

*С.Н. Колюбаева^{1,2}, А.Б. Данилова¹, И.А. Балдуева¹, О.Р. Краснова², Н.А. Викторова²,
А.В. Киссель², А.А. Титова²*

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ХРОСОМНЫХ АНОМАЛИЙ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ МЕЛАНОМЫ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА

¹ФБГУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России,
²ВМА им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Меланома кожи представляет собой опухоль, которая трудно поддается лекарственной терапии, поэтому изучение молекулярно-генетических механизмов, ассоциированных с особенностями функционирования клеток этого новообразования, может открыть новые подходы к поиску способов его лечения. В работе проведен цитогенетический анализ опухолевых клеток, полученных от 9 пациентов с диагнозом меланома кожи. Клеточную суспензию получали методом механической деагрегации с помощью автоматического измельчителя ткани, клетки культивировали в пластиковых флаконах стандартным методом. Цитогенетическое исследование проводили с помощью дифференциальной окраски хромосом. Во всех 9 культурах меланом выявлен околотрехплоидный или околотетраплоидный набор хромосом. Рекуррентных аберраций обнаружено не было, что соответствует описаниям кариотипов злокачественных меланом в литературе. Наиболее часто встречались повреждения в хромосомах 1, 3, 5, 6, 7, 9, 10 и 13. При этом наблюдались как численные, так и структурные повреждения. Повреждения в хромосоме 6 выявлены у всех обследованных пациентов. Статистически не выявлено корреляции каких-либо хромосомных аберраций с продолжительностью жизни пациентов после хирургического лечения, что, с одной стороны, по-видимому, связано с недостаточно представительной выборкой, и, с другой,— с разным количеством пассажей при культивировании опухолевых клеток.

Ключевые слова: хромосомные аберрации, меланома кожи, кариотип опухоли

Начало развитию цитогенетики опухолей положило открытие в 1960 г. филаделфийской хромосомы, наличие которой в настоящее время является необходимым подтверждением диагноза хронического миелоидного лейкоза [10]. В 70-х годах был разработан метод так называемых «полосатых хромосом», который позволил идентифицировать не только каждую хро-

мосому, но и перестройки как внутри хромосом, так и между ними [25]. Дальнейшие интенсивные исследования показали, что 95% всех опухолей содержат те или иные хромосомные перестройки [15].

В последние годы наблюдается увеличение заболеваемости меланомой, в частности, меланомой кожных покровов. Общая выживаемость больных при диссеминированном процессе не превышает 6–15% [18]. Меланомы первичной локализации принято характеризовать по толщине по Бреслоу, уровню Кларка, наличию изъязвлений, микроскопическим исследованиям регионарных лимфатических узлов, а также по митотическому индексу и характеру лимфоидной инфильтрации. Стадирование метастатической меланомы происходит в зависимости от мест поражений, таких как кожа, лимфатические узлы, легкие, печень и другие органы, и, наконец, от уровня лактатдегидрогеназы в сыворотке крови [21]. В то же время уже накоплены данные о взаимосвязи характера роста меланом и их метастазирования с хромосомными нарушениями, выявляемыми в этих опухолевых клетках [14, 26]. Именно накопление генетических изменений ассоциировано с появлением инвазивных и метастатических свойств клеток опухоли, то есть с эволюцией их биологических характеристик [3, 17].

Благодаря достижениям в области генетических технологий, были разработаны новые методы исследований, которые могли бы способствовать выявлению множества потенциально надежных прогностических генетических показателей для уточнения гистологической и анатомической классификации меланом [20]. В настоящее время не представляет сомнений, что определенные генетические изменения участвуют в развитии и прогрессировании злокачественной меланомы: это разнообразные делеции, амплификации, сверхэкспрессия генов или молчащие гены, то есть те нарушения, многие из которых могут быть обнаружены на хромосомном уровне [4, 9].

В процессе опухолевой прогрессии популяция злокачественных меланоцитов приобретает

гетерогенность свойств, что наблюдается также при культивировании клеток меланомы кожи в процессе длительного пассирования [30]. Этот феномен сопровождается возникновением новых многочисленных дивергентных клеточных клонов с различными цитогенетическими характеристиками, о чем можно судить по данным анализа хромосомного дисбаланса в клетках. Не исключено, что исследование цитогенетических повреждений в клетках меланом прольет свет на молекулярно-генетические механизмы развития этих опухолей и сформирует новые подходы к их терапии, так как до сих пор не найдены высокоэффективные методы лечения этого злокачественного новообразования во многих случаях.

Материалы и методы

В качестве материала для цитогенетического исследования использовали клетки культур меланомы кожи, полученных из тканевых образцов гистологически верифицированных опухолей 9 пациентов, проходивших лечение в ФБГУ «НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова» Минздрава России. Из них 2 образца представляли собой первичную опухоль, 2—рецидив опухоли, 3—метастаз в лимфатические узлы, 1—метастаз в мягкие ткани, 1—метастаз в щитовидной железе. Гистологически в 6 случаях обнаружили беспищевую эпителиально-клеточную меланому, 1—пигментную веретенноклеточную меланому и 2—эпителиодноклеточную меланому с значительным содержанием пигмента.

Образцы опухоли 1-3 мм³ дезагрегировали механически в течение 30-60 сек. с помощью автоматического измельчителя ткани «Медмашина» (DAKO, Дания) с набором стерильных ножей. Затем супернатант последовательно пропускали через стерильные нейлоновые фильтры с диаметром пор 100, 70 и 50 мкм (DAKO, Дания). Смесь кле-

ток суспендировали в полной питательной среде для культивирования, после чего помещали в пластиковые флаконы (Sarstedt, Германия) и затем в CO₂-инкубатор «Heracel» (Termo Electron LTD GmbH, Германия). При культивировании клеток руководствовались методом Freshney [6]. Для этого использовали питательную среду DMEM/F12 (Биолот, Россия), содержащую 20% сыворотки эмбрионов коров (Биолот, Россия), 20% кондиционированной среды фибробластов легких эмбриона человека, инсулин, трансферрин, селен и гентамицин (Invitrogen, США). При достижении монослоя, клетки обрабатывали раствором трипсина-EDTA (Invitrogen, США). Для того, чтобы избежать контаминации культур клеток меланомы фибробластами, использовали гентетин в концентрации 100 мкг/мл [19].

Для карiotипирования собранные опухолевые клетки подвергали гипотонической обработке в течение 30 мин в 0,075 мМ KCL, после чего фиксировали в 3-х порциях смеси метанол-уксусная кислота в отношении 1:3 и распыляли на охлажденные влажные стекла. Препараты подвергали процессу «старения» («aging») в течение 24 час. при t=56°C, затем обрабатывали протеиназой и окрашивали по Гимза. Анализировали от 30 до 100 клеток, в зависимости от состава культуры. Структурные и численные повреждения хромосом определяли с учетом номенклатуры 2009 г. [1]. Цифровые изображения получали, используя микроскоп 90iNikon, объектив 90x, камеру NikonDS-Fi1. Статистическую обработку данных осуществляли при помощи пакета прикладных программ «Statistica for Windows» версия 7.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования культивируемых клеток меланомы кожи 9 пациентов показали, что модальное число хромосом в культурах, полученных от различных больных, колеблется от 55 до 88 (табл. 1). Это, в основном, околотрехплоидный и околотетраплоидный на-

Таблица 1. Модальный карiotип злокачественных меланом

Номер клеточной культуры	Пациент	Локализация опухоли	Пассаж культуры	Карiotип опухолевых клеток
283	Ш., 61 г. муж	Рецидив опухоли	70	58X,-X,-Y,del(1)(q21),-2,del(3)(q-),del(4)(q26),-4,del(5)(q13),-6,+del(7)(q21)x2,+del(7)(p12),t(9;10)(p23;q12),i(9)(q)x2,-10,-11,-12,-13,-13,-13,t(13;14)(q12;p11)x2,-16,-16,-17,-17,+18, 19q+,-20,+21,-22,-22,-22,+mar1,+mar2,+mar3x3,t(7;20)(q12;q13)
515	В., 47 л. муж	Метастаз в лимфатический узел	87	55,XY,-X,del(1)(q12),del(1)(q21)x2,del(3)(p13),-3,-4,+del(5)(q15),+5,-6,-6,t(7;11),-9,-10,del(11)(q23),-12,-13x2,-14x2,-15,-17x2,-18,-20,-21,-22x2,mar1/t(1;1),mar2(3;4),mar3(11;14),mar4
226	Ш., 59 л. жен	Первичная опухоль, меланома кожи спины	48	77,X,-X,-X,+2,+3,+3(q+)x3,+5,+5,+del(5)(q14),+7x7,-8,+9,-10,-10,-11,-13,-14,+15,+16,+16,-17,-17,-18,+20,+20
263	М., 53 г. жен	Метастаз в лимфатический узел	15	60,-X,-X,-X,+del(1)(p22),del(4)(q13),-5,t(5;5),+6x2,+7(q+)x3,del(7)(q11.2),-9, t(9;10)(p;p)[2],-10,-11x2,-12,-13x2,-14x2,-15,-16,-17,-19,-21x2,-22,+mar1+mar2,+mar3
388	М., 57 л. жен	Метастаз в лимфатический узел	7	69,XX,-X,+2,del(3)(p12), t(4;5)x2,+7,-9,-10,t(4;10),12q+,-12,+13,-14x3,+15,-17x2,+18, t(9;19),(14;20),+t(14;20),+21x2,+22,
311	З., 50 л. муж	Рецидив опухоли	15	88,XXY,-Y,del(1)(p21)x4, del(1)(q11),+2, 3(p),-5,-6,del(6)(q25),+7,-8,-8,+9,+9,+t(9;16),-10,-10,-13,-13,-15,-15,-15,-16,-17,+19,+21,-22,-22
369	Н., 48 л. жен	Метастаз в лимфатический узел	27	44, XX, t(1;9), -4,+6q, -10, t(11;14),+13q,t (20;15)
519	С., 63 г. муж	Метастаз в щитовидную железу	32	60,X,-X,-Y,+del1q22,i(1q),del3p12,+del3p12,5q+,-6,-6,-8,-9,-10,-12,-13,-13,-17,-20,-21,-22
520	Д., 62 г. муж	Метастаз в лимфатический узел	62	70,XX,-Y, +1,+1,+2,+2,+3,(3)(q+),(3)(q+),(3)(q-),+4,(4)(q-),+5,del(6)(q23),+del(6)(q21),+7,+7,+7,i(8)(q),i(9)(q),-10,+12,+12,i(13)(q),del(13)(q13)+14,+15,+15,-17,+18,+19,+20,+20,+22

бор хромосом. Кариотип культивируемых клеток всех пациентов содержит множественные численные и структурные перестройки, при этом характер изменений в кариотипе этих пациентов преимущественно соответствует имеющемуся в литературе описанию [4, 7]. Как правило, доброкачественные опухоли из меланоцитов имеют диплоидный или псевдодиплоидный набор хромосом, при этом рекуррентные аберрантные формы практически не выявляются. Однако, было описано 2 случая диспластического невуса с $t(9;10)$ и $t(10;15)$ [25]. Отмечена корреляция трисомии по хромосомам 6 и 8 с увеличением риска развития меланом [29]. Очень часто выявляются транслокации с вовлечением хромосомы 7, при этом в качестве донорских хромосом участвуют 2 и 5 хромосомы. По данным литературы, малигнизированные новообразования имеют, как правило, околотрехплоидный или даже тетраплоидный набор хромосом с множественными численными и структурными повреждениями. Наиболее часто вовлекаются хромосомы 1, 6, 7, 9, 10 и 11 [15].

В нашем исследовании в культивируемых клетках меланом у шести из девяти пациентов (66,6%) встречаются изменения в хромосоме 1: в основном это различные делеции длинного и короткого плеча. По данным литературы, структурные перестройки хромосомы 1 выявляются в 60% исследованных случаев меланомы кожи, при этом в 20% случаев встречается утрата короткого или длинного плеча [5]. В клетках шести пациентов были обнаружены делеции в хромосоме 3 (как длинного, так и короткого плеча); при этом вместе с делециями отмечены наличие добавочного материала в q-плече, а также численные нарушения — в основном добавочная хромосома 3. В литературе описаны подобные изменения в хромосоме 3 при меланомах как встречающиеся чрезвычайно редко [2, 4, 5]. В то же время, отмечается важность числа копий хромосомы 3 для оценки злокачественности меланомы глаза [11].

В клетках семи из девяти (77,8%) обследованных лиц выявлены хромосомные аберрации в хромосоме 5. При этом отмечается как нехватка, так и избыток генетического материала. У двух пациентов выявлена утрата хромосомы 5 и у двух — дополнительные копии этой хромосомы. В трех случаях наблюдается делеция длинного плеча хромосомы в локусе 5(q13-15) и в одном случае — добавочный материал в длинном плече. Кроме того, выявлены две транслокации между двумя хромосомами 5 и между хромосомами 4 и 5 (рис. 1). Интересно отметить, что в литературе редко встречаются описания аберраций с участием хромосомы 5 при меланомах [15].

Различные повреждения в хромосоме 6 отмечены в кариотипе клеток всех девяти исследованных клеточных линий. Это как численные, так и структурные изменения. Согласно мнению большинства авторов, различные делеции длинного плеча хромосомы 6 связаны с ранними стадиями канцерогенеза. Наблюдаются в основном повреждения в (6)(q12-24). Кроме того, часто формируются изохромосомы 6p10, что также связано с потерей q-плеча. Поскольку в длинном плече хромосомы 6 расположено несколько генов-супрессоров опухолевого роста (в частности, те, от которых зависит развитие опухолевого процесса), утрата соответствующих участков имеет особое значение. Цитогенетические исследования других авторов на культурах меланом показали, что структурные изменения хромосомы 6 играют роль в процессах метастазирования [24, 28, 31]. Были также проведены эксперименты по созданию гибридных клеток меланом, когда в клетки вводили одну нормальную копию хромосомы 6. Такие клетки при инъекции «nude» мышам не вызывали развитие опухоли, в то время как вновь утраченная хромосома 6 приводила к восстановлению злокачественного потенциала этих клеток [21]. В наших исследованиях удалось зарегистрировать утрату хромосомы 6 в пяти случаях, в то время как добавочная хромосома была обнаружена в клетках одного пациента. Делеции длинного плеча выявлены в 4-х культурах меланомных клеток в локусах 6(q21), 6(q23) и 6(q25).

Повреждения в хромосоме 7 были обнаружены нами в клетках семи культур злокачественных меланоцитов. По данным литературы, это также одна из самых часто встречающихся поломок хромосом при меланомах. В нашем исследовании численные изменения отмечены у 4-х больных, причем, у одного из них выявлено 7 добавочных копий этой хромосомы (рис. 2). У двух пациентов изменения хромосомы 7 представлены в виде делеций длинного плеча в локусе q11.2 и q21, а также в виде добавочного материала в q-плече. У одного пациента хромосома 7 вовлечена в транслокацию с 11 хромосомой. При этом в пересчете на одного больного наблюдается самое высокое количество повреждений с вовлечением хромосомы 7 — 2,4.

Как сообщают другие исследователи, различные структурные и численные аберрации хромосом 7 и 10 были выявлены у 50% пациентов с малигнизированной меланомой при аномальном кариотипе. Самыми частыми нарушениями являлись полисомия хромосомы 7 и моносомия хромосомы 10. При этом часто на последних стадиях заболевания наблюдается моносомия хромосомы 10, которая сопровождалась появлением и нескольких копий хромосомы 7

[16]. Известно, что усиление метастатического потенциала меланом ассоциировано с потерей меланома-ассоциированных антигенов. Цитогенетические исследования, посвященные изучению особенностей меланом в процессе метастазирования, продемонстрировали взаимосвязь феномена изменения иммунофенотипа (потеря антигенов MelanA, S100, gp100, тирозиназы) с нарушениями, выявленными в с хромосомах 7 и 9 [13].

В культурах меланомы всех девяти обследованных пациентов встречаются численные и структурные aberrации в хромосоме 9, что характерно для злокачественных меланом, в частности, утрата короткого плеча (p) [5, 10, 19]. Кроме того, в кариотипе культивируемых клеток меланомы больных, включенных в наше исследование, встречается широкий спектр структурных повреждений с вовлечением хромосомы 9 (табл. 1). В основном это транслокации между хромосомами 9 и 10 и хромосомами 9 и 19. У двух пациентов имеется изохромосома по длинному плечу – (i)(9q). Следует отметить, что хромосома 9 достаточно часто вовлекается в перестройки при меланоме [27]. При этом различные структурные перестройки встречаются гораздо чаще, чем отсутствие или появление добавочной хромосомы. Имеется мнение, что делеция 9p наиболее часто появляется именно в клетках этих опухолей. В коротком плече хромосомы 9 выявляются многочисленные микроделеции и точечные мутации. Конституционные мутации *CDKN2A* гена, расположенного в 9p, связаны с высоким риском развития меланомы. Возможно, что несколько генов-супрессоров опухоли, которые могут быть вовлечены в образование меланобластомы, расположены в этом участке хромосомы.

Нарушения хромосомы 10 как численные, так и структурные, встречаются в клетках всех 9 пациентов. При этом на одного больного приходится 1,75 aberrаций с вовлечением хромосомы 10, т.е., такое же количество, как и с вовлечением хромосомы 9. Все остальные хромосомы имеют в основном численные нарушения.

Корреляцию между хромосомными нарушениями, обнаруженными в культивируемых клетках меланом, и продолжительностью жизни больных обнаружить не удалось. Возможно, это связано с недостаточной выборкой больных или с различной длительностью времени культивирования клеток после первичного посева (от 7 до 87 пассажа), так как в опухолевых клетках вне организма (т.е. в культуре) происходит образование новых хромосомных aberrаций, о чем свидетельствует исследование кариотипа через разные промежутки времени от начала культивирования при сравнении разных пасса-

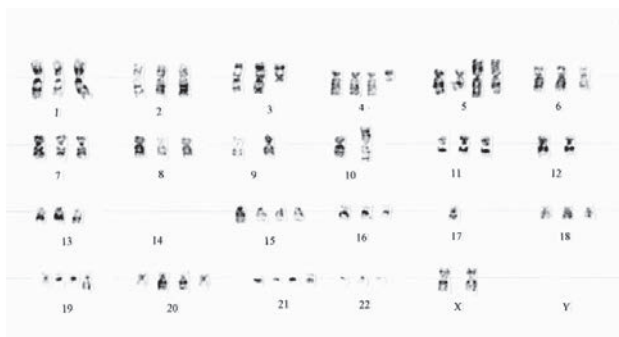


Рис. 1. Кариотип клетки меланомы с околотетраплоидным набором хромосом из культуры клеток пациентки М. с множественными хромосомными нарушениями, наиболее часто встречаемыми в этой опухоли: del(3)(q13.2), t(4;5), t(4;10), t(9;19), t(14;20).

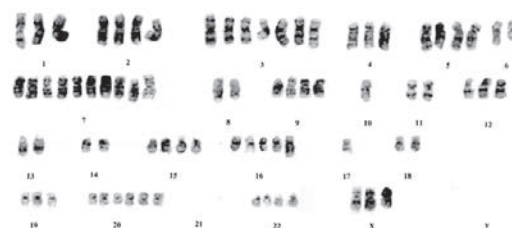


Рис. 2. Кариотип клетки меланомы с околотетраплоидным набором хромосом из культуры клеток пациентки Н. с множественными хромосомными нарушениями, наиболее часто встречаемыми в этой опухоли: 3(q+), del(5)(q14), 6(q-), +7, 16(q+), -10.

жей. В литературе также описана попытка установить корреляцию между выживаемостью и нерандомизированными хромосомными aberrациям, полученными при исследовании 200 пациентов, которая также не увенчалась успехом [20]. Однако, при использовании метода флуоресцентной *in situ* гибридизации установлено, что число копий участков 11q13 и 8q24, в которых расположены гены *CCND1* и *MYC*, соответственно, могут служить прогностическим маркером при меланоме кожи [8].

Таким образом, цитогенетический анализ культивируемых клеток меланом демонстрирует значительное число хромосомных изменений, сопровождающих эволюцию их свойств и позволяющих при определенных условиях прогнозировать их метастатический потенциал. Определение генетических локусов, ответственных за развитие многообразных свойств высоко злокачественных опухолей, таких как меланома кожи, может помочь при определении стратегии лечения этих новообразований.

ЛИТЕРАТУРА

1. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, 2009. Recommendations of International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature

- / Eds. L. Shaffer, N. Tommerup.—2009, Basel: S. Karger.—138 p.
2. Blokk WA, van Dijk MC, Ruiter DJ. Molecular cytogenetics of cutaneous melanocytic lesions—diagnostic, prognostic and therapeutic aspects // *Histopathology*.—2010.—Vol. 56 (1).—P. 121-132.
3. Busam KJ, Fang Y, Jhanwar S, Lacouture M. Diagnosis of blue nevus-like metastatic uveal melanoma confirmed by fluorescence in situ hybridization (FISH) for monosomy 3 // *J. CutanPathol*.—2010.—Vol. 39 (6).—P. 621-625.
4. Chin L., Garraway L.A., Fisher D.E. Malignant melanoma: genetics and therapeutics in the genomic era // *Genes Dev*.—2006.—Vol. 20.—P. 2149-2182.
5. Curtin J., Fridllyand J., Kageshita T. et al. Distinct sets of genetics alterations in melanoma // *Engl. J. Med*.—2005.—Vol. 353.—P. 2135-2147.
6. Freshney R.I. Culture of animal cells: A manual of basic technique and specialized applications.—2010.—N.-Y.-Chichester: Wiley&Sons, publ.—732 p.
7. Gerami P., Mafee M., Lurtsbarapa T. et al. Sensitivity of fluorescence in situ hybridization for melanoma diagnosis using RREB1, MYB, Cep6, and 11q13 probes in melanoma subtypes // *Arch Dermatol*.—2010.—Vol. 146 (3).—P. 273-278.
8. Gerami P., Jewell S., Pouryazdanparast P., Wayne J.D., Haghighat Z., Busam K.J., Rademaker A., Morrison L., 2011. Copy number gains in 11q13 and 8q24 are highly linked to prognosis in cutaneous malignant melanoma. *J. Mol. Diagn.* 13 (3): 352-358.
9. Gerami P., Li G., Pouryazdanparast, Blondin B. et al. A highly specific and discriminatory FISH assay for distinguishing between benign and malignant melanocytic neoplasms // *Am J SurgPathol*.—2012.—Vol. 36 (6).—P. 808-817.
10. Gersen S.L., Keagle M.B. 1999. The principles of clinical cytogenetics. Totowa, New Jersey, USA: Humana Press. 557 p.
11. Gleeson G., Larkin A., Horgan N., Kennedy S. Evaluation of chromogenic in situ hybridization for the determination of monosomy 3 in uveal melanoma // *Arch. Pathol. Lab. Med*.—2014.—Vol. 138 (5).—P. 664-670.
12. Guitart J., Haghighat Z., Newman M. Assessment of copy number status of chromosomes 6 and 11 by FISH provides independent prognostic information in primary melanoma // *Am J SurgPathol*.—2011.—Vol. 35.—P. 1146-1150.
13. Guo R., Wang X., Chen J. et al. Comparative genomic hybridization in a case of melanoma that loses expression of S100, HMB45, Melan A and tyrosinase in metastasis // *Int. J. Clin. Exp. Pathol*.—2013.—Vol. 15 (7).—P. 468-473.
14. Harbst K, Staaf J, Msbck A. et al. Multiple metastases from cutaneous malignant melanoma patients may display heterogeneous genomic and epigenomic patterns // *MelanomaRes*.—2010.—Vol. 20 (5).—P.381-391.
15. Heim S., Mitelman F. Melanocytictumors / In: *Cancer Cytogenetics*. Third edition. -2009, Canada: Wiley-Blackwell.—P. 644-647.
16. Jonsson G., Dahl S., Staaf J., Sandberg T. Genomic profiling of malignant melanoma using tiling-resolution array CGH // *Oncogene*.—2007.—Vol. 26.—P. 4738-4788.
17. Klein C.A. Gene expression signature, cancer cell evolution and metastatic progression // *Cell Cycle*. -2004.—Vol. 3.—P. 29-31.
18. Lachiewicz A.M., Berwick A., Wiggins C.L., Thomas N.E. Epidemiologic Support for Melanoma Heterogeneity Using the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program // *J. Invest. Dermatol*.—2008.—Vol. 128.—P. 243-245.
19. Levin D.B., Wilson K., Valadares de Amorim G. et al. Detection of p53 mutation in benign and dysplastic nevi // *Cancer Res*.—1995.—Vol. 55 (19).—P. 4278-4282.
20. Lewis T.B., Robison J.E., Bastien R. Molecular classification of melanoma using real-time quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction // *Cancer*.—2005.—Vol. 104.—P. 1678-1686.
21. Miele M., Robertson G., Lee G., Coleman A. Metastasis suppressed, but tumorigenicity and local invasiveness unaffected in the human melanoma cell line Me 1JuSo after introduction of human chromosomes 1 or 6 // *Mol. Carcinogenesis*.—1996.—Vol. 15 (2).—P. 284-299.
22. Moore S.R., Persons D.L., Sosman J.A. Detection of Copy Number Alterations in Metastatic Melanoma by a DNA Fluorescence In situ Hybridization Probe Panel and Array Comparative Genomic Hybridization: A Southwest Oncology Group Study (S9431) // *Clin. Cancer Res*.—2008.—Vol. 14.—P. 2927-2935.
23. Nelson M., Radmacher M., Simon R. et al. Chromosome abnormalities in malignant melanoma: clinical significance of nonrandom chromosome abnormalities in 206 cases // *Cancer. Genet. Cytogenet*.—2000.—Vol. 122 (1).—P. 101-109.
24. North J.P., Vetto J.T., Murali R. et al. Assessment of copy number status of chromosome 6 and 11 by FISH provides independent prognostic information in primary melanoma // *Am.J. Surg. Pathol*.—2011.—Vol.3 5 (8).—P. 1146-1150.
25. Parmiter A., Nowell P. The cytogenetics of human malignant melanoma and premalignant lesions / In: *Malignant melanoma: Biology, Diagnosis and Therapy*.—1988, Boston: Kluwer Academic Publishers.—P. 47-61.
26. Poetscha M., Dittbernerb T., Woenckhaus C. Can different genetic changes characterize histogenetic subtypes and biologic behavior in sporadic malignant melanoma of the skin? // *CMLS, Cell. Mol. Life Sci*.—2003.—Vol. 60.—P. 1923-1932.
27. Pujana M., Ruiz A., Badenas C. et al. Molecular characterization of a t(9;12)(p21;q13) balanced chromosome translocation in combination with integrative genomics analysis identifies C9orf14 as candidate tumor-suppressor // *Genes Chromosomes Cancer*.—2007.—Vol. 46 (1).—P. 155-162.
28. Santos G.C., Zielenska M., Prasad M., Squire J.A. Chromosome 6p amplification and cancer progression // *J. Clin. Pathol*.—2007.—Vol. 60(1).—P. 1-7.
29. Sobey G., Gwuarrell O., Willams S., McGrath H.M. Mosaic chromosome 6 trisomy in an epidermal nevus // *Pediatr. Dermatol*.—2007.—Vol. 24 (2).—P. 144-146.
30. Urošević M., Braun B., Willers J. Expression of melanoma-associated antigens in melanoma cell cultures // *Exp.Dermatol*.—2005.—Vol. 14 (7).—P. 491-497.
31. Welch D. R., Chen P., Miele M. E. et al. Microcell-mediated transfer of chromosome 6 into metastatic human C8161 melanoma cells suppresses metastasis but does not inhibit tumorigenicity // *Oncogene*.—1994.—Vol. 9.—P. 255-262.

Поступила в редакцию 05.08.2014 г.

*N. Kolyubaeva^{1,2}, A.B. Danilova¹, I.A. Baldueva¹,
O.R. Krasnova², N.A. Viktorova², A.V. Kissel²,
A.A. Titova²*

**Heterogeneity of chromosomal abnormalities
in cultured melanoma cells of human skin**

¹ N.N. Petrov Research Institute of oncology

² S.M. Kirov Military Medical Academy
St. Petersburg

Karyotypes of 9 malignant melanoma patients has been described. It is ascertained that most often the damage is observed in chromosomes 1, 6, 7, 9 and 17, which is consistent with the data in the literature. Besides chromosomes 5 and 13 are also often involved in different rearrangements. Recurring aberrations are not discovered. Any correlation between survival and non-recurrent chromosomal aberrations is not discovered.

Key words: chromosomal aberrations, skin melanoma, karyotype