

© СОКОЛОВА А.В., МАЛИШЕВСКАЯ Н.П., 2017

УДК 616.5-006.81-076.4:621.375.826

Соколова А.В.¹, Малишевская Н.П.²

КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МЕЛАНОЦИТАРНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ КОЖИ

¹ ООО «Клиника "Уральская"», 620137, г. Екатеринбург, Россия;² ГБУ Свердловской области «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии», 620076, г. Екатеринбург, Россия

В случаях сложной дифференциальной диагностики доброкачественных меланоцитарных новообразований и меланомы кожи клинический визуальный осмотр и поверхностная дерматоскопия не всегда позволяют поставить точный диагноз, что особенно важно в случаях подозрительных на меланому кожи. В последние годы для неинвазивного обследования кожи стали применять метод конфокальной микроскопии (КМС). В рамках настоящего исследования методом конфокальной лазерной микроскопии были обследованы 15 пациентов с подозрением на меланому кожи в случаях сложной дифференциальной диагностики (всего 18 меланоцитарных новообразований). У 10 пациентов была диагностирована меланома кожи, в том числе две беспигментные, которые в дальнейшем были подтверждены гистологическим исследованием материала, полученного после хирургической эксцизии. Результаты исследования по определению эффективности дифференциальной диагностики меланомы кожи методом лазерной конфокальной микроскопии, показали, что дифференциальная диагностика меланомы кожи возможна при наличии основных критериев злокачественности: клеточной атипичности в месте дермо-эпидермального соединения (1-й основной критерий) и нарушению сосочковой архитектуры базального слоя (2-й основной критерий). При выявлении хотя бы одного из этих критериев ставился диагноз меланомы кожи, что во всех случаях подтверждалось результатами гистологического исследования. Включение КМС в диагностический алгоритм обследования пациентов с меланоцитарными новообразованиями кожи, с подозрением на меланому, дает возможность улучшить диагностику меланомы на ранних стадиях.

Ключевые слова: меланома кожи; диагностика меланомы; конфокальная микроскопия; меланоцитарные невусы; диспластические невусы; прижизненная конфокальная микроскопия.

Для цитирования: Соколова А.В., Малишевская Н.П. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия для диагностики меланоцитарных новообразований кожи. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2017; 20(6): 324-331. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-6-324-331>

Sokolova A.V.¹, Malishevskaya N.P.²

CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY FOR DIAGNOSES OF MELANOCYTIC SKIN NEOPLASMS

¹ "Uralskaya clinic", Ekaterinburg, 620137, Russian Federation;² Ural Research Institute of Dermatovenereology and Immunopathology, Ekaterinburg, 620076, Russian Federation

In cases of complicated differential diagnosis of benign melanocytic neoplasms and skin melanoma, clinical visual examination and superficial dermatoscopy do not always allow to make an accurate diagnosis, which is especially important in cases of suspected skin melanoma. In recent years the method of confocal microscopy (CM) has been used for non-invasive skin examination. In the present study 15 patients with suspected skin melanoma were examined by confocal laser microscopy in cases of complex differential diagnosis (18 melanocytic neoplasms in total). Ten patients were diagnosed with skin melanoma, including two amelanotic melanomas, which were subsequently confirmed by histological examination of the material obtained after surgical excision. The results of the study to determine the effectiveness of differential diagnosis of skin melanoma by laser confocal microscopy showed that differential diagnosis of skin melanoma is possible in the presence of the main criteria of malignancy: cellular atypia at the site of the dermo-epidermal junction (the first main criterion) and abnormality of papillary architecture (the second main criterion). At detection at least one of these criteria, a diagnosis of skin melanoma was made, which in all cases was confirmed by the results of histological examination. Inclusion of CM in the diagnostic algorithm of examination of patients with melanocytic neoplasms, suspicious of melanoma, makes it possible to improve the diagnosis of melanoma at early stages.

Key words: skin melanoma; melanoma diagnosis; confocal microscopy; melanocytic nevi; dysplastic nevi; in vivo confocal microscopy.

For citation: Sokolova A.V., Malishevskaya N.P. Confocal laser scanning microscopy for diagnoses of melanocytic skin neoplasms. *Russian Journal of Skin and Venereal Diseases (Rossiyskii Zhurnal Kozhnykh i Venericheskikh Boleznei)*. 2017; 20(6): 324-331. (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9588-2017-20-6-324-331>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 03 Dec 2017

Accepted 20 Dec 2017

Злокачественные новообразования (ЗН) кожи постепенно выходят на лидирующие позиции в структуре онкопатологии в России, ряде европейских стран и США [1–3]. В мире ежегодно регистрируется от 2 до 3 млн случаев ЗН кожи и около 132 тыс. новых случаев меланомы кожи [4]. При этом, своевременность диагностики меланомы кожи (МК), особенно ранних форм, нельзя признать удовлетворительным: высока доля больных, выявленных в запущенных стадиях заболевания, несмотря на то, что кожа является идеальным органом для ранней визуальной диагностики [5]. Признано, что эффективность лечения МК зависит от своевременной диагностики, в то же время гипердиагностика МК и, как следствие, необоснованные хирургические вмешательства диктуют необходимость использования неинвазивных методов, которые помогают клиницистам при проведении дифференциальной диагностики.

В сложных случаях дифференциальной диагностики диспластических невусов и меланомы кожи поверхностная дерматоскопия и спектрофотометрический интрадермальный анализ не всегда позволяют поставить точный диагноз, что особенно важно в случаях с подозрением на меланому кожи.

В последние годы конфокальная лазерная сканирующая микроскопия стала хорошо изученным методом для неинвазивного обследования кожи. В условиях *in vivo* конфокальная микроскопия (КМС) в режиме реального времени отображает микроанатомические кожные структуры, позволяя получить изображение эпидермиса и поверхностной части дермы [6].

Как и дерматоскопия, КМС за счет получения изображения в горизонтальной плоскости, позволяет оценить патологические изменения тканей, лежащих в основе дерматоскопических структур. При конфокальной микроскопии контрастное изображение получается за счет различий в индексе преломления органелл и других клеточных микроструктур, которые выглядят более светлыми на фоне подлежащих структур [7].

КМС показывает горизонтальные слои кожи с максимальной глубиной 350 мкм. Очень важным представляется тот факт, что разрешение, которое дает КМС при изучении кожи, вполне сравнимо с таковым при гистологическом исследовании – латеральное разрешение составляет менее 1 мкм, вертикальное от 3 до 5 мкм [8, 9].

Цель исследования – изучить эффективность диагностики меланоцитарных новообразований кожи при применении метода КМ.

Для корреспонденции:

Соколова Анна Викторовна, кандидат мед. наук, ООО «Клиника “Уральская”», г. Екатеринбург, Россия. E-mail: baden-ekb@yandex.ru

For correspondence:

Sokolova Anna V., MD, PhD, dermatologist of “Uralskaya clinic”, Ekaterinburg, Russian Federation. E-mail: baden-ekb@yandex.ru

Information about authors:

Sokolova A. V., <http://orcid.org/0000-0001-7029-6597>;
Malishevskaya N. P., <http://orcid.org/0000-0003-1915-335X>.

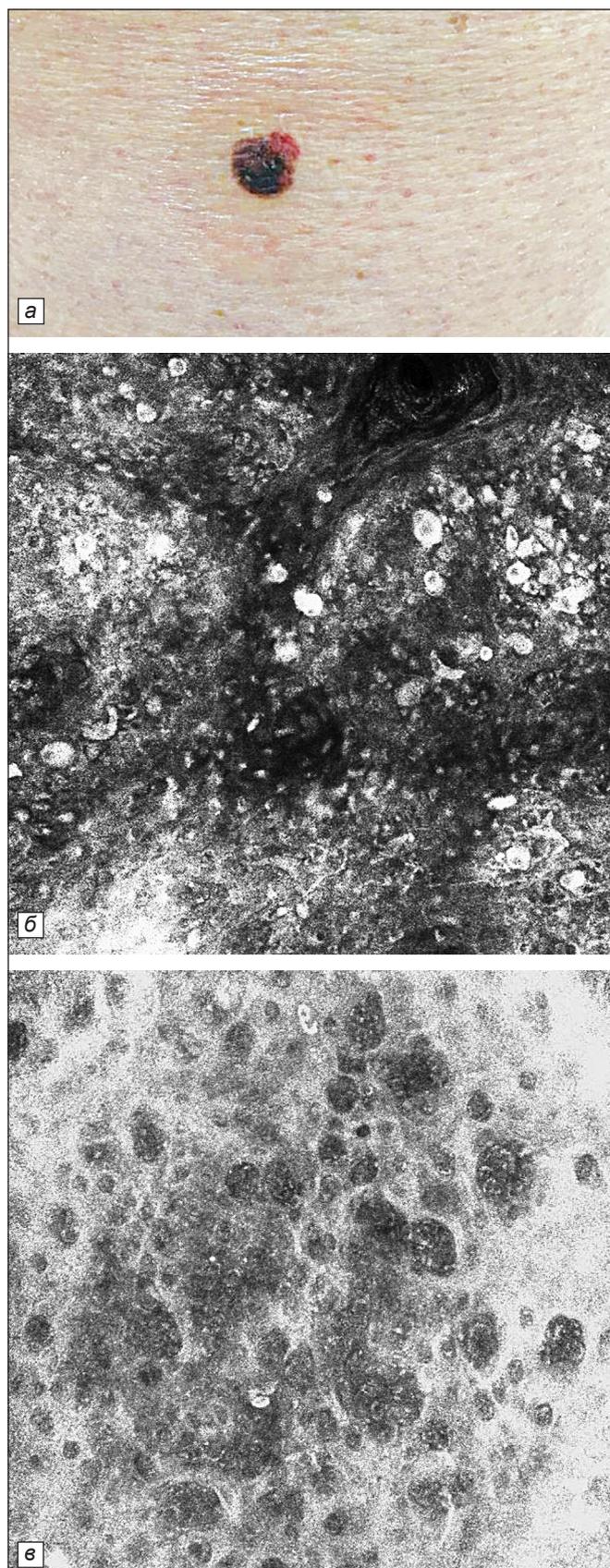


Рис. 1. Поверхностно-распространяющаяся меланوما кожи бедра на фоне невуса (а). Конфокальная микроскопия меланомы кожи (собственные наблюдения): клеточная атипия в области дермо-эпидермального соединения (б) и нарушение сосочковой архитектуры базального слоя (в).

Таблица 1

Распространенность основных критериев диагностики меланомы кожи по данным лазерной конфокальной микроскопии

Новообразование	n	Наличие только 1-го критерия		Наличие только 2-го критерия		Наличие обоих критериев одновременно	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
Меланома	10	1	10	0	0	9	90
Диспластический невус	8	0	0	0	0	0	0

Материалы и методы

Методом конфокальной лазерной микроскопии были обследованы 15 пациентов с подозрением на меланому кожи в случаях сложной дифференциальной диагностики (всего 18 меланоцитарных новообразований).

Исследование проведено с помощью клинического конфокального микроскопа Vivascope 1500 ("Lucid Inc", США) в режиме реального времени в ГБУ СО «Уральский НИИ

дерматовенерологии и иммунопатологии» (Екатеринбург). В приборе использован диодный лазер с длиной волны 830 нм и мощностью не более 35 мВт на поверхности кожи. В качестве иммерсионной среды между линзой объектива и адгезивным окошком применяли плотный гель для ультразвукового исследования (УЗИ) (Германия). На изучаемое новообразование наносили специальное косметическое масло (Contacting agent STS, "Mavig", Германия) с оптимальным

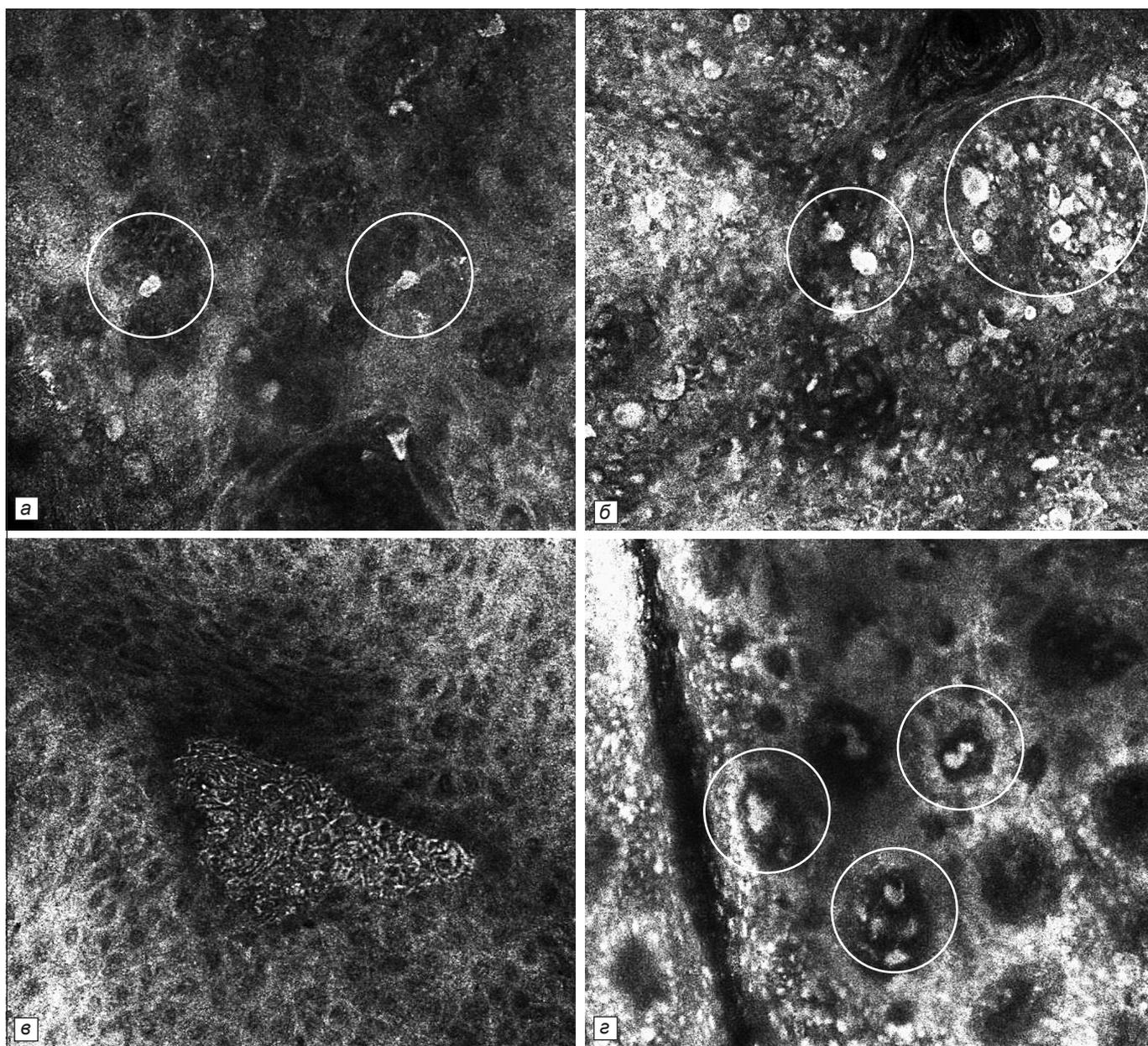


Рис. 2. Конфокальная микроскопия меланомы кожи: круглые педжетоидные клетки (а), инфильтрация педжетоидными клетками (б), мозговидные скопления (в), клетки, содержащие ядра, в верхних слоях дермы (г).

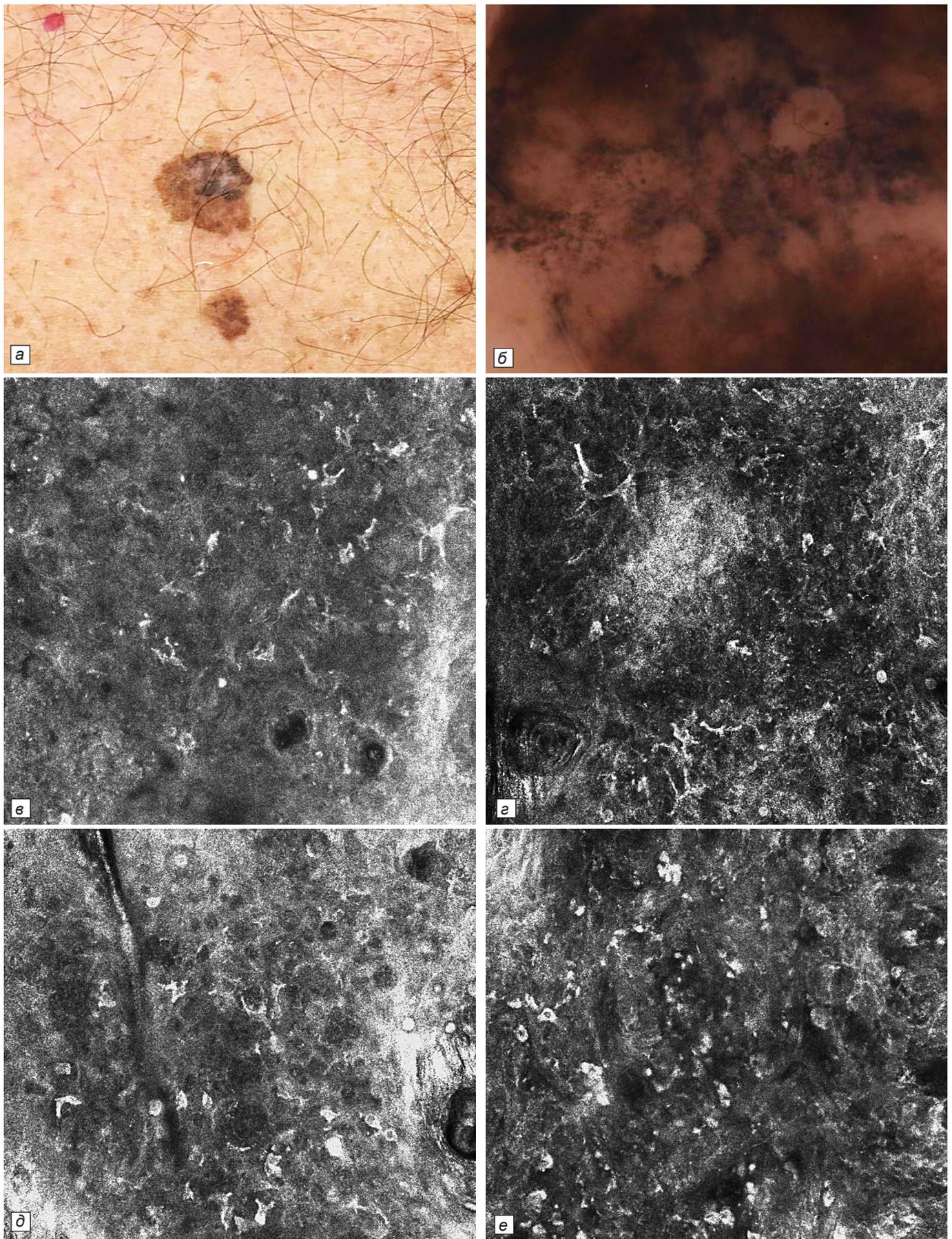


Рис. 3. Клиническое и дерматоскопическое изображение (а, б) и конфокальная микроскопия поверхностно-распространяющейся меланомы кожи спины: полиморфизм педжетоидных клеток (в, з), инфильтрация педжетоидными клетками (д, е).

Распространенность дополнительных критериев диагностики меланомы кожи по данным лазерной конфокальной микроскопии

Новообразование	n	Наличие дополнительных критериев							
		1-й критерий		2-й критерий		3-й критерий		4-й критерий	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Меланома	10	10	100	7	70	4	40	5	50
Диспластический невус	8	3	37,5	1	12,5	0	0	2	25
<i>p</i>		0,009		0,03		0,095		0,56	

индексом рефракции. Данный микроскоп позволяет прижизненно сканировать кожу на глубину до 400 мкм, достигая сетчатого слоя дермы [10]. Сканирование происходит с помощью 30-кратного иммерсионного объектива с фокусным расстоянием 5,3 мм. Каждое полученное изображение соответствует горизонтальному срезу на выбранной глубине с полем наблюдения площадью $0,5 \times 0,5$ мм, поперечным разрешением 1,0 мкм и продольным разрешением 3–5 мкм [11]. Для каждого новообразования был получен массив изображений (конфокальные срезы), начиная с рогового слоя и заканчивая сосочковым слоем кожи. В случае больших по размеру новообразований, которые не полностью попадали в поле наблюдения, сканирующее устройство перемещалось в несколько локализаций. Для каждого новообразования получили более 100 снимков, которые интерпретировал один исследователь, прошедший обучение по использованию метода КМС в департаменте дерматологии университета г. Модена и региона Эмилия (Италия, 2014).

Для дифференциальной диагностики меланомы кожи были использованы основные и дополнительные критерии [12–14]. К основным критериям злокачественности меланоцитарного новообразования относили: клеточную атипию в месте дермо-эпидермального соединения (1-й критерий) и нарушение сосочковой архитектуры базального слоя (2-й критерий) (рис. 1).

В табл. 1 представлена распространенность основных критериев среди пациентов включенных в исследование.

Таким образом, выявление хотя бы одного из основных критериев может свидетельствовать о меланоме кожи, а наличие основных критериев диагностики меланомы кожи не зависит от выраженности пигментации новообразования. При клинически беспигментных меланомах кожи также удалось выявить наличие основных критериев диагностики.

Помимо основных критериев, определялось присутствие четырех дополнительных критериев: наличие круглых педжетоидных клеток (1-й дополнительный критерий), инфильтрация педжетоидными клетками (2-й дополнительный критерий), мозговидные скопления (3-й дополнительный критерий), клетки, содержащие видимые при КМ ядра, в верхних

слоях дермы (4-й дополнительный критерий), собственные наблюдения (рис. 2, 3).

Результаты

Результаты определения дополнительных критериев меланомы кожи при проведении конфокальной микроскопии 18 меланоцитарных новообразований представлены в табл. 2.

Каждый изолированно взятый дополнительный критерий не обладает абсолютной диагностической значимостью, однако круглые педжетоидные клетки (1-й критерий) и инфильтрация педжетоидными клетками (2-й критерий) обнаруживался при меланоме кожи статистически значимо чаще, в 100 и 70% случаев соответственно, чем при диспластических невусах – в 37,5 и 12,5% соответственно (см. табл. 2).

Мозговидные скопления (3-й дополнительный критерий) в нашем исследовании был выявлен только при меланоме кожи в 40% случаев, но его недостаточно высокая распространенность не позволяет расценивать этот дополнительный критерий в качестве монопризнака. Обнаружение клеток, содержащих видимые ядра, в верхних слоях дермы также не может являться самостоятельным надежным диагностическим признаком для дифференциации меланомы кожи, так как регистрируется лишь в каждом втором случае меланомы кожи и в каждом четвертом случае диспластического невуса.

Результаты проведенного анализа общего числа дополнительных критериев при меланоме кожи и диспластических невусах представлены на рис. 4. Полное отсутствие дополнительных критериев является характерным исключительно для диспластических невусов. Наличие в общей сложности трех или четырех дополнительных критериев типично для меланом. При выявлении одного или двух дополнительных критериев сделать однозначный вывод невозможно. Для установления точного диагноза потребуются анализ комбинации критериев или диагностическая хирургическая эксцизия новообразования.

Отдельное внимание можно уделить двум случаям беспигментных меланом, представленных в нашем исследовании. В обоих случаях отмечено наличие двух основных критериев диагностики меланомы кожи по данным конфокальной лазерной микроскопии (клеточной атипии в месте дермо-эпидермального соединения и нарушение сосочковой архитектуры базального слоя), одного дополнительного критерия (присутствие круглых педжетоидных клеток). В одном случае беспигментной меланомы отмечено наличие мозговидных скоплений.

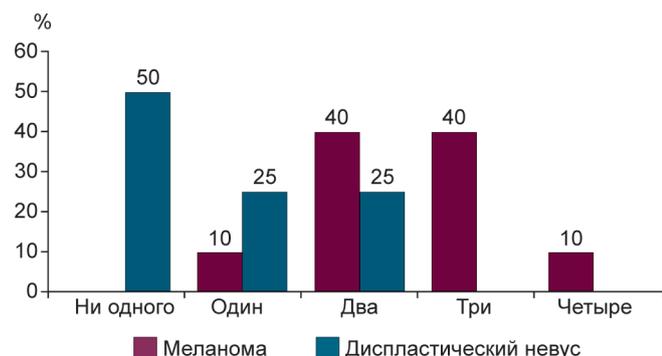


Рис. 4. Общее количество дополнительных критериев по данным конфокальной микроскопии.

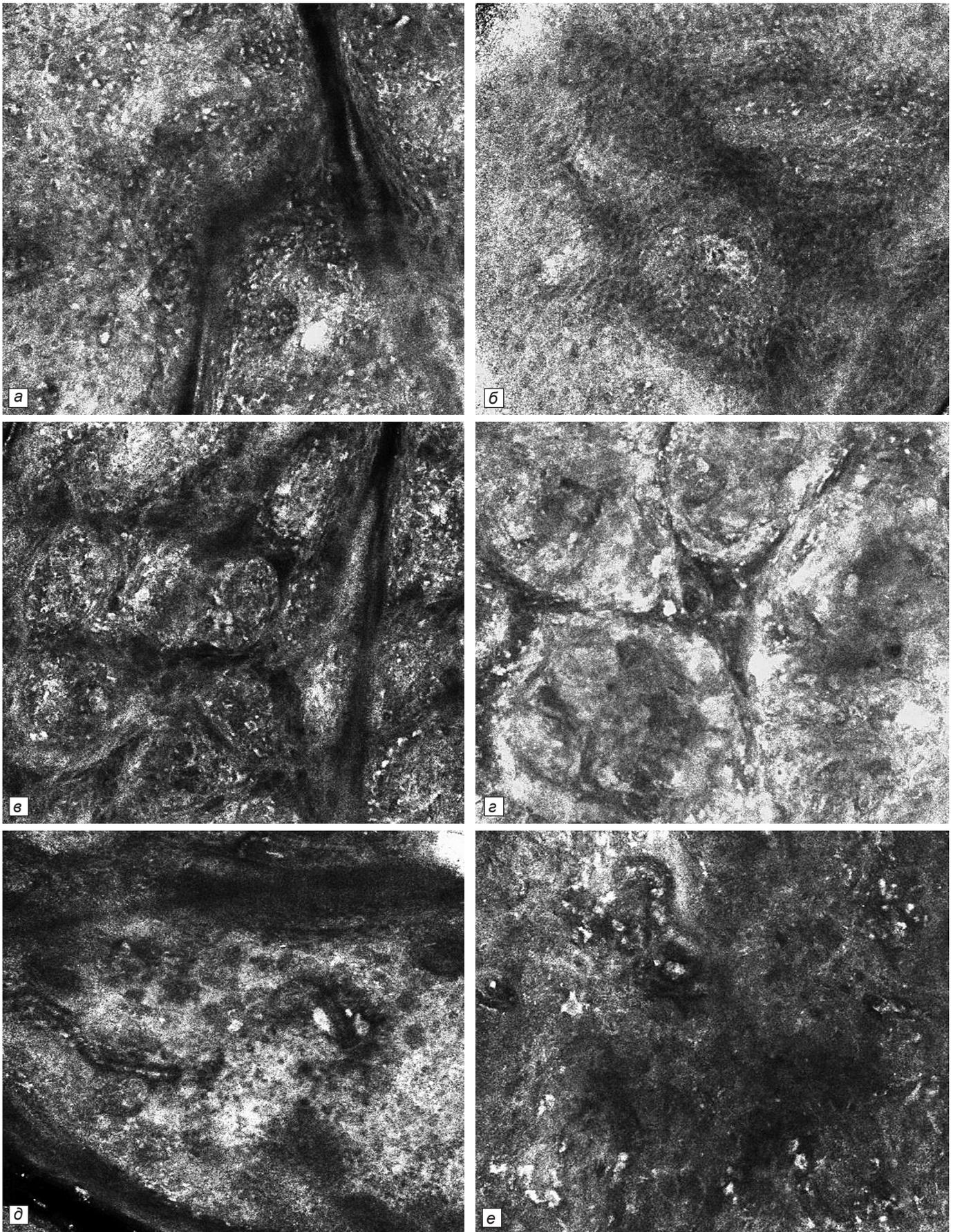


Рис. 5. «Малые» критерии диагностики меланомы кожи по данным конфокальной лазерной микроскопии: выраженные нарушения архитектоники эпидермиса, утрата ячеистой структуры эпидермиса и беспорядочное расположение кератиноцитов (*a, б*), нерегулярная сетчатая или неспецифическая структура дермо-эпидермального соединения (*в*), листовидные структуры (*г*), усиление неоангиогенеза и скорости кровотока (*д, е*).

Таблица 3

Распространенность «малых» критериев меланомы кожи у пациентов с меланоцитарными новообразованиями кожи

Новообразование	n	Наличие малых критериев меланомы							
		1-й критерий		2-й критерий		3-й критерий		4-й критерий	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Меланома	10	9	90	7	70	2	20	6	60
Диспластический невус	8	3	37,5	1	12,5	0	0	1	12,5
<i>p</i>		0,039		0,03		0,57		0,075	

Помимо выделения стандартных основных и дополнительных критериев диагностики, некоторые авторы [15] рекомендуют проводить анализ ряда других реже встречающихся критериев меланомы, к которым относят выраженные нарушения архитектоники эпидермиса, такие как утрата ячеистой структуры эпидермиса и беспорядочное расположение кератиноцитов (1-й критерий), нерегулярная сетчатая или неспецифическая структура дермо-эпидермального соединения (2-й критерий), листовидные структуры (3-й критерий), усиление неангиогенеза и скорости кровотока (4-й критерий) (рис. 5, собственные данные). Условно эти реже встречающиеся критерии можно назвать «малыми».

В обоих случаях беспигментной меланомы кожи отмечена утрата ячеистой структуры эпидермиса. В одном случае также присутствует неспецифическая структура дермо-эпидермального соединения.

Результаты анализа «малых» критериев показали, что наибольшую значимость из них для диагностики меланомы приобретают 1-й, 2-й и 4-й критерии, которые встречаются соответственно в 90, 70 и 60% случаев. Наличие листовидных структур при меланоме кожи встречается редко, лишь в каждом пятом случае. Данный объем выборки не позволяет сделать вывод о диагностической значимости этого критерия (табл. 3). Результаты анализа общего количества выявленных «малых» критериев представлены на рис. 6. Полное их отсутствие свойственно диспластическим невусам, тогда как для меланомы кожи более диагностически важным является наличие трех или четырех «малых» критериев одновременно. В случаях, когда у пациента обнаружен только один или два малых критерия, для дифференциальной диагностики требуется анализ комбинации основных и дополнительных критериев.

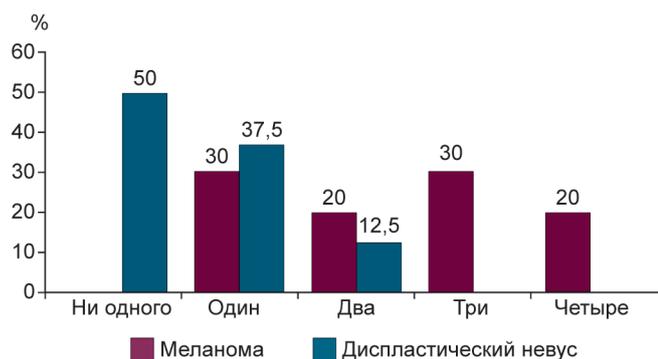


Рис. 6

Таким образом, результаты исследования по определению эффективности дифференциальной диагностики меланомы кожи, в том числе и беспигментных форм, с помощью лазерной конфокальной микроскопии, показали, что дифференциальная диагностика меланомы кожи возможна исключительно по наличию двух основных критериев злокачественности: клеточной атипии в месте дермо-эпидермального соединения и нарушению сосочковой архитектуры базального слоя. В нашем исследовании в 100% случаев меланом выявлено наличие хотя бы одного из основных критериев меланомы, при диспластических невусах ни один из этих критериев не обнаружен.

Из 18 случаев меланоцитарных новообразований кожи по результатам конфокальной микроскопии в 10 оставлен диагноз меланомы кожи, в 8 случаях – диспластический невус, что в дальнейшем было подтверждено результатами последующего гистологического исследования материала после хирургической экцизии новообразований.

Таким образом, КМС – многообещающий практический инструмент для диагностики и наблюдения за пигментированными и непигментированными новообразованиями кожи. В сочетании с клинической оценкой и дерматоскопией, КМС становится ценным дополнительным инструментом для неинвазивной диагностики опухолей кожи.

Возможность включения в алгоритм диагностики подозрительных на меланому кожи меланоцитарных новообразований КМС, является приоритетным для улучшения диагностики меланомы кожи, в том числе ее беспигментных форм.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Старинский В.В., Грецова О.П., Петрова Г.В. Система Федерального регистра онкологических больных. *Российский онкологический журнал*. 2011; 6: 40–2.
 2. Кунгуров Н.В., Малишевская Н.П., Кохан М.М., Соколова А.В. и др., ред. Дерматоонкология (злокачественные новообразования кожи, первичные лимфомы кожи): Атлас. Екатеринбург: Издательство Уральского университета; 2016: 8–16.
 5. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петровой Г.В., ред. Злокачественные новообразования в России в 2011 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОУ им. П.А. Герцена; 2013.
 10. Лукашева Н.Н., Овчинникова А.Ю., Потекаев Н.Н., Ткаченко С.Б. Параметрическая оценка здоровой кожи методом прижизненной сканирующей конфокальной лазерной микроскопии. *Клиническая дерматология и венерология*. 2008; 3: 12–9.
- Остальные источники литературы пп. 3, 4, 6–9, 11–16 см. в References.*

REFERENCES

1. Starinsky V.V., Gretsova O.P., Petrova G.V. The system of the Federal register cancer patients. *Russian oncological journal. (Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal)*. 2011; 6: 40–2. (in Russian)
2. Kungurov N.V., Malishevskaya N.P., Kokhan M.M., Sokolova A.V., et al., eds. *Dermatoonkology (malignant neoplasms of the skin, primary skin lymphomas): Atlas*. Ekaterinburg: Publishing House of Ural University; 2016: 8–16. (in Russian)
3. Stern R.S. Prevalence of a history of skin cancer in 2007: results of an incidence-based model. *Arch. Dermatol.* 2010; 146(3): 279–82.
4. WHO. Ultraviolet radiation and the INTERSUN Programme. Available at: <http://www.who.int/uv/faq/skincancer/en/index1.html> (Access Aug 2013).
5. Chissov V.I., Starinsky V.V., Petrova V., eds. *Malignant neoplasms in Russia in 2011 (morbidity and mortality)*. Moscow: Moscow Scientific Research Oncological Institute n.a. P.A. Herzen; 2013. (in Russian)
6. Eichert S., Mohrle M., Breuninger H., Rocken M., Garbe C., Bauer J. Diagnosis of cutaneous tumors with in vivo confocal laser scanning microscopy. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2010; 8(6): 400–10.
7. Gonzalez S., Gilaberte-Calzada Y. In vivo reflectance-mode confocal microscopy in clinical dermatology and cosmetology. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2008; 30(1): 1–17.
8. Ahlgrimm-Siess V., Hofmann-Wellenhof R., Cao T., Oliviero M., Scope A., Rabinovitz H.S. Reflectance confocal microscopy in the daily practice. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 2009; 28(3): 180–9.
9. Rajadhyaksha M., Grossman M., Esterowitz D., Webb R.H., Anderson R.R. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J. Invest. Dermatol.* 1995; 104(6): 946–52.
10. Lukashova N.N., Ovchinnikova A.Yu., Potekaev N.N., Tkachenko S.B. Parametric evaluation of healthy skin by the method of scanning confocal laser microscopy. *Clinical dermatology and venereology. Russian Journal (Klinicheskaya dermatologi i venereologiya)*. 2008; 3: 12–9. (in Russian)
11. Guitera P., Longo C., Seidenari S., Avramidis M., Menzies S.W. In vivo reflectance confocal microscopy enhances secondary evaluation of melanocytic lesions. *J. Invest. Dermatol.* 2009; 129(1): 131–8.
12. Pellacani G., Cesinaro A.M., Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions – improvement in melanoma diagnostic specificity. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005; 53(6): 979–85.
13. Segura S., Puig S., Carrera C., Palou J., Malvehy J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2009; 61(2): 216–29.
14. Gerger A., Koller S., Kern T., Massone C., Steiger K., Richtig E., et al. Diagnostic applicability of in vivo confocal laser scanning microscopy in melanocytic skin tumors. *J. Invest. Dermatol.* 2005; 124(3): 493–8.
15. Pellacani G., Guitera P., Longo C., Avramidis M., Seidenari S., Menzies S. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J. Invest. Dermatol.* 2007; 127(12): 2759–65.
16. Pellacani G., Cesinaro A.M., Longo C., Grana C., Seidenari S. Microscopic in vivo description of cellular architecture of dermatoscopic pigment network in nevi and melanomas. *Arch. Dermatol.* 2005; 141(2): 147–54.

Поступила 03.12.17
Принята к печати 20.12.17