

*На правах рукописи*

БОРИСОВ

Алексей Викторович

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ,  
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ПОВЕРХНОСТНЫХ МЕЛАНОМ КОЖИ  
И ОСОБЕННОСТИ РЕАЛИЗАЦИИ  
ЭНДОГЕННЫХ ПИГМЕНТАЦИЙ В ТКАНИ ОПУХОЛИ

3.3.2. Патологическая анатомия

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Санкт Петербург – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Кириллов Юрий Александрович** – доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

**Волченко Надежда Николаевна** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена, отдел онкоморфологии, заведующий

**Раскин Григорий Александрович** – доктор медицинских наук, Общество с ограниченной ответственностью «Лечебно-диагностический центр Международного института биологических систем имени Сергея Березина», заместитель главного врача по лабораторной медицине

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «20» мая 2025 года в 12:00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.028.04 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2 и на официальном сайте организации <http://www.almazovcentre.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_» марта 2025 года

Учёный секретарь  
диссертационного совета 21.1.028.04  
доктор медицинских наук, профессор

Лейдерман Илья Наумович

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы исследования**

Неослабевающий в течение многих лет интерес исследователей к изучению различных аспектов кожных меланом, на долю которых, по разным сведениям, приходится от 72 до 80 процентов (Малишевская Н.П. и соавт., 2018; Каприн А.Д. и соавт., 2023; Sung H. et al., 2021), всех диагностируемых опухолей, развивающихся из меланинообразующей ткани, определяется прежде всего потребностями практической медицины, регистрирующей, несмотря на достижения частного характера, отсутствие стабильного успеха в их лечении (Caraban B.M. et al., 2024). Меланомы кожи, ввиду её поверхностной локализации и доступности для мониторинга, является довольно благодатным объектом для изучения последнего исследователями различных специальностей. В связи с необходимостью осуществления постоянной и подчас непростой дифференциальной диагностики между различными пигментсодержащими новообразованиями и пороками развития кожи (Shreberk-Hassidim R. et al., 2023; Urso C. et al., 2023), с одной стороны, и пигментными и беспигментными меланомами (Stojkovic-Filipovic J. et al., 2024), с другой, меланомы в настоящее время являются тем самым своеобразным оселком, на котором оттачиваются и проверяются истинные квалификация и мастерство специалиста. В настоящее время патоморфологи располагают также набором прецизионных методов и технологий, включая иммуногистохимическое исследование для определения иммунофенотипа опухоли (Dinehart M.S. et al., 2020; Dass S.E. et al., 2021), и молекулярно-генетическое изучение биологических объектов с использованием ПЦР с целью выявления мутаций различных генов, в частности, BRAF, NRAS (Zhou Y. et al., 2024), и некоторых других (Zand S. et al., 2016).

Вместе с тем, эти технологии практически не учитывают особенностей реализации эндогенных пигментаций в ткани опухоли. Отсюда актуальной задачей представляется как установление конкретных механизмов пигментации, происходящих в морфологическом субстрате опухоли, так и изучение их сопряженности с реализацией злокачественного потенциала меланомы. Последний прежде всего проявляется формированием инвазивной и метастатической компетентностей, реализующихся посредством сосудистой и периневральной инвазии, и вторичных изменений.

### **Степень разработанности темы исследования**

В силу своей, большей частью, поверхностной локализации и, как следствие, доступности для мониторинга, меланомы, по мнению исследователей, не может более считаться *terra incognita* (Гольберт З.В., 1972; Hermosilla P. et al., 2024).

Мнения исследователей меланомологов, касательно причин и условий возникновения и развития меланомы были ещё в прошлом веке обобщены McGovern V.J. (1971) и Clark W.H.J. (1989), которые отмечали, что «multiconditions» и полиэтиологичность, свойственные некоторым опухолям, для меланомы являются исключительными прерогативами не только и не столько в качестве составляющих, сколько в качестве взаимных контаминаций. Что касается клинико-морфологических особенностей меланом кожи с учётом своеобразия реализации эндогенных пигментаций в ткани опухоли и их потенциальной сопряженности с реализацией злокачественного потенциала меланом, формированием инвазивной и метастатической компетентности, развитием сосудистой и периневральной инвазии, возникновением вторичных изменений и иных его проявлений, то эти вопросы не могут считаться достаточно изученными, ибо такая возможность представляется лишь в случае использования результатов мультиплексного анализа морфологического субстрата опухоли (Олейникова Н.А. и соавт., 2022) или иного биологического объекта (Полтавченко А.Г. и соавт., 2022). В последнее десятилетие появились публикации об использовании результатов мультиплексного анализа, полученных при помощи метода рамановской спектроскопии ткани опухолей различной (Александров Н.С. и соавт., 2017; Delrue C. et al., 2023), в том числе и кожной (Sharma P. et al., 2023) локализаций. Осуществленный на основании использования рамановской спектроскопии образцов описываемых в публикациях опухолей, мультиплексный анализ полученных данных позволил идентифицировать в каждом образце биологического объекта одновременно значительное количество молекул многочисленных аналитов (Du J. et al., 2020), включая представителей различных классов хромопротеидов.

**Цель исследования** – оценка клинико-морфологических и иммуногистохимических особенностей поверхностных меланом кожи и результатов мультиплексного анализа эндогенных пигментаций в ткани опухоли.

#### **Задачи исследования:**

1. Оценить сопряжённость морфологических проявлений и спектроскопических характеристик поверхностных меланом кожи, реализуемых в зависимости от стадии опухоли, а также диагностическое и предиктивное значение компонентов-аналитов эндогенных пигментаций, идентифицируемых в новообразовании.

2. Определить иммунофенотипы поверхностных меланом кожи при помощи панели маркеров Melan A, HMB45, S100 и иммуногистохимической идентификации мутировавшего белка BRAF V600E с помощью устойчивого к мутации моноклонального антитела VE1, и наличие статистической значимой

связи между фазами роста опухоли и результатами иммуногистохимического исследования.

3. Изучить возможность конъюнкции алгоритмов получения и интерпретации данных мультиплексного анализа морфологического субстрата опухоли для оценки инвазивной компетентности новообразования в дифференциальной диагностике фаз (стадий) роста поверхностных меланом кожи.

### **Научная новизна**

В результате проведенного исследования впервые установлено, что своеобразие клинико-морфологических и иммуногистохимических характеристик поверхностных меланом кожи ассоциируется с особенностями реализации эндогенных пигментаций в ткани опухоли. Проведенное исследование впервые показало, что, несмотря на наличие индивидуальных особенностей, каждая стадия развития поверхностной меланомы, каждый период реализации вторичных изменений и осложнений характеризуется определенным набором и соотношением представителей различных классов хромопротеидов.

Проведённое иммуногистохимическое исследование с антителами к Melan A, Melanoma Marker (HMB45), S100 Protein и иммуногистохимическое выявление мутировавшего белка BRAF V600E впервые показали, что экспрессия указанных иммуногистохимических маркеров, а также результаты молекулярно-генетической идентификации мутаций генов BRAF и NRAS несмотря на увеличение частоты их выявляемости с реализацией злокачественного потенциала меланомы, не всегда коррелируют стадиям роста опухоли. Также впервые показано, что использование конъюнкции алгоритмов получения и интерпретации данных мультиплексного анализа морфологического субстрата опухоли позволяет выявить предиктивное значение компонентов-аналитов каротиноидов, тирозина, триптофана, фенилаланина и статистически значимое снижение вероятности их обнаружения при переходе опухоли из фазы радиального в фазу вертикального роста.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в том, что гистогенез поверхностных меланом кожи теперь может быть представлен в виде сочетания двух различных, но сопряжённых друг с другом патологических процессов – изменения морфологического субстрата опухоли в динамике (морфогенез, онкогенез, канцерогенез) и реализации эндогенных пигментаций. Именно это сочетание, или комбинация создает такое количество различных, характеризующихся морфологическим изобилием, клинико-морфологических форм меланом, тем самым подтверждая общую закономерность формирования

патологических структур известную под названием закона комбинационных или рекомбинационных преобразований (Саркисов Д.С., 1999). Это в полной мере относится к меланоме, как опухоли вообще, и к каждой её клинικο-морфологической форме, в частности. Практическая же значимость работы заключается в том, что в ней выявлены морфологические особенности и определены оптимальные подходы к идентификации протеиногенных (меланин), гемоглобиногенных (порфирин) и липидогенных (липофусцин) пигментов, в состав которых помимо липидов входят каротиноиды, при помощи новых и усовершенствованных существующих технологий их выявления. Установлено, что первоначальная гетерогенность пигментного состава поверхностных меланом кожи, проявляющаяся в том числе и высокими значениями инициальной флуоресценции, по мере их прогрессирования и реализации злокачественного потенциала становится не столь выраженной, характеризуется уменьшением содержания и процентного соотношения выявляемых компонентов-аналитов в сочетании со снижением показателей флуоресценции. Таким образом, данные настоящего исследования, не только имеют важное теоретическое значение, но могут быть использованы и практически, будучи положенными в основу разработки алгоритмов таргетной и иммунотерапии меланом кожи, учтены при пересмотре и усовершенствовании Стандартов оказания медицинской помощи пациентам, страдающим меланомами кожи, использованы в учебном процессе на лечебном, педиатрическом и стоматологическом факультетах в образовательных учреждениях высшего и дополнительного профессионального образования.

### **Методология и методы исследования**

Для достижения цели исследования и решения поставленных в настоящей работе задач была использована усовершенствованная методология, предусматривающая, во-первых, осуществление тщательного и системного анализа отечественной и зарубежной литературы, посвященной оценке клинικο-морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической характеристик поверхностных меланом кожи. Особое внимание при этом было уделено работам, ставящим своей целью идентификацию пигментного состава и, как следствие, цветовой гаммы данных опухолей с учётом сопряжённости патогистологических характеристик новообразований с вариантами реализации эндогенных пигментаций. Во-вторых, предварительный анализ и последующее практическое использование методов и технологий, позволяющих на практике идентифицировать в морфологическом субстрате опухоли компоненты-аналиты эндогенных пигментаций, имея в виду гистологические окраски и гистохимические реакции, а также электронномикроскопическое исследование. В-третьих, экстраполяция методических подходов, использованных при спектроскопическом исследовании опухолей иных (некожных) локаций на алгоритм изучения

поверхностных меланом кожи для идентификации особенностей реализации их злокачественного потенциала.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Морфологическим проявлениям поверхностных меланом кожи и их спектроскопическим характеристикам присуща сопряжённость, своеобразно реализуемая в зависимости от стадии развития. Идентифицируемые в новообразовании компоненты-аналиты эндогенных пигментаций имеют диагностическое и предиктивное значение в оценке инвазивной компетентности опухоли.

2. Результаты использования панели маркеров Melan A, HMB45, S100 и иммуногистохимической идентификации мутировавшего белка BRAF V600E с помощью моноклонального антитела VE1 позволяют в значительной части наблюдений определить иммунофенотипы поверхностных меланом кожи, однако в то же время указывают на отсутствие статистически значимой связи между стадиями роста опухоли и результатами иммуногистохимического исследования.

3. Морфологическая гетерогенность поверхностных меланом, обусловленная фазой роста опухоли и сопряжёнными с ней различными соотношениями паренхиматозного и стромального компонентов и степенью реализации вторичных изменений обуславливает непреложность осуществления мультиплексного анализа результатов анализов из различных участков новообразования с целью исключения ложноположительных и ложноотрицательных заключений.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора в выполнение диссертационной работы заключается, прежде всего, в организации и осуществлении набора необходимого количества репрезентативного материала, формировании групп наблюдений. Автором также проведен анализ историй болезни пациентов и амбулаторных карт клинических наблюдений больных с поверхностными меланомами кожи. Автором лично осуществлён отбор случаев, вошедших в исследование, проведено патогистологическое исследование, оценены данные иммуногистохимического и ультраструктурного анализа, дана оценка результатов. В ходе выполнения автором диссертационного исследования все полученные результаты были анализированы, интерпретированы и обобщены в картах клинического наблюдения. Автор, проведя широкомасштабное статистическое исследование обширного фактографического материала обеспечил реализацию принципов доказательной медицины и аргументированность научных результатов проведенного исследования.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности  
3.3.2. Патологическая анатомия.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность научных положений и выводов исследования базируется на тщательном и системном анализе большого объёма и количества работ по теме диссертации, опубликованных как в отечественных, так и зарубежных научных изданиях. Высокая достоверность результатов обеспечивается также использованием усовершенствованной методологии исследования, изучением значительного объёма операционного и биопсийного материала с помощью современных адекватных технологий и сертифицированного оборудования, разрешённого в установленном порядке для медицинского применения. Достоверность и аргументированность выводов и результатов исследования, посвященного оценке клинико-морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической характеристик поверхностных меланом кожи, обеспечена также и осуществлением широкомасштабного статистического исследования обширного фактографического материала, обеспечивающего реализацию принципов доказательной медицины.

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на XXXIII Европейском конгрессе патологов (Базель, Швейцария, 2022), VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» (г. Челябинск, 7-8 апреля 2023 г.), Международной научно-практической конференции «Информационные технологии и математическое моделирование в фундаментальной и клинической медицине», посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора, заслуженного работника высшей школы РФ Пантелеева Сергея Михайловича (г. Тюмень, 15-16 февраля 2024 г.), Всероссийском научном форуме с международным участием «Неделя молодёжной науки – 2024», посвященном 300-летию Российской академии наук, V Всероссийской морфологической конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные вопросы морфологии» (г. Тюмень, 28-30 марта 2024 г.), XIV Пленуме Российского общества патологоанатомов (г. Уфа, 24-26 мая 2024 г.), VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» (г. Челябинск, 18-19 октября 2024 г.).



## **Внедрение результатов исследования**

Результаты научного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России (акт внедрения от 15.05.2024). Используются в подразделениях патологоанатомической службы государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы» (акт внедрения от 21.05.2024) – при осуществлении дифференциальной диагностики поверхностных меланом кожи в различные фазы их роста, а также при реализации программ стажировки слушателей, обучающихся по специальности 31.08.07. Патологическая анатомия, на циклах профессиональной переподготовки и повышения квалификации.

## **Публикации результатов работы**

По результатам исследования опубликовано 12 печатных работ, в том числе 4 статьи в ведущих журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией и 3 публикации в журналах, индексируемых в международных реферативных базах данных (Scopus, Web of Science).

## **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 124 страницах, состоит из введения, 4 глав с изложением состояния и степени разработанности темы исследования на основании анализа современной литературы, использованных методик исследования, основных результатов проведенной работы, их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, включающего 164 источника, в том числе 33 отечественных и 131 иностранных, списка иллюстративного материала, состоящего из 17 таблиц и 13 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы исследования**

Были изучены удаленные во время радикального хирургического иссечения фрагменты кожи, содержащие морфологический субстрат поверхностной меланомы. Всего было изучено 128 образцов поверхностно распространяющейся меланомы, направленных в установленном порядке для проведения

патогистологического исследования в соответствии с Приказом Минздрава Российской Федерации от 24 марта 2016 года № 179н «О Правилах проведения патологоанатомических исследований» и утвержденными данным Приказом формами № 014/у «Направление на прижизненное патолого-анатомическое исследование биопсийного (операционного) материала» и № 014-1/у «Протокол прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного) материала». Из 128 случаев поверхностно распространяющейся меланомы, согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения и специалистов-меланомологов (Апатенко А.К., 1977; Breslow A., 1970; Clark W.H.J., 1989), 83 наблюдения составили первую группу, в которой преобладали патогистологические признаки, позволяющие диагностировать её горизонтальную фазу, зачастую с проникновением новообразования кнаружи с приобретением признаков педжетоидной меланомы (McGovern V.J., 1970). В качестве критериев отнесения наблюдения в эту группу были использованы признаки, описанные ранее в работах авторитетных ученых онкологов и патоморфологов: локализация опухолевых комплексов и отдельных клеток, не входящих в их состав, помимо эпидермиса, в участках его соединения с дермой и распространение в сосочковый слой дермы (Clark W.H.J. et al., 1989; Bobos M. et al., 2021); размерам и характеристикам опухолевых комплексов и отдельных клеток вышеуказанных локализаций присуща определённая однотипность (Clark, W.H.J. et al., 1989); минимальное число митозов (1-2 на мм<sup>2</sup>) (Marsch A.F. et al., 2021); спектральным характеристикам образцов опухоли, наоборот, свойственна гетерогенность как в части интенсивности флуоресценции, так и значений рамановского сдвига (см<sup>-1</sup>) (Чернов И.А. и соавт., 2023).

Оставшиеся 45 наблюдений поверхностно распространяющейся меланомы согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения и специалистов-меланомологов (Апатенко А.К., 1977; Breslow A., 1970; Clark W.H.J., 1989), составили вторую группу, в которой преобладали патогистологические признаки, позволяющие диагностировать её вертикальную фазу, зачастую с сохранением отдельных характеристик, присущих случаям, включённых в первую группу: локализация опухолевых комплексов и отдельных клеток, не входящих в их состав, преимущественно в дерме (Clark W.H.J. et al., 1989; Bobos M. et al., 2021); размерам и характеристикам опухолевых комплексов и отдельных клеток вышеуказанных локализаций присущ полиморфизм (Clark W.H.J. et al., 1989); число митозов не менее 3-4 на мм<sup>2</sup>) (Marsch A.F. et al., 2021); спектральным характеристикам образцов опухоли, наоборот, свойственна относительная гомогенность, как в части интенсивности флуоресценции, так и значений рамановского сдвига (см<sup>-1</sup>) (Чернов И.А. и соавт., 2023). Контрольная группа (n = 10) включала образцы кожи лиц (секционный материал) с отсутствием каких бы то ни было проявлений кожной патологии в анамнезе и на момент наступления летального исхода. Фиксацию и гистологическую проводку биологических

образцов выполняли по стандартной методике. Иммуногистохимическое исследование по определению иммунофенотипа меланом проводили с использованием антител к Melan A, Melanoma Marker (HMB45), S100 Protein (Ventana Medical System, США), также иммуногистохимически идентифицировали мутировавший белок BRAF V600E с помощью устойчивого к мутации моноклонального антитела VE1 (Ventana Medical System, США). Электронномикроскопическое исследование осуществляли на сканирующем электронном микроскопе Zeiss EVO LS10 (Zeiss, Германия) с установленным детектором для просвечивающей микроскопии (STEM). Было осуществлено молекулярно-генетическое исследование биообъектов с использованием ПЦР с целью выявления мутации гена BRAF и NRAS. Мутации гена BRAF исследовали на предмет наличия мутации V600. Мутации гена NRAS изучали с целью идентификации 3 мутаций, локализованных в 12 кодоне 2 экзона (Gly12Asp, Gly12Cys, Gly12Ser); 2 мутаций, локализованных в 13 кодоне 2 экзона (Gly13Asp, Gly13Arg); 3 мутаций, локализованных в 61 кодоне 3 экзона (Gln61Lys, Gln61Leu, Gln61Arg). Было осуществлено также спектроскопическое исследование биообъекта с использованием спектрометра «ИнСпектр М», вариант исполнения: М-532 (ПУ от 18.06.2021 № РЗН 2015/2419, производитель: ООО «РамМикс», Россия), состоящего из оптического микроскопа Olympus CX41 и блока спектрометра с длиной волны возбуждающего излучения 532 нм. Для наполнения базы данных и последующей статистической обработки использовали специализированное программное обеспечение: R-4.3.0 (The R Foundation, Вена, Австрия), RStudio Desktop (Version 2023.06.1, RStudio Inc, США). Использовали методы описательной статистики, при этом результаты исследования для качественных (категориальных) переменных представляли в виде процентных долей, для количественных – в виде средних арифметических. Использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой на множественные сравнения, используемую для управления уровнем ложноположительных результатов (ошибок первого рода) в случае нескольких парных сравнений между группами, точного критерия Фишера.

Оценку влияния факторных признаков на результативные производили методом логистической регрессии. Чувствительность и специфичность оценивали при помощи ROC-анализа. Для оценки качества модели рассчитывали показатель AUC (Area under ROC curve – площадь под ROC-кривой) Учитывая, что в исследовании присутствовали несколько независимых переменных, то их отбор выполняли при помощи пошаговой регрессии с использованием критерия информационной сложности Акаике (AIC), суть которого заключается в том, чтобы найти модель, которая наилучшим образом подходит для исследуемых данных, используя минимальное количество параметров. Различия между группами считали статистически достоверными при  $p$  менее 0,05.

## Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что в подавляющем большинстве наблюдений, в которых в качестве доминирующей была определена фаза радиального (горизонтального) роста опухоли, отмечали наличие как минимум четырёх из шести признаков, определенных в качестве её критериев. Как правило, подобные наблюдения в большинстве случаев имели довольно типичную патогистологическую картину поверхностно распространяющейся педжетоидной пигментной меланомы без изъязвления. В подавляющем большинстве наблюдений (65 случаев – 78,4%) толщина опухоли, выраженная в метрических единицах Breslow, не превышала 1 миллиметра. В 8 случаях (9,6%) толщина варьировала от 1,1 до 2,0 мм и в 10 наблюдениях (12,0%) была более 2,1 мм, но не превышала 3,0 мм. Констатация прочих признаков также не отличалась разнообразием. Митотическая активность опухоли в фазу радиального роста, проявлявшаяся в числе митозов на единицу площади опухоли ( $1 \text{ мм}^2$ ) характеризовалась умеренными значениями: в 41 наблюдении (49,4%) митозы либо отсутствовали, либо их число было минимальным и не превышало одного. В 32 наблюдениях (38,6%) идентифицировали 2-3 митоза на  $1 \text{ мм}^2$  опухоли и лишь в 10 случаях (12,0%) выявили более 4 митозов на единицу площади опухоли. Для радиальной фазы роста меланомы лимфоваскулярная инвазия оказалась нехарактерной и была идентифицирована лишь в двух наблюдениях (2,5%). Лимфоидная инфильтрация обычно носила умеренный, преимущественно перитуморальный, характер и в 25 наблюдениях (30,1%) опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TILs) не были идентифицированы. Из оставшихся 58 случаев в 17 (20,5%) были выявлены Brisk, а в 41 наблюдении (49,4%) Nonbrisk лимфоциты. Среди кератиноцитов всех слоёв эпидермиса была обнаружена россыпь атипичных меланоцитов педжетоидного типа, интраэпидермально расположены кластеры опухолевых клеток по своим размерам превышающие или соответствующие аналогичным кластерам, расположенным в сосочковом слое дермы. Проведённое спектроскопическое исследование образцов кожи контрольной группы и поверхностно распространяющейся меланомы (фаза радиального роста), показало, что для спектров образцов кожи контрольной выборки были свойственны высокие значения инициальной флуоресценции (2000 относительных единиц) и распределение интенсивности молекулярных колебаний фенилаланина ( $1003,8 \text{ см}^{-1}$  и  $1045,1 \text{ см}^{-1}$ ) и тирозина ( $1172,4 \text{ см}^{-1}$ ). По сравнению с ними спектры образцов кожи с поверхностно распространяющейся меланомой (фаза радиального роста) имели ещё более высокие значения инициальной флуоресценции (3000 относительных единиц) и разнообразный состав специфических аналитов с интенсивностью молекулярных колебаний фенилаланина ( $1208 \text{ см}^{-1}$ ), тирозина ( $1172,4 \text{ см}^{-1}$ ), триптофана ( $1365,4 \text{ см}^{-1}$ ) и каротиноидов ( $1540 \text{ см}^{-1}$ ). Молекулярно-генетическое исследование, проведенное в 63 случаев меланомы, находящейся в

радиальной фазе роста, выявило BRAF V600 мутацию в 33 наблюдениях (52,4%), и не идентифицировало в 30 случаях (47,6%). Мутации гена NRAS были исследованы в 62 случаях меланомы с радиальной фазой роста и в 13 наблюдениях (21%) обнаружены в 12/13 кодоне 2 экзона и 61 кодоне 3 экзона. В 49 случаях (79,0%) мутации гена NRAS не были идентифицированы. Группа наблюдений (n=45) с диагностированной фазой вертикального распространения опухоли тем не менее сохраняла отдельные прерогативы (векторы несовершенного круга) фазы радиального роста. Макроскопические размеры новообразования, отнесённого впоследствии к вертикальной фазе роста, варьировали от 2,0 до 20 мм, и лишь в трёх случаях (6,5%) превышали 20 мм. В большинстве наблюдений, отнесённых в эту группу, наблюдали превалирующий над образцами первой группой полиморфизм патогистологических признаков. Уровень инвазии новообразования по Clark превышал второй, число отдельных атипичных меланоцитов и количество формируемых ими комплексов в дерме преобладали над интраэпидермальными, показатели митотической активности превышали таковые в группе с радиальной фазой роста опухоли, в большей части наблюдений было идентифицировано 4 и более митозов в 1 мм<sup>2</sup> площади опухоли. Изменение качественного состояния новообразования, обусловленного его переходом из радиальной в вертикальную стадию роста, сопровождалось уменьшением частоты выявления компонентов-аналитов эндогенных пигментаций в наблюдениях, входящих во вторую группу (стадия вертикального роста). Так, по сравнению с первой группой (стадия радиального роста) частота выявления прекурсора меланина тирозина снизилась с 75,9% до 51,1%, триптофана с 80,7% до 44,4%, фенилаланина с 65,1% до 33,3%. Уменьшилась частота выявления каротиноидов, входящих в состав липофусцина и являющихся его своеобразной «визитной карточкой» с 56,6% до 33,3%. Что касается представителя гемоглобиногенных пигментов порфирина, то частота его выявления ожидаемо увеличилась с 53,05 до 68,9% по причине реализовавшихся изъязвлений и сопутствующих им кровоизлияний. Иммуногистохимическое исследование по сравнению с фазой радиального роста выявило положительный результат во всех наблюдениях за исключением маркера S100, который был идентифицирован в 80 % случаев. Что касается иммуногистохимической идентификации мутировавшего белка BRAF V600E с помощью устойчивого к мутации моноклонального антитела VE1, то положительный результат был отмечен также в 45 случаях (100%) (Таблица 1).

Таблица 1 – Частота определения иммуногистохимических маркеров в различные фазы роста опухоли

Фаза роста	Melan A	HMB45	S100	BRAF
Радиальная (n=83)	58 (69,9%)	48 (57,8%)	32 (38,6%)	21 (25,3%)
Вертикальная (n=45)	45 (100%)	45 (100%)	36 (80%)	45 (100%)

Качественный состав пигментных компонентов-аналитов практически не отличался от обнаруженных на спектрах образцов опухоли, находящейся в фазе радиального роста и представлял собой комплекс прекурсоров тирозин-триптофановых хромопротеидов и эндогенных пигментов других классов хромопротеидов, идентифицируемых на фоне реализации вторичных изменений, наблюдаемых в опухоли (Таблица 2). Частота встречаемости всех пигментных компонентов-аналитов радиальной и вертикальной фаз опухоли, выраженная в процентном соотношении была существенно снижена в наблюдениях, отнесённых к вертикальной фазе роста. Исключение составил порфирин, частота выявления которого в вертикальную фазу была увеличена. Спектры исследуемых образцов характеризовались наличием рамановских пиков аналитов прекурсоров пигментных тирозин-триптофановых хромопротеидов.

Таблица 2 – Выявленные при рамановской спектроскопии компоненты различных фаз роста поверхностно-распространяющихся меланом кожи

№ п.п.	Признак	Количество, %
1	Фазы роста опухоли	128 (100%)
	• радиальная	83 (64,8%)
	• вертикальная	45 (35,2%)
2	Компоненты, выявленные при помощи рамановской спектроскопии	
	• тирозин	86/128 (67,2%)
	• триптофан	87/128 (68,0%)
	• фенилаланин	69/128 (53,9%)
	• порфирин	75/128 (58,6%)
	• каротиноиды	62/128 (48,4%)
3	Частоты выявления компонентов посредством рамановской спектроскопии в различные фазы роста меланомы	
	А) радиальная фаза	
	• тирозин	63/83 (75,9%)
	• триптофан	67/83 (80,7%)
	• фенилаланин	54/83 (65,1%)
	• порфирин	44/83 (53,0%)
	• каротиноиды	47/83 (56,6%)
	Б) вертикальная фаза	
	• тирозин	23/45 (51,1%)
	• триптофан	20/45 (44,4%)
	• фенилаланин	15/45 (33,3%)
	• порфирин	31/45 (68,9%)
	• каротиноиды	15/45 (33,3%)

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования 38 случаев меланомы<sup>1</sup>, находящейся в вертикальной фазе роста, BRAF V600 мутация была обнаружена в 28 наблюдениях (73,7%), и не идентифицирована в 10 случаях (26,3%). Мутации гена NRAS были исследованы также в 38 случаях меланомы с вертикальной фазой роста и в 11 наблюдениях (28,9%) обнаружены в 12/13 кодоне 2 экзона и 61 кодоне 3 экзона. В 27 случаях (71,1%) мутации гена NRAS не были идентифицированы (Таблица 3).

Таблица 3 – Частота идентифицированных мутаций в морфологическом субстрате поверхностной меланомы кожи, ассоциированных с фазой роста опухоли

<b>BRAF</b>					
Фаза роста	Число исследованных случаев	Наличие мутации	% случаев с мутацией	Отсутствие мутации	% случаев с отсутствием мутации
радиальная	63	33	52,4	30	47,6
вертикальная	38	28	73,7	10	26,3

<b>NRAS</b>					
Фаза роста	Число исследованных случаев	Наличие мутации	% случаев с мутацией	Отсутствие мутации	% случаев с отсутствием мутации
радиальная	62	13	21,0	49	79,0
вертикальная	38	11	28,9	27	71,1

Было принято решение убедиться в наличии (отсутствии) взаимосвязи между категориальными переменными X и Y и в случае нахождения таковой, осуществить статистический анализ с целью определения возможности использования переменной X для прогнозирования значения Y при помощи регрессионных моделей, которые позволяют выполнить проверку гипотезы о связях между несколькими переменными. В нашем случае в качестве двух категориальных переменных были определены фаза роста: вертикальная/горизонтальная, а также значения результатов либо иммуногистохимического исследования (первая пара), либо компоненты-аналиты опухоли и показатели её лимфоваскулярной инвазии (вторая пара), либо фаза роста опухоли и компоненты-аналиты эндогенных пигментаций в её субстрате (третья пара) также в значениях да/нет для всех сформированных пар. Коль скоро в нашем исследовании фаза роста опухоли являлась зависимой переменной и могла принимать лишь два возможных значения: радиальная или вертикальная, то логистическая регрессия представлялась наиболее подходящим методом для статистического анализа. Нулевую гипотезу ( $H_0$ ) мы сформулировали таким образом, что экспрессия указанных иммуногистохимических маркеров (Melan A,

<sup>1</sup> В остальных 7 наблюдениях показания для проведения молекулярно-генетического исследования отсутствовали.

HMB45, S100 и BRAF) не зависит от фазы роста опухоли. Альтернативную гипотезу ( $H_1$ ) сформулировали, напротив, так, что различия в экспрессии иммуногистохимических маркеров существуют и являются статистически значимыми. Для удобства расчётов, перекодировали зависимую переменную таким образом, чтобы значение 0 соответствовало радиальной фазе роста меланомы, а значение 1 – вертикальной. Факторными переменными или предикторами оставались по-прежнему иммуногистохимические маркеры Melan A, HMB45, S100 и BRAF. Результаты расчета коэффициентов модели логистической регрессии представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Результаты расчёта коэффициентов, включенных в модель бинарной логистической регрессии (первая пара)

Коэффициенты	Оценка	Ст. ошибка	Z значение	Уровень значимости p
перехват	-68,900	10483,129	-0,006	0,994
Melan A	23,505	7127,469	0,003	0,997
HMB45	23,100	6057,178	0,003	0,996
S100	23,798	4733,474	0,005	0,995
BRAF	2,0794	1,280	1,624	0,104

Полученные результаты продемонстрировали значительное превышение заданного уровня значимости  $p=0,05$ . Исходя из вышеизложенного, оказалось, что ни один из предикторов не был существенным в указанной модели, следовательно, мы не располагали достаточными основаниями для того, чтобы отвергнуть нулевую гипотезу ( $H_0$ ), суть которой заключается в том, что экспрессия указанных иммуногистохимических маркеров (MelanA, HMB45, S100 и BRAF) не зависит от фазы роста опухоли.

Во второй паре при оценке статистической связи определения аналитов и лимфоваскулярной инвазии откликом или факторной переменной выступает признак лимфоваскулярной инвазии опухоли, который принимает значение «0» при её отсутствии и «1» в случае обнаружения. Зависимые переменные-аналиты: каротиноиды, порфирин, тирозин, триптофан, фенилаланин. Как и для первой пары, сформулировали две гипотезы: нулевую и альтернативную. Нулевую гипотезу  $H_0$ , обозначили как гипотезу отсутствия связи между определением лимфоваскулярной инвазии и частотой встречаемости каждого из аналитов. Альтернативная гипотеза  $H_1$ , напротив, содержала интересующее нас утверждение или гипотезу о наличии статистически значимых различий в распределении аналитов и лимфоваскулярной инвазии (LVI). Проверку статистической гипотезы также осуществили путём выполнения регрессионного анализа (Таблица 5).



Таблица 5 – Результаты расчёта коэффициентов, включенных в модель бинарной логистической регрессии (вторая пара)

Коэффициенты	Оценка	Ст.ошибка	Zзначение	Уровень значимости p
перехват	0,9695967	1,5700021	0,6175767	0,5368544
каротиноиды	-0,4362155	0,5943668	-0,7339163	0,4629998
порфирин	-0,7717961	0,6190218	-1,2467995	0,2124710
тирозин	-0,6340850	1,2821327	-0,4945549	0,6209144
триптофан	-1,0393482	0,7014573	-1,4816986	0,1384205
фенилаланин	-1,1137913	0,9232557	-1,2063736	0,2276735

Основываясь на результатах, где  $p\text{-value} > 0,05$ , можно сделать вывод, что статистической связи между наличием лимфоваскулярной инвазии и определяемыми анализатами не обнаружено, и отвергнуть нулевую гипотезу  $H_0$  мы не можем.

Для проверки гипотезы о наличии статистической связи между несколькими переменными, а в третьей паре таковыми являлись фазы-стадии роста опухоли и компоненты-аналиты эндогенных пигментаций в её субстрате была также использована логистическая регрессия. Полученные результаты продемонстрировали статистическую значимость модели и каждого из предикторов, что указывало на высокую достоверность выявленных зависимостей. В частности, согласно данным, представленным в Таблице 6, значимые предикторы включали каротиноиды ( $p=0,02257$ ), тирозин ( $p=0,01554$ ), триптофан ( $p=0,00769$ ) и фенилаланин ( $p=0,01753$ ), в то время как порфирин ( $p=0,09080$ ) не показал статистически значимых результатов.

Таблица 6 – Результаты расчета коэффициентов, включенных в модель бинарной логистической регрессии (третья пара)

Коэффициенты	Оценка	Ст. ошибка	Уровень значимости p
intercept (свободный член)	1,3934	0,5923	0,01865*
каротиноиды	-1,0158	0,4454	0,02257*
порфирин	0,7829	0,4629	0,09080
тирозин	-1,1103	0,4589	0,01554*
триптофан	-1,2208	0,4580	0,00769*
фенилаланин	-1,0596	0,4461	0,01753*
Примечание: *статистически значимые предикторы фазы роста меланомы			

Использованная нами в расчётах модель и качество бинарной классификации были проверены визуализацией при помощи ROC (Receiver Operating Characteristic)-кривой (график, который показывает зависимость между чувствительностью и специфичностью), отражающей долю верно

классифицированных признаков исходя из выбранных зависимых переменных (Рисунок 1).

Чем ближе AUC к 1, тем лучше модель различает классы. При AUC, равной единице, модель считается идеальной, поскольку разделяет классы безошибочно. В нашем исследовании показатель площади под кривой AUC составил 0,81, что указывает на хорошую способность модели различать фазы роста опухоли. Специфичность модели составила 0,77, чувствительность - 0,67, а доля правильно классифицированных случаев среди всех примеров (ассигасу) достигла 0,73.

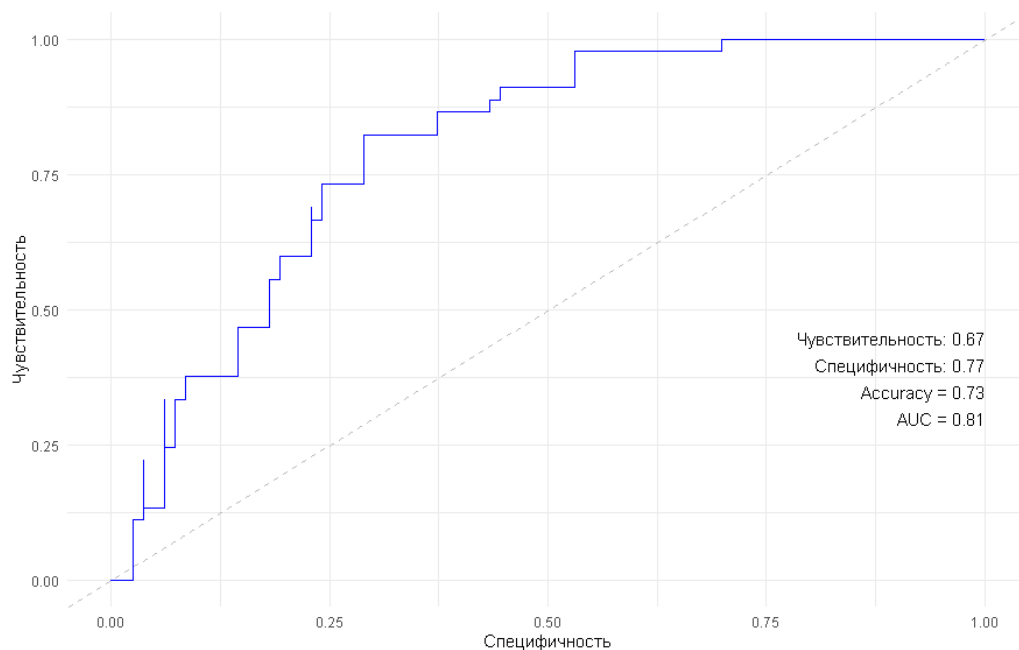


Рисунок 1 – ROC анализ оценки модели перехода меланомы кожи в вертикальную фазу роста

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования классиков мировой и отечественной патологической анатомии V. McGovern, W. Clark, А.К. Апатенко, З.В. Гольберт, А. Breslow, изучавших морфологию меланоцитарных опухолей, убедительно показали, что большинство кожных меланом возникает из меланоцитов эпидермиса и развивается, проходя через две основные стадии прогрессии. Приведённые ими доказательства того, что меланомы в фазе радиального роста отличаются более благоприятным прогнозом, в то время как диагностированные в фазе вертикального роста характеризуются повышением инвазивной и метастатической компетентности достойно прошли проверку временем и являются актуальными по сей день. Проведённое нами исследование, с одной стороны, упрочило во мнении о необходимости соблюдения установленного для диагностики меланом алгоритма независимо от стадии прогрессии опухоли, количества и особенностей выявляемого в них пигмента. С другой стороны, применение в нашем исследовании для диагностики меланом

прецизионных технологий позволило выявить иммунофенотип и характерные для новообразования мутации (BRAF V600, NRAS), а осуществленный на основании использования рамановской спектроскопии образцов опухолей мультиплексный анализ полученных данных, позволил идентифицировать в каждом биологическом объекте меланом одновременно значительное количество молекул различных компонентов-аналитов. При этом выявлено предиктивное значение компонентов-аналитов каротиноидов, тирозина, триптофана, фенилаланина и статистически значимое снижение вероятности их обнаружения при переходе опухоли из фазы радиального в фазу вертикального роста. Проверка данного положения визуализацией выявила высокие показатели чувствительности и специфичности модели, а также её хорошую способность различать фазы роста опухоли. К сожалению, в проведённом исследовании, несмотря на стопроцентное выявление MelanA, HMB-45 и аномального белка BRAF, а также мутацию гена BRAFV600E, и чуть меньшее – маркера S100 в стадию вертикального (инвазивного) роста, установить статистические различия и их предиктивную роль не представилось возможным. Это обстоятельство, по нашему мнению, было обусловлено сравнительно небольшим количеством наблюдений инвазивных меланом, aberrантной экспрессией маркеров, усложняющей диагностику кожных меланом, либо гетерогенностью их иммунофенотипического профиля, что обуславливает в дальнейшем необходимость осуществления мультиплексного анализа в диагностике этого злокачественного новообразования.

## ВЫВОДЫ

1. Морфологическим проявлениям поверхностно распространяющихся меланом кожи и их специфическим спектроскопическим характеристикам, представляющих собой комбинацию компонентов-аналитов эндогенных пигментаций, присуща сопряжённость, своеобразно реализуемая в зависимости от фазы развития опухоли.

2. Определение иммунофенотипа поверхностно распространяющейся меланомы при помощи панели маркеров Melan A, HMB45, S100 и иммуногистохимическое выявление мутировавшего белка BRAF V600E с помощью устойчивого к мутации моноклонального антитела VE1, а также молекулярно-генетическая идентификация мутаций генов BRAF и NRAS не выявили статистически значимой связи между фазами роста опухоли и результатами иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследования.

3. Морфологическая гетерогенность поверхностно распространяющейся меланомы, обусловленная фазой роста опухоли и сопряжёнными с ней различными соотношениями паренхиматозного и стромального компонентов и степенью реализации вторичных изменений обуславливает непреложность осуществления

мультиплексного анализа результатов компонентов-аналитов из различных участков новообразования с целью исключения ложноположительных и ложноотрицательных заключений.

4. Конъюнкция алгоритмов получения и интерпретации данных мультиплексного анализа морфологического субстрата опухоли выявила предиктивное значение компонентов-аналитов каротиноидов ( $p=0,02257$ ), тирозина ( $p=0,01554$ ), триптофана ( $p=0,00769$ ), фенилаланина ( $p=0,01753$ ) и статистически значимое снижение вероятности их обнаружения при переходе опухоли из фазы радиального в фазу вертикального роста.

5. Выявление указанных компонентов-аналитов посредством рамановской спектроскопии значительно повышает вероятность нахождения опухоли в фазе радиального роста, а их снижение или отсутствие при уровне значимости  $p < 0,05$  (в нашем исследовании  $p < 0,03$ ) подтверждает статистически значимость различий и свидетельствует об инициации и развитии вертикальной фазы роста меланомы. Проверка данного положения визуализацией при помощи ROC-кривой выявила значение показателя площади под кривой AUC, равное 0,81, что свидетельствует о хорошей способности модели различать фазы роста опухоли. Специфичность модели составила 0,77, чувствительность 0,67, а доля правильно классифицированных случаев среди всех примеров достигла 0,73.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Врачам патологоанатомам, сотрудникам патологоанатомических служб лечебных учреждений, патологоанатомических бюро рекомендуется учитывать выявленную сопряжённость морфологических проявлений поверхностно распространяющихся меланом кожи и их специфических спектроскопических характеристик, представляющих собой комбинацию компонентов-аналитов эндогенных пигментаций, выявленных методом рамановской спектроскопии и реализуемой в зависимости от фазы развития опухоли. Рекомендуется использовать полученные в исследовании данные о предиктивном значении компонентов-аналитов каротиноидов, тирозина, триптофана, фенилаланина в дифференциальной диагностике стадий меланомы.

2. Сотрудникам кафедр патологической анатомии образовательных учреждений высшего и дополнительного профессионального образования рекомендуется использовать полученные в настоящем исследовании результаты на лекциях, практических и семинарских занятиях при изучении вопросов морфогенеза и морфологических проявлений смешанных дистрофий, патологической анатомии опухолей, развивающихся из меланинообразующей ткани, студентам по направлениям подготовки 31.05.01 Лечебное дело, 31.05.02 Педиатрия, 31.05.03 Стоматология, ординаторам, обучающимся по специальности

31.08.07 Патологическая анатомия, слушателям циклов профессиональной переподготовки и повышения квалификации.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

В современных условиях, несмотря на имеющиеся ощутимые локальные достижения в диагностике и лечении меланом, ещё остаются неудовлетворенными запросы практической медицины, регистрирующей отсутствие стабильного успеха в их лечении. Отсюда становится понятной перспективность усилий исследователей-патоморфологов и клиницистов по модификации диагностической парадигмы меланом. Прежде всего, перспективным направлением является и будет являться таковым на протяжении обозримого периода времени идентификация новых диагностических и предиктивных маркеров меланом. В первую очередь речь идёт о порфирине, повышенный уровень которого был установлен в данном наблюдении и который, согласно данным, полученным из авторитетных научных источников, демонстрирует стабильно высокую концентрацию в злокачественных опухолях. Перспективными также будут исследования по метаболомике меланом, ставящие своей целью расшифровку её метаболома. В настоящей работе мы использовали лишь один аналитический метод, с помощью которого изучали некоторые эндогенные пигменты, относящиеся к категории вторичных метаболитов меланом, а также их реализации в биологических объектах, именуемые эндогенными пигментациями. В перспективе планируется осуществить исследования по изучению комплекса липидогенных пигментов, в состав которых, помимо липидов, входят белки, каротиноиды и флавины, которые в перспективе могут также стать искомыми диагностическими критериями опухолей меланоцитарного происхождения.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Циркадные ритмы и некоторые морфометрические показатели меланомы B16 / Ю.А. Кириллов, М.А. Козлова, Л.А. Маканцева, А.В. Борисов, М.В. Муратова, Д.А. Арешидзе // Учёные записки ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2022. – Т. 29, № 2. – С. 68–76.

2. Characteristic of Ultrastructure of Mice B16 Melanoma Cells under the Influence of Different Lighting Regimes / D.A. Areshidze, M.A. Kozlova, V.P. Chernikov, A.V. Borisov, D.V. Mischenko // **Clocks & Sleep**. – 2022. – Vol. 4 (4). – P. 745–760. doi: 10.3390/clockssleep4040056.

3. Micromorphometric parameters of B16 melanoma cells and their circadal / Y.A. Kirillov, M.A. Kozlova, L.A. Makartseva, S.E. Timofeev, A.V. Borisov, E. Rusina, D.A. Areshidze // Materials 34th European Congress of Pathology (Basel Switzerland 3-7

September 2022) // **Virchows Arch.** – 2022. – Vol. 481 (Suppl. 1). – P. 132. doi: 10.1007/s00428-022-03379-4.

4. Влияние постоянного освещения на макроскопические характеристики перевиваемой меланомы B16 / Д.А. Арешидзе, М.А. Козлова, **А.В. Борисов**, Д.В. Мищенко, Д.Н. Проценко, А.М. Авдалян, У.Ю. Аллаярова, Ю.А. Кириллов // Инновационные технологии в исследованиях, диагностике и преподавании: Сборник трудов Северо-западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова. – Санкт-Петербург, 2022. – Выпуск 7. – С. 119–122.

5. Морфологические и спектроскопические особенности меланомы B 16 / И.А. Чернов, Д.А. Арешидзе, **А.В. Борисов**, М.А. Козлова, Д.В. Мищенко, А.М. Авдалян, Д.Н. Проценко, Ю.А. Кириллов // Актуальные вопросы патологоанатомической практики: Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Челябинск, 7-8 апреля 2023 г.). – Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2023. – С.145–149.

6. Influence of Various Light Regimes on Morphofunctional Condition of Transplantable Melanoma B16 / D.A. Areshidze, M.A. Kozlova, M.V. Mnikhovich, T.V. Bezuglova, V.P. Chernikov, Z.V. Gioeva, **A.V. Borisov** // **Biomedicines.** – 2023. – Vol. 11 (4). – P. 1135. doi: 10.3390/biomedicines11041135.

7. Клинико-морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика наблюдения беспигментной (ахроматической) меланомы предплечья / **А.В. Борисов**, И.А. Чернов, В.Э. Родионов, А.М. Авдалян, Д.Н. Проценко, А.И. Ничипоров, В.И. Кукушкин, Ю.А. Кириллов // Медицинская наука и образование Урала. – 2023. – Т. 24, № 4 (ч. 2). – С. 282–286.

8. Использование результатов мультиплексного анализа морфологического субстрата опухоли в дифференциальной диагностике пигментной и беспигментной поверхностных меланом кожи на примере двух клинических наблюдений / **А.В. Борисов**, И.А. Чернов, В.Э. Родионов, А.М. Авдалян, Д.Н. Проценко, А.И. Ничипоров, В.И. Кукушкин, Ю.А. Кириллов // Учёные записки ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2024. – Т. 31, № 1. – С. 62–69.

9. Значение иммуногистохимического и молекулярно-генетического исследования для оценки злокачественного потенциала поверхностных меланом кожи / **А.В. Борисов**, И.А. Чернов, А.М. Авдалян, С.Е. Тимофеев, А.И. Ничипоров, Ю.А. Кириллов // Медицинская наука и образование Урала. – 2024. – Т. 25, № 3. – С. 61–64.

10. Значение информационных технологий в цитологической диагностике меланом кожи / К.С. Сиденко, В.Э. Родионов, **А.В. Борисов**, А.И. Ничипоров, А.В. Шманин // Неделя молодёжной науки – 2024: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного 300-летию

Российской академии наук (г. Тюмень, 28-30 марта 2024 г.). – Тюмень: ООО «Печатник», 2024. – С. 489.

11. Морфологические особенности и значение оценки реализаций эндогенных пигментаций в диагностике поверхностно распространяющихся меланом кожи / **А.В. Борисов**, И.А. Чернов, А.М. Авдалян, С.Е. Тимофеев, А.И. Ничипоров, В.И. Кукушкин, А.Ю. Субекин, Ю.А. Кириллов // Материалы XIV Пленума Российского общества патологоанатомов. – М.: ИД «АБВ-пресс», 2024. – С. 8–10.

12. Модификация диагностической парадигмы поверхностных меланом кожи использованием цито- и патогистологического исследований морфологического субстрата опухоли и результатов его мультиплексного анализа / **А.В. Борисов**, И.А. Чернов, А.М. Авдалян, С.Е. Тимофеев, А.И. Ничипоров, В.И. Кукушкин, А.Ю. Субекин, Ю.А. Кириллов // Актуальные вопросы патологоанатомической практики: Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Челябинск, 18-19 октября 2024 г.). – Челябинск: Издательство Южно-Уральского государственного медицинского университета, 2024. – С. 54–57.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ROC – (Receiver Operating Characteristic)-кривая – график, который показывает зависимость между чувствительностью и специфичностью, отражающей долю верно классифицированных признаков, исходя из выбранных зависимых переменных

AUC – (Area Under Curve) – площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций