

Морфологические и биофизические методы в диагностике меланом

Епишкина А. А.

аспирант, кафедра патологической анатомии

Залетина А. В.

студентка, педиатрический факультет

Чилипенко А. С.

студентка, педиатрический факультет

Мартусевич А. К.

д.б.н., руководитель, лаборатория медицинской биофизики

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

Автор для корреспонденции: Мартусевич Андрей Кимович; **e-mail:** cryst-mart@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Аннотация

В настоящее время распространенность и выявляемость меланомы, как и других онкологических заболеваний, имеет тенденцию к нарастанию. В связи с интенсивностью течения заболевания злокачественные новообразования кожи имеют неблагоприятный прогноз и возрастающее число летальных исходов. Это обуславливает потребность в разработке и внедрении новых методов диагностики. В связи с этим целью данного обзора является систематизация представлений об инструментальной диагностике меланомы. В настоящее время существует достаточно большое количество методов верификации меланом, однако большинство из них – морфологические и/или основанные на привлечении дорогостоящего уникального оборудования. Это минимизирует перспективы их использования в качестве скрининговой технологии. Именно решению данной задачи служит новый диагностический метод – ближнепольное резонансное СВЧ-зондирование кожи, для которого продемонстрирована высокая диагностическая информативность в купе с быстротой проведения исследования и мобильностью комплекса.

Ключевые слова: меланома, диагностика, инструментальные методы, ближнепольное резонансное СВЧ-зондирование

doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-3-68-81

Для цитирования: Епишкина А. А., Залетина А. В., Чилипенко А. С., Мартусевич А. К. Морфологические и биофизические методы в диагностике меланом. *Медицина* 2019; 7(3): 68-81

В настоящее время распространенность и выявляемость меланомы, как и других онкологических заболеваний, имеет тенденцию к нарастанию. В связи с интенсивностью течения заболевания злокачественные новообразования кожи имеют неблагоприятный прогноз и возрастающее число летальных исходов. Это обуславливает потребность в разработке и внедрении новых методов диагностики. В связи с этим целью данного обзора является систематизация представлений об инструментальной диагностике меланомы.

Из применяемых в выявлении меланомы современных диагностических технологий можно выделить следующие: иммуногистохимию, оптическую когерентную томографию, fish-методику, дерматоскопию, конфокальную микроскопию, радиоизотопное исследование, полимеразную цепную реакцию, диагностику с использованием радиоактивного фосфора и др.

Одним из наиболее часто используемых методов диагностики меланомы является дерматоскопия – неинвазивный метод, для которого используется ручное увеличительное оптическое устройство, подавляющее свет отражением рогового слоя, путем жидкого погружения, либо поляризацией поперечного света [1]. История этого метода начинается с 1663 года, когда Дж.К. Колхаус провел исследование кровеносных сосудов ногтевого ложа с помощью микроскопа. Лишь в 1920 году был введен термин «дерматоскоп». При этом только с 1970 года этот метод стал общепризнанным вследствие своей эффективности при проведении дифференциальной диагностики пигментных образований кожи [2]. Метод основан на определении характера пигментации и выявлении поражений меланоцитов (образование сетей, глобул, точек), вследствие чего используется при дифференцировке доброкачественных и злокачественных поражений на основе определенных алгоритмов [3,4].

В 1987 году был создан первый дифференциально-диагностический алгоритм, основанный на изучении различий доброкачественных и злокачественных опухолей кожи [2]. На современном этапе используется достаточно большое количество способов дифференциации меланомы от доброкачественных поражений: CASH – метод (С – цвет, А – архитектура, S – симметрия и Н – однородность), метод Мензи (11 дерматоскопических признаков), правило семи признаков, анализ структуры и ABCD – метод [3,5]. Самым первым стал ABCD – метод, в ходе которого у опухоли оценивается: А – асимметрия, В – неравномерность границ, С – цвет, D – диаметр, после чего подсчитывается общее число значений, которое сравнивается с контрольными цифрами [6]. Достаточно важным преимуществом данного метода является сокращение времени диагностики и получение достоверного дифференциального диагноза без проведения дополнительных процедур [7]. В ходе рандомизированного исследования, организованного дерматологами-дерматоскопистами, было выявлено снижение ненужных биопсий на 42% с помощью дерматоскопии по сравнению с визуальным исследованием невооруженным глазом [8]. Кроме того, в настоящее время разрабатываются программы, позволяющие иметь аналог такого устройства в своем мобильном телефоне и других девайсах, чтобы проводить самодиагностику, однако существенным минусом является потеря качества разрешения изображения [9,10].

Таким образом, дерматоскопия является одним из базовых методов первичной диагностики меланомы, однако эффективность использования этого метода напрямую зависит от опыта врача и длительности работы с данным прибором, что позволяет характеризовать метод как достаточно субъективный [11]. Более того, данный метод не способен обнаруживать меланому на ранней стадии [3,12].

Некоторые из перечисленных проблем решает цифровой дерматоскоп, который чаще всего применяется в настоящее время. На ранних стадиях меланомы может не иметь характерных особенностей. Именно в этом на помощь приходит последовательная цифровая дерматоскопия, которая проводится путем визуализации поражения с заданными временными интервалами. Таким образом, предоставляется информация о динамических изменениях пигментированного кожного дефекта [13]. В зависимости от числа кожных поражений различают короткосрочную (одно атипичное повреждение) и долгосрочную цифровую дерматоскопию (большое количество невусов). Эти методики позволяют наблюдать дефекты необходимое количество раз за определенный период времени [14,15]. Кроме того, сейчас используется двухступенчатый метод цифрового наблюдения, включающий в себя совместное использование цифровой дерматоскопии и метода фотографии всего тела, последний из которых заключается в фотографировании тела пациента и выделении наиболее подозрительных невусов и родинок, за которыми устанавливается постоянный контроль. Через определенное время (полгода, год) процедуру повторяют [16,17].

Одним из самых первых и общепризнанных методов диагностики является гистологическое исследование иссеченного образца. При гистологии важно определить такие параметры, как форма роста, клеточный вариант, наличие/отсутствие пигмента, толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии по Кларку, изъязвление, митотический индекс, сосудистая (ангиолимфатическая) инвазия, выраженность лимфоидной инфильтрации, спонтанная регрессия, наличие сателлитов и/или транзитных метастазов, предсуществующего невуса, «чистота» краев резекции удаленного лоскута кожи с опухолью [18]. Это и лечебная, и диагностическая процедура одновременно, так опухоль иссекается в пределах здоровых тканей путем эксцизионной биопсии. Данный способ отличается практически 100%-ной достоверностью результата, поэтому неотъемлемо используется во врачебной практике при диагностике меланомы [19]. Однако в некоторых случаях биопсию с последующим гистологическим исследованием не всегда удобно применить, если у пациента обнаружено большое количество подозрительных пигментных новообразований, либо новообразований, удаление которых связано с формированием значительного косметического или функционального дефекта. Например, примером этого служат случаи первично-множественной меланомы у пациентов с синдромом множественных диспластических невусов, пациенты с FAMMM-синдромом, с гигантскими невусами, с меланомами лицевых локализаций, а также сложные случаи атипичных беспигментных меланом [20].

Широко применяется в практике метод иммуногистохимии, основателем которого является Albert H. Coons. В 1941 году он вместе с коллегами впервые провёл мечение антител флюоресцентным красителем. В дальнейшем метод был модифицирован, и уже в 1974 году Taylor произвёл иммуногистохимический анализ тканей, залитых в парафин [35,36]. В настоящее время иммуногистохимия является важным методом диагностики и используется для определения наличия белков, связанных с канцерогенезом. В случае наличия меланомы обнаруживаются белки Ki-67, S100 и HMB-45. Кроме того, данный

метод позволяет определить новые белковые маркеры и оценить их диагностическое значение [37,38]. В последние годы также применяется тестирование на мутации генов NRAS и BRAF с помощью иммуногистохимии. Наличие данных мутаций учитывается при выборе препаратов химиотерапии [39,40].

Иммуногистохимия позволяет дифференцировать невус и меланому, что способствует постановке точного диагноза даже на ранних стадиях [41]. Однако исследования показывают, что в клетках могут присутствовать «дикие» BRAF мутации, не связанные с опухолевым процессом, поэтому необходима доработка данного метода или подтверждение диагноза другими способами [42,43]. Тем не менее, маркеры, позволяющие точно оценить пролиферативную активность опухолевых клеток, не прибегая к анализу расширенной панели антител, до сих пор не найдены. Именно поэтому высока актуальность поиска новых маркеров [44].

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) является одним из наиболее современных методов дифференциальной диагностики меланомы и доброкачественной меланоцитарной опухоли. Данный метод основан на использовании ДНК-проб, меченных флуоресцентной меткой [45,46]. В случае меланомы наиболее информативными являются тесты на экспрессию генов 6p25, 11q13, 8q24, и 9p21/CEP9 [47]. ДНК-пробы позволяют с высокой точностью выявить геномные aberrации в клетках опухоли, что позволяет говорить о достоверности полученного результата [47]. Однако, так как с помощью FISH-теста рассматривают только часть патологических ядер в опухолевом очаге, чувствительность этого метода колеблется в пределах от 43 до 100%, поэтому данный метод не стоит рассматривать как основной в постановке диагноза. В настоящее время ведутся исследования по нахождению наиболее оптимальных критериев данного теста, чтобы увеличить его чувствительность и специфичность [48,49].

Также важно рассмотреть один из оптических методов диагностики кожных опухолей – конфокальную микроскопию (КМ), которая является прижизненным (*in vivo*) неинвазивным методом диагностики, позволяющим получить изображения слоев эпидермиса и поверхностной части дермы, с разрешением, приближенным к обычной световой микроскопии [21,22]. КМ является важным дифференциально-диагностическим методом выявления меланомы [23,24].

Основным принципом КМ является использование точечного источника света, который плотно фокусируется на определенной точке ткани. Свет отражают некоторые тканевые структуры из-за вариации показателей преломления в коже. В частности, меланин, гидратированный коллаген и кератин являются высокоотражающими компонентами кожи, которые на изображениях КМ выглядят ярче, чем окружающие структуры [25]. У данного способа есть два неоспоримых преимущества – возможность получения прижизненного изображения на клеточном уровне и демонстрация изображения в 4-х измерениях (высота, ширина, глубина, время) [22]. Однако, как и большинство методов, конфокальная микроскопия требует наличия опытного специалиста для работы с

подобным микроскопом. Кроме того, есть ограничения в оптических возможностях на глубине проникновения более 0,25 мм, а также невозможно получить изображение под сосочком дермы [9].

Одним из новых методов диагностики злокачественных опухолей является спектроскопия Рамана. Данный метод позволяет не только дифференцировать нормальные меланоциты и клетки меланомы, но и выявить степень некроза клеток, а также определить восприимчивость клеток опухоли к химиотерапевтическим препаратам [50,51]. В основе спектроскопии Рамана лежит способность тканей к рассеиванию монохроматического света, полученные лучи направляют на светофильтр, с помощью которого их делят на слабые и интенсивные, слабые рамановские лучи направляют на детектор с целью фиксации их частоты [52,53]. Главными преимуществами данного метода являются неинвазивность и получение результата в реальном времени, что крайне важно для ранней диагностики злокачественных новообразований кожи [54]. С другой стороны, как самостоятельный метод диагностики спектроскопия Рамана не используется, так как возможности метода не до конца изучены, в связи с чем большинство специалистов отдают своё предпочтение инвазивным методам [55].

Нельзя оставить без внимания также метод УЗИ-диагностики. Широкое внедрение в практику эхографии и сонографии с применением высокочастотных линейных датчиков (с частотой сканирования 7-30 МГц) позволяет получить достаточно подробную информацию о первичном очаге и глубине инвазии по Бреслоу [26,27]. Также отмечена ценность сосудистых режимов доплерографии – цветового и энергетического картирования кровотока при меланоме [28].

Данным методом проводят оценку дифференцировки слоев кожи, их толщины, эхоструктуры, экзогенности, сосудистого рисунка, оценивают регионарные лимфатические узлы для исключения метастатического поражения [29]. Однако работы по изучению сонографической визуализации меланомы кожи немногочисленны и результаты исследований противоречивы [30]. Вместе с тем, как и дерматоскопия, УЗИ является достаточно субъективным методом обследования, и врач, проводящий диагностику с помощью него, должен быть достаточно опытен [3].

Еще одним достаточно новым способом диагностики меланомы является оптическая когерентная томография (ОКТ), которая долгое время использовалась только в офтальмологии [31], и лишь в 1997 зарекомендовала себя в дерматологии. ОКТ – это неинвазивный метод визуализации, основанный на принципе оптической интерферометрии с использованием источника инфракрасного излучения [32,33].

Меланоцитарные поражения характеризуются изменениями структуры сосудов, лежащих на разных уровнях кожного покрова, поэтому пораженные сосуды лучше оцениваются в горизонтальных сечениях в совокупности с 3D-реконструкцией, чего позволяет добиться ОКТ. В отличие от ранее приведенных оптических методов, ОКТ расширяет поле

исследования за счет трехмерного изображения ткани, что позволяет провести более подробный анализ тканевых структур, диагностика осуществляется в реальном времени и при достаточно высокой скорости сканирования, что безусловно важно для быстрой и качественной диагностики. [11,34,35] Однако разрешения ОКТ недостаточно, чтобы выявить морфологию отдельных клеток. Данный метод больше подходит для плоских поражений, поскольку гистопатологические структуры в гиперкератотических поражениях более сложно выявить. Кроме того, глубина визуализации ограничивается 0,2 мм [3,9].

В настоящее время ведутся активные исследования по разработке и внедрению метода резонансного ближнепольного СВЧ-зондирования для дифференцировки новообразований кожи. Данный метод основан на измерении диэлектрической проницаемости и проводимости биологических тканей. По данным предварительных исследований, эффективная диэлектрическая проницаемость у здоровой кожи почти в 2 раза превышает таковую у меланомы [57,58]. Преимуществами метода СВЧ-зондирования являются неинвазивность и получение достоверного результата в реальном времени [58]. Использование этого метода значительно упростит процесс диагностики меланомы и сделает его менее затратным.

Заключение

В целом, в настоящее время существует достаточно большое количество методов верификации меланом, однако большинство из них – морфологические и/или основанные на привлечении дорогостоящего уникального оборудования. Это минимизирует перспективы их использования в качестве скрининговой технологии. Именно решению данной задачи и служит новый диагностический метод – ближнепольное резонансное СВЧ-зондирование кожи, для которого продемонстрирована высокая диагностическая информативность вкпе с быстротой проведения исследования и мобильностью комплекса.

Литература

1. Trommel L., Devleeschauwer B., Beutels P. et al. Selective Use of Sequential Digital Dermoscopy Imaging Allows a Cost Reduction in the Melanoma Detection Process: A Belgian Study of Patients with a Single or a Small Number of Atypical Nevi. *Sequential Digital Dermoscopy Imaging Lowers Melanoma Detection Costs*. 2014; 9 (10): e109339.
2. Соколов Д.В., Махсон А.Н., Демидов Л.В. с соавт. Дерматоскопия (элпильюминисцентная поверхностная микроскопия): in vivo диагностика меланомы кожи (обзор литературы). *Сибирский онкологический журнал* 2008; (5): 63-67.
3. Rigel D.S., Russak J., Friedman R. The Evolution of Melanoma Diagnosis: 25 Years Beyond the ABCDs. *A Cancer Journal for Clinicians* 2010; 60 (5): 301-316.
4. Gallegos-Hernández J.F., Ortiz-Maldonado A.L., Minauro-Munoz G.G. et al. Dermoscopy in cutaneous melanoma. *Cirugía y Cirujanos*. 2015; 83(2): 107-111.

5. Carrera C., Marchetti M.A., Dusza S.W. et al. Validity and Reliability of Dermoscopic Criteria Used to Differentiate Nevi from Melanoma. *JAMA Dermatol.* 2016; 152(7): 798-806.
6. Ahnlied I., Bjellerup M., Nilsson F., Nielsen K. Validity of ABCD Rule of Dermoscopy in Clinical Practice. *Acta Dermatol. Venereol.* 2016; 96: 367-362.
7. Carrera C., Segura S., Aguilera P. et al. Dermoscopic Clues for Diagnosing Melanomas That Resemble Seborrheic Keratosis. *JAMA Dermatol.* 2017; 153(6): 544-551.
8. Herschorn A. Dermoscopy for melanoma detection in family practice. *Canadian Family Physician* 2012; 58: 740-745.
9. Traczyk E.R. Innovations and Developments in Dermatologic Non-invasive Optical Imaging and Potential Clinical Applications. *Acta Dermatol. Venereol.* 2017; 97: 5-13.
10. Pagliarello C., Stanganelli I., Fabrizi G. et al. Digital Dermoscopy Monitoring: Is it Time to Define a Quality Standard? *Acta Dermatol. Venereol.* 2017; 97: 864-865.
11. Herman C. Emerging technologies for the detection of melanoma: achieving better outcomes. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.* 2012; 5: 195-212.
12. Russo T., Piccolo V., Lallas A. Dermoscopy of Malignant Skin Tumours: What's New? *Dermatology* 2017; 233: 64-73.
13. Kraus S.L., Haenssle H.A. Early detection of cutaneous melanoma by sequential digital dermatoscopy (SDD). *Journal of the German society of dermatology* 2013: 509-512.
14. Moscarella E., Tion I., Zalaudek I. et al. Both short-term and long-term dermoscopy monitoring is useful in detecting melanoma in patients with multiple atypical nevi. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2017; 31 (2): 247-252.
15. Rinner C., Tschandl P., Sinz C. Long-term evaluation of the efficacy of digital dermatoscopy monitoring at a tertiary referral center. *Journal of the German society of dermatology* 2017; 15 (5): 517-522.
16. Gabriel Salerni, Cristina Carrera, Louise Lovatto, et al. Benefits of total body photography and digital dermoscopy ("two-step method of digital follow-up") in the early diagnosis of melanoma in high-risk patients. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2013. 67(1): e17-27.
17. Thomas L., Pui S. Dermoscopy, Digital Dermoscopy and Other Diagnostic Tools in the Early Detection of Melanoma and Follow-up of High-risk Skin Cancer Patients. *Acta Dermatol. Venereol.* 2017; 218 (Suppl): 14-21.
18. Вишневская Я.В., Строганова А.М., Сендеров А.И. с соавт. Современная гистологическая, иммуногистохимическая и молекулярно-генетическая диагностика меланомы кожи. *Сибирский онкологический журнал* 2012; 4: 74-75.
19. Синельников И.Е., Барышников К.А.; Демидов Л.В. Клиническая лекция. Клиническая диагностика меланомы кожи. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина* 2017; 28 (1-2): 68-73.
20. Демидов Л.В., Синельников И.Е., Назарова В.В. с соавт. Ранняя диагностика меланомы кожи: значение и возможности применения дерматоскопии в клинической практике онколога. *Российский онкологический журнал* 2013; 5: 5-11.
21. Pellacani G., De Pace B., Reggiani C. et al. Distinct melanoma types based on reflectance confocal microscopy. *Experimental dermatology.* 2014; 23 (6): 414-418.
22. Шляхтунов Е.А., Гидранович А.В., Луд Н.Г. с соавт. Рак кожи: современное состояние проблемы. *Вестник Витебского государственного медицинского университета* 2014; 13 (3): 20-28.

23. Захаров В.П., Козлов С.В., Морятов А.А. с соавт. Оптические методы для диагностики меланомы кожи. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2013; 15 (4): 120-124.
24. Jain M., Marghoob A.A. Integrating clinical, dermoscopy, and reflectance confocal microscopy findings into correctly identifying a nevoid melanoma. *JAAD case reports* 2017; 3 (6): 505-508.
25. Ahlgrim-Siess V., Laimer M., Rabinovitz H.S. Confocal Microscopy in Skin Cancer. *Current Dermatology Reports* 2018; (7): 105-118.
26. Ключкин И.В., Ключкина Ю.А. Возможности сонографии в диагностике кожных новообразований. *Вестник современной клинической медицины* 2014; 7 (4): 26-29.
27. Czarnecka A., Czarnecki R., Witkiewicz W. et al. Importance of sonography of the skin and subcutaneous tissue in the early diagnosis of melanoma in-transit metastasis with the presentation of two cases. *Postepy Dermatol. Alergol.* 2018; 35(2): 204-207.
28. Максимова Н.А., Позднякова В.В., Курышова М.И. с соавт. Ультразвуковая диагностика меланоцитарных образований кожи. *Современные проблемы науки и образования* 2015; (3).
29. Макаренко Л.А. Неинвазивная диагностика в дерматологии. *Российский журнал кожных и венерических болезней* 2013; (2): 40-45.
30. Ulrich J., van Akkooi A.J., Eggermont A.M., Voit C. New developments in melanoma: utility of ultrasound imaging (initial staging, follow-up and pre-SLNB). *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011; 11 (11): 1693-701.
31. Ghassemi F., Mirshahi R., Fadakar K., Sabour S. Optical coherence tomography angiography in choroidal melanoma and nevus. *Clinical Ophthalmology* 2018; (12): 207-214.
32. Gambichler T., Pljakic A., Schmitz L. Recent advances in clinical application of optical coherence tomography of human skin. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2015; (8): 345-354.
33. Lindsø Andersen P., Olsen J., Friis K.B.E. et al. Vascular morphology in normal skin studied with dynamic optical coherence tomography. *Experimental dermatology* 2018; 7 (11): 1280-1286.
34. Ulrich M., Themstrup L., de Carvalho N. et al. Dynamic Optical Coherence Tomography in Dermatology. *Dermatology* 2016; 232: 298-311.
35. Levin A., Wang K., Markowitz O. et al. Optical Coherence Tomography in the Diagnosis of Skin Cancer. *Dermatologic Clinics* 2017; 35 (4): 465-488.
36. Albert A.G. Coons: harnessing the power of the antibody. *Lancet Respir Med.* 2016; 4 (3): 181-182.
37. Hofman F.M., Taylor C.R. Immunohistochemistry. *Curr. Protoc. Immunol.* 2013; 103: Unit 21.4.
38. Lilyquist J., Meyer White K.A., Lee R.J., Philips G.K., Hughes C.R., Torres S.M. Quantitative Analysis of Immunohistochemistry in Melanoma Tumors. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96 (15): e6432.
39. Ramos-Vara J.A. Principles and methods of immunohistochemistry. *Methods Mol. Biol.* 2011; 691: 83-96.
40. Massi D., Simi L., Sensi E., Baroni G. et al. Immunohistochemistry is highly sensitive and specific for the detection of NRASQ61R mutation in melanoma. *Modern Pathology* 2015; 28: 487-497.
41. Schirosi L., Strippoli S., Gaudio F., Graziano G., Popescu O., Guida M., Simone G., Mangia A. Is immunohistochemistry of BRAF V600E useful as a screening tool and during progression disease of melanoma patients? *BMC Cancer*. 2016; 16: 905.

42. Uguen A., Talagas M., Costa S. et al. A p16-Ki-67-HMB45 immunohistochemistry scoring system as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. *Diagn. Pathol.* 2015; 10: 195.
43. Bruno W., Martinuzzi C., Andreotti V. et al. Heterogeneity and frequency of BRAF mutations in primary melanoma: Comparison between molecular methods and immunohistochemistry. *Oncotarget* 2017; 8 (5): 8069-8082.
44. Harlé A., Salleron J., Franczak C. et al. Detection of BRAF Mutations Using a Fully Automated Platform and Comparison with High Resolution Melting, Real-Time Allele Specific Amplification, Immunohistochemistry and Next Generation Sequencing Assays, for Patients with Metastatic Melanoma. *PLoS One.* 2016; 11 (4): e0153576.
45. Саламова И.В., Москалева О.Л., Флакс Г.А., Мордовцева В.В. Роль иммуногистохимии в дифференциальной диагностике новообразований кожи меланоцитарного генеза. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2015; (1): 77-83.
46. Kolialexi A., Tsangaris G.T., Kitsiou S., Kanavakis E., Mavrou A. Impact of cytogenetic and molecular cytogenetic studies on hematologic malignancies. *Chang Gung Med J.* 2012; 35 (2): 96-110.
47. DeMarchis E.H., Swetter S.M., Jennings C.D., Kim J. Fluorescence In Situ Hybridization Analysis of Atypical Melanocytic Proliferations and Melanoma in Young Patients. *Pediatr. Dermatol.* 2014; 31 (5): 561-569.
48. Wang L., Rao M., Fang Y. et al. A Genome-Wide High-Resolution Array-CGH Analysis of Cutaneous Melanoma and Comparison of Array-CGH to FISH in Diagnostic Evaluation. *The Journal of Molecular Diagnostic* 2013; 15 (5): 581-592.
49. Minca E.C., Al-Rohil R.N., Wang M. et al. Comparison between melanoma gene expression score and fluorescence in situ hybridization for the classification of melanocytic lesions. *Modern Pathology* 2016; 29: 832-843.
50. Uguen A., Uguen M., Talagas M. et al. Fluorescence in situ hybridization testing of chromosomes 6, 8, 9 and 11 in melanocytic tumors is difficult to automate and reveals tumor heterogeneity in melanomas. *Oncol Lett.* 2016; 12 (4): 2734-2741.
51. Bodanese B., Silveira F.L., Zângaro R.A. et al. Discrimination of Basal Cell Carcinoma and Melanoma from Normal Skin Biopsies In Vitro Through Raman Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Photomed. Laser Surg.* 2012; 30 (7): 381-387.
52. Brauchle E., Noor S., Holtorf E., Garbe C., Schenke-Layland K., Busch C. Raman spectroscopy as an analytical tool for melanoma research. *Clin. Exp. Dermatol.* 2014; 39 (5): 636-645.
53. Lui H., Zhao J., McLean D., Zeng H. Real-time Raman Spectroscopy for In Vivo Skin Cancer Diagnosis. *Cancer research* 2012; 72 (10): 2491-500.
54. Richters R.J.H., Falcone D., Uzunbajakava N.E. et al. Sensitive Skin: Assessment of the Skin Barrier Using Confocal Raman Microspectroscopy. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2017; 30 (1): 1-12.
55. Kourkoumelis N., Balatsoukas I., Moulia V. Advances in the in Vivo Raman Spectroscopy of Malignant Skin Tumors Using Portable Instrumentation. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16 (7): 14554-14570.
56. de Oliveira A.F., de Abranches Oliveira Santos I.D., Cartaxo S.B. et al. Differential diagnosis in primary and metastatic cutaneous melanoma by FT-Raman spectroscopy. *Acta Cir. Bras.* 2010; 25 (5): 434-9.
57. Богомолова Е.Б., Мартусевич А.К., Клеменова И.А., Янин Д.В., Галка А.Г. Применение современных методов визуализации в оценке состояния и прогнозировании развития патологических рубцов. *Медицина* 2017; (3): 58-75.

58. Мартусевич А.К., Янин Д.В., Богомолова Е.Б., Галка А.Г., Клеменова И.А., Костров А.В. Возможности и перспективы применения СВЧ-томографии в оценке состояния кожи. *Биомедицинская радиоэлектроника* 2017; (12): 3-12.

Morfological and Biophysical Methods of Melanoma Diagnostics

Epishkina A. A.

Postgraduate, Chair for Pathological Anatomy

Zaletina A. V.

Student, Faculty of Pediatrics

Chilipenok A. S.

Student, Faculty of Pediatrics

Martusevich A. K.

Doctor of Biology, Head, Laboratory for Medical Biophysics

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

Corresponding Author: *Martusevich Andrew; e-mail: cryst-mart@yandex.ru*

Conflict of interest. *None declared.*

Funding. *The study had no sponsorship.*

Abstract

Currently, the prevalence and detection of melanoma, as well as other forms of cancer, tends to increase. Due to the intensity of the disease, malignant skin tumors have an unfavorable treatment prognosis and cause an increasing number of deaths. This necessitates the development and implementation of new diagnostic methods. In this regard, the purpose of this review is to systematize ideas about the instrumental diagnosis of melanoma. Currently, there are quite a few methods of melanoma verification, but most of them are morphological and/or based on the use of expensive unique equipment. This minimizes the prospects of their use as a screening technology. The solution of this problem may be a new diagnostic method based on near-field resonance microwave sensing of the skin, which demonstrated high diagnostic informativity, together with the speed of the study and the mobility of the complex.

Key words: melanoma, diagnostics, instrumental examination, near-field resonance microwave sensing

References

1. Trommel L., Devleeschauwer B., Beutels P. et al. Selective Use of Sequential Digital Dermoscopy Imaging Allows a Cost Reduction in the Melanoma Detection Process: A Belgian Study of Patients with a Single or a Small Number of Atypical Nevi. *Sequential Digital Dermoscopy Imaging Lowers Melanoma Detection Costs*. 2014; 9 (10): e109339.
2. Sokolov D.V., Mahson A.N., Demidov L.V. et al. Dermatopskopiya (ehlpilyuminiscentnaya poverhnostnaya mikropskopiya): in vivo diagnostika melanomy kozhi (obzor literatury). [Dermatoscopy (Epiluminescent surface microscopy): in vivo diagnostics of skin melanoma. Review]. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal [Siberian Oncology Journal]* 2008; (5): 63-67. (In Russ.)
3. Rigel D.S., Russak J., Friedman R. The Evolution of Melanoma Diagnosis: 25 Years Beyond the ABCDs. *A Cancer Journal for Clinicians* 2010; 60 (5): 301-316.

4. Gallegos-Hernández J.F., Ortiz-Maldonado A.L., Minauro-Munoz G.G. et al. Dermoscopy in cutaneous melanoma. *Cirugía y Cirujanos*. 2015; 83 (2): 107-111.
5. Carrera C., Marchetti M.A., Dusza S.W. et al. Validity and Reliability of Dermoscopic Criteria Used to Differentiate Nevi from Melanoma. *JAMA Dermatol*. 2016; 152 (7): 798-806.
6. Ahnliide I., Bjellerup M., Nilsson F., Nielsen K. Validity of ABCD Rule of Dermoscopy in Clinical Practice. *Acta Dermatol. Venereol*. 2016; 96: 367-362.
7. Carrera C., Segura S., Aguilera P. et al. Dermoscopic Clues for Diagnosing Melanomas That Resemble Seborrheic Keratosis. *JAMA Dermatol*. 2017; 153 (6): 544-551.
8. Herschorn A. Dermoscopy for melanoma detection in family practice. *Canadian Family Physician* 2012; 58: 740-745.
9. Traczyk E.R. Innovations and Developments in Dermatologic Non-invasive Optical Imaging and Potential Clinical Applications. *Acta Dermatol. Venereol*. 2017; 97: 5-13.
10. Pagliarello C., Stanganelli I., Fabrizi G. et al. Digital Dermoscopy Monitoring: Is it Time to Define a Quality Standard? *Acta Dermatol. Venereol*. 2017; 97: 864-865.
11. Herman C. Emerging technologies for the detection of melanoma: achieving better outcomes. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2012; 5: 195-212.
12. Russo T., Piccolo V., Lallas A. Dermoscopy of Malignant Skin Tumours: What's New? *Dermatology* 2017; 233: 64-73.
13. Kraus S.L., Haenssle H.A. Early detection of cutaneous melanoma by sequential digital dermatoscopy (SDD). *Journal of the German society of dermatology* 2013: 509-512.
14. Moscarella E., Tion I., Zalaudek I. et al. Both short-term and long-term dermoscopy monitoring is useful in detecting melanoma in patients with multiple atypical nevi. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol*. 2017; 31 (2): 247-252.
15. Rinner C., Tschandl P., Sinz C. Long-term evaluation of the efficacy of digital dermatoscopy monitoring at a tertiary referral center. *Journal of the German society of dermatology* 2017; 15 (5): 517-522.
16. Gabriel Salerni, Cristina Carrera, Louise Lovatto, et al. Benefits of total body photography and digital dermoscopy ("two-step method of digital follow-up") in the early diagnosis of melanoma in high-risk patients. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2013. 67 (1): e17-27.
17. Thomas L., Pui S. Dermoscopy, Digital Dermoscopy and Other Diagnostic Tools in the Early Detection of Melanoma and Follow-up of High-risk Skin Cancer Patients. *Acta Dermatol. Venereol*. 2017; 218 (Suppl): 14-21.
18. Vishnevskaya Ya.V., Stroganova A.M., Senderov A.I. et al. Sovremennaya gistologicheskaya, immunogistohimicheskaya i molekulyarno-geneticheskaya diagnostika melanomy kozhi [Modern histological, immunohistochemical and molecular diagnostics of skin melanoma]. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal [Siberian Oncology Journal]* 2012; 4: 74-75. (in Russ.)
19. Sinel'nikov I.E., Baryshnikov K.A.; Demidov L.V. Klinicheskaya diagnostika melanomy kozhi [Clinical diagnostics of skin melanoma]. *Vestnik RONC im. N.N. Blohina [Bulletin of ROSC]* 2017; 28 (1-2): 68-73. (in Russ.)
20. Demidov L.V., Sinel'nikov I.E., Nazarova V.V. et al. Rannyya diagnostika melanomy kozhi: znachenie i vozmozhnosti primeneniya dermatoskopii v klinicheskoy praktike onkologa [Early diagnostics of skin melanoma: importance and possibilities in oncological practice]. *Rossiiskij onkologicheskij zhurnal [Russian Oncology Journal]* 2013; 5: 5-11. (in Russ.)

21. Pellacani G., De Pace B., Reggiani C. et al. Distinct melanoma types based on reflectance confocal microscopy. *Experimental dermatology*. 2014; 23 (6): 414-418.
22. Shlyahunov E.A., Gidranovich A.V., Lud N.G. et al. Rak kozhi: sovremennoe sostoyanie problemy [Skin cancer: current state of the problem]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta [Bulletin of Vitebsk state medical university]* 2014; 13 (3): 20-28. (in Russ.)
23. Zaharov V.P., Kozlov S.V., Moryatov A.A. s soavt. Opticheskie metody dlya diagnostiki melanomy kozhi [Optic methods for diagnostics of skin melanoma]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk [News of Samara scientific center of RAS]*. 2013; 15 (4): 120-124. (in Russ.)
24. Jain M., Marghoob A.A. Integrating clinical, dermoscopy, and reflectance confocal microscopy findings into correctly identifying a nevoid melanoma. *JAAD case reports* 2017; 3 (6): 505-508.
25. Ahlgrim-Siess V., Laimer M., Rabinovitz H.S. Confocal Microscopy in Skin Cancer. *Current Dermatology Reports* 2018; (7): 105-118.
26. Klyushkin I.V., Klyushkina Yu.A. Vozmozhnosti sonografii v diagnostike kozhnykh novoobrazovaniy [Possibilities of sonography in diagnostics of skin neoplasias]. *Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny [Bulletin of modern clinical medicine]* 2014; 7 (4): 26-29. (in Russ.)
27. Czarnecka A., Czarnecki R., Witkiewicz W. et al. Importance of sonography of the skin and subcutaneous tissue in the early diagnosis of melanoma in-transit metastasis with the presentation of two cases. *Postepy Dermatol. Alergol.* 2018; 35(2): 204-207.
28. Maksimova N.A., Pozdnyakova V.V., Kuryshova M.I. et al. Ul'trazvukovaya diagnostika melanocitarnykh obrazovaniy kozhi [Ultrasound diagnostics of skin melanocyte structures]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]* 2015; (3): 182. (in Russ.)
29. Makarenko L.A. Neinvazivnaya diagnostika v dermatologii [Non-invasive diagnostics in dermatology]. *Rossijskij zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznej [Russian Journal of Skin and Venereal Diseases]* 2013; (2): 40-45. (in Russ.)
30. Ulrich J., van Akkooi A.J., Eggermont A.M., Voit C. New developments in melanoma: utility of ultrasound imaging (initial staging, follow-up and pre-SLNB). *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011; 11 (11): 1693-701.
31. Ghassemi F., Mirshahi R., Fadakar K., Sabour S. Optical coherence tomography angiography in choroidal melanoma and nevus. *Clinical Ophthalmology* 2018; (12): 207-214.
32. Gambichler T., Pljakic A., Schmitz L. Recent advances in clinical application of optical coherence tomography of human skin. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 2015; (8): 345-354.
33. Lindsø Andersen P., Olsen J., Friis K.B.E. et al. Vascular morphology in normal skin studied with dynamic optical coherence tomography. *Experimental dermatology*. 2018; 7 (11): 1280-1286.
34. Ulrich M., Themstrup L., de Carvalho N. et al. Dynamic Optical Coherence Tomography in Dermatology. *Dermatology* 2016; 232: 298-311.
35. Levin A., Wang K., Markowitz O. et al. Optical Coherence Tomography in the Diagnosis of Skin Cancer. *Dermatologic Clinics* 2017; 35 (4): 465-488.
36. Albert A.G. Coons: harnessing the power of the antibody. *Lancet Respir Med.* 2016; 4 (3): 181-182.
37. Hofman F.M., Taylor C.R. Immunohistochemistry. *Curr. Protoc. Immunol.* 2013; 103: Unit 21.4.
38. Lilyquist J., Meyer White K.A., Lee R.J., Philips G.K., Hughes C.R., Torres S.M. Quantitative Analysis of Immunohistochemistry in Melanoma Tumors. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96 (15): e6432.

39. Ramos-Vara J.A. Principles and methods of immunohistochemistry. *Methods Mol. Biol.* 2011; 691: 83-96.
40. Massi D., Simi L., Sensi E., Baroni G. et al. Immunohistochemistry is highly sensitive and specific for the detection of NRASQ61R mutation in melanoma. *Modern Pathology* 2015; 28: 487-497.
41. Schirosi L., Strippoli S., Gaudio F., Graziano G., Popescu O., Guida M., Simone G., Mangia A. Is immunohistochemistry of BRAF V600E useful as a screening tool and during progression disease of melanoma patients? *BMC Cancer*. 2016; 16: 905.
42. Uguen A., Talagas M., Costa S. et al. A p16-Ki-67-HMB45 immunohistochemistry scoring system as an ancillary diagnostic tool in the diagnosis of melanoma. *Diagn. Pathol.* 2015; 10: 195.
43. Bruno W., Martinuzzi C., Andreotti V. et al. Heterogeneity and frequency of BRAF mutations in primary melanoma: Comparison between molecular methods and immunohistochemistry. *Oncotarget* 2017; 8 (5): 8069-8082.
44. Harlé A., Salleron J., Franczak C. et al. Detection of BRAF Mutations Using a Fully Automated Platform and Comparison with High Resolution Melting, Real-Time Allele Specific Amplification, Immunohistochemistry and Next Generation Sequencing Assays, for Patients with Metastatic Melanoma. *PLoS One*. 2016; 11 (4): e0153576.
45. Salamova I.V., Moskaleva O.L., Flaks G.A., Mordovceva V.V. Rol' immunogistohimii v differencial'noj diagnostike novoobrazovaniy kozhi melanocitarnogo geneza [Role of immunohistochemistry in differential diagnostics of skin melanocyte neoplasias]. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya [Immunity pathology, allergology and infectology]* 2015; (1): 77-83. (in Russ.)
46. Kolialexi A., Tsangaris G.T., Kitsiou S., Kanavakis E., Mavrou A. Impact of cytogenetic and molecular cytogenetic studies on hematologic malignancies. *Chang Gung Med J.* 2012; 35 (2): 96-110.
47. DeMarchis E.H., Swetter S.M., Jennings C.D., Kim J. Fluorescence In Situ Hybridization Analysis of Atypical Melanocytic Proliferations and Melanoma in Young Patients. *Pediatr. Dermatol.* 2014; 31 (5): 561-569.
48. Wang L., Rao M., Fang Y. et al. A Genome-Wide High-Resolution Array-CGH Analysis of Cutaneous Melanoma and Comparison of Array-CGH to FISH in Diagnostic Evaluation. *The Journal of Molecular Diagnostic* 2013; 15 (5): 581-592.
49. Minca E.C., Al-Rohil R.N., Wang M. et al. Comparison between melanoma gene expression score and fluorescence in situ hybridization for the classification of melanocytic lesions. *Modern Pathology* 2016; 29: 832-843.
50. Uguen A., Uguen M., Talagas M. et al. Fluorescence in situ hybridization testing of chromosomes 6, 8, 9 and 11 in melanocytic tumors is difficult to automate and reveals tumor heterogeneity in melanomas. *Oncol Lett.* 2016; 12 (4): 2734-2741.
51. Bodanese B., Silveira F.L., Zângaro R.A. et al. Discrimination of Basal Cell Carcinoma and Melanoma from Normal Skin Biopsies in Vitro Through Raman Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Photomed. Laser Surg.* 2012; 30 (7): 381-387.
52. Brauchle E., Noor S., Holtorf E., Garbe C., Schenke-Layland K., Busch C. Raman spectroscopy as an analytical tool for melanoma research. *Clin. Exp. Dermatol.* 2014; 39 (5): 636-645.
53. Lui H., Zhao J., McLean D., Zeng H. Real-time Raman Spectroscopy for In Vivo Skin Cancer Diagnosis. *Cancer research* 2012; 72 (10).
54. Richters R.J.H., Falcone D., Uzunbajakava N.E. et al. Sensitive Skin: Assessment of the Skin Barrier Using Confocal Raman Microspectroscopy. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2017; 30 (1): 1-12.

55. Kourkoumelis N., Balatsoukas I., Moulia V. Advances in the in Vivo Raman Spectroscopy of Malignant Skin Tumors Using Portable Instrumentation. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16 (7): 14554-14570.
56. de Oliveira A.F., de Abranches Oliveira Santos I.D., Cartaxo S.B. et al. Differential diagnosis in primary and metastatic cutaneous melanoma by FT-Raman spectroscopy. *Acta Cir. Bras.* 2010; 25 (5): 434-9.
57. Bogomolova E.B., Martusevich A.K., Klemenova I.A., Yanin D.V., Galka A.G. Primenenie sovremennyh metodov vizualizatsii v ocenke sostoyaniya i prognozirovani razvitiya patologicheskikh rubcov [The use of modern methods of visualization in estimation and prognosis of generation of pathological scars]. *Medicina [Medicine]* 2017; (3): 58-75. (in Russ.)
58. Martusevich A.K., Yanin D.V., Bogomolova E.B., Galka A.G., Klemenova I.A., Kostrov A.V. Vozmozhnosti i perspektivy primeneniya SVCH-tomografii v ocenke sostoyaniya kozhi [The possibilities and perspectives of the use of microwave tomography in skin state estimation]. *Biomedicinskaya radioelektronika [Biomedical radioelectronics]* 2017; (12): 3-12. (in Russ.)