой одну из ключевых задач в онкологии. Неблагоприятный прогноз при меланоме сопряжен с высокой вероятностью рецидива и метастазирования. В рамках

данного исследования мы провели анализ точности молекулярных маркеров меланомы кожи в отношении прогнозирования ее развития. Для этого мы использовали log-ранговый критерий и кривые выживаемости Каплана-Мейера. В результате исследования было установлено, что наибольшую значимость для прогнозирования безрецидивной

Таблица 1. Однофакторный анализ прогностических параметров у больных с меланомой кожи с применением log рангового теста

Показатель	Экспрессия, УЕ/мл	Выживаемость без прогрессирования, p
4EBP1, Усл. Ед.	< 1,00 > 1,00	0,57770
AKT, Усл. Ед.	< 1,0 > 1,0	0,00548
c-RAF	< 0,5 > 0,5	0,04345
GSK-3β	< 0,85 > 0,85	0,04229
70S 6 киназа	< 0,03 > 0,03	0,99828
m-TOR, Усл. Ед.	< 0,97 > 0,97	0,11658
PDK1, Усл. Ед.	< 1,53 > 1,53	0,47026
PTEN, Усл. Ед.	< 0,01 > 0,01	0,68012
NF-kB p65, Усл. Ед.	< 0,20 > 0,20	0,18567
NF-kB p50, Усл. Ед.	< 0,05 > 0,05	0,36003
VEGFR2, Усл. Ед.	< 1,00 > 1,00	0,00156
VEGF, Усл. Ед.	< 1,00 > 1,00	0,36003
CAIX, Усл. Ед.	< 0,13 > 0,13	0,51732
HIF-1, Усл. Ед.	< 0,26 > 0,26	0,18567
HIF-2, Усл. Ед.	< 0,81 > 0,81	0,92342
VHL, Усл. Ед.	< 0,14 > 0,14	0,81110
PD-1, Усл. Ед.	< 1,15 > 1,15	0,82655
PD-L1, Усл. Ед.	< 0,60 > 0,60	0,22916
PD-L2, Усл. Ед.	< 1,34 > 1,34	0,88087
AMPK, Усл. Ед.	< 0,00 > 0,00	0,48182
Экспрессия LC3B, Усл. Ед.	< 0,50 > 0,50	0,29877

выживаемости имеют показатели экспрессии таких маркеров, как АКТ, с-RAF, GSK-3 β и VEGFR2 (табл. 1).

В ходе исследования, направленного на определение прогностической ценности экспрессии транскрипционных и ростовых факторов, а также компонентов АКТ/mTOR сигнального каскада для оценки выживаемости без прогрессирования у пациентов с меланомой кожи, было установлено, что наилучшие результаты достигаются при уровне экспрессии генов АКТ выше 1,0 (рис. 1); с-RAF ниже 0,5 (рис. 2); GSK-3 β ниже 0,85 (рис. 3) и VEGFR2 выше 1,0 (рис. 4) усл. ед.

На основе результатов клинических и морфологических исследований, а также экспрессии определенных молекулярных маркеров, была разработана модель, позволяющая прогнозировать рецидив меланомы кожи и неблагоприятный исход заболевания.

Метод заключается в оценке экспрессии серинтреониновой протеинкиназы mTOR и учете размера опухоли (Т). Эти данные используются для расчета риска прогрессирования меланомы кожи (Р). Если $P < 0,8$, то прогнозируется высокий риск прогрессирования заболевания, а если $P \geq 0,8$, то прогнозируется низкий риск прогрессирования. Метод

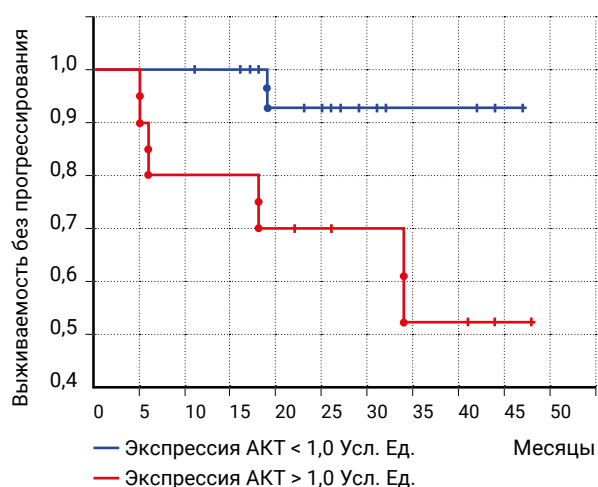


Рис. 1. Выживаемость без прогрессирования у больных меланомами кожи в зависимости от экспрессии АКТ

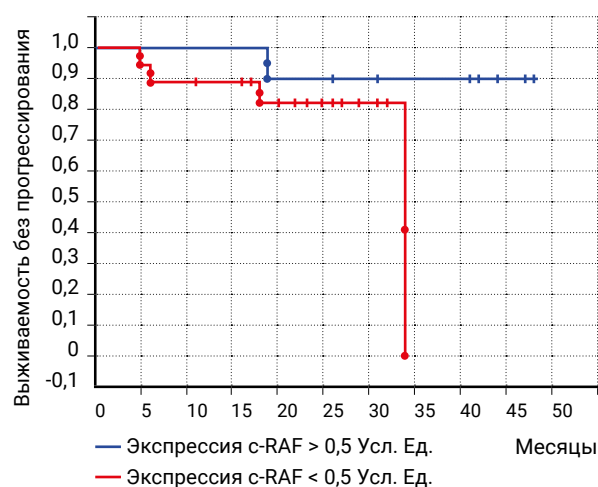


Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования у больных меланомами кожи в зависимости от экспрессии с-RAF

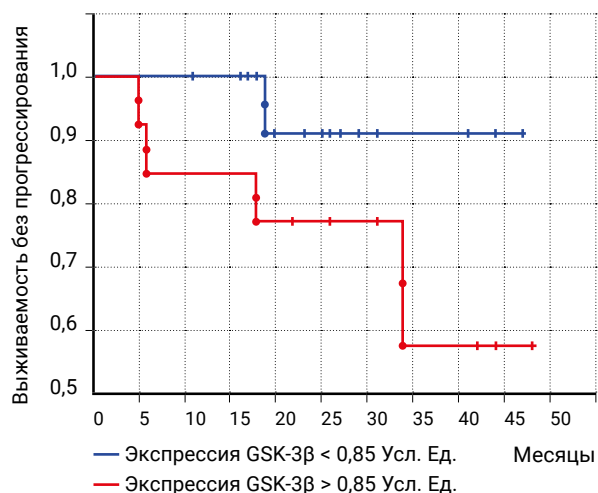


Рис. 3. Выживаемость без прогрессирования у больных меланомами кожи в зависимости от экспрессии GSK-3 β

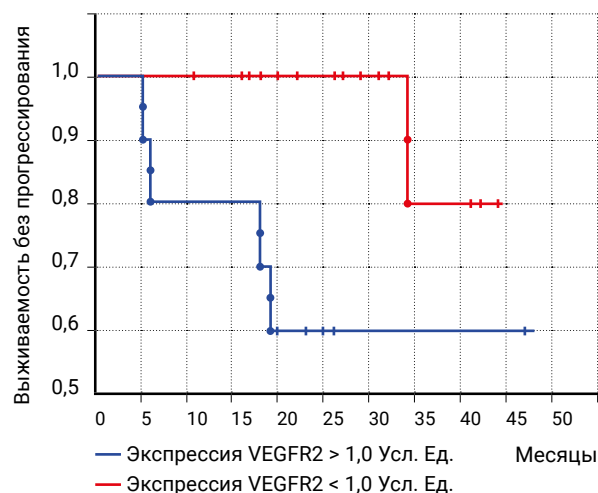


Рис. 4. Выживаемость без прогрессирования у больных меланомами кожи в зависимости от экспрессии VEGFR2

основан на анализе результатов лабораторных и клинических исследований, а также на расчете модели логистической регрессии. В модель были включены следующие параметры: T и экспрессия mTOR. Для построения модели была использована полиномиальная логистическая регрессия. Анализ проводился с использованием программ Statistica 12.0. На основе оптимальной совокупности параметров с уровнем значимости $p < 0,05$ была определена регрессионная функция (F) для расчета риска прогрессирования меланомы кожи у пациентов.

У больных в регрессионную функцию включены следующие информативные показатели с уровнем значимости $p < 0,05$: T, экспрессия серинтреониновой протеинкиназы mTOR. На следующем этапе определено значение F по формуле:

$$F(x_1, x_2) = 4,551 + b_1x_1 + b_2x_2,$$

где коэффициенты регрессионной функции: $b_1 = -1,693$, $b_2 = 0,508$; x_1 – T; x_2 – экспрессия серинтреониновой протеинкиназы mTOR.

В последующем, используя значение регрессионной функции и основание натурального логарифма (e), была разработана математическая модель в виде формулы для определения у больных риска прогрессирования.

Общий вид математической модели:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-S}}$$

где P – вероятность прогрессирования меланом, e (основание натурального логарифма) = 2,718, S – регрессионная функция.

Определение эффективности математической модели проводилось при помощи ROC-анализа (Receiver Operating Characteristic). Чувствительность модели у пациентов с меланомами кожи составила 86,7 %, специфичность – 90 %. Для оценки качества построенной математической модели использовалась характеристика площади под ROC-кривой – AUC (Area Under Curve), результаты представлены в таблице 2.

Для переменной или переменных результата проверки: Предсказанная вероятность есть по крайней мере одна связь между группой положительного актуального состояния и группой отрицательного актуального состояния. Статистика может быть искажена.

Значение параметра AUC для данной модели составило 0,933, что позволяет характеризовать ее как отличную согласно общепринятым критериям, представленным в таблице 3.

В качестве оптимального критерия для разделения результатов на две категории было выбрано требование максимальной общей чувствительности и специфичности модели.

$$\text{optimal cut-off value} = \max|Se + Sp|,$$

Где Se – чувствительность модели, Sp – специфичность модели.

Таблица 2. Площадь под кривой

Переменные результата проверки: Предсказанная вероятность				
Область	Стандартная ошибка*	Асимптотическая зч**	Асимптотический 95 % доверительный интервал	
			Нижняя граница	Верхняя граница
0,933	0,040	0,000	0,855	1,000

Примечание: * – в соответствии с непараметрическим предположением; ** – нулевая гипотеза: = действительная площадь = 0,5

Таблица 3. Характеристика логистической модели

Значение параметра AUC	Качество модели
0,9 – 1,0	отличное
0,8 – 0,89	очень хорошее
0,7 – 0,79	хорошее
0,6 – 0,69	среднее
0,5 – 0,59	неудовлетворительное

Значение пороговой величины было определено на основании результатов вычислений координат ROC-кривой (табл. 4).

Максимальное суммарное значение чувствительности и специфичности составило 1,867, что соответствует порогу отсека, равному 0,803. Результаты построения ROC-кривой для данной модели отображены на рисунке 5.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования была выявлена связь между компонентами сигнального пути АКТ/mTOR и рецидивами меланомы кожи, а также прогрессированием заболевания. Было установлено, что

уровень экспрессии таких белков, как АКТ, c-RAF, GSK-3 β и VEGFR2, в ткани опухоли коррелирует с интенсивностью процессов онкогенеза и отражает ключевые особенности биологического поведения опухоли. Эти результаты были подтверждены в предыдущих исследованиях, которые также указывали на вовлеченность данных молекулярных маркеров в процессы онкогенеза [11–14]. Представленные данные указывают на активацию процессов пролиферации трансформированных клеток, инвазивного роста и неоангиогенеза.

Очевидно, что отсутствие значимых показателей, связанных с биологическими особенностями опухоли кожи, не позволяет повысить эффективность лечения таких пациентов. В связи с этим внимание

Таблица 4. Координаты кривой

Верно, если $\geq$ ^a	Чувствительность (Se)	1 – Специфичность	Специфичность (Sp)	Se+Sp
0,0000000	1,000	1,000	0,000	1,000
0,1420958	1,000	0,800	0,200	1,200
0,1553039	0,933	0,800	0,200	1,133
0,1675397	0,933	0,600	0,400	1,333
0,3685236	0,933	0,400	0,600	1,533
0,5837076	0,933	0,200	0,800	1,733
0,6749142	0,867	0,200	0,800	1,667
0,8027119	0,867	0,000	1,000	1,867
0,8809557	0,800	0,000	1,000	1,800
0,9220825	0,733	0,000	1,000	1,733
0,9456728	0,667	0,000	1,000	1,667
0,9460033	0,600	0,000	1,000	1,600
0,955173	0,533	0,000	1,000	1,533
0,9653566	0,467	0,000	1,000	1,467
0,9691635	0,400	0,000	1,000	1,400
0,977768	0,333	0,000	1,000	1,333
0,9877487	0,267	0,000	1,000	1,267
0,994264	0,200	0,000	1,000	1,200
0,9975519	0,133	0,000	1,000	1,133
0,9984705	0,067	0,000	1,000	1,067
1,0000000	0,000	0,000	1,000	1,000

Примечание: наименьшее пороговое значение соответствует минимальному наблюдаемому проверяемому значению минус 1, а наибольшее пороговое значение – максимальное наблюдаемое проверяемое значение плюс 1. Все остальные пороговые значения – средние двух последовательных упорядоченных наблюдаемых проверяемых значений

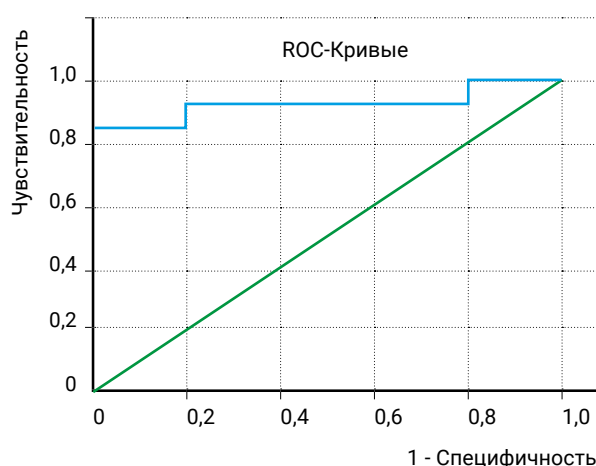


Рис. 5. ROC-кривая для модели, определяющей вероятность прогрессирования меланомы кожи

исследователей сосредоточено на поиске оптимальных моделей предсказания риска неблагоприятного исхода заболевания. В проведенном исследовании представлена модель логистической регрессии, которая с высокой точностью может предсказать риск развития рецидивов заболевания с учетом экспрессии протеинкиназы mTOR и T. Зна-

чение данного маркера обосновано во многих работах и опосредует эффективность лечения [15]. Стоит отметить, что у данных пациентов не была найдена мутация BRAF^{V600E}, что свидетельствует о наличии других молекулярных особенностей в механизмах опухолевого роста. При этом экспрессия mTOR имеет существенное значение, что, по-видимому, обусловлено ее участием в механизмах формирования резистентности к лечению и, в частности, в прогрессировании заболевания [16, 17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были выявлены молекулярные маркеры, которые позволяют предсказать неблагоприятное течение заболевания, связанного с рецидивами опухоли. В работе была предложена логистическая модель, учитывающая экспрессию ключевой киназы mTOR и T, которая позволяет прогнозировать риск рецидивов заболевания. Полученные данные свидетельствуют о перспективности данной модели в качестве инструмента для прогнозирования прогрессирования заболевания.

Список источников

1. Arnold M, Singh D, Laversanne M, Vignat J, Vaccarella S, Meheus F, et al. Global Burden of Cutaneous Melanoma in 2020 and Projections to 2040. *JAMA Dermatol.* 2022 May 1;158(5):495–503. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2022.0160>
2. Rabbie R, Ferguson P, Molina-Aguilar C, Adams DJ, Robles-Espinoza CD. Melanoma subtypes: genomic profiles, prognostic molecular markers and therapeutic possibilities. *J Pathol.* 2019 Apr;247(5):539–551. <https://doi.org/10.1002/path.5213>
3. Tehranian C, Fankhauser L, Harter PN, Ratcliffe CDH, Zeiner PS, Messmer JM, et al. The PI3K/Akt/mTOR pathway as a preventive target in melanoma brain metastasis. *Neuro Oncol.* 2022 Feb 1;24(2):213–225. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab159>
4. Ito T, Hashimoto H, Kaku-Ito Y, Tanaka Y, Nakahara T. Nail Apparatus Melanoma: Current Management and Future Perspectives. *J Clin Med.* 2023 Mar 12;12(6):2203. <https://doi.org/10.3390/jcm12062203>
5. Manzano JL, Martin-Liberal J, Fernández-Morales LA, Benítez G, Medina Martínez J, Quindós M, et al. Adjuvant dabrafenib and trametinib for patients with resected BRAF -mutated melanoma: DESCRIBE-AD real-world retrospective observational study. *Melanoma Res.* 2023 Oct 1;33(5):388–397. <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000888>
6. Johnson DB, Menzies AM, Zimmer L, Eroglu Z, Ye F, Zhao S, et al. Acquired BRAF inhibitor resistance: A multicenter meta-analysis of the spectrum and frequencies, clinical behaviour, and phenotypic associations of resistance mechanisms. *Eur J Cancer.* 2015 Dec;51(18):2792–2799. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.022>
7. Schadendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. *Lancet.* 2018 Sep 15;392(10151):971–984. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31559-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31559-9)
8. Wan G, Nguyen N, Liu F, DeSimone MS, Leung BW, Rajeh A, et al. Prediction of early-stage melanoma recurrence using clinical and histopathologic features. *NPJ Precis Oncol.* 2022 Oct 31;6(1):79. <https://doi.org/10.1038/s41698-022-00321-4>
9. Патент Российской Федерации RU 2643761 C1. Кит О. И., Златник Е. Ю., Кочуев С. С., Демидова А. А., Новикова И. А., Загора Г. И. и др. Способ расчета прогноза раннего прогрессирования меланомы кожи. Зарегистрировано: 10.08.2017. Опубликовано: 05.02.2018. EDN: DQCTYR
10. Ferreira AMC, Carron J, Gomez GVB, Vazquez V de L, Serrano SV, Lourenço GJ, et al. Association of Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4 (CTLA-4) Genetic Variants with Risk and Outcome of Cutaneous Melanoma. *Int J Mol Sci.* 2024 Nov 17;25(22):12327. <https://doi.org/10.3390/ijms252212327>

11. Zhang Y, Xie A, Wang D, Deng W. Novel Prognostic Markers for Skin Cutaneous Melanoma. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2024;17:2615–2625. <https://doi.org/10.2147/CCID.S486679>
12. Luo WF, Song DM, Shen T, He YB, Du HY, Si MJ, et al. Exploring new mechanisms in cancer molecular pathways and pathogenic cell transformation: PIP4K2A as a prognostic marker and therapeutic target in cutaneous malignant melanoma. *Discov Oncol*. 2024 Nov 23;15(1):697. <https://doi.org/10.1007/s12672-024-01555-3>
13. Никульников К. В., Богданова В. А., Спирина Л. В., Чижевская С. Ю., Кондакова И. В., Чойнзонов Е. Л. и др. Экспрессия транскрипционных, ростовых факторов, компонентов сигнального пути АКТ/мTOR, рецепторов и лигандов программируемой клеточной гибели ткани меланомы. *Успехи молекулярной онкологии*. 2024;11(1):46–54. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-46-54>, EDN: JE OVHB
14. Abd-Allah GM, Ismail A, El-Mahdy HA, Elsakka EGE, El-Husseiny AA, Abdelmaksoud NM, et al. miRNAs as potential game-changers in melanoma: A comprehensive review. *Pathol Res Pract*. 2023 Apr;244:154424. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154424>
15. Jiang Y, Hu X, Wang Z, Zhang Q, Chen D, Zhao P. RPTOR mutation: a novel predictor of efficacious immunotherapy in melanoma. *Invest New Drugs*. 2024 Feb;42(1):60–69. <https://doi.org/10.1007/s10637-023-01413-z>
16. Indini A, Fiorilla I, Ponzone L, Calautti E, Audrito V. NAD/NAMPT and mTOR Pathways in Melanoma: Drivers of Drug Resistance and Prospective Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 1;23(17):9985. <https://doi.org/10.3390/ijms23179985>
17. Spirina LV, Usynin YA, Yurmazov ZA, Slonimskaya EM, Kolegova ES, Kondakova IV. [Transcription factors NF- κ B, HIF-1, HIF-2, growth factor VEGF, VEGFR2 and carboanhydrase IX mRNA and protein level in the development of kidney cancer metastasis]. *Mol Biol (Mosk)*. 2017;51(2):372–377. <https://doi.org/10.7868/S0026898417020197>

Информация об авторах:

Богданова Вероника Александровна – лаборант-исследователь, ассистент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8473-4182>, SPIN: 8903-4911, AuthorID: 1250988

Спирина Людмила Викторовна ✉ – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация; профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>, SPIN: 1336-8363, AuthorID: 441893, ResearcherID: A-7760-2012, Scopus Author ID: 36960462500

Чижевская Светлана Юрьевна – д.м.н., врач-онколог высшей категории, ведущий научный сотрудник отделения опухолей головы и шеи, Научно-исследовательский институт онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2974-4778>, SPIN: 9561-3382, AuthorID: 560288, ResearcherID: C-8960-2012, Scopus Author ID: 23033628800

Ковалева Ирина Владимировна – к.м.н., ассистент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация; ассистент кафедры клинической и лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2964-9041>, SPIN: 9737-7086, AuthorID: 1076520, ResearcherID: HLQ-0894-2023, Scopus Author ID: 57215197522

Никульников Константин Валерьевич – врач-онколог отделения опухолей головы и шеи, Научно-исследовательский институт онкологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-7211-7686>, SPIN: 5258-7989, AuthorID: 1191435, ResearcherID: LXB-3679-2024

Меркулов Евгений Дмитриевич – лаборант кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной медицины, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7082-9389>, SPIN: 8716-0505, AuthorID: 1274379, ResearcherID: GPK-8198-2022

Вклад авторов:

Богданова В. А. – написание исходного текста, итоговые выводы, участие в разработке учебных программ и их реализации, доработка текста, итоговые выводы;
Спирина Л. В. – научное руководство, концепция исследования, развитие методологии;
Чижевская С. Ю. – участие в разработке учебных программ и их реализации, доработка текста, итоговые выводы;
Ковалева И. В. – участие в разработке учебных программ и их реализации;
Никульников К. В. – участие в разработке учебных программ и их реализации;
Меркулов Е. Д. – статистическая обработка данных.