

with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. *Toxicol Sci.* 2006;10:174–185.

5. Landsiedel R, Ma-Hock L, Kroll A, Hahn D, Schnekenburger J, Wiench K, Wohlleben W. Testing Metal-Oxide Nanomaterials for Human Safety. *Advanced Materials.* 2010;22(24):2601–2627.

6. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) Threshold limit values and biological exposure indices for 1992–1993. Cincinnati: Ohio: American Conference of Governmental industrial hygienists; 1992.

7. Participants IRSIW. The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: a workshop consensus report. *Inhal Toxicol.* 2000;10:1–17.

8. FDA. Code of Federal Regulations Title 21-Food and Drugs. 21 CFR 73.2575. Washington, DC: US Government Printing Office; 2002. Listing of color additives exempt from certification.

9. Zhang Y, Chen Y, Westerhoff P, Crittenden JC. Impact of Natural Organic Matter and Divalent Cations on the Stability of Aqueous Nanoparticles. *Water Research.* 2009;43(17):4249–4257.

10. Zhang Y, Chen YS, Westerhoff P, Hristovski K, Crittenden JC. Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water. *Water Research.* 2008;42(8-9):2204–2212.

11. Lomer MCE, Thompson RPH, Comisso J, Keen CL, Powell JJ. Determination of titanium dioxide in foods using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Analyst.* 2000;125(12):2339–2343.

12. Weir A, Westerhoff P, Fabricius L, Hristovski K, von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol.* 2012;10:2242–2250.

13. Davis J, Wang A, Shtakin JA. Draft ed. Agency, E. P., Ed.; Research Triangle Park, NC: 2009. Nanomaterial Case Studies: Nanoscale Titanium Dioxide in Water Treatment and in Topical Sunscreen.

14. Hessel CL, Bangert SD, Hebert AA, Lim HW. Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination sunscreen/insect repellent products. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2008;59(2):316–323.

15. Zachariadis GA, Sahanidou E. Analytical performance of a fast multi-element method for titanium and trace elements determination in cosmetics and pharmaceuticals by ICP-AES. *Central European Journal of Chemistry.* 2011;9(2):213–217.

16. Sakata Y, Shiraishi S, Otsuka M. A novel white film for pharmaceutical coating formed by interaction of calcium lactate pentahydrate with hydroxypropyl methylcellulose. *International Journal of Pharmaceutics.* 2006;317(2):120–126.

17. Zhao J, Bowman L, Zhang X, Vallyathan V, Young SH, Castranova V, Ding M. Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles induce JB6 cell apoptosis through activation of the caspase-8/Bid and mitochondrial pathways. *J Toxicol Environ Health A.* 2009;10:1141–1149.

18. Huang S, Chueh PJ, Lin YW, Shih TS, Chuang SM. Disturbed mitotic progression and genome segregation are involved in cell transformation mediated by nano-TiO₂ long-term exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;10:182–194.

19. Hagens WI, Oomen AG, de Jong WH, Cassee FR, Sips AJ. What do we (need to) know about the kinetic properties of nanoparticles in the body? *Regul Toxicol Pharmacol.* 2007;10:217–229.

20. Fabian E, Landsiedel R, Ma-Hock L, Wiench K, Wohlleben W, van Ravenzwaay B. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. *Arch Toxicol.* 2008;10:151–157.

21. Oberdorster G. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *Int Arch Occup Environ Health.* 2001;10:1–8.

22. Maynard AD, Kuempel ED. Airborne nanostructured particles and occupational health. *J Nanopart Res.* 2005;10:587–614.

23. Tsuji JS, Maynard AD, Howard PC, James JT, Lam CW, Warheit DB, Santamaria AB. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, part IV: risk assessment of nanoparticles. *Toxicol Sci.* 2006;10:42–50.

24. Liu R, Yin LH, Pu YP, Li YH, Zhang XQ, Liang GY, Li XB, Zhang J, Li YF, Zhang XY. The immune toxicity of titanium dioxide on primary pulmonary alveolar macrophages relies on their surface area and crystal structure. *J Nanosci Nanotechnol.* 2010;10:8491–8499.

25. Hussain S, Vanoirbeek JA, Luyts K, De Vooght V, Verbeken E, Thomassen LC, Martens JA, Dinsdale D, Boland S, Marano F. Lung exposure to nanoparticles modulates an asthmatic response in a mouse model. *Eur Respir J.* 2011;10:299–309.

26. Lomer MC, Thompson RP, Powell JJ. Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. *Proc Nutr Soc.* 2002;10:123–130.

27. Jania P, McCarthya D, Florence AT. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *Int J Pharm.* 1994;10:157–168.

28. Wang J, Zhou G, Chen C, Yu H, Wang T, Ma Y, Jia G, Gao Y, Li B, Sun J. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett.* 2007;10:176–185.

29. Nogueira CM, Mendes de Azevedo W, [...], and Sipahi AM. Titanium dioxide induced inflammation in the small intestine. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(34): 4729–4735.

30. Vijayaraghavan V, Sabane A V, Tejas K. Hypersensitivity to Titanium: a less explored area of research. *J Indian Prosthodont Soc.* 2012;12(4):201–207.

31. Peeters MS, Schroeter AL, Hale HM, Broadbent JC. Pacemaker contact sensitivity. *Contact Dermat.* 1984;11:218–220.

32. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *Int J Oral Maxillofac. Implants.* 2000;15:15–46.

33. Mitchell DL, Synnott SA, VanDerCreek JA. Tissue reaction involving an intraoral skin graft and CP titanium abutments: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1990;5:79–84.

34. Титова Н.Д. Иммуномодулирующие эффекты пищевых красителей: стимуляция лимфоцитов и индукция секреции цитокинов. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2011; №2: 81–90.

35. Титова Н.Д. Пищевые добавки как алиментарные аллергены. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2008; №2: 41–46.

36. Титова Н.Д. Аллергические и неаллергические реакции на добавки в пищу и лекарствах. *Аллергология и иммунология* 2010; №3, Т.11: 250–259.

Сведения об авторах:

Аляхнович Наталья Сергеевна, ассистент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ», 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, E-mail: all-vgmu@mail.ru

Новиков Дмитрий Кузьмич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ», 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, E-mail: all-vgmu@mail.ru

Поступила 5.03.2015 г.

Роль иммуногистохимии в дифференциальной диагностике новообразований кожи меланоцитарного генеза

И.В. Саламова¹, О.Л. Москалева², Г.А. Флакс², В.В. Мордовцева²

¹ Поликлиника № 3 ФГУ «Управление делами Президента РФ», Москва

² Медицинский институт усовершенствования врачей МГУПП, Москва

Role of immunohistochemistry in the differential diagnosis of cutaneous proliferative lesions of melanocytic origin

I.V. Salamova¹, O.L. Moscaleva², G.A. Flaks², V.V. Mordovtseva²

¹ President's Office Polyclinic №3, Moscow

² Medical Institute of Postgradual Training, MGUPP, Moscow

Аннотация

Гистологическая диагностика меланоцитарных опухолей кожи может представлять значительные затруднения, особенно когда речь идет о пограничных или атипичных новообразованиях. С целью дифференциальной диагностики обычно прибегают к постановке иммуногистохимических реакций. Наилучшей тактикой является применение расширенной панели антител – маркеров меланоцитарной дифференцировки, маркеров пролиферации и т.д. В статье приводится обзор наиболее часто используемых иммуногистохимических маркеров и их роль в дифференциальной диагностике меланомы и доброкачественных меланоцитарных новообразований кожи.

Ключевые слова

Иммуногистохимия, меланоцитарные маркеры, меланома, невус, маркеры пролиферации

Summary

Histological diagnosis of proliferative melanocytic lesions of the skin may present considerable difficulties, especially in case of borderline or atypical tumors. Immunohistochemical studies are often used to distinguish between benign and malignant melanocytic lesions. The use of multiple markers (melanocytic differentiation markers, cell proliferation markers etc.) in difficult cases is a preferred strategy. Most widely used immunohistochemical markers and their role in melanoma differential diagnosis are reviewed in the article.

Key words

Immunohistochemistry, melanocytic markers, melanoma, nevus, proliferation markers

Бурное развитие иммунологии в первой половине XX века привело к разработке нового метода гистологического исследования – иммуногистохимического, о котором впервые сообщили А.Сюнс и соавт. в 1942 г. [1]. Иммуногистохимия – это метод микроскопического выявления и точной локализации того или иного клеточного или тканевого компонента (антигена) с помощью иммунологи-

ческих и гистохимических реакций. С помощью данной методики можно определять локализацию в тканях различных клеточных продуктов (гормонов, ферментов, иммуноглобулинов), компонентов клеток (рецепторов, сократительных и промежуточных филаментов) и даже отдельных генов [2, 3].

В основе любой иммунологической реакции лежит взаимодействие антигена с антителом,

которое приводит к формированию комплекса «антиген-антитело». На сегодняшний день существует два метода проведения иммуногистохимических реакций. Прямой иммуногистохимический метод основан на реакции специфического связывания меченых антител непосредственно с выявляемым антигеном, он обладает слабой чувствительностью. Непрямой иммуногистохимический метод является более чувствительным и предполагает использование двух различных антител. Первичные антитела реагируют с антигенами ткани. Связанные с меткой вторичные антитела специфически взаимодействуют с первичными, которые для вторичных антител являются антигеном. Важным этапом любого иммуногистохимического метода является визуализация результатов реакции «антиген-антитело». Выявить антитела, связавшиеся с антигеном, можно, используя различные метки, связанные с Fc-фрагментом антител. Такими метками могут быть: флюорохромы, ферменты, металлы и металлопротеиды, радиоизотопы, промежуточные связующие вещества (например биотин, дигоксин, дигоксигенин) [2, 3, 4].

В настоящее время иммуногистохимия является важной составляющей многих научных исследований, включая онкоморфологию в дерматологии. К сожалению, до сих пор не найдены биомаркеры, позволяющие однозначно дифференцировать доброкачественные и злокачественные меланоцитарные новообразования, что имело бы первостепенное значение в дифференциальной диагностике меланомы кожи. Описаны определенные качественные и количественные различия в экспрессии доступных маркеров [5,6,7]. Основные направления научно-практических разработок по дифференциальной диагностике касаются следующих параметров меланоцитарных новообразований:

Маркеры меланоцитарной дифференцировки

К маркерам меланоцитарной дифференцировки относятся, в частности, антигены S-100, HMB-45, MiTF, и Sox10. Экспрессия белка S-100 характерна для клеток невральное происхождения, таких как меланоциты, невомеланоциты, шванновские клетки [7, 8]. Протеин S100 является наиболее чувствительным маркером клеток меланоцитарного генеза, но в одинаковой степени окрашивает как доброкачественные, так и злокачественные меланоциты, т.е. он не является высокоспецифичным (рис 1, 2).

Антиген HMB-45 выявляется в активированных меланоцитах меланомы и ряда невусов. Это

высокоспецифичный маркер, однако он дает стратифицированную и непостоянную реакцию в различных опухолях, что в ряде случаев не позволяет однозначно интерпретировать результат. Как правило, клетки меланомы положительно окрашиваются на этот маркер, а клетки обычных невусов - не окрашиваются (Рис 3, 4). Данные по другим видам невусов противоречивы [6, 7, 9].

В клинической практике встречаются меланомы, клетки которых дают негативную реакцию на антиген S-100 и положительную – на HMB-45 [10]

Гены MITF и SOX10 принимают участие в дифференцировке и миграции меланоцитов из нервного валика в эмбриогенезе. Ген MITF также задействован в предрасположенности к меланоме и ее инвазивных свойствах. При этом Sox10 (фактор ядерной транскрипции) непосредственно регулирует экспрессию MiTF в процессе синтеза меланина. Именно на этом основано практическое применение данных маркеров [4, 11].

SOX10 является чувствительным маркером меланомы, включая ее веретенноклеточные и десмопластические варианты. Все первичные и метастатические меланомы дают сильное и диффузное окрашивание ядер (кроме 30% десмопластических – в них окрашивание слабое от 10% до 50% клеток). Чувствительность реакции в меланомах достигает 95% и выше, что сравнимо с маркером S100. Доброкачественные невусы в данном аспекте не изучались [11, 12]. Sox10 также позволяет успешно дифференцировать пигментированный актинический кератоз и меланоцитарную гиперплазию в солнечном лентиге от злокачественного лентиге и злокачественной меланомы *in situ* [4].

Протеин MiTF (фактор транскрипции, ассоциированный с микрофтальмией) также экспрессируется в ядре меланоцитов и чувствительность реакции превышает 80%, аналогично реакции с маркером HMB45. В десмопластических меланомах чувствительность реакции с MiTF значительно ниже и не превышает 55%. Специфичность же реакции с данным антигеном намного уступает реакции с HMB45 (97%). Окрашивание наблюдается не только в меланоцитах, но также в макрофагах, тучных клетках, фибробластах и в клетках разнообразных веретенноклеточных опухолей (лейомиосаркома, нейрофиброма, лейомиосаркома и т.д.). Поэтому антитела к MiTF используются обычно только в расширенной панели антител для дифференциальной диагностики опухолей меланоцитарного генеза [4]. Единственное преимущество, которое имеет биомаркер MiTF перед реакцией на HMB45

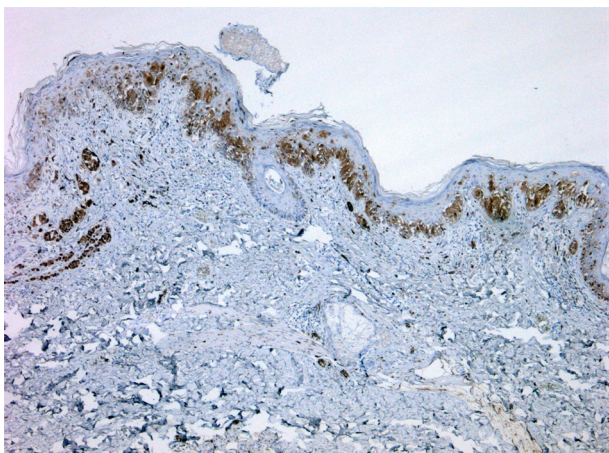


Рис 1. Иммуногистохимическая реакция на выявление белка S100 в клетках злокачественной меланомы x50

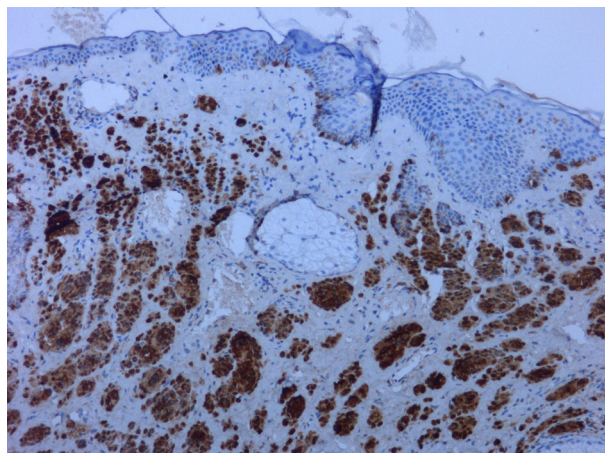


Рис.2. Иммуногистохимическая реакция на выявление белка S100 в клетках обычного внутридермального невуса x100



Рис 3. Иммуногистохимическая реакция на выявление антигена HMB45 в клетках злокачественной меланомы x50

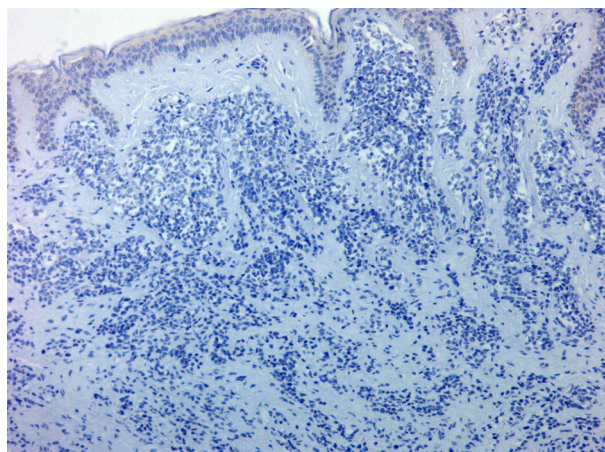


Рис.4. Отрицательная иммуногистохимическая реакция на выявление антигена HMB45 в клетках обычного внутридермального невуса x 100

– это четкая визуализация меланоцитов на фоне кератиноцитов с большим количеством пигмента в цитоплазме. Это позволяет успешно дифференцировать пигментированный актинический кератоз от злокачественной меланомы *in situ* [13].

По своей специфичности Sox10 and MiTF сильно различаются. Sox10 не выявляется в фибробластах и макрофагах, поэтому может использоваться в диагностике рецидивов меланомы в зоне рубца и при оценке регрессирующих меланом. В клинической практике Sox10 также

используют для выявления микрометастазов в лимфатических узлах [4,13].

Маркеры инвазии сосудистого русла

Эндотелиальный маркер D2-40 (подопланин) является высокоспецифичным моноклональным антителом против компонентов эндотелия лимфатических сосудов. Инвазия сосудистого русла не всегда прослеживается на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Проведение данной иммуногистохимической реакции позволяет

спрогнозировать вовлечение в патологический процесс регионарных лимфатических узлов и выживаемость пациента с меланомой [4].

Пролиферативная активность клеток

Данные по сравнению экспрессии маркеров пролиферации Ki-67 (MIB-1) и PNH3 в различных меланоцитарных новообразованиях неоднородны [5, 14, 15]. С целью оптимизации дифференциальной диагностики доброкачественных невусов и злокачественной меланомы *in situ* проводилось одновременное окрашивание срезов меланоцитарным маркером и маркером пролиферации Ki-67 для оценки супрабазального числа меланоцитов и пролиферирующих меланоцитов в базальном слое. Супрабазальные меланоциты в обычных невусах не окрашивались на Ki-67. В большинстве меланом (23 of 27) как минимум 20% клеток окрашивались данным маркером [15]. В другом исследовании в лентигозных пограничных невусах с умеренной дисплазией индекс пролиферации Ki-67 был низким (менее 5%) [16].

Выявление фигур митозов в гистологических препаратах важно как для постановки диагноза злокачественной меланомы кожи, так и для прогнозирования выживаемости пациента. В научных исследованиях было показано, что фосфорилирование гистона H3 (PNH3) сопровождается конденсацией хроматина, предшествующей делению клеток меланомы. Иммуногистохимическая реакция, способствующая выявлению процесса фосфорилирования, позволяет с высокой точностью оценивать митотический индекс [17,18] (рис.5).

Наличие соматических онкогенных мутаций

Наличие соматических онкогенных мутаций BRAFV600E является непостоянным признаком и выявляется примерно в 50%–60% злокачественных меланом. В норме этот ген регулирует старение клеток/апоптоз за счет повышения активности супрессора опухолевого роста IGFBP7 [19]. Выявление соматических мутаций в клетках меланомы, позволяет отбирать пациентов для проведения специфической противоопухолевой терапии селективным ингибитором RAF [4].

K Decarlo с соавт. исследовали соматические мутации гена BRAF в диспластических невусах различной степени дисплазии. В отличие от меланомы в диспластических невусах онкогенные мутации BRAFV600E не сопровождалась соответствующим изменением экспрессии IGFBP7. По-видимому, в эволюции диспластических невусов и меланомы задействованы различные клеточные механизмы. На основании полученных данных авторы подвергают сомнению гипотезу о том, что диспластический невус является предшественником меланомы [20].

Белки клеточного цикла

Исходя из того, что размножение клеток при прогрессирующем опухолевом росте сопровождается нарушениями клеточного цикла, G. Kiszner с соавт. исследовали регуляторные белки клеточного цикла (фазы G1, S-G2, and G2-M) в различных меланоцитарных новообразованиях. В диспластических невусах были выявлены маркеры ранней фазы клеточного цикла - циклин D1 и циклин-зависимая киназа-2;Cdk2). Их

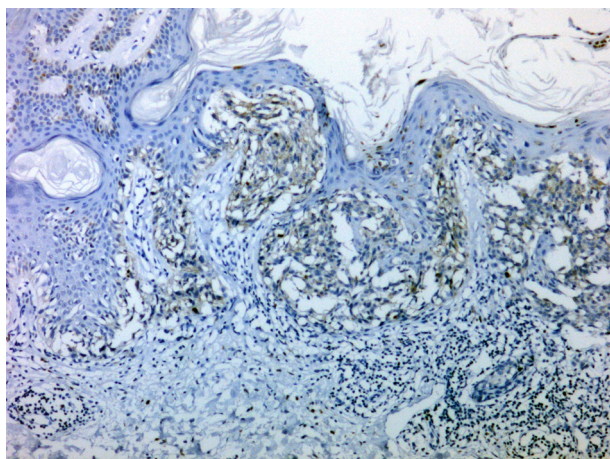


Рис.5. Иммуногистохимическая реакция, способствующая выявлению фосфорилирования гистона H3 (PNH3) позволяет оценивать митотический индекс. X100

экспрессия значительно превышала таковую в обычных невусах. В тонких (≤ 1 мм) меланомах выявлялись маркеры фаз, следующих за G1 (напр., циклин А, геминин, топоизомераза IIа и др.). При этом указанные маркеры не выявлялись в диспластических невусах, что позволяет предположить, что клетки диспластических невусов не завершают процесс репликации и их клеточный цикл останавливается в фазе G1. В толстых и метастатических меланомах маркеры фазы пост-G1 и Ki67 выявлялись значительно чаще. Тройное контрастирование срезов на маркеры циклин А (post-G1 phase), маркеры репликации Mcm6 и Ki67, позволило достоверно различить 95,9% исследованных тонких меланом и диспластических невусов с чувствительностью 89,5 % и специфичностью 92,6 %. Таким образом, маркеры клеточного цикла могут не только показать нарастание клеточной пролиферации в процессе вертикальной фазы роста меланомы, но также выявить злокачественный процесс на ранней стадии. Предложенный метод является многообещающим, нужны дополнительные исследования для проверки воспроизводимости результатов [21]. A Alekseenko с соавт. также исследовали белки клеточного цикла в 10 обычных невусов, 24 диспластических и 14 меланомах. В диагностически сложных случаях авторы предлагают ориентироваться на более низкую экспрессию циклина

D3 в диспластических невусах по сравнению с меланомой [22].

Интересны данные по изучению экспрессии нодала (эмбриональный морфоген из семейства трансформирующего фактора роста бета) в 269 меланоцитарных образованиях, включая различные виды меланомы, и разные виды невусов. Во всех типах меланомы экспрессия была значительно выше, чем в обычных невусах, веретенчатых и диспластических невусах. Интересно, что во врожденных невусах экспрессия была сравнима с меланомой. Из всех видов меланомы минимальная экспрессия была в десмопластической. В меланомах экспрессия возрастала наряду с прогрессированием опухоли [23].

Таким образом, до сих пор отсутствуют маркеры, позволяющие оценить биологический потенциал меланоцитарных новообразований, не прибегая к расширенной панели антител. Достаточно высокая чувствительность существующих иммуногистохимических маркеров маркеров не всегда сопровождается необходимой специфичностью, что не позволяет, в частности, дифференцировать различные виды невусов [8, 24, 25]. Несмотря на высокий научно-практический интерес к данной проблеме и интенсивность проводимых исследований, актуальность поиска маркеров опухолевой прогрессии и злокачественной трансформации в меланоцитарных новообразованиях по-прежнему высока.

Литература

1. Coons A.H., Creech H.J., Jones, R.N., Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *J. Immunol.* 1942; 45: 159-170.
2. Суворов Д.В., Пудилова Э.В. Иммуногистохимические методы исследования как способ выявления иммунофенотипа лейкоцитов в тканях. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований* 2012; №1.
3. Linnoila I, Petrusz P. Immunohistochemical techniques and their applications in the histopathology of the respiratory system. *Environ Health Perspect.* 1984 Jun; 56: 131-48.
4. Tetzlaff MT, Torres-Cabala CA, Pattanaprichakul P, et al. Emerging clinical applications of selected biomarkers in melanoma. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2015 Jan 30; 8: 35-46.
5. de Wit NJ, van Muijen GN, Ruiter DJ. Immunohistochemistry in melanocytic proliferative lesions. *Histopathology.* 2004 Jun; 44(6): 517-41.
6. Ivan D, Prieto VG. Use of immunohistochemistry in the diagnosis of melanocytic lesions: applications and pitfalls. *Future Oncol.* 2010; 6(7): 1163-1175.
7. Prieto VG, Shea CR. Immunohistochemistry of melanocytic proliferations. *Arch Pathol Lab Med.* 2011; 135(7): 853-859.
8. Salopek TG, Jimbow K. Dysplastic melanocytic nevus. Immunohistochemical heterogeneity by melanosomal markers and S-100. *Am J Dermatopathol.* 1991 Apr; 13(2): 130-6.
9. Ahmed I, Piepkorn M, Goldgar DE, Cannon-Albright LA, Meyer LJ, Skolnick MH, Zone JJ. HMB-45 staining of dysplastic melanocytic nevi in melanoma risk groups. *J Cutan Pathol.* 1991 Aug; 18(4): 257-60.
10. Argyeri ZB, Cain C, Bromley C, Nguyen AV, Abraham AA, Kerschmann R, LeBoit PE. S-100 protein-negative malignant melanoma: fact or fiction? A light-microscopic and immunohistochemical study. *Am J Dermatopathol.* 1994 Jun; 16(3): 233-40.
11. Cook A.L., Smith A.G., Smit D.J. Co-expression of SOX9 and SOX 10 during melanocytic differentiation in vitro. *Exp Cell Res.* 2005; 308: 205-222.
12. Mohamed A, Gonzalez RS, Lawson D, Wang J, Cohen C. Tumor stem cells CD271, c-kit, SOX10 in Melanomas: prognostic and outcome implications. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014 Feb; 22(2): 142-5. doi: 10.1097/PAI.0b013e3182910a3d.
13. Nybakken GE, Sargen M, Abraham R, Zhang PJ, Ming M, Xu X. MITF accurately highlights epidermal melanocytes in atypical

- intraepidermal melanocytic proliferations. *Am J Dermatopathol.* 2013; 35(1): 25–29.
14. Fogt F, Vortmeyer AO, Tahan SR. Nucleolar organizer regions (AgNOR) and Ki-67 immunoreactivity in cutaneous melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol.* 1995 Feb; 17(1): 12-7.
15. Hall BJ, Leboit PE. Suprabasal Spread of Melanocytes in Dysplastic Nevi and Melanoma In Situ Ki-67-labeling Rate of Junctional Melanocytes and Suprabasal Cells May Be a Helpful Clue to the Diagnosis. *Am J Surg Pathol.* 2014 Aug; 38(8): 1111-7.
16. Agustí-Mejías A, Messegue Badia F, García Ruiz R, et al. Atypical lentiginous nevus: a clinical and histopathologic study of 14 cases. *Actas Dermosifiliogr.* 2012 Jun; 103(5): 394-400
17. Juan G, Traganos F, James WM, et al. Histone H3 phosphorylation and expression of cyclins A and B1 measured in individual cells during their progression through G2 and mitosis. *Cytometry.* 1998; 32(2): 71–77.
18. Schimming TT, Grabellus F, Roner M, et al. pHH3 immunostaining improves interobserver agreement of mitotic index in thin melanomas. *Am J Dermatopathol.* 2012; 34(3): 266–26.
19. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002; 417(6892): 949–954.
20. Decarlo K, Yang S, Emley A, et al. Oncogenic BRAF-positive dysplastic nevi and the tumor suppressor IGF1R--challenging the concept of dysplastic nevi as precursor lesions? *Hum Pathol.* 2010 Jun; 41(6): 886-94.
21. Kiszner G, Wichmann B, Nemeth IB, et al. Cell cycle analysis can differentiate thin melanomas from dysplastic nevi and reveals accelerated replication in thick melanomas. *Virchows Arch.* 2014 May; 464(5): 603-12.
22. Alekseenko A, Wojas-Pelc A, Lis GJ, et al. Cyclin D1 and D3 expression in melanocytic skin lesions. *Arch Dermatol Res.* 2010 Sep; 302(7): 545-50.
23. Yu L, Harms PW, Pouryazdanparast P, et al. Expression of the embryonic morphogen Nodal in cutaneous melanocytic lesions. *Mod Pathol.* 2010 Sep; 23(9): 1209-14.
24. Cooper C, Sorrell J, Gerami P. Update in molecular diagnostics in melanocytic neoplasms. *Adv Anat Pathol.* 2012 Nov; 19(6): 410-6.
25. Ordóñez NG. Value of melanocytic-associated immunohistochemical markers in the diagnosis of malignant melanoma: a review and update. *Hum Pathol.* 2014; 45(2): 191–205.

Сведения об авторах:

Мордовцева Вероника Владимировна, д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней с курсом косметологии Медицинского института усовершенствования врачей, Московский государственный университет пищевых производств.

Флакс Григорий Арнольдович, д.м.н., доцент кафедры кожных и венерических болезней с курсом косметологии Медицинского института усовершенствования врачей, Московский государственный университет пищевых производств.

Саламова Ирина Владимировна, к.м.н., заведующая отделением косметологии, Поликлиника № 3 ФГУ «Управление делами Президента РФ», Москва

Москалева Ольга Леонидовна, аспирант кафедры кожных и венерических болезней с курсом косметологии Медицинского института усовершенствования врачей, Московский государственный университет пищевых производств.

Автор для связи: Мордовцева Вероника Владимировна, gveesha@mail.ru, 8-916) 670-10-77

Поступила 16.03.2015 г.