

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-86-94
УДК: 616-006.81-033.2-091.811:577.21

Для цитирования: Михайлова И.Н., Анурова О.А., Лушникова А.А., Цыганова И.В., Сендерович А.И., Кондратьева Т.Т., Демидов Л.В., Мазуренко Н.Н. Фенотипическая пластичность метастатической меланомы. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18 (1): 86–94. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-86-94.
For citation: *Mikhaylova I.N., Anurova O.A., Lushnikova A.A., Tsyganova I.V., Senderovich A.S., Kondratieva T.T., Demidov L.V., Mazurenko N.N.* Phenotypic plasticity of metastatic melanoma. *Siberian Journal of Oncology*. 2019; 18 (1): 86–94. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-1-86-94.

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ

**И.Н. Михайлова, О.А. Анурова, А.А. Лушникова, И.В. Цыганова,
А.И. Сендерович, Т.Т. Кондратьева, Л.В. Демидов, Н.Н. Мазуренко**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия
Россия, г. Москва, 115478, Каширское шоссе, 24. E-mail: irmikhaylova@gmail.com

Аннотация

Актуальность. Метастатическая меланوما отличается клинико-морфологической гетерогенностью и пластичностью. Встречаются редкие случаи метастатической меланомы, которые практически не экспрессируют меланоцитарных маркеров. Гистологически такие меланомы требуют дифференциальной диагностики от морфологически сходных немеланоцитарных опухолей, саркомы или лимфомы. **Цель исследования** – исследование неординарных случаев метастатической меланомы с низкой экспрессией дифференцировочных маркеров. **Материал и методы.** Описаны 15 случаев меланомы с необычными клинико-морфологическими характеристиками. Опухоли подверглись морфологическому, цитологическому исследованию, иммуногистохимическому и FISH-анализу, были определены мутации в генах *BRAF*, *NRAS* и *KIT*. **Результаты.** Первичные меланомы часто не содержали пигмента, что затрудняло дифференциальную диагностику опухолей. Опухоли располагались чаще всего на спине, голени или голове, у 4 пациентов первичные очаги не выявлены. Метастатические поражения представляли собой крупные узловые новообразования в мягких тканях в области спины либо нижней конечности. Большинство опухолей относились к смешанному или веретенноклеточному гистологическим типам. Веретенообразные клетки отмечены и при цитологических исследованиях. При генетическом анализе мутации в гене *BRAF* выявлены в 27 % меланом, мутации в генах *NRAS* и *KIT* не обнаружены. В 4 случаях с помощью FISH проведен анализ на наличие реаранжировки гена *EWSR1*, при этом диагноз саркомы не подтвердился. Полученные результаты указывают на гистологическую и молекулярную неоднородность и фенотипическую пластичность исследованных меланом. Ряд выявленных молекулярно-генетических особенностей сближает эти опухоли с саркомами.

Ключевые слова: меланوما кожи, цитологические и гистологические особенности, мутационный статус опухоли, гетерогенность, генетическое исследование, иммуногистохимические маркеры.

PHENOTYPIC PLASTICITY OF METASTATIC MELANOMA

**I.N. Mikhaylova, O.A. Anurova, A.A. Lushnikova, I.V. Tsyganova,
A.S. Senderovich, T.T. Kondratieva, L.V. Demidov, N.N. Mazurenko**

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation,
Moscow, Russia
24, Kashirskoye shosse, 115478, Moscow, Russia. E-mail: irmikhaylova@gmail.com

Abstract

Introduction. Metastatic melanoma is characterized by clinical and morphological heterogeneity and plasticity. Rare cases of metastatic melanoma are known, that have no visual expression of melanocytic markers. Contradictory histology of such melanomas requires a differential diagnosis from morphologically similar non-melanocytic tumors, sarcoma or lymphoma. **Objective is** to describe the extraordinary cases of metastatic melanomas with low expression of differentiation markers. **Material and Methods.** 15 melanoma cases with unusual clinical and morphological characteristics were included in the study. These tumors were examined by pathologist and cytologist, by immunohistochemical and FISH analyses, mutations in *BRAF*, *NRAS* and *KIT* genes were detected by PCR. **Results.** Some primary tumors were amelanotic, therefore, they were difficult for differential tumor diagnosis. Most frequently, primary tumors were located on the back, shin or head. In 4 patients the primary focuses were not detected. Metastatic lesions were as large nodular tumors in soft tissues of the back or lower limb. Most tumors belong to mixed or spindle-cell histological types. Spindle-shaped cells were also revealed by cytological analysis. *BRAF* gene mutations were identified by genetic analysis in 27 % of tumors, *NRAS* and *KIT* gene mutations were not detected. In 4 cases FISH analysis was performed to detect *EWSR1* gene rearrangements, but it did not confirm the diagnosis of sarcoma. **Conclusion.** The results indicate the presence of a heterogeneous group of melanoma cases, which have a number of morphological and molecular features that bring them closer to sarcomas.

Key words: skin melanoma, cytological and histological features, tumor mutation status, heterogeneity, genetic research, immunohistochemical markers.

Введение

Меланома – одно из наиболее опасных злокачественных новообразований кожи с высоким риском метастазирования и рецидивов. Метастатическая меланома прогностически крайне неблагоприятна и резистентна к традиционной химиотерапии, однако улучшение результатов лечения стало возможным благодаря совершенствованию таргетной и иммунотерапии [1, 2].

Меланома отличается клинико-морфологической гетерогенностью и пластичностью [3, 4]. Диагноз, поставленный при дермоскопии, подтверждают с помощью гистологических и ИГХ (иммуногистохимических) исследований. Для меланомы кожи характерно позитивное окрашивание S100, Melan-A или HMB-4 (маркер MITF менее специфичен) и негативное окрашивание на цитокератины, p63 и гладкомышечный актин [5]. Клинико-морфологическая гетерогенность меланомы проявляется в различной локализации опухолей, в фазе опухолевой прогрессии и сопряжена с определенными молекулярно-генетическими нарушениями. Наиболее часто в меланоме кожи выявляют мутации генов *BRAF* (50 %) или *NRAS* (20 %), реже обнаруживают мутации генов *NF1*, *RAC1*, *KIT* и др. [1, 2].

В России частота выявления меланомы на поздних стадиях заболевания остается высокой. Метастазы меланомы обнаруживают в коже, в регионарных лимфоузлах, легких, печени, головном мозге и костях. В ряде случаев клиническая картина заболевания обусловлена метастазами без выявленного первичного очага (БВПО). Иногда локализацию первичной меланомы невозможно установить из-за регрессии опухоли, вплоть до ее полного исчезновения.

В отличие от слабо пигментированных метастазов, первичная беспигментная или малопиг-

ментная меланома является редким вариантом, для диагностики которого используют иммуногистохимические маркеры. В большинстве случаев метастатической меланомы выявляют фокальную ядерную или цитоплазматическую экспрессию S100. Однако экспрессия вторичных меланоцитарных маркеров, таких как Melan-A/MART-1, HMB45, тирозиназа и MITF, высоко вариабельна. Метастатические опухоли, особенно веретенчатая меланома, не экспрессируют данные маркеры [3–7]. В связи с этим говорят о низкодифференцированной и дедифференцированной злокачественной меланоме как первичной, так и метастатической [7].

Различают несколько типов дивергентной дифференцировки злокачественной меланомы [4, 7]. Фибробластная/миофибробластная дифференцировка наблюдается исключительно в веретенчатой десмопластической злокачественной меланоме с саркоматоидной дедифференцировкой [3–4, 7–9]. Шванновская дифференцировка встречается в доброкачественных внутридермальных невусах и в злокачественной меланоме, впервые описанной как нейросаркоматоидная трансформация [10]. Также описана меланома с эпителиальной (аденокарциноматозной) [11], рабдомиобластной [7] и нейроэндокринной дифференцировкой [4].

Патогистологические особенности таких опухолей, как правило, недостаточно убедительны для дифференциальной диагностики меланомы, поскольку экспрессия дифференцировочных маркеров в них низкая или отсутствует. Такие меланомы могут представлять неожиданные или необычные фенотипы, гистологически сходные с различными опухолями. Это создает диагностические трудности и требует углубленной дифференциальной диагностики от морфологически похожих немеланоцитарных опухолей, например саркомы или карциномы [4, 7, 12].

Среди неэпителиальных опухолей особо выделяется так называемая меланома мягких тканей, или светлоклеточная саркома [6, 12–14]. Подобно меланоме, в ней экспрессируются S100, SOX10 и вторичные меланоцитарные маркеры. Однако светлоклеточная саркома характеризуется более интенсивным диффузным окрашиванием HMB-45 по сравнению с S100, что не характерно для меланомы. Поскольку гистологические и иммуногистохимические характеристики меланомы и светлоклеточной саркомы перекрываются, для уточнения диагноза и исключения меланомы необходим FISH-анализ на наличие реаранжировки гена *EWSR1*. В светлоклеточной саркоме обнаруживают транслокации с образованием слитного гена и химерного белка *EWSR1-ATF1* (12;22, q13;q12) или с образованием *EWSR1-CREB1* (2;22, q34;q12). Эти химерные онкобелки индуцируют экспрессию транскрипционного фактора *MITF*, что ведет к пролиферации и дифференцировке опухолевых клеток [12–14].

Целью исследования явилась характеристика редких образцов меланомы, которые привлекли наше внимание необычной клинической картиной и морфологическими особенностями.

Материал и методы

Исследовали 15 случаев меланомы с необычной клинико-морфологической картиной из выборки более 250 пациентов с первичной или метастатической меланомой, обратившихся в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ в 2013–15 гг.

Цитологические исследования. Три опухолевых образца исследовали с помощью светоптической микроскопии. Высушенные мазки фиксировали с использованием красителя Лейшмана и контрастировали азур-эозином.

ИГХ исследования. Шесть опухолевых образцов, полученных от пациентов с первоначальным диагнозом саркома/лимфома, исследовали иммуногистохимически с использованием антител к Ki-67 (фирма CellMarque); S100 (фирма CellMarque); MelanA (фирма BioGenex); HMB 45 (фирма Dako); *MITF* (фирма CellMarque); тирозиназе (фирма CellMarque); Н-кальцесмину (фирма Dako); CD99 (фирма CellMarque); виментину (фирма BioGenex); PanCKAE1/AE3 (фирма CellMarque); CK5/6 (фирма CellMarque); P63 (фирма Eritomics); EMA (фирма CellMarque); хромогранину А (фирма BioGenex); синаптофизину (фирма BioGenex); MuM1 (фирма CellMarque).

FISH-анализ проведен для 4 опухолей с подозрением на саркому. FISH-реакция проводилась по стандартному протоколу, предложенному фирмой-производителем флуоресцентного зонда, Kreatech (Нидерланды) с использованием зонда ONEWSR1 (22q12) Break. Оценка результатов производилась с помощью флуоресцентного микроскопа Axioscop 2Plus (Zeiss).

Генетическое исследование опухолей проведено на 15 образцах ДНК, полученных из опухолевых клеток, собранных с парафиновых срезов с последующей обработкой протеиназой К (Novagen, USA) либо выделенных из свежих операционных биопсий с использованием набора «Ампли Прайм ДНК-сорб-В» (производитель ООО «НекстБио», Россия). Мутации генов *BRAF* (15 экзон), *NRAS* (2, 3 экзоны), *KIT* (11, 13 и 17 экзоны) анализировали в ПЦР с последующим секвенированием на ABI PRISM 3100-Avant с помощью реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator Vol.3.1 [15, 16].

Результаты

В исследование включены 15 случаев меланомы с необычной клинико-морфологической картиной (табл. 1). Биопсийный материал получен от 8 женщин и 7 мужчин в возрасте от 27 до 78 лет (средний возраст – 42,4 года), причем 11 пациентов были моложе 50 лет.

В одном случае была исследована первичная беспигментная веретенноклеточная опухоль спины (пациент № 12), в 14 – поступивший материал представлял собой метастазы меланомы. Первичная опухоль располагалась на спине у 6 пациентов, на голени – у 2, в височной области головы или на шее – у 3 больных. У 4 пациентов имелись метастазы без выявленного первичного очага. Метастатические поражения представляли собой крупные узловое новообразования в мягких тканях в области спины либо нижней конечности, также метастазы поражали лимфоузлы, легкие, кожу, кости, печень. Большинство метастазов были лишены пигмента, но 6 метастатических опухолей были пигментосодержащими (табл. 1).

Диагностика опухолей практически во всех случаях вызывала сложности, чаще всего было необходимо дифференцировать меланому и саркому, в 1 случае предполагали лимфому. В частности, фигурировали следующие диагнозы: лимфома (№ 1), плеоморфная рабдомиосаркома (№ 3), меланоцитарная шваннома (№ 6), меланоцитарный фенотип круглоклеточной саркомы (№ 9), саркомоподобная меланома (№ 14), светлоклеточная недифференцированная плеоморфная саркома (№ 15).

При цитологическом исследовании препарата опухоли пациентки № 1 (рис. 1 *а, б*) обнаружены клетки преимущественно округлой формы с нежной структурой хроматина, которые ошибочно могут быть интерпретированы как клетки злокачественной лимфомы. При детальном изучении в отдельных клетках отмечалось наличие темных гранул пигмента (рис. 1 *а, б*). При исследовании клеток узловой изъязвленной беспигментной поверхностно распространенной меланомы пациентки № 13 клетки, типичные для меланомы, были немногочисленны, преимущественно выявлялись веретенообразные клетки и клетки с палочковидными ядрами, саркомоподобные, бедные пигментом (рис. 1 *в-д*).

Таблица 1

Фенотипы исследованных опухолей

| Пациент | Пол | Возраст | Первичная локализация | Первичный гистологический диагноз | Пигментация | Гистологический тип | Мутационный статус метастаза |
|---------|-----|---------|------------------------|--|-------------|---------------------------------|------------------------------|
| 1 | Ж | 47 | БВПО | Лимфома / Рак молочной железы | Нет | Смешанный | BRAF/NRAS/KITWT |
| 2 | Ж | 38 | БВПО | Саркома / Меланома яичника с врастанием в серозу тела матки | Нет | Эпителиоидноклеточный | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 3 | Ж | 27 | БВПО | Плеоморфная рабдомиосаркома или злокачественная фиброзная гистиоцитома | Нет | Смешанный | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 4 | Ж | 37 | Голень | Меланома | Пигментация | Эпителиоидноклеточный | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 5 | Ж | 78 | Спина | Саркома | Пигментация | Веретеночлесточный / Узловая | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 6 | М | 34 | Спина | Меланоцитарная шваннома / Саркома / Меланома | Пигментация | Смешанный / Узловая | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 7 | Ж | 30 | БВПО | Саркома | Нет | Смешанный | Ex-15 V600ENRAS/KIT WT |
| 8 | М | 49 | Спина | Лимфома | Нет | Эпителиоидноклеточный | Ex-15 V600ENRAS/KIT WT |
| 9 | М | 40 | Спина | Саркома | Пигм | Веретеночлесточный / Узловая | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 10 | М | 30 | Спина | Саркома | Нет | Эпителиоидноклеточный | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 11 | М | 44 | Височная область | Саркома | Пигментация | Веретеночлесточный | BRAF/NRAS/KIT WT |
| 12 | Ж | 72 | Спина | Саркома | Нет | Веретеночлесточный | Ex-15 V600ENRAS/KIT WT |
| 13 | Ж | 68 | Голень | Меланома | Нет | Эпителиоидноклеточный / Узловая | BRAF/NRAS/ KIT WT |
| 14 | М | 62 | Височная область | Саркомоподобная меланома | Пигментация | Эпителиоидноклеточный | BRAF/NRAS/ KITWT |
| 15 | М | 30 | Задняя поверхность шеи | Недифференцированная плеоморфная саркома / Меланома | Нет | Смешанный | Ex-15 V600ENRAS/KIT WT |

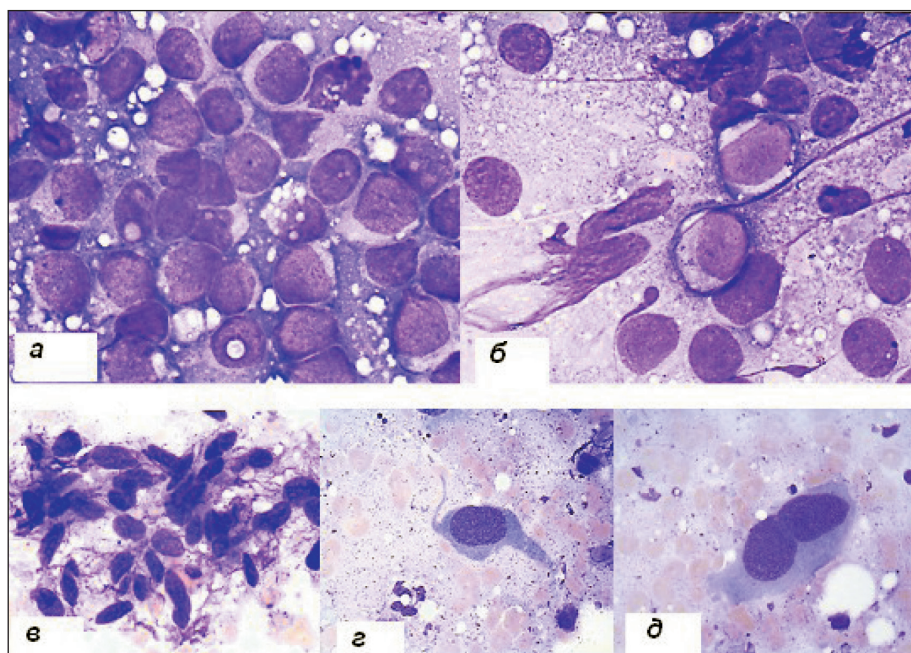


Рис. 1. Микрофото. Цитологические препараты опухолей пациенток № 1 (а, б) и 13 (е–д). ×400 (а, б, г, д), ×200 (е)

Таблица 2

Иммуногистохимическая характеристика опухолевых клеток пациентов

| Пациент | Ki67 | S100 | Melan A | HMB 45 | H-кальцесон | Mitf | Тирозиназа | Панцито-кератин AE1/AE3 | Цитокератин 5/6 | P63 | Гладкомышактин | EMA | Виментин | Хромогранин | РСК | CD99 | Другие маркеры |
|---------|------------|------|---------|--------|-------------|------|------------|-------------------------|-----------------|-----|----------------|-----|----------|-------------|-----|------|---|
| 1 | 3040 % | +/- | +/- | +/- | н/д | +Яд | н/д | н/д | н/д | н/д | н/д | н/д | н/д | +/- | +/- | н/д | Отриц. BCL2, MyM1, CD3, CD5, CD10, CD20, CD23, CD30, CD39, синаптофизин |
| 2 | 6070 % | +/- | +/- | + | н/д | н/д | + | н/д | н/д | н/д | - | - | н/д | н/д | н/д | + | |
| 3 | 67 50 % | +/- | +/- | +/- | +/- | +Яд. | + | - | - | - | н/д | - | - | н/д | н/д | + | |
| 5 | 75 % | +/- | +/- | - | н/д | - | + | - | н/д | - | н/д | н/д | +/- | - | - | н/д | Отриц. синаптофизин |
| 6 | | + | + | + | н/д | н/д | н/д | н/д | - | н/д | н/д | н/д | + | н/д | н/д | н/д | |
| 7 | 50 % | + | н/д | + | н/д | - | н/д | н/д | н/д | н/д | н/д | н/д | + | н/д | н/д | н/д | |

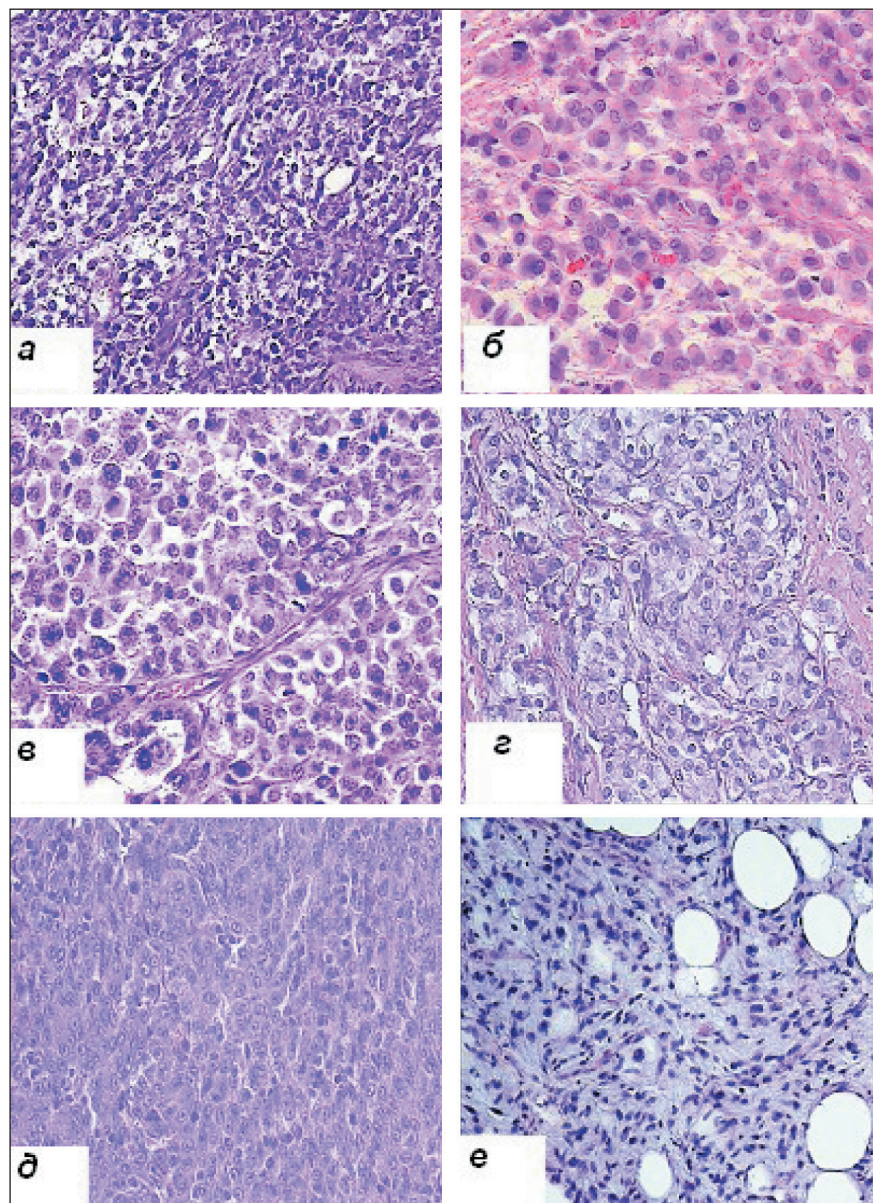


Рис. 2. Микрофото. Гистологические препараты опухолей пациентов № 1 (а), № 4 (б), № 13 (в), № 6 (г, д), № 14 (е). ×200

Гистологическое исследование показало разнородность опухолевых клеток, метастатические опухоли чаще имели смешанный фенотип, но встречались также эпителиоидные и веретенклеточные опухоли (табл. 1). В гистологическом препарате опухоли пациентки № 1 с множественными метастазами в легких, мягких тканях туловища и конечностей без выявленного первичного очага обнаружена атипия 1-го типа, присутствовали беспигментные округлые мелкие клетки смешанного гистогенеза (рис. 1 а). Эпителиоидный тип клеток был выявлен в метастатической полиморфноклеточной меланоме с атипией 3-го типа у пациентки № 4 (рис. 1 б) и в метастазе опухоли у пациентки № 13 (рис. 1 в) с изъязвленной поверхностно распространенной меланомой голени, хотя в цитологическом препарате у нее обнаруживали и веретенообразные клетки (рис. 1 в-д). У пациента № 6 в метастазе опухоли с первичным диагнозом меланоцитарная шваннома спины выявлены клетки смешанного гистотипа (рис. 2 г, д).

При иммуногистохимическом исследовании метастатических опухолей, диагностированных как саркома или лимфома, выявлены слабоположительные реакции на S100, HMB 45, Melan A, MITF, тирозиназу, однако отсутствие экспрессии цитокератинов, p63 и гладкомышечного актина подтверждает диагноз меланомы (табл. 2).

С целью дифференциации саркомы от меланомы был проведен FISH-анализ 4 опухолей (№ 2, 6, 10, 11) для выявления возможной реаранжировки гена *EWSR1*, однако транслокация хромосомы 22q не обнаружена, что подтверждает диагноз меланомы.

Генетический анализ в ДНК 4 из 15 (27 %) опухолей выявил мутацию *BRAF* (p.V600E), мутации в генах *NRAS* и *KIT* не обнаружены (табл. 1). Любопытно, что все 4 опухоли (№ 7, 8, 12, 15) с мутацией *BRAF* были беспигментными. Выявление мутации *BRAF* в метастазах указывает, что первичной опухолью является меланома.

У 30-летней пациентки (№ 7) с метастатической опухолью в брюшной полости без выявленного первичного очага наличие мутации *BRAF* свидетельствует, что первичной опухолью является меланома. Мутация *BRAF* обнаружена также в первичной беспигментной веретенклеточной опухоли спины с саркомоподобной дифференцировкой у 72-летней пациентки (№ 12). Мутация *BRAF* обнаружена также в метастазе на коже головы у 30-летнего пациента № 15, возникшем через год после появления опухоли шеи. Это указывает на то, что первичная опухоль представляла собой светлоклеточную меланому, а не плеоморфную недифференцированную саркому, как предполагали ранее. У пациента № 8 с подозрением на лимфому мутация *BRAF* выявлена в лимфоузле через 6 лет после первичной опухоли, что указывает на метастазирование меланомы. Во всех случаях об-

наружение мутации *BRAF* подтверждает диагноз меланомы, поскольку мутации *BRAF* и *NRAS*, представленные в первичной опухоли, сохраняются и в последующих метастазах [14, 17].

Обсуждение

В данном исследовании охарактеризованы необычные случаи меланомы. Фенотипическая пластичность как первичной меланомы, так и метастазов хорошо известна. Некоторые меланомы утрачивают иммуногистохимические маркеры меланоцитарной дифференцировки [3, 4, 7], и это требует дифференциальной диагностики от морфологически сходных немеланоцитарных опухолей.

С другой стороны, известны случаи неполной дифференцировки или дедифференцировки злокачественной меланомы, как первичной, так и метастатической. При первичном диагнозе измененный фенотип такой опухоли принимают за рабдомиосаркому, миофибросаркому, аденокарциному или лейомиосаркому [3, 7]. A. Agaimy et al. описывают случаи, когда у пациентов с первичным диагнозом меланома через некоторое время (3 мес – 9 лет) возникала метастатическая опухоль с фенотипом саркомы, так как в ней выявили дедифференцированные метастазы, в которых экспрессия маркеров меланомы иммуногистохимически не определялась [7]. При этом в 10/14 (71 %) случаев в первичной опухоли и метастазе выявлены мутации *BRAF* (35 %) или *NRAS* (35 %). Метаанализ 24 недифференцированных меланом выявил мутации *BRAF* и *NRAS* в 33 % и 29 % опухолей соответственно [7].

В нашей работе мутации *BRAF* выявлены в 27 % случаев атипичной меланомы, мутации *NRAS* не обнаружены. Однако при исследовании более 200 образцов дифференцированной меланомы кожи мутации *BRAF* обнаружены в 60 %, а *NRAS* – в 14 % случаев [15, 16].

Важно отметить, что наличие мутаций *BRAF* или *NRAS* является доказательством меланоцитарной дифференцировки опухолей, фенотипически сходных с саркомами [18]. Известно, что в истинных саркомах такие мутации не встречаются. Более того, плеоморфизм и потеря дифференцировочных маркеров не характерны для светлоклеточных сарком.

В литературе довольно часто встречаются описания сложных случаев, когда необходимо дифференцировать беспигментную меланому от светлоклеточной саркомы мягких тканей. По морфологии злокачественная беспигментная меланома кожи может напоминать светлоклеточную саркому, причем эти опухоли существенно не различаются по профилю экспрессии молекулярных маркеров. С. Liu et al. [19] описали два случая светлоклеточной саркомы, локализованной на коже большого пальца левой руки и в тощей кишке, при диагностике которых возникли значительные

трудности. В обеих опухолях иммуногистохимически выявлялась диффузная экспрессия S100, виментина, белка NSE, и фокальная экспрессия антигенов CD56, MelanA. Использование чипов MassARRAY и панели OncoCarta 1.0 позволило авторам проанализировать 238 известных мутаций, локализованных в горячих точках 19 онкогенов, однако ни одной мутации выявлено не было. Доказательством светлоклеточной саркомы явились результаты ПЦР с обратной транскрипцией, подтвердившие транслокацию *EWS/ATF1* типа 1 в двух опухолях [19].

В.Р. Wagner et al. также описали случай диагностической дилеммы: светлоклеточной саркомы или беспиговой *BRAF*-негативной меланомы [20]. Положительное окрашивание на меланоцитарные маркеры S-100, HMB-45, MART-1, MITF вместе с результатами кариотипирования и FISH-анализа – отсутствием реаранжировки гена *EWS* – подтвердило диагноз беспиговой меланомы [20].

В настоящем исследовании мы попытались проанализировать нетипичные случаи меланомы со свойствами, характерными для сарком, что приводило к проблемам при первоначальной дифференциальной диагностике опухоли. У 6 пациентов описаны метастазы в мягких тканях или первичных опухолях в виде мягкотканого образования. У 4 пациентов первичный очаг меланомы не выявлен, и среди мягкотканых опухолей (первичных и метастазов) встречались беспиговые, что затрудняло дифференциальную диагностику меланомы или саркомы. Лишь у 4/15 пациентов выявлена мутация *BRAF V600E*, подтверждающая диагноз меланомы. С помощью иммуногистохимического окрашивания обнаружена слабоположительная реакция на S100 и меланоцитарные маркеры Melan A, тирозиназу и частично HMB 45 и MITF, однако такая реакция возможна и при светлоклеточных саркомах. В четырех случаях (№ 2; № 6; № 10; № 11) с подозрением на саркому методом FISH

было выявлено отсутствие реаранжировки локуса *EWS1(20q12)* и диагноз саркомы был исключен.

Сообщается также о Melan A-негативных веретенообразных клетках, ассоциированных с меланомой [21]. Клинические последствия потери Melan A ограничены, но теоретически это может быть связано с менее зрелым и слабо дифференцированным подтипом меланомы. По мнению авторов, морфологические изменения в направлении к мезенхимальной и клеточной дедифференцировке меланомы могут коррелировать с эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП). В процессе ЭМП клетки теряют эпителиальные характеристики (поляризационные, адгезивные) и приобретают мезенхимальные функции: веретеноклеточную гистологию и инвазивные свойства, связанные с менее зрелыми, дедифференцированными клетками [22].

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) является фундаментальной частью эмбриогенеза и связан с метастазированием раковых клеток. Меланоциты происходят из эктодермы и клеток нервного гребня, которые в эмбриогенезе подвергаются ЭМП и мигрируют до эпидермального слоя с последующей дифференцировкой в меланоциты [23]. Меланоциты и клетки меланомы часто имеют типичную эпителиальную морфологию с устойчивой экспрессией E-кадгерина при заживании с кератиноцитами в эпидермальном слое. Поэтому веретенообразная морфология и потеря E-кадгерина могут быть связаны с более выраженным инвазивным фенотипом [21].

Полученные результаты позволяют предположить определенную неоднородность подгруппы меланом, которые имеют ряд морфологических и молекулярных особенностей, сближающих их с саркомами. Для выявления морфологических и молекулярных маркеров, которые позволят изучить и дифференцировать эти опухоли более детально, потребуются дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Мазуренко Н.Н. Молекулярно-генетические факторы и маркеры меланомы. Молекулярно-генетические маркеры опухолей. М., 2016. 85–128. [Mazurenko N.N. Molecular-genetic factors and markers of melanoma. Molecular-Genetic Tumor Markers. Moscow, 2016. 85–128. (in Russian)].
2. Leonardi G.C., Falzone L., Salemi R., Zanghi A., Spandidos D.A., Mccubrey J.A., Candido S., Libra M. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). *Int J Oncol.* 2018 Apr; 52 (4): 1071–80. doi: 10.3892/ijo.2018.4287.
3. Magro C.M., Crowson A.N., Mihm M.C.Jr3. Unusual variants of malignant melanoma. *Mod Pathol.* 2006 Feb; 19 Suppl 2: S41–70. doi: 10.1038/modpathol.3800516.
4. Banerjee S.S., Eyden B. Divergent differentiation in malignant melanomas: a review. *Histopathology.* 2008 Jan; 52 (2): 119–29. doi: 10.1111/j.1365-2559.2007.02823.x.
5. Ordóñez N.G. Value of melanocytic-associated immunohistochemical markers in the diagnosis of malignant melanoma: a review and update. *Hum Pathol.* 2014 Feb; 45 (2): 191–205. doi: 10.1016/j.humpath.2013.02.007.
6. Pletneva M.A., Andea A., Palanisamy N., Betz B.L., Carskadon S., Wang M., Patel R.M., Fullen D.R., Harms P.W. Clear cell melanoma: a cutaneous clear cell malignancy. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Oct; 138 (10): 1328–36. doi: 10.5858/arpa.2014-0307-CC.

7. Agaimy A., Specht K., Stoehr R., Lorey T., Märkl B., Niedobitek G., Straub M., Hager T., Reis A.C., Schilling B., Schneider-Stock R., Hartmann A., Mentzel T. Metastatic Malignant Melanoma With Complete Loss of Differentiation Markers (Undifferentiated/Dedifferentiated Melanoma): Analysis of 14 Patients Emphasizing Phenotypic Plasticity and the Value of Molecular Testing as Surrogate Diagnostic Marker. *Am J Surg Pathol.* 2016 Feb; 40 (2): 181–91. doi: 10.1097/PAS.0000000000000527.
8. Kacarovska D., Michal M., Kutzner H., Rychnovsky J., Kazakov D.V. Metastatic desmoplastic malignant melanoma associated with low-grade myofibroblastic sarcoma. *Am J Dermatopathol.* 2009 Jul; 31 (5): 490–4. doi: 10.1097/DAD.0b013e31819afdaa.
9. Kiuru M., McDermott G., Berger M., Halpern A.C., Busam K.J. Desmoplastic melanoma with sarcomatoid dedifferentiation. *Am J Surg Pathol.* 2014 Jun; 38 (6): 864–70. doi: 10.1097/PAS.0000000000000201.
10. DiMaio S.M., Mackay B., Smith J.L. Jr, Dickersin G.R. Neurosarcomatous transformation in malignant melanoma: an ultrastructural study. *Cancer.* 1982 Dec 1; 50 (11): 2345–54.
11. Jalas J.R., Vemula S., Bezrookove V., Leboit P.E., Simko J.P., Bastian B.C. Metastatic melanoma with striking adenocarcinomatous differentiation illustrating phenotypic plasticity in melanoma. *Am J Surg Pathol.* 2011 Sep; 35 (9): 1413–8. doi: 10.1097/PAS.0b013e31822280d8.
12. Patel R.M., Downs-Kelly E., Weiss S.W., Folpe A.L., Tubbs R.R., Tuthill R.J., Goldblum J.R., Skacel M. Dual-color, break-apart fluorescence in situ hybridization for *EWS* gene rearrangement distinguishes clear cell

sarcoma of soft tissue from malignant melanoma. *Mod Pathol.* 2005 Dec; 18 (12): 1585–90. doi: 10.1038/modpathol.3800503.

13. Hocar O., Le Cesne A., Berissi S., Terrier P., Bonvalot S., Vanel D., Auperin A., Le Pechoux C., Bui B., Coindre J.M., Robert C. Clear Cell Sarcoma (Malignant Melanoma) of Soft Parts: A Clinicopathologic Study of 52 Cases. *Dermatol Res Pract.* 2012; 2012: 984096. doi: 10.1155/2012/984096.

14. Doyle L.A. Non-mesenchymal Mimics of Sarcoma. *Surg Pathol Clin.* 2015 Sep; 8 (3): 493–513. doi: 10.1016/j.path.2015.05.010.

15. Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A., Ponkratova D.A., Anurova O.A., Cheremushkin E.A., Mikhailova I.N., Demidov L.V. Spectrum of oncogene mutations differs among melanoma subtypes. *Molecular Biology.* 2015; 49 (6): 917–923. doi: 10.1134/S0026893315060163.

16. Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушников А.А., Анурова О.А., Понкратова Д.А., Вихрова А.Н., Утяшев И.А. Мутантный статус и некоторые клинико-морфологические особенности меланомы кожи. *Российский онкологический журнал.* 2017; 22 (2): 60–65. [Mazurenko N.N., Tsyganova I.V., Lushnikova A.A., Anurova O.A., Ponkratova D.A., Vikhrova A.N., Utyashev I.A. Mutational status and some clinico-morphological features of cutaneous melanoma. *Russian Journal of Oncology.* 2017; 22 (2): 60–65. (in Russian)]. doi: 10.18821/1028-9984-2017-22-2-60-65.

17. Harbst K., Lauss M., Cirenajwis H., Winter C., Howlin J., Törngrén T., Kvist A., Nodin B., Olsson E., Häkkinen J., Jirstrom K., Staaf J., Lundgren L., Olsson H., Ingvar C., Grunberger-Saal S.K., Saal L.H., Jönsson G. Molecular and genetic diversity in the metastatic process of melanoma. *J Pathol.* 2014 May; 233 (1): 39–50. doi: 10.1002/path.4318.

18. Cipriani N.A., Letovanec I., Hornicek F.J., Mullen J.T., Duan Z., Borger D.R., Nielsen G.P. BRAF mutation in ‘sarcomas’: a possible method to detect de-differentiated melanomas. *Histopathology.* 2014 Apr; 64 (5): 639–46. doi: 10.1111/his.12305.

19. Liu C., Ren Y., Li X., Cao Y., Chen Y., Cui X., Li L., Li F. Absence of 19 known hotspot oncogenic mutations in soft tissue clear cell sarcoma: two cases report with review of the literature. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014; 7 (8): 5242–5249.

20. Wagner B.P., Epperla N., Medina-Flores R. Diagnostic dilemma: late presentation of amelanotic BRAF-negative metastatic malignant melanoma resembling clear cell sarcoma: a case report. *Diagn Pathol.* 2013 Nov 25; 8: 192. doi: 10.1186/1746-1596-8-192.

21. Bonnelykke-Behrndtz M.L., Steiniche T., Damsgaard T.E., Georgsen J.B., Danielsen A., Bastholt L., Møller H.J., Norgaard P.H., Schmidt H. MelanA-negative spindle-cell associated melanoma, a distinct inflammatory phenotype correlated with dense infiltration of CD163 macrophages and loss of E-cadherin. *Melanoma Res.* 2015 Apr; 25 (2): 113–8. doi: 10.1097/CMR.0000000000000138.

22. Kalluri R. EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. *J Clin Invest.* 2009 Jun; 119 (6): 1417–9. doi: 10.1172/JCI39675.

23. Acloque H., Adams M.S., Fishwick K., Bronner-Fraser M., Nieto M.A. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest.* 2009; 119 (6): 1438–1449. doi: 10.1172/JCI38019.

Поступила/Received 27.06.18
Принята в печать/Accepted 15.10.18

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Михайлова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения биотерапии опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: irmikhaylova@gmail.com. SPIN-код: 4271-2846. Researcher ID (WOS): Y-6159-2018. Author ID (Scopus): 8534967300. ORCID: 0000-0002-7659-6045.

Анурова Ольга Александровна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения патологической анатомии опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Лушников А.А., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории онкогеномики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0002-7838-1005.

Цыганова Ирина Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории онкогеномики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия).

Сендерович Анастасия Ильинична, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения патологической анатомии опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 4602-7378. Researcher ID (WOS): Y-5462-2018. Author ID (Scopus): 23096390400. ORCID: 0000-0003-2213-5785.

Кондратьева Татьяна Тихоновна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической цитологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 205571. Researcher ID (WOS): Y-5932-2018. Author ID (Scopus): 9234963800. ORCID: 0000-0002-0501-0326.

Демидов Лев Вадимович, доктор медицинских наук, заведующий отделением биотерапии опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). SPIN-код: 5362-6386. Author ID (Scopus): 173317. ORCID: 0000-0002-8562-6082.

Мазуренко Наталья Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории онкогеномики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). ORCID: 0000-0003-4767-698.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Irina N. Mikhaylova, DSc, Leading Researcher, Department of Tumor Biotherapy, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). E-mail: irmikhaylova@gmail.com. Researcher ID (WOS): Y-6159-2018. Author ID (Scopus): 8534967300. ORCID: 0000-0002-7659-6045.

Olga A. Anurova, DSc, Leading Researcher, Department of Pathological Anatomy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia).

Anna A. Lushnikova, DSc, Leading Researcher, Cancer Genomics Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0002-7838-1005.

Irina V. Tsyganova, PhD, Senior Researcher, Cancer Genomics Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia).

Anastasia I. Senderovich, PhD, Senior Researcher, Department of Pathological Anatomy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). SPIN-код: 4602-7378. Researcher ID (WOS): Y-5462-2018. Author ID (Scopus): 23096390400. ORCID: 0000-0003-2213-5785.

Tatiana T. Kondratyeva, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Clinical Cytology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). SPIN-код: 205571. Researcher ID (WOS): Y-5932-2018. Author ID (Scopus): 9234963800. ORCID: 0000-0002-0501-0326.

Lev V. Demidov, DSc, Head of the Department of Tumor Biochemistry, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). SPIN-код: 5362-6386. Author ID (Scopus): 173317. ORCID: 0000-0002-8562-6082.

Natalia N. Mazurenko, DSc, Leading Researcher, Cancer Genomics Laboratory, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation (Moscow, Russia). ORCID: 0000-0003-4767-698.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.